

模型化研究凝聚物介导的膜表面调控蛋白连接成环

郭秀珍¹⁾²⁾³⁾ 韩托弟¹⁾²⁾ 刘雨霏¹⁾ 马贝贝²⁾ 赵新军^{1)2)†} 蒋中英^{2)†}

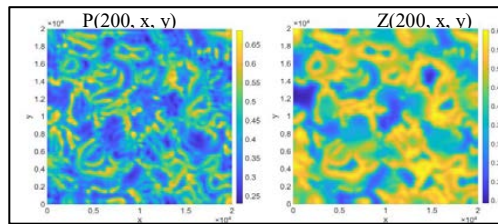
1) (伊犁师范大学物理科学与技术学院, 新疆凝聚态相变与微结构实验室, 新疆伊宁 835000)

2) (伊犁师范大学, 微纳电传感器技术与仿生器械实验室, 新疆伊宁 835000)

3) (伊犁师范大学, 师范生综合技能实训中心, 新疆伊宁 835000)

摘要

近期一项重要的实验(Nature,2024)表明, PATJ 蛋白(P)可作为生物凝聚物, 通过膜预润湿机制驱动 ZO-1 蛋白(Z)在膜表面发生动态聚集, 进而还形成紧密连接环状结构. 然而, 其中紧密连接成环涉及的相分离动力学规律与物理机制仍缺乏定量描述. 本研究结合粗粒化分子动力学模拟与反应-扩散动力学理论模型, 系统研究了 P 介导的膜表面促进 Z 动态凝聚及有序组装的动力学规律. 模拟结果表明, Z 可在膜表面独立形成分散的凝聚体; 而 P 通过与 Z 的多价相互作用, 可启动 Z 的动态凝聚转变, 驱动 Z 进行分步组装, 最终形成紧密连接环. 理论模型进一步揭示, P 与 Z 在膜表面的扩散能够精准调控相分离的扰动响应尺度与触发效率. 反应-扩散过程与膜的调控特性相适配, 从而为 Z 沿膜表面的定向聚集与连接成环提供了物理基础. P 通过与 Z 多价作用, 精准调控 Z 动态聚集与连接成环, 使相互作用的 P-Z 从“分散结合”转变为连续环状的有序结构. 本研究阐明了凝聚物介导的膜表面调控蛋白动态凝聚与连接成环的物理机制及关键调控因素, 为理解膜锚定凝聚物调控界面相分离提供了一个可拓展的理论模型.



PATJ 蛋白(P)介导的膜表面调控 ZO-1 蛋白(Z)连接成环

关键词: 膜表面微环境; 蛋白质动态相分离; 动力学模型; 凝聚连接成环

PACS: 87.16.-b, 87.16.D-, 87.16.Xa, 87.16.Yc

基金: 新疆凝聚态相变与微结构实验室 2025 年度开放课题资助项目(批准号: XJDX0912Z2502)和国家自然科学基金(批准号: 12364030, 22163011)资助的课题.

† 通信作者.E-mail: zhaoxinjunzxj@163.com; jiangzhying@163.com

第一作者.E-mail: guoxiuzhen@ylnu.edu.cn

1 引言

生物分子凝聚体(Biological molecular aggregates, BMCs)又称“无膜细胞器”，通常由液-液相分离(Liquid-liquid phase separation, LLPS)过程形成^[1]。该过程具有高度的可逆性，受蛋白质浓度、温度、离子强度等多种因素调控。近年来的研究发现，生物膜（膜）在调控 BMCs 形成方面起着关键作用^[2,3]。借助膜表面独特的环境及其功能，细胞可在高度协调的时空维度上控制蛋白质、核酸等生物大分子的聚集凝聚行为，调控凝聚体在膜表面处发生预润湿相变^[4-6]。

预润湿是指在体相中热力学不稳定的共存状态下，分子在表面发生凝聚的现象^[4]。生物分子聚合物在流体膜上凝聚形成的结构域具有二维动态性，因其形成区域完全超出单一生物聚合物体系的共存区，故被定义为“预润湿结构域”^[5,6]。近期理论预测^[7,8]，当表面为流体、尤其是在锚定分子间存在膜介导的相互作用时（例如接近膜相变时），预润湿区域会更进一步扩大。由于哺乳动物细胞膜的组成被调控在接近相分离的状态，预润湿可为细胞表面的蛋白组织提供一种灵敏的方式，进而触发蛋白质寡聚化或加速氧化还原反应^[9]。在膜与凝聚体相互作用过程中，凝聚体中的分子对膜的预润湿现象已被证实与多种关键生物学功能相关，如 T 细胞中的信号传导通路、内皮细胞中的紧密连接、内吞囊泡形成等过程^[10]。已有的研究表明^[11]，聚集参与信号传导的蛋白（例如 T 细胞受体激活下游形成的信号平台）在膜表面的预润湿组装被归因于相分离，并由蛋白间的多价相互作用驱动。特别是，当溶液中能形成凝聚体的蛋白组合被定位到膜上时（通常通过将一种组分锚定在膜上或纳入与脂质相互作用的蛋白），还会发生特定的相分离凝聚。Bagheri 等人^[12]最近的研究表明，将凝聚体定位到膜上可在重构体系中引发多种与相分离相关的现象，包括膜弯曲、脂质有序化、相变温度偏移和跨膜通讯。最近 Pombo-García 等人^[13]一项重要的研究发现，PATJ 蛋白(P)作为凝聚物

(condensates)通过膜预润湿机制驱动 ZO-1 蛋白(Z)在膜表面动态聚集,形成紧密连接环状结构,这种预润湿现象促进了 Z 凝聚层在膜表面周围形成并生长.而且是由 P 介导 Z 转变为表面凝聚带,并沿膜表面延伸连接成环. Pombo-García 等人还建立了凝聚体生长理论模型,揭示了成环的典型机制.

尽管 Pombo-García 等人^[13]的工作发现了 P 介导 Z 在膜表面紧密连接环形成的重要现象,并提出了初步的理论模型,揭示了紧密连接成环的成核生长的关键机制,但该模型仅获得了 Z 的成核生长过程的物理图像,并不能呈现 Z 在膜表面紧密连接成环的动力学过程.而且,该理论模型忽略了膜本身通过调控与 P 间的相互作用,对 Z 在膜表面的凝聚转变产生的间接效应.因此,一个核心的动力学问题亟待解决: P 介导的膜表面微环境如何精确调控 Z 从凝聚、成带到最终有序环化的完整动力学路径?其背后的相分离动力学机制与定量规律目前仍缺乏系统定量描述.

为回答这一问题,本文发展了一套结合模拟与理论分析的多尺度研究框架,建立了一个整合粗粒化分子动力学模拟与反应-扩散动力学的普适理论模型,系统研究 P 介导的膜表面促进 Z 凝聚与有序组装的动力学特性与物理机制.通过此模型,我们将深入剖析 P-Z-膜三者间的特异性相互作用、膜的物理属性(扩散、膜组分与 P、Z 作用)与相分离动力学之间的多重耦合关系,以及多重耦合作用调控 P 介导的膜表面促进 Z 相分离凝聚有序组装的物理特性,从生物物理层面,本研究致力于揭示膜及其锚定组分如何通过膜表面微环境调控这一机制,实现对生物大分子相分离凝聚过程的精确时空调控,并阐明其内在的动力学规律,预测 P 介导 Z 在膜表面通过紧密连接还可形成连续的带状结构.

本文的组织结构如下:第二节详细阐述所用的粗粒化分子动力学模型与反应-扩散动力学理论;第三节系统呈现并分析模拟与理论计算结果,揭示 P 介导的

膜表面微环境调控 Z 蛋白动态聚集与成环的动力学机制；第四节对全文进行总结，并讨论本研究的生物学意义与理论前景。本研究不仅有望在分子机制层面深化对 Z 蛋白形成紧密连接环这一具体生物学过程的理解，而且将为探索细胞内更为广泛的区室化与自组织过程提供一个定量的、机制清晰的理论工具与崭新的物理视角。

2 模型与方法

为系统研究膜被 P、Z 预润湿后，P 介导的膜表面微环境对 Z 蛋白动态聚集的调控机制，本文发展了一个多尺度研究框架。我们首先利用粗粒化分子动力学模拟，在分子尺度直观再现 Z 蛋白从分散凝聚到有序成环的组装过程（第2.1节）。进而，我们构建了一个反应-扩散动力学理论模型，以在介观尺度定量揭示 P 与 Z 的扩散特性、多价相互作用等关键因素如何协同调控相分离的动力学路径与最终结构（第2.2节）。这种模拟与理论的结合，使我们能够从不同时空尺度完整刻画该生物物理过程。

2.1 粗粒化(coarse graining, CG)分子动力学模拟

为了使模型尽可能揭示 P/Z/膜相互作用体系主要的机制，我们采用 CG 分子动力学生物体系的 Martini 模型^[14-15]进行模拟。考虑膜为包含胆固醇磷脂双层膜(cholesterol-containing DPPC lipid membranes, CDM)，CDM 上下两层中 DPPC 分子数各为 800、胆固醇分子各为 200，采用双层固定结构，每个 DPPC 分子头部带有效电荷为 ± 11.8 （ ± 11.8 为经过介电常数缩放及单位转换后的模拟参数）；由于 PATJ 包含多个 PDZ 结构域^[16]，且带电残基（赖氨酸、谷氨酸等）沿序列分布较为均匀；ZO-1 包含 N 端的 PDZ-SH3-GuK 多结构域区域（功能类似“结合模块”）和 C 端无序区（富集脯氨酸等）^[17]。因此，模型化 P 为具有单体数 $N_p = 10$ 的线性两性离子高分子链，以及 Z 为两性离子两嵌段聚合

物,其链长具有 N_z 个单体. 其中 P、Z 各半数单体带正电(每个单体带 11.8 有效电荷),半数单体带负电(每个单体带 -11.8). 模拟系统除了 P、Z、CDM 还包括水与抗衡离子. P 分子初始结构采用随机分布,并锚定在 CDM 表面, P 分子数为 n_p , Z 高分子链数目为 n_z , 水分子数目为 2500. 鉴于 P 通过多价作用调控 Z 在 CDM 表面凝聚^[13], 故考虑 Z 链中第一、第二个单体与最后两个单体分别可与两个 P 单体成键结合(成键概率为 Pr). 体系中各 CG 粒子间的 Martini 力场相互作用,采用标准的 Lennard-Jones(LJ)势结合静电作用势^[14-15],即

$$V(r_{ij}) = \begin{cases} 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{f}{\epsilon_r} \frac{q_i q_j \text{erfc}(\kappa r_{ij})}{r_{ij}} & (r_{ij} < r_c) \\ 0 & (r_{ij} \geq r_c) \end{cases} \quad (1)$$

在模拟计算中,设置模拟空间尺寸为 $30 r_c \times 30 r_c \times 30 r_c$ 的立方盒子, $r_c = 1.0$ 为截断半径. P/Z/CDM 体系各组分间的相互作用均在标准 Martini 力场的基础上建立^[15],且 P、Z 与 CDM 各组分间取值相同的相互作用参数. 设置各粒子或 P、Z 单体为球形粒子(质量为 $1m(72\text{amu})$, 直径为 r_c). 模拟采用近室温(315 K)条件下的正则系综,并应用 PYGAMD(python GPU-accelerated molecular dynamics software)软件包^[14-15]计算,计算时间步长为 0.01(ps),总的模拟时间为 400 万步(40 ns).

以上模拟可在分子尺度揭示 P 介导的 Z 蛋白组装形貌. 然而,为在更长时间与更大空间尺度上定量研究该过程的动力学规律与调控机制,我们进一步建立反应-扩散理论模型. 该模型与模拟工作互为补充,旨在从连续介质层面揭示扩散、多价相互作用等关键参数的协同调控效应.

2.2 反应-扩散动力学理论模型

基于实验结果^[13], P 作为凝聚物被膜锚定. Z 通过扩散与 P 及膜各组分的多价作用, 在其紧密连接组装时序调控的定向动态过程, 核心功能是通过动态募集和定位, 形成 P 介导 Z 凝聚相的预润湿延伸, 最终紧密连接成环带. 因此, 我们考虑 P 与 Z 在 2D 膜界面空间(x 、 y)各个方向扩散, 以及体系中的多价作用特征. 综合 Wilmott 等人^[18]的反应-扩散框架思想, 并引入 Hill 动力学^[19,20]以描述多价相互作用的协同效应, 推广标准的金兹堡-朗道泛函^[21,22]至 P、Z 两种变量情景, 可以获得 P 介导的膜预润湿促进 Z 动态聚集与连接动力学方程组为 (详见附录 A1):

$$\frac{\partial P(t, x, y)}{\partial t} = D_{Px} \frac{\partial^2 P(t, x, y)}{\partial x^2} + D_{Py} \frac{\partial^2 P(t, x, y)}{\partial y^2} + \theta(t, x, y) - \nu_P(t, x, y) + \eta(t, x, y), \quad (2)$$

$$\frac{\partial Z(t, x, y)}{\partial t} = D_{Zx} \frac{\partial^2 Z(t, x, y)}{\partial x^2} + D_{Zy} \frac{\partial^2 Z(t, x, y)}{\partial y^2} + \omega(t, x, y) - \nu_Z(t, x, y) + \eta(t, x, y), \quad (3)$$

以上方程组中 $P(t, x, y)$ 、 $Z(t, x, y)$ 表示在时空 t 、 x 、 y 处 P 与 Z 的相对浓度, D_{Px} 、 D_{Py} 、 D_{Zx} 、 D_{Zy} 分别为 P 与 Z 在 x 、 y 方向的扩散系数.

方程 (2) 中第三项 $\theta(t, x, y)$ 表示由于 P 被锚定于膜表面, 导致在膜表面 P 定域相对浓度增加 (P 的扩散源), 基于 Hill 动力学, 该项表示为:

$$\theta(t, x, y) = \alpha_1 + \alpha_2 [1 - P(t, x, y)] \frac{P(t, x, y)^{n_1}}{K_1^{n_1} + P(t, x, y)^{n_1}} \quad (4)$$

上式中 α_1 与 α_2 表示部分 P 在膜表面的增加率, K_1 为 Hill 常数, n_1 为 Hill 系数, 表示了 P 在膜表面的的锚定特征.

方程式 (2) 中第四项描述由于 P 调控 Z 聚集凝聚, 而导致 P 的扩散受阻. 基于 Hill 动力学, 该项表示为:

$$v_p(t, x, y) = \frac{\beta_1 P(t, x, y) Z(t, x, y)^{n_2}}{K_2^{n_2} + Z(t, x, y)^{n_2}} \quad (5)$$

上式中 β_1 表示 P 在定域出现的减缓率, K_2 为 Hill 常数, n_2 为 Hill 系数, 表征 P - Z 多价相互作用减缓 P 的扩散.

方程式 (3) 中的第三项描述了由 P 介导的 Z 在膜表面聚集形成凝聚体, 在 P 介导作用下 Z 倾向于定域凝聚延伸 (Z 的凝聚扩散源). 基于质量作用原理、Hill 动力学, 该项可表示为:

$$\omega(t, x, y) = \alpha_3 [1 - Z(t, x, y)] \frac{P(t, x, y)^{n_3}}{K_3^{n_3} + P(t, x, y)^{n_3}} \quad (6)$$

上式中 α_3 表示 P 通过多价作用介导 Z 在膜表面的聚集速率, K_3 、 n_3 为相应的 Hill 常数与 Hill 系数, 表征了 P 对 Z 聚集凝聚的正协同调控特性.

方程式 (3) 中的第四项描述了 Z 的定域分数的增加, 导致 Z 在该处扩散受阻 (Z 只能在该区域附近聚集), 可表示为:

$$v_z(t, x, y) = \beta_2 Z(t, x, y) \quad (7)$$

其中 β_2 为 Z 相对浓度减缓率.

方程式 (2)、(3) 中的最后一项描述了时空关联的噪声效应^[23]:

$$\langle \eta(t, x, y) \eta(t', x', y') \rangle = \xi \delta(t - t') \delta(x - x') \delta(y - y') \quad (8)$$

其中 ξ 为噪声幅. 该项表示膜中复杂的各组分对 P 与 Z 的随机作用, 该作用导致 P 、 Z 定域相对浓度随机涨落.

已有的实验^[24]数据已经测定了哺乳动物细胞中某些蛋白质的扩散系数为 $0.01-1.0 \mu\text{m}^2/\text{s}$, 在我们理论模型中, 由于 P 是被锚定在膜表面的定位点上, P 的“扩散”实为在膜表面的动态调整、结构重排以及锚定点间有限运动的表现. 因此, 本文理论模型中, 考虑其有效扩散会显著低于自由扩散的膜蛋白. Z 在凝聚体内

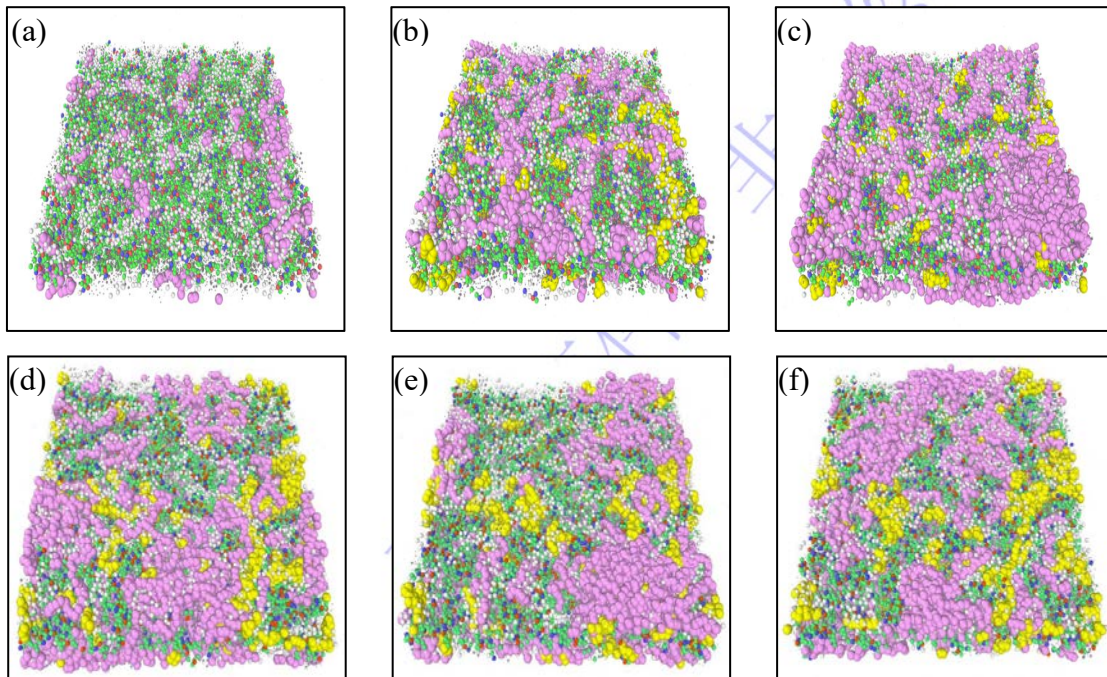
受到 P-Z 多价相互作用、空间位阻和膜粘附的限制, 其扩散行为属于拥挤环境而受限, 因此, 理论模型中选取 Z 的有效扩散系数同样远小于自由扩散的膜蛋白. 以相关的实验数据为参考^[24], 可以确定本文模型方程组 (2) 与 (3) 中参数取值(如附表), 使得模型计算结果符合实验^[13]. 求解方程组 (2) 与 (3) 的初始条件 ($t=0$) 设置为 P、Z 在 (x,y) 处随机分布: $P(0,x,y)=0.32(1+\zeta R_0(0,x,y))$ 、 $Z(0,x,y)=0.07(1+\zeta R_0(0,x,y))$, 其中 $R_0(0,x,y)$ 为 (x,y) 处的随机扰动, ζ 为扰动幅; 体系边界条件设置为周期性边界条件. 由以上参数与边值关系, 可准确地获得 P、Z 相对浓度随时空演化的动力学过程.

3 结果与分析

本节首先展示分子动力学模拟所揭示的 P 介导 Z 蛋白聚集的形貌特征, 进而通过反应-扩散模型的理论结果, 定量分析扩散系数、膜锚定效应及 P-Z 协同作用对相分离动力学及有序结构的调控规律.

3.1 P 调控 Z 的凝聚形貌

在本小节, 我们考察 P 借助 CDM 表面微环境, 调控聚集在膜表面的 Z 的凝聚特性.



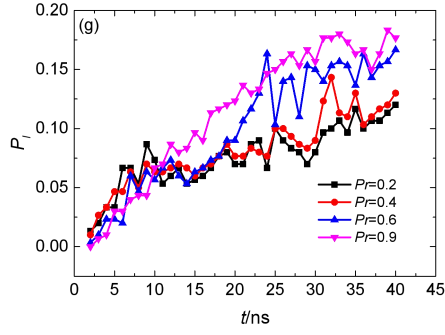


图 1 P 介导的膜表面促进 Z 在 CDM 表面凝聚分布的模拟图像. (a) $n_p = 0$ 、 $n_z = 100$ 、 $N_z = 10$, Z 在 CDM 表面凝聚, 凝聚体分散分布于 CDM 表面; (b) $P_r = 0.9$ 、 $n_p = 100$ 、 $n_z = 100$ 、 $N_z = 10$, P 介导 Z 在 CDM 表面凝聚成带状分布; (c、d、e、f) 分别为 $P_r = 0.9, 0.2, 0.4, 0.6$ 时, $n_p = 100$ 、 $n_z = 200$ 、 $N_z = 20$ 条件下, P 介导 Z 在 CDM 表面凝聚成带状与环状分布. (g) $P_r = 0.9, 0.2, 0.4, 0.6$ 时, P_l 随时间演化. 模拟图中, 黄色聚合物为 P, 红色聚合物为 Z, 其余为 CDM 组分. 参数取值均为标准的 Martini 力场参数值^[14,15].

Fig. 1. Snapshots of P-mediated membrane surface microenvironment promoting the cohesive distribution of Z on the CDM surface. (a) When $n_p = 0$, $n_z = 100$, $N_z = 10$, Z condenses on the CDM surface, with condensates dispersed across the CDM surface; (b) When $P_r = 0.9$, $n_p = 100$, $n_z = 100$, $N_z = 10$, P-mediated Z condenses into a band-like pattern on the CDM surface; (c,d,e,f) When $P_r = 0.9, 0.2, 0.4, 0.6$, respectively, under the condition of $n_p = 100$, $n_z = 200$, $N_z = 20$, P-mediated Z condenses into both band-like and ring-like patterns on the CDM surface. In the snapshots, yellow polymers represent P, red polymers represent Z, and the remaining components represent CDM. (g) Evolution of P_l over time when $P_r = 0.9, 0.2, 0.4, 0.6$. All parameter values are based on the standard Martini force field parameters^[14,15].

由于 Z 从细胞内聚集在 CDM 表面过程中体系自由能降低^[7], 因此, 在 Martini 力场作用下, Z 会自发聚集于 CDM 表面, 形成“润湿层”结构. 从图 1a 可以看出, 在没有 P 介导的条件下, Z 也可在 CDM 表面形成凝聚, 只是凝聚体尺度较小且分散分布于 CDM 表面; 当有 P 锚定于 CDM 表面、Z 自发聚集于含有 P 的 CDM 表面时, 由于 P 介导的膜表面调控作用, 会使得 Z 聚集凝聚于 P 周围附近, 并在 CDM 表面凝聚成带状、环状分布 (图 1b、1c). 比较图 1b 与图 1c, 可以发现, 当体系中 P 分子数确定时 ($n_p = 100$), Z 分子数为 $n_z = 200$ 且 $N_z = 20$, 比分子数为 $n_z = 100$ 、 $N_z = 10$ 时更明显地形成环状结构,

由此表明，体系中 P 与 Z 分子数，以及分子结构会对 P 介导的膜表面调控 Z 凝聚产生重要的影响。然而，体系中分子数、分子结构一旦确定，P 与 Z 之间的多价作用将是调控 Z 凝聚的核心作用。因此，我们再考察 $n_p = 100$ 、 $n_z = 200$ 、 $N_z = 20$ 的体系在 $P_r = 0.2, 0.4, 0.6$ 概率条件下，Z 在膜表面的凝聚成环分布（图 1d-1f）特性发现，当 $P_r = 0.2, 0.4, 0.6$ 时，Z 在膜表面依然可以呈现出凝聚成环特性。并且进一步考察该体系不同 P_r 条件下，成环概率($P_l = N_l / n_l$ ，其中 N_l 表示 P、Z 凝聚成环的数目， $n_l = n_p + n_z$) 随时间演化（图 1g）可以发现，随着时间的演化 P_l 总体增大，且 P_r 越大 P_l 增幅越大。由此还表明，在一定的 P 与 Z 间的多价作用范围内，P 可介导的膜表面调控 Z 连接成环。这是由于，当 Z 凝聚成核后，自发聚集于含有 P 的 CDM 表面时，P 通过特定结构域与 Z 凝相结合（Z 凝聚体被招募），在具有特定分子数与链长 P 的调控作用下，以及协同膜的“预润湿”延伸作用，一定量的 Z 在 CDM 表面凝聚并成带状、环状分布结构（图 1b、1f），而在凝相成熟后维持动态结合平衡^[13]。被锚定至膜表面的 P 的聚集程度与 Z 凝聚的延伸长度呈强正相关。这样，P 介导的 Z 在膜表面凝聚延伸并融合，形成连续的带，从而演化为密封环状组织（动态过程详见附件动画）。在此过程中，紧密连接的组装起始于 P 调控作用下的 Z 凝聚，随着时间的演化，除了通过 P 调控作用，还可通过 Z 在 CDM 表面上感受到的各种作用力驱动 Z 凝聚形态变化。Pombo-García 等人实验^[13]研究已表明，P 缺失并不影响 Z 的初始凝聚成核，但会导致凝聚体无法进一步延伸。当 P 锚定于 CDM 表面时，启动 Z 凝聚体在膜表面从分散的成核位点沿膜表面延伸，最终融合出紧密连通的环状分布。

在膜表面的紧密连接是一种超分子粘附复合物，在连接过程中，通过扩散控制 P、Z 在膜表面流动形成相分离凝聚。P 介导的 Z 通过调整相分离凝聚是非平

衡动态过程,在这一调控过程中,由于 CDM 组分的流动性与多样性,会导致多样化的作用影响 P 介导的 Z 在膜表面相分离凝聚特性. 接下来,我们通过动力学理论模型,进一步考察在膜表面, P 介导的 Z 通过调整相分离凝聚相分离的动态特性,揭示体系如何通过膜物理属性、P-Z 多价相互作用及界面动力学之间的耦合,调控 Z 形成连续的紧密连接环带.

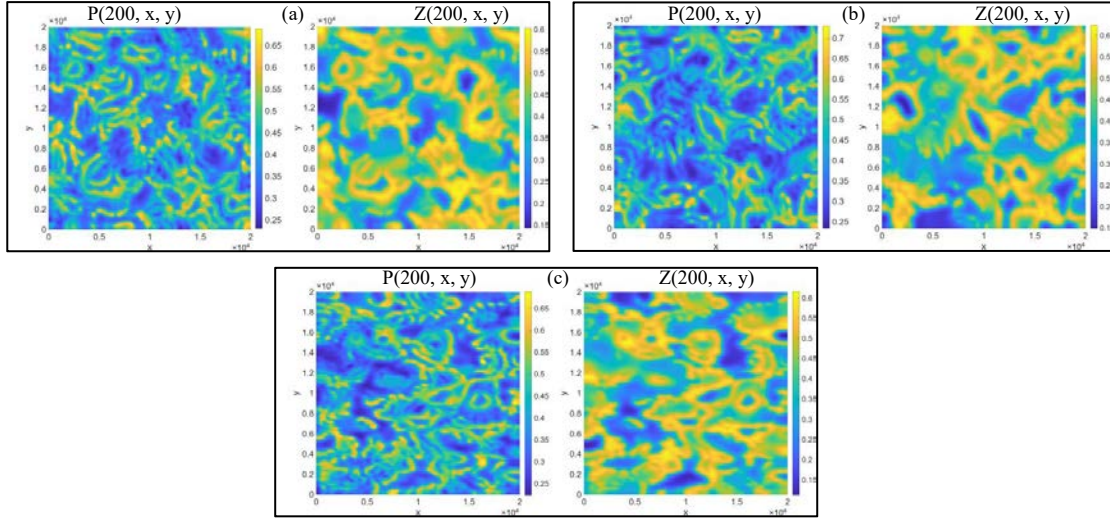


图 2 $t = 200 \text{ min}$ 时, P 与 Z 相对浓度的空间分布. (a) $\zeta = 0.01$ 、 $\xi = 0.01$; (b) $\zeta = 0.01$ 、 $\xi = 1.0$. 在 (a)、(b) 中, $D_{Px} = D_{Py} = 20000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 、 $D_{Zx} = D_{Zy} = 230000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 、

$$n_1 = 9、n_2 = n_3 = 8; (c) \zeta = 0.01、\xi = 1.0、D_{Px} = 30000 \text{ nm}^2 / \text{min}、D_{Py} = 10000 \text{ nm}^2 / \text{min}、D_{Zx} = 300000 \text{ nm}^2 / \text{min}、D_{Zy} = 100000 \text{ nm}^2 / \text{min}、n_1 = n_2 = n_3 = 8.$$

Fig. 2. Spatial distribution of the relative concentrations of P and Z at $t = 200 \text{ min}$. (a) $\zeta = 0.01$, $\xi = 0.01$; (b) $\zeta = 0.01$, $\xi = 1.0$. In (a) and (b), $D_{Px} = D_{Py} = 20000 \text{ nm}^2 / \text{min}$, $D_{Zx} = D_{Zy} = 230000 \text{ nm}^2 / \text{min}$, $n_1 = 9$, $n_2 = n_3 = 8$; (c) $\zeta = 0.01$, $\xi = 1.0$, $D_{Px} = 30000 \text{ nm}^2 / \text{min}$, $D_{Py} = 10000 \text{ nm}^2 / \text{min}$, $D_{Zx} = 300000 \text{ nm}^2 / \text{min}$, $D_{Zy} = 100000 \text{ nm}^2 / \text{min}$.

通过考察图 2 中 P 与 Z 在膜表面二维空间相对浓度的时空演化 (详见附件动画), 可清晰揭示 P 介导的 Z 在膜表面的动态组装机制. 从图 2a、2b 可以看出, P、Z 在微小扰动 (来自系统局域浓度的随机涨落) 初始作用下, 随着时间的演化, 在膜表面不同区域形成相分离凝聚, Z 凝聚形成带状与环状分布.

对比图 2a 与 2b 中 P 与 Z 凝聚位置可以发现, 在 Z 凝聚形成处或附近, P 相对浓度也出现较大分布特征. 由此进一步表明, P 也是呈现动态扩散特征, P 与 Z 的动态结合是维持 Z 凝聚体流动性的重要因素^[13]. Z 凝聚分布起源于随机微小扰动成核, 环状凝聚带形成于 P 的介导调控, 以及 P/Z/膜体系中各组分间相互作用与熵效应. 在这一过程中, P 介导的 Z 在膜表面形成凝聚相, 并且相结构与空间尺度不断重组调整 (详见附件动画). 当膜表面微环境改变, 引发 P、Z 受到的随机作用改变 ($\xi = 0.01$ 改变为 $\xi = 1.0$), 对比图 2a 与图 2b 可以发现, 在膜表面 P、Z 凝聚环状形成与分布并无明显的变化. 由此表明, 随机作用并不能显著改变带状、环状相分离凝聚的形成. 这是由于相分离结构具有动态性, 这种动态相分离凝聚既可以响应外来干扰 (更多的 P、Z 随机凝聚于膜表面), 又可以实现对随机涨落 (噪声) (多种分布不均的膜组分对 P、Z 的作用) 的缓冲^[25].

图 2c 显示出 P、Z 凝聚结构与分布不同于图 2a、图 2b 情形, Z 环状凝聚的网格化更为明显. 由此表明, P 介导的 Z 凝聚过程中多种因素将会在特定条件下调控 P 介导的 Z 凝聚组装. 虽然图 2a-2c 显示了在膜表面 P、Z 凝聚不同的部分结构, 但是都显出一共同特征, 即: 不同凝聚体大多都紧密相连, 环状分布有着公共的分界. Pombo-García 等人^[13]实验已经发现, Z 凝聚相的延伸依赖 P 介导的膜结合亲和力. 由于相分离凝聚的动态性, 相边界成为维持和调节带状、环状凝聚相内浓缩分子数与相结构的物理屏障.

由以上分析可得出, 当体系中 P、Z 扩散与体系中多价作用改变时, 将会在一定程度上改变 P 对 Z 的调控作用, 进而改变 P 介导的 Z 凝聚形成与分布.

3.2 扩散调控特征长度

为了进一步基于反应-扩散方程(7)、(8), 深刻分析 P 介导的膜表面调控 Z 相分离凝聚有序组装的物理特性, 可以考察体系在无噪声、不同扩散条件下, 扰动增长率 (Growth Rate, 特征值实部 $\text{Re}(\lambda)$)^[26], 以及静态结构因子 $S(k)$ ^[27] 随波数 ($k = \sqrt{k_x^2 + k_y^2} = 2\pi/q$, q 为波长) 的变化 (详细计算见附录 A2): .

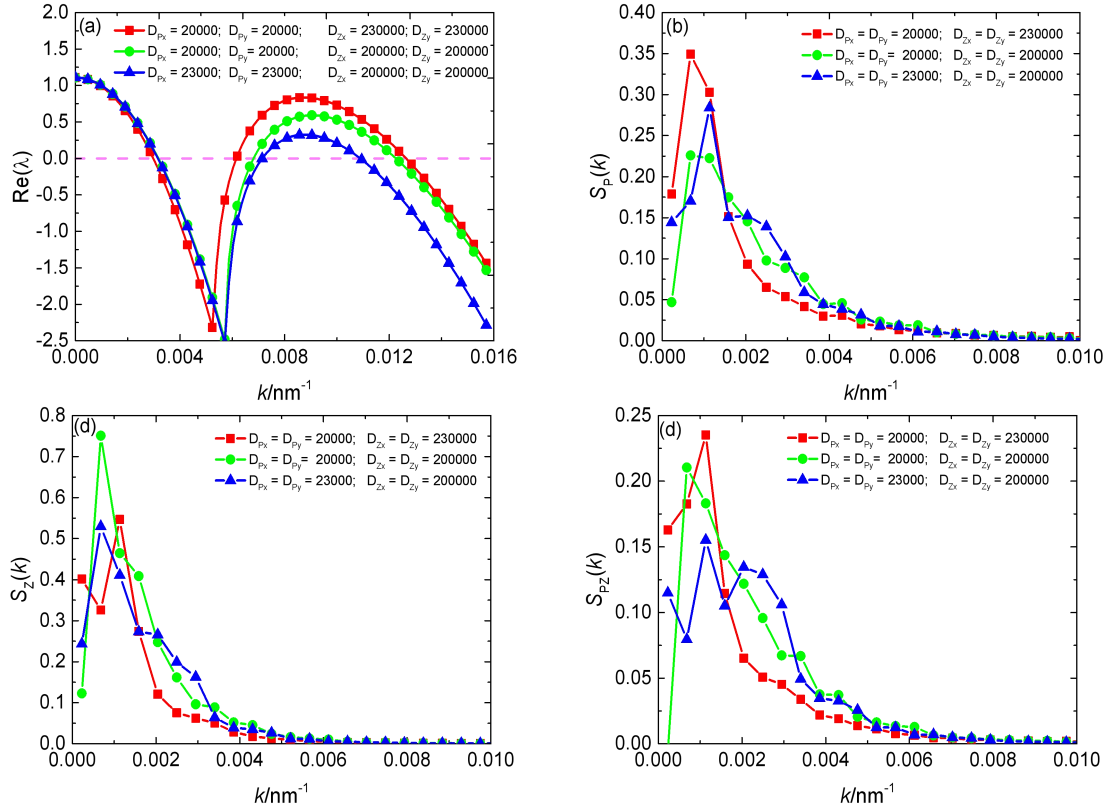


图 3 $n_1 = 9$ 、 $n_2 = n_3 = 8$ 时, 不同 D_{Px} 、 D_{Py} 、 D_{Zx} 、 D_{Zy} 条件下, $\text{Re}(\lambda)$ 随波数的变化关系 (a), 以及 P、Z 静态结构因子 ($S_P(k)$ 、 $S_Z(k)$) 与 P-Z 交叉静态结构因子 ($S_{PZ}(k)$) 随波数的变化关系 (b-d). 其中, $\zeta = 0.01$ 、 $\xi = 1.0$.

Fig. 3. When $n_1 = 9$, $n_2 = n_3 = 8$, under conditions of different D_{Px} , D_{Py} , D_{Zx} , D_{Zy} , the distribution of $\text{Re}(\lambda)$ with wavenumber (a), as well as the distribution of P and Z static structure factors ($S_P(k)$ 、 $S_Z(k)$) and P-Z cross static structure factor ($S_{PZ}(k)$) with wave number. In

(a)-(d) $\zeta = 0.01$ and $\xi = 1.0$.

扰动增长率 $\text{Re}(\lambda)$ 体现了体系的稳定性特征, 揭示了系统对空间扰动的响应特性^[26]; 静态结构因子 $S(k)$ 则表征有序程度与关联强度^[27]. 从图 3a 可以看出, 扰动增长率 $\text{Re}(\lambda)$ 随波数 k 均呈先下降小于零, 然后上升至大于零再下降的非单调变化, 均存在特征临界波数 (最大扰动增长率对应的波数). 在高波数区域, 当 $D_{Px} = D_{Py} = 20000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 、 $D_{Zx} = D_{Zy} = 230000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 时,

$\text{Re}(\lambda)$ 随波数 k 分布整体偏大、峰值更高；当 $D_{\text{Px}} = D_{\text{Py}} = 23000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 、
 $D_{\text{Zx}} = D_{\text{Zy}} = 200000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 时，扰动增长率随波数 k 分布偏小、峰值最低。并且对于不同扩散系数，扰动增长率对应的临界波数几乎相同。这是由于，在较快扩散条件下，Z 最快地从均匀吸附状态聚集于 P 周围，并开始形成环状结构。反之，当扩散较低时，相分离启动较慢。由此表明，扩散性通过对相分离凝聚“速率”的调控，P、Z 都倾向于（但不一定）形成类似特征尺寸的凝聚体。从图 3a 还可以看出，在低波数区域，对于不同的扩散特性，扰动增长率随波数 k 分布轻微不同。这是由于，在低波数区域，P、Z 浓度几乎均匀，扩散效应不明显，P 介导 Z 在膜表面相分离凝聚，完全由反应动力学（P 的锚定、P-Z 多价相互作用等）决定。图 3b、3c、3d 显示的 $S_{\text{p}}(k)$ 、 $S_{\text{z}}(k)$ 随波数 k 的变化与 $S_{\text{pz}}(k)$ 一致，均在较小波数呈现峰值，其峰值波数小于图 3a 中扰动增长率峰值波数。由此表明，体系最显著的密度涨落实际发生在较大尺度。这是因为当 P 和 Z 通过特定的反应-扩散，小尺度的浓度涨落会迅速被放大，P-Z 多价相互作用和膜介导的有效吸引倾向于形成较大尺度的凝聚体（如图 2a、2b、2c 中连续的环状带）。

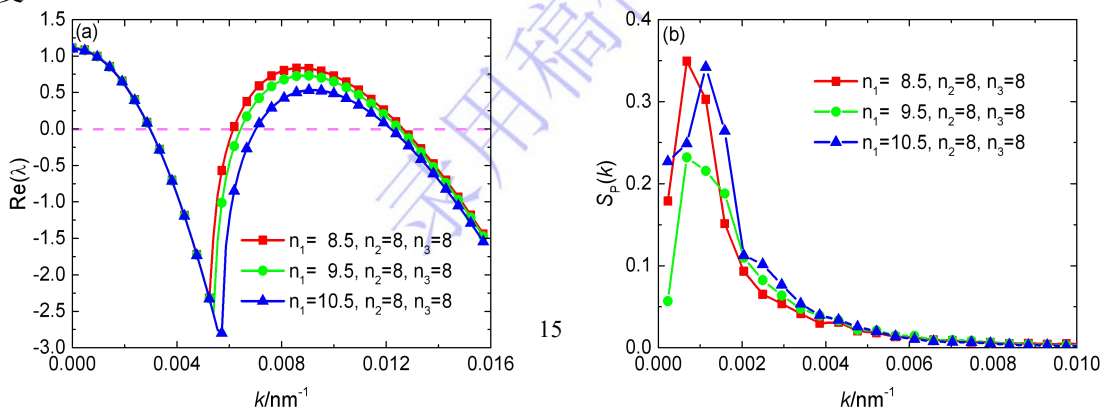
从图 3b 可以看出，当 $D_{\text{Px}} = D_{\text{Py}} = 20000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 、
 $D_{\text{Zx}} = D_{\text{Zy}} = 230000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 时， $S_{\text{p}}(k)$ 峰值最高；当
 $D_{\text{Px}} = D_{\text{Py}} = 20000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 、 $D_{\text{Zx}} = D_{\text{Zy}} = 200000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 时， $S_{\text{p}}(k)$ 峰值最低、较为平缓。这是由于，Z 的低扩散性会限制 P 的分子输运，致使其局部富集的数量密度差减小，空间关联程度降低，凝聚体内部结构有序性减弱。增加 P 的扩散性，则会在一定程度抵消 Z 对 P 的扩散限制。因此，当
 $D_{\text{Px}} = D_{\text{Py}} = 23000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 、 $D_{\text{Zx}} = D_{\text{Zy}} = 200000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 时， $S_{\text{p}}(k)$ 介于上述两者之间。从图 3c 可以看出，当 $D_{\text{Px}} = D_{\text{Py}} = 20000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 、
 $D_{\text{Zx}} = D_{\text{Zy}} = 200000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 时， $S_{\text{z}}(k)$ 峰值最高最陡峭，与 $S_{\text{p}}(k)$ 相比，在

此条件下 Z 的结构因子峰值更高. 这是因为 Z 作为紧密连接的核心结构蛋白, 其不仅能通过自身多价相互作用自聚集, 还能在 P 的介导下实现定向聚集. Z 的聚集有序性是与 P 介导的多价相互作用, 以及通过与膜中各组分相互作用的协同结果, P 、 Z 匹配的扩散使 Z 能快速被 P 募集至扰动区域 (Z 高于 P 的聚集有序性确保 P 作为结构蛋白能形成稳定的凝聚相); 另外, 图 3b 与 3c 中 $S_p(k)$ 与 $S_z(k)$ 峰值对应的相分离最优波数高度重合, 保证了调控因子 P 与结构蛋白 Z 的精准结合, 以及 P 与 Z 在膜表面相分离凝聚的最优尺度下实现高效耦合, 使 P 的膜锚定作用能高效转化为 Z 的凝聚延伸成环. 图 3d 显示, 当 $D_{px} = D_{py} = 20000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 、 $D_{zx} = D_{zy} = 230000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 时, $S_{pz}(k)$ 峰值最高最陡峭; 当 $D_{px} = D_{py} = 23000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 、 $D_{zx} = D_{zy} = 200000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 时, $S_{pz}(k)$ 峰值最低、较为平缓. 并且, 不同扩散条件下, $S_{pz}(k)$ 对应的峰值波数不同 ($S_p(k)$ 与 $S_z(k)$ 也呈现类似特征), 这是由于 $S_{pz}(k)$ 与 P - Z 的耦合聚集强度正相关; Z 较高的扩散使 P 、 Z 能在同一小尺度 (高波数) 区域快速实现耦合聚集, 共定位程度更高, 凝聚体结构内部非常有序.

本节分析表明, P 与 Z 通过扩散形成的耦合聚集, 完全依赖于体系的有效相分离过程, P 、 Z 特定的扩散性可在一定程度上精准调控相分离凝聚的启动效率与空间尺度 (图 2a、2b、2c 中均呈现类似环状结构).

3.3 膜锚定调控特征长度

本小节深刻探究膜对 P 的锚定作用, 调控 Z 在膜表面相分离凝聚的特征长度.



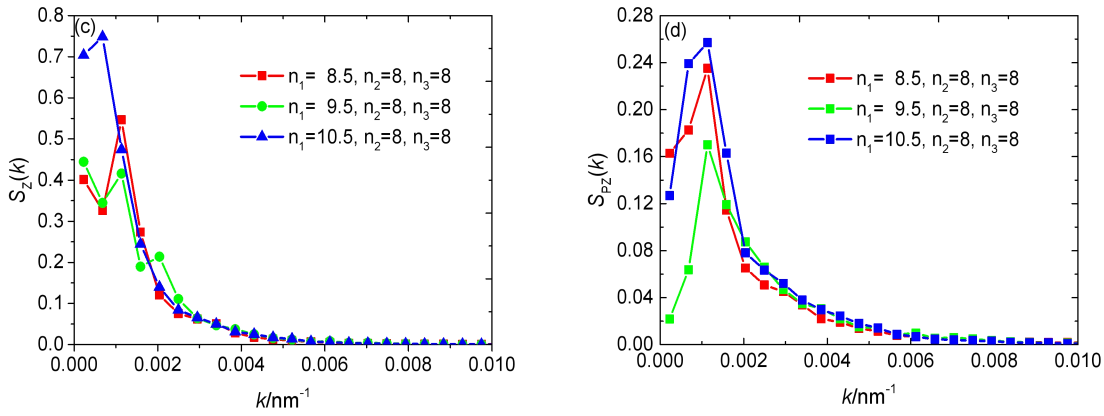


图 4 $D_{Px} = D_{Py} = 20000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 、 $D_{Zx} = D_{Zy} = 230000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 、 $n_2 = n_3 = 8$ 时，不同 n_1 条件下 $\text{Re}(\lambda)$ 与 $S_p(k)$ 、 $S_Z(k)$ 、 $S_{pZ}(k)$ 随波数的变化关系. 其中 $\zeta = 0.01$ 、 $\xi = 1.0$

Fig. 4. When $D_{Px} = D_{Py} = 20000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ ， $D_{Zx} = D_{Zy} = 230000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ ， $n_2 = n_3 = 8$ ，the distribution of $\text{Re}(\lambda)$ ， $S_p(k)$ ， $S_Z(k)$ and $S_{pZ}(k)$ with wave number under different n_1 conditions. In (a)-(d) $\zeta = 0.01$ ， $\xi = 1.0$.

图 4 显示了在特定的扩散、不同 n_1 条件下扰动增长率 $\text{Re}(\lambda)$ ，以及 P-Z 交叉静态结构因子 $S_{pZ}(k)$ 随波数的变化关系. 从图 4a 可以看出， n_1 值越大，曲线整体向下偏移， $\text{Re}(\lambda)$ 峰值越低，且峰值对应的波数向较大波数轻微偏移(图 4b 也显示当 $n_1 = 10.5$ 时， $S_p(k)$ 峰值对应的波数最大). 这是由于，P 在膜表面的锚定强度越强，P 被膜定域束缚程度越高，对膜表面局域浓度的微小随机扰动抑制能力越强，系统动力学稳定性提升. 另外，P 在膜表面的锚定强度增强，还会导致 P 被定域固定，位置更均匀，相分离倾向于在更小空间尺度凝聚被触发.

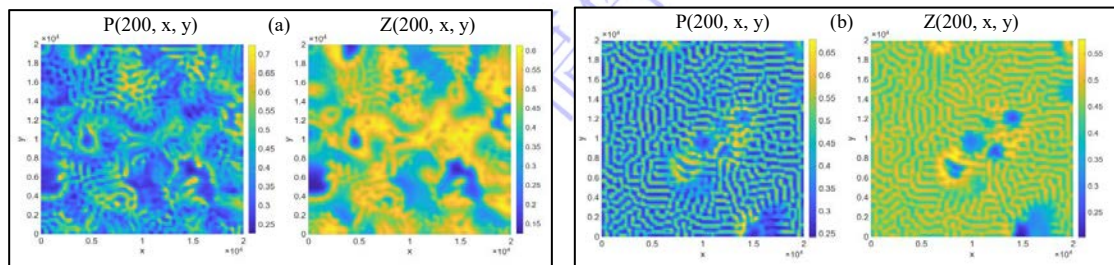
从图 4b-4d 可以看出，当 $n_1 = 9.5$ 时 $S_p(k)$ 、 $S_Z(k)$ 、 $S_{pZ}(k)$ 峰值最小，由此表明 P 与膜的锚定协同作用会导致相分离呈现“动力学转变”状态. 当体系处于这种状态时，P 的锚定强度不足以提供非常稳固的调控模板，但又会限制膜对 P 的动态调整能力. 这就导致 P 的分布既无法有效分散以响应多点的 Z 聚

集，又不能紧密协同形成强引导调控 Z 聚集凝聚。由此导致 P 与 Z 的耦合成效、有序性降低。当 $n_1 = 8.5$ 时， P 与膜的结合较弱， P 在膜表面分布较为弥散、动态性高，容易因扰动成核。此时，系统的空间关联强度可处于中等水平，导致静态结构因子 $S_Z(k)$ 、 $S_{PZ}(k)$ 峰值适中。当 $n_1 = 10.5$ 时， P 与膜的锚定协同性很强。 P 分子被稳固地锚定在膜的特定位置点，形成明确、稳定的募集中心。 Z 蛋白被有效地募集到 P 周围，形成局部高度有序、关联极强的凝聚调控作用，在凝聚体特征尺度内，空间有序性极高。因此，静态结构因子 $S_Z(k)$ 、 $S_{PZ}(k)$ 在特定波数（对应其特征凝聚尺度）上出现非常尖锐和高强度的峰值。另外，增强的膜对 P 锚定，可使得 P 在膜表面的定位更精准、分布更均匀，为 Z 的聚集提供更规整的调控， P - Z 之间的长程空间关联与耦合聚集强度显著提升，小尺度凝聚区内的共定位程度更高，凝聚体内部有序性增强。同时，膜对 P 的锚定与 P - Z 多价相互作用形成协同效应，强化膜表面润湿转变进程，推动 Z 凝聚体从分散化分布向连续化带状、环状结构转变，提升紧密连接环的完整性与封闭性。

由本节分析表明，膜锚定强度通过调控 P 的空间分布与定域稳定性，间接优化 P - Z 耦合聚集效率，决定相分离凝聚的最优空间尺度与结构规整度。

3.4 P - Z 协同作用调控连通性

为了进一步探究 P 对 Z 聚集凝聚的正协同调控特性，我们能考察不同 n_3 条件下， Z 相分离凝聚体的结构与空间分布。



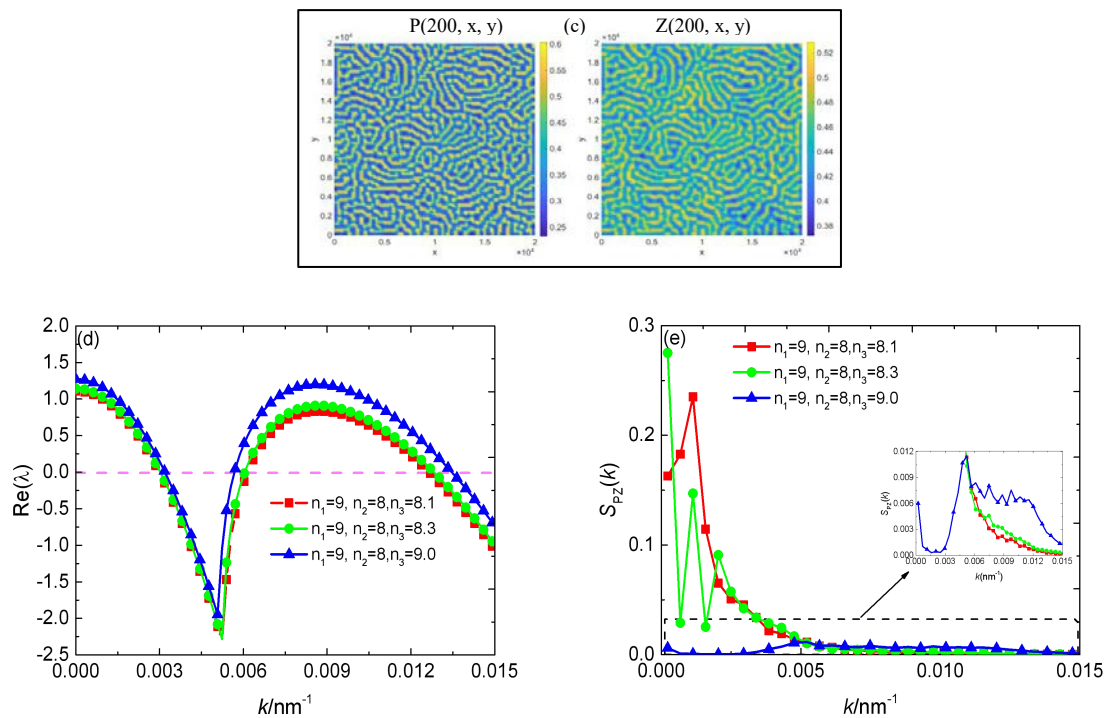


图 5 $t = 200 \text{ min}$, $D_{Px} = D_{Py} = 20000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 、 $D_{Zx} = D_{Zy} = 230000 \text{ nm}^2 / \text{min}$ 、 $n_1 = 9$ 、 $n_2 = 8$ 时, 不同 n_3 条件下 P 与 Z 相对浓度的空间分布 (a-c), 以及 $\text{Re}(\lambda)$ 与 $S_{PZ}(k)$ 随波数的变化关系 (d-e). 其中 $\zeta = 0.01$ 、 $\xi = 1.0$.

Fig. 5. When $D_{Px} = D_{Py} = 20000 \text{ nm}^2 / \text{min}$, $D_{Zx} = D_{Zy} = 230000 \text{ nm}^2 / \text{min}$, $n_1 = 9$, $n_2 = 8$, the spatial distribution of the relative concentrations of P and Z at $t = 200 \text{ min}$ (a-c), and the distribution of $\text{Re}(\lambda)$, $S_{PZ}(k)$ with wave number under different n_3 conditions(d-e). In (a-e) $\zeta = 0.01$, $\xi = 1.0$.

从图 5a-5c 可以看出, 当 $n_3 = 8.1$ 时, P 以片区形式分布于膜表面, Z 与 P 分布区域相似, 但是分布区内相对浓度较大, 表明 Z 在 P 调控作用下形成片区状凝聚分布状态; 当 $n_3 = 8.3$ 时, P 沿膜表面特定方向融合, 形成不连续的带状凝聚, 空间分布的连续性提升, 表明 Z 随 P 的分布通过实现凝聚体的连接, 形成带状凝聚结构; 当 $n_3 = 9$ 时, P 完全融合为全域性的带状/环状连续结构, 膜表面 P、Z 的浓度梯度大幅降低, 实现均匀锚定分布; 由此表明, Z 的高浓度区与 P 的高浓度区实现完全精准共定位, Z 在 P 的连续模板引导下, 形成闭合、连续的带状/环状凝聚结构. 这是由于, P 分子与 Z 分子结合后产生的协同效应

越强（ n_3 越大），会显著提升 P 对 Z 的调控能力，使 P 对 Z 的调控过程从“随机分散结合”转变为“集体协同调控”；另外，膜表面的润湿转变进程与 P 对 Z 聚集凝聚的协同调控呈正相关，协同调控增强（ n_3 增大）使系统从高自由能的片区化分布，逐步演化为低自由能的连续有序分布状态，最终实现 P-Z 的精准共定位与结构稳定。由此进一步表明，P 是 Z 凝聚体延伸成环的核心启动因素，增强 P-Z 协同作用（ n_3 从 8.1 增加至 9.0 时）可促进凝聚体结构从分散结合向连续有序结构的演化。由此机制，细胞可通过修饰 PATJ 的 PDZ1/PDZ6 结构域（介导 P-Z 相互作用）改变 P-Z 多价相互作用，精准控制紧密连接从碎片化到连续化的组装过程，实现组装屏障功能的时空特异性构建。

从图 5d 可以看出，不同波数对应的 $\text{Re}(\lambda)$ 随 n_3 增大而升高（即 $n_3 = 8.1 < n_3 = 8.3 < n_3 = 9.0$ ）。这是由于，较强的 P 对 Z 协同调控的增强会提升凝聚结构动力学稳定性。由此表明，P 对 Z 聚集的正协同能定量调控系统的扰动衰减能力。然而，调控 Z 的相分离凝聚始终依赖 P 的主动介导。因此，Z 的相分离凝聚是典型的凝聚物介导的非平衡态过程，其聚集行为完全由 P-Z 多价作用协同膜表面调控驱动，这一特征确保 P 与 Z 在细胞膜表面的精准时空组装。从图 5e 可以看出，随 n_3 增大而升高（即 $n_3 = 8.1 < n_3 = 8.3 < n_3 = 9.0$ ）， $S_{PZ}(k)$ 峰值呈现多样化特征，由此对应 5a-5c 中 P、Z 凝聚体分布的共性趋势与显著的尺度依赖性。这是由于，P-Z 的耦合聚集是受 P 的协同锚定及 P-Z 多价相互作用共同调控的介观尺度有序过程，随着 P 对 Z 调控作用增强（ n_3 增大），P-Z 协同膜的表面作用使二者形成强长程空间关联，提升了 P-Z 的耦合聚集程度、结构有序性及长程空间关联特性；

本小节分析表明，P 对 Z 的调控具有尺度选择性，其主要作用于介观尺度的连续结构形成。P 对 Z 的调控使得 P-Z 耦合有序且定量精准，在调控过程中，

细胞膜也会对 P-Z 耦合聚集程度进行精准控制，促使紧密连接环的有序性与完整性.

综上所述可得，P-Z 在分子尺度的耦合关联，是 Z 在膜表面凝聚紧密连接环、保持生理功能可塑性的核心要素，分子尺度的动态可逆结合使紧密连接环，可根据细胞生理状态（如上皮细胞的增殖、迁移、组织修复）进行快速的重组、解离与重塑，避免凝聚体结构固化导致的细胞功能丧失，同时也符合生物分子在膜表面 LLPS 凝聚特征，该特征揭示了膜表面微环境调控生物分子耦合聚集的普遍物理规律.

4 总结

本文结合粗粒化分子动力学模拟与反应-扩散动力学理论模型，系统深入研究了 P 介导膜表面促进 Z 动态聚集的物理机制、动力学规律及关键调控因素. 首先，基于分子动力学模拟，进一步确认了 Z 的初始凝聚成核具有独立性，P 是 Z 凝聚体延伸成环的核心启动者与必要调控因子，推动 Z 紧密连接环经历“初始成核-延伸融合-成熟成环”的分步组装过程；其次，基于反应-扩散动力学，建立了 P 介导膜表面促进 Z 聚集的非平衡动态物理模型，深化了对 Z 在膜表面紧密连接环形态发生的生物物理理解，揭示了细胞膜及膜锚定组分精确调控生物大分子相分离凝聚的普遍原理. 本文研究不仅为理解细胞内无膜细胞器的结构形成与功能调控提供了通用的生物物理框架，还为多组分生物大分子体系的动态相分离研究提供了新的理论模型与研究方法.

参考文献

- [1] Zhao Y G, Zhang H 2020 *Dev. Cell.* **55** 30
- [2] Ditlev J A 2021 *J. Mol. Cell. Biol.* **13** 319
- [3] Case L B, De Pasquale M, Henry L, Rosen M K 2022 *Elife.* **11** e725881
- [4] Agudo C J, Schultz S W, Chino H, Migliano S M, Saito C, Koyama H I, Stenmark

- H, Brech A, May A I, Mizushima N, Knorr R L 2021 *Nature* **591** 142
- [5] Zhao X P, Bartolucci G, Honigmann A, Jüliche F, Weber C A 2021 *New J. Phys.* **23** 1230031
- [6] Morin J A, Wittmann S, Choubey S, Klosin A, Golfie S, Hyman A A, Jülicher F, Grill S W 2022 *Nat. Phys.* **18** 271
- [7] Rouches M N, Veatch S L, Machta B B 2021 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **118** e21034011181
- [8] Liu Z, Yethiraj A, Cui Q 2023 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **120** e22125161201
- [9] Weakly H M J, Keller S L 2024 *Biophys. J* **123** 1329
- [10] Su X, Ditlev J A, Hui E, Xing W, Banjade S, Okrut J, King D S, Taunton J, Rosen M K, Vale R D 2016 *Science* **352** 595
- [11] Litschel T, Kelley C F, Cheng X, Babl L, Mizuno N, Case L B, Schwille P 2024 *Nat. Commun* **15** 4986
- [12] Bagheri Y, Rouches M, Machta B, Veatch S L 2026 *Nat. Chem. Biol.* **Advance online publication**. <https://doi.org/10.1038/s41589-025-02082-0>
- [13] Pombo G K, Adame A O, Martin L C, Jülicher F, Honigmann A 2024 *Nature* **632** 647
- [14] Zhu Y L, Liu H, Li Z W, Qian H J, Milano G, Lu Z Y 2013 *Comput. Chem* **34** 2197
- [15] Zhu Y L, Pan D, Li Z W, Liu H, Qian H J, Zhao Y, Lu Z Y, Sun Z Y 2018 *Mol. Phys.* **116** 1065
- [16] Adachi M, Hamazaki Y, Kobayashi Y, Itoh M, Tsukita S, Furuse M, Tsukita S 2009 *Mol. Cell. Biol.* **29** 2372
- [17] Lye M F, Fanning A S, Su Y, Anderson J M, Lavie A 2010 *J. Biol. Chem.* **285** 13907
- [18] Wilmott Z M, Goriely A, Raff J W 2023 *PLoS Biol.* **21** e3002391.
- [19] Zhao X J, Li J Z, Jiang Z Y 2021 *Acta Phys. Sin.* **70** 208701 (in Chinese) [赵新军, 李九智, 蒋中英 2021 物理学报 **70** 208701]
- [20] Roskoski R, Ritchie P A 2001 *Biochemistry* **40** 9329
- [21] Gao Z F, Peng Q H, Wang N, Chou C K 2012 *Chinese Physics B* **21**(5) 542
- [22] Gao Z F, Wang N, Song D L, Yuan J P, Chou, C K 2011 *Astrophys. Space Sci.* **334** 281
- [23] Ibañes M, García O J, Toral R, Sancho J M 1999 *arXiv cond-mat/9905411v1* [cond-mat.stat-mech]
- [24] Phair R D, Misteli T 2000 *Nature* **404** 604

- [25] Kinoshita M, Hayashi T, Nakamura Y, Yoshimori A, Katahira M, Nagata T 2025 *J. Mol. Liq.* **424** 1270401
- [26] Muolo R, Hastir A, Nakao H 2024 *arXiv* 2404.16252 [math.OC]
- [27] Li Z Q, Lei Q L, Ma Y Q 2025 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **122** e2421518122

Modeling Study on Condensed Matter Mediated Membrane Surface Regulating Proteins Connecting into Rings

GUO Xiuzhen¹⁾²⁾ HAN Tuodi¹⁾²⁾ LIU Yufei¹⁾ MA Beibei²⁾ ZHAO Xinjun¹⁾²⁾†

JIANG Zhongying²⁾†

1) (Xinjiang Laboratory of Phase Transitions and Microstructures in Condensed Matters, College of Physical Science and Technology, Yili Normal University, Yining, Xinjiang, 835000, China)

2) (Laboratory of Micro-Nano Electro Biosensors and Bionic Devices, Yili Normal University, Yining, Xinjiang, 835000, China)

Abstract

Recent advances in cell biology highlight the crucial role of biomolecular condensates in organizing cellular structures. A landmark study (Pombo-Garcia et al., Nature 2024) showed that the scaffold protein PATJ (P) undergoes liquid-liquid phase separation on the inner leaflet of the plasma membrane. This creates a “prewettted” domain that recruits and organizes ZO-1 (Z) proteins into ring-like tight junctions. While this discovery provides a compelling physical picture, it also raises deeper questions. Specifically, we still lack a quantitative understanding of several key aspects. These include the kinetic pathway from dispersed Z condensates to a continuous ring, how the membrane microenvironment (e.g., lipid composition) regulates assembly, and the synergistic interplay between protein diffusion, anchoring, and multivalent interactions. The absence of a predictive theoretical framework hinders both mechanistic insight and the potential to engineer such processes.

To address these challenges, we developed a novel multiscale strategy. Our approach uniquely integrates coarse-grained molecular dynamics (CG-MD) simulations with a reaction-diffusion (RD) theoretical model. The CG-MD simulations, using the Martini force field, explicitly model molecular interactions between P, Z, and the complex cytoplasmic domain membrane (CDM). Complementing this, our RD model is derived from an extended Ginzburg-Landau

free-energy functional that incorporates Hill-type cooperative kinetics. This allows us to describe the macroscopic spatiotemporal evolution of P and Z concentrations on the 2D membrane surface. Together, this dual-scale approach bridges detailed molecular interactions with the emergence of tissue-scale organization.

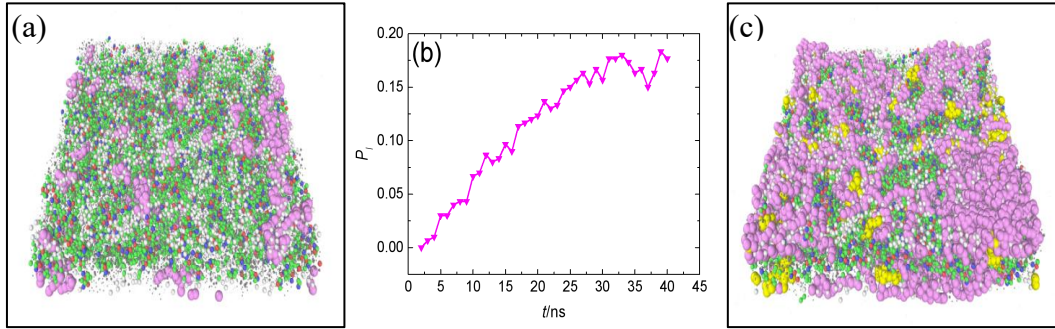


Fig. 1. Snapshots of P-mediated membrane surface microenvironment promoting the cohesive distribution and ring formation of Z on the CDM surface.

The dynamic assembly of Z, orchestrated by P, is directly visualized in our CG-MD simulations, as shown in Figure 1. Panel (a) establishes the baseline: without P, Z proteins form small, dispersed condensates on the CDM. Introducing membrane-anchored P changes everything. When P is anchored to the membrane surface. Panels (b) (evolution of ring formation probability over time) through (c) capture the subsequent kinetic progression. First, P acts as a nucleation site for initial Z aggregation. These nascent clusters then extend and coalesce into elongated bands. Finally, the bands mature and close into continuous, circumferentially aligned rings (b-c). This visual sequence provides clear, molecule-level evidence. It unequivocally establishes P as the essential initiator and spatial director that drives the system from disorder into a precisely structured state.

The predictive power of our theoretical framework is further illustrated by the spatial concentration analysis in Figure 2. This figure shows the 2D distribution of relative concentrations for P and Z on the CDM at $t = 200$ min, a dynamically steady state. The left and right panels depict the concentration fields of P and Z, respectively, with color intensity indicating local concentration. A key observation is the strong spatial correlation: regions rich in P consistently overlap with domains of high Z concentration. This quantitative co-localization directly validates the prewetting and co-condensation mechanism proposed by our model. Moreover, the patterns exhibit a characteristic wavelength and connectivity that

align well with the ring-like structures in Figure 1.

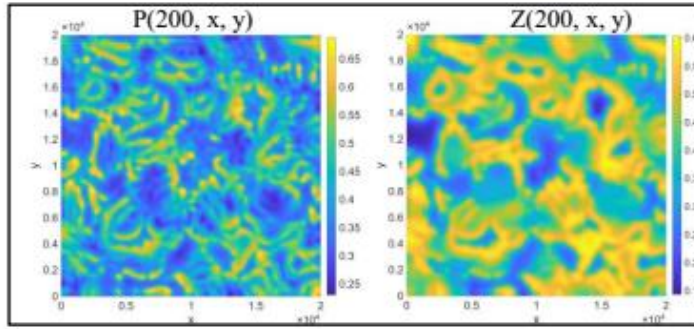


Fig. 2. Spatial distribution of the relative concentrations of P and Z at $t=200$ min.

To extract general physical principles and make quantitative predictions, we solved our reaction-diffusion model analytically and numerically. This analysis yields several key insights. First, the relative diffusion coefficients of P and Z set a characteristic length scale for the phase separation. We find an optimal regime where matched diffusivities lead to efficient coupling and regular patterns. Second, the membrane anchoring strength of P has a non-monotonic effect. Intermediate anchoring maximizes P's dwell time on the membrane, promoting large, stable Z rings. In contrast, overly weak or strong anchoring leads to disorder or kinetic arrest. Third, and most critically, the cooperativity of the P-Z interaction—quantified by the Hill coefficient n —acts as a biological switch. The model predicts a sharp transition to a ring-dominated state when n exceeds a critical threshold (approximately 8.3). This provides a precise, testable criterion for continuous structure formation.

The consistency between our theory and simulations confirms the robustness of our framework. For instance, the characteristic patterns predicted by the RD model's linear stability analysis clearly appear in the simulated concentration fields of Figure 2. Similarly, predicted parameter thresholds, like that for the Hill coefficient, match the morphological transitions seen in the CG-MD snapshots of Figure 1. This agreement across scales confirms that our model captures the essential physics of the interface-driven assembly process.

In conclusion, this study moves beyond qualitative description to establish a quantitative, mechanistic framework for condensate-mediated protein assembly at interfaces. We have clarified the complete kinetic pathway, pinpointed the tripartite regulatory axis of diffusion, anchoring, and cooperativity, and rigorously validated the model through integrated simulation and theory. Our integrated model does more than deepen the understanding of tight

junction formation. It serves as an extensible theoretical tool that offers a new physical perspective for exploring membrane-associated compartmentalization. Furthermore, it provides foundational design principles for engineering synthetic protein assemblies with defined architectures at cellular interfaces.

Keywords: membrane surface microenvironment; protein dynamic phase separation; kinetic model; condensate-mediated ring formation

* Project supported by the Open Research Funding Project of the Condensed Matter Phase Transition and Microstructure Laboratory in Xinjiang for the Year 2025 (Grant No.XJDX0912Z2502), and the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos.12364030, 22163011)

† Corresponding author.E-mail:zhaoxinjunzxj@163.com; jiangzhying@163.com
The first author.E-mail:guoxiuzhen@ylnu.edu.cn

录用稿件，非最终出版稿