

驱动马达力学化学耦合机制研究进展

黎明 欧阳钟灿 舒咬根

Advances in the mechanism of mechanochemical coupling of kinesin

Li Ming Ouyang Zhong-Can Shu Yao-Gen

引用信息 Citation: *Acta Physica Sinica*, 65, 188702 (2016) DOI: 10.7498/aps.65.188702

在线阅读 View online: <http://dx.doi.org/10.7498/aps.65.188702>

当期内容 View table of contents: <http://wulixb.iphy.ac.cn/CN/Y2016/V65/I18>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于变分模态分解-传递熵的脑肌电信号耦合分析

Functional coupling analyses of electroencephalogram and electromyogram based on variational mode decomposition-transfer entropy

物理学报.2016, 65(11): 118701 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.65.118701>

基于心音窗函数的心音图形化处理方法的研究

Research on heart-sound graphical processing methods based on heart-sounds window function

物理学报.2015, 64(5): 058703 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.64.058703>

基于 SPCNN 与改进型矢量 CV 模型的乳腺 X 射线肿块分割方法

Mass segmentation in mammogram based on SPCNN and improved vector-CV

物理学报.2014, 63(7): 078703 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.63.078703>

太赫兹双空芯光纤定向耦合器

Terahertz dual air core fiber directional coupler

物理学报.2013, 62(2): 028702 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.62.028702>

太赫兹双芯光子带隙光纤定向耦合器

Terahertz dual-core photonic band-gap fiber directional coupler

物理学报.2012, 61(10): 108701 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.61.108701>

专题: 软物质研究进展

驱动马达力学化学耦合机制研究进展*

黎明¹⁾ 欧阳钟灿²⁾ 舒咬根^{1)2)†}

1) (中国科学院大学物理科学学院, 北京 100049)

2) (中国科学院理论物理研究所, 北京 100190)

(2016年7月14日收到; 2016年8月2日收到修改稿)

驱动蛋白是细胞内重要的运输机器, 属于平动分子马达. 它有两个主要特征, 其一是持续性, 马达的两个头部在交替步行时至少有一头保持与微管吸附, 因此它能沿微管长距离步进而不脱轨; 另一个特征是马达的力学过程和化学过程是紧耦合的, 即马达每前进一步消耗一个三磷酸腺苷. 上述两个特征要求两个头部的核苷化学态及其与微管的相互作用需通过某个机构来协调统一, 其中的核心问题是力学化学耦合机制, 这也是所有化学驱动分子马达的关键问题. 得益于单分子实验技术和分子动力学模拟技术的发展, 驱动马达力学化学耦合机制的研究在最近十年取得了重大突破. 本文重点从运动学、动力学、协同机制和发力机制等方面介绍驱动马达基础研究的进展及面临的问题.

关键词: 驱动马达, 单分子技术, 力学化学耦合**PACS:** 87.16.Nn, 87.15.rp, 87.15.R-**DOI:** 10.7498/aps.65.188702

1 引言

分子马达是实现化学反应(标量过程)与定向运动(矢量过程)之间相互转化的蛋白酶. 按运动形式可分为转动马达和平动马达. 平动马达可分为持续(processive)和非持续(nonprocessive)马达. 所谓持续马达是指那些沿轨道做长距离定向运动而不脱轨的马达. 如果定义马达在一个化学循环内吸附在轨道所占时间比为“占空比”(duty ratio), 则持续马达的“占空比”接近100%, 可在细胞内独立担当各种任务, 如运输囊泡等. 驱动马达是持续的平动马达, 由于其体积小、结构精妙, 尽管发现较晚, 但研究得最透彻, 是平动分子马达研究领域的“氢原子”^[1].

19世纪80年代, 鱿鱼巨轴突中大的膜被细胞器的双向跳动^[2]现象吸引了科学家的注意. 而后在视频增强差分干涉对比显微镜(video-enhanced

differential interference contrast microscopy: VEDIC)^[3,4]的辅助下, Allen等^[5-7]和Vale等^[8,9]直接观察到鱿鱼巨轴突中30—50 nm囊泡或其他亚微米结构的定向运动现象. 最大的突破是1985年Sheetz小组的研究工作^[10], 他们将鱿鱼巨轴突和牛脑中推动细胞器沿微管运动的“translocator”都分离了出来, 实现了体外的定量研究, 发现鱿鱼巨轴突中的“translocator”与牛脑中是同一类马达, 并与已知的沿微管运动的动力马达(dynein)做了比较, 确认该“translocator”是另一类微管马达, 他们根据希腊字kinein的含义命名该“translocator”为驱动马达(kinesin). 同年Bardy等^[11]也排除了牛脑中的“translocator”是大家熟悉的dynein的可能性. 得益于测序技术的发展, 驱动马达目前已累积了14个家族成员^[12], 可以根据其马达催化域(下文中称为头部)在肽链中所处的位置分为N端或C端马达; 也可以根据马达所含有的肽链的数量分为单体、同型二聚体或异型二聚体等; 还可以根据运

* 国家重点基础研究发展计划(批准号: 2013CB932804)、国家自然科学基金(批准号: 11574329, 11322543, 11105218)和The Joint NSFC-ISF Research Program(批准号: 51561145002)资助的课题.

† 通信作者. E-mail: shuyg@itp.ac.cn

动方向分为微管正向或反向马达. Vale 及其合作者在 1985 年发现的马达被命名为 kinesin-1, 称为传统驱动马达 (下文简称驱动马达, 或 kinesin), 它是同型二聚体 N 端正向马达, 始终是平动马达研究的重点.

上述细胞器运动的体外实验还揭示了一个重要事实: 驱动马达驱动细胞器沿微管运动需要消耗三磷酸腺苷 (ATP). 这意味着驱动马达至少需要三个位点: 其一结合细胞器, 其二与微管相互作用, 其三则是水解 ATP. 为此需要从分子结构上揭示这些位点及其功能. 1988 年, Bloom 等^[13] 和 Kuznetsov 等^[14] 首先揭示了牛脑驱动马达是四聚体结构 (见图 1), 包括两条 120—124 kD 的重链和两条 62—64 kD 的轻链. 进一步研究表明两条重链通过茎区 (stalk) 的 α 螺旋缠绕形成二聚体, 每条重链的一端形成头部 (head), 另一端与轻链构成扇形尾部 (tail). 尾部负责结合细胞器, 头部则包含与微管的作用位点和 ATP 水解口袋^[15]. 1993 年, Song

等^[16] 用克隆和化学交联等方法证明驱动马达头部吸附在 B 型微管的 β 亚基上, 且一个 β 亚基只能作用单个驱动马达头. 显然, 进一步解析头部结构是了解驱动马达运动机制的关键. 1996 年, Kull 等获得了 1.8 Å 的头部晶体结构, 发现它是 α 螺旋以及 β 折叠相互重叠的球状结构, 且 ATP 催化结构域 (口袋) 与另一个大得多的肌球蛋白 (myosin) 的非常类似, 表明两类马达在催化 ATP 水解方面采取了相同的策略^[17,18], 或许是生物进化中保守性的证据之一. 1997 年, Kozielski 等^[19] 获得了驱动马达头部与茎区之间连接的颈链 (neck-linker) 结构 (图 2, $\beta 9$ — $\beta 10$), 并猜测该结构在协调两头交替与微管作用方面发挥重要作用^[20]. 1999 年, Rice 等^[21] 证实颈链在 ATP 水解循环的不同阶段存在不同的状态: 当驱动马达前导头吸附微管并结合 ATP 时, 与其相连的颈链会前倾并与头部结合, 这一现象称为对接 (docking); 当头部 ATP 水解并释放磷酸根 (Pi) 后, 颈链重新变得柔软且无定向. 作者由此猜测颈链对接是马达定向行走的根源.

尽管分子生物学家在驱动马达结构研究方面取得了重要进展, 但这些静态研究还远不足以揭示马达的运动机制. 要理解马达究竟如何动起来, 必须实现对马达运动的直接观测和操控. 这方面的突破得益于 1990 年前后一批单分子技术、尤其是光镊 (optical tweezers) 的出现. 光镊是 1970 年由贝尔实验室的科学家 Ashkin 等^[22] 利用光散射产生梯度力的原理开发出来的单分子操纵技术, 其操纵对象是直径 10—10⁴ nm 的颗粒, 而力的大小 $f = k\Delta x$, 此处 k 是弹性系数, Δx 则是颗粒偏离光阱中心的距离, f 约为 pN (10⁻¹²) 量级. 20 世纪 80 年代末, Ashkin 和 Dziedzic^[23] 首次利用光镊俘获了单个烟草花叶病毒和大肠杆菌, 开启了光镊与生命科学研究相结合的新时代. 从 1993 年开始, Block, Gelles 和 Vale 等小组先后利用光镊开展了驱动马达的细致研究. 因为 pN 量级的施力不但能大大降低测量目标的热涨落幅度, 从而提升测量的时空分辨率, 还能观察不同外力下驱动马达的力学化学的耦合细节. 他们将微管固定在衬底上, 马达尾部连上聚乙烯小珠. 小珠可以被光阱中心俘获, 马达运动的轨迹由小珠轨迹表征, 小珠和光阱中心轨迹可以同时测量. 两者的距离 Δx 表示马达受力的情况 (图 3), 如果光镊位置固定, 则马达受的外力随马达位移 Δx 而变, 光镊被称为位钳 (position

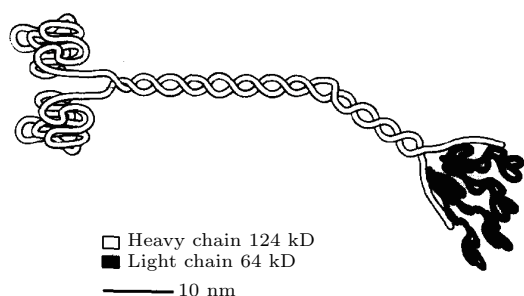


图 1 传统驱动马达的四聚体结构^[15]

Fig. 1. The quaternary structure of bovine brain kinesin^[15].

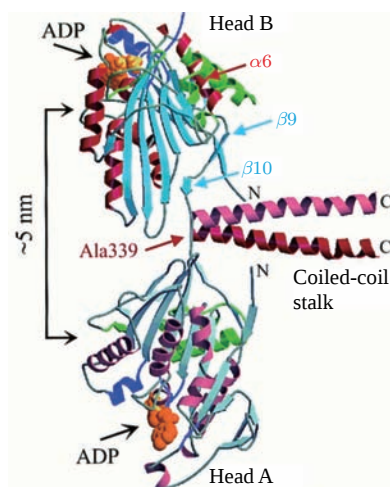


图 2 传统驱动马达晶体结构图^[19]

Fig. 2. The crystal structures of kinesin-1^[19].

clamp); 反之, 如果外围伺服驱动装置驱动光镊随时维持 Δx 不变, 则马达受到恒定的外力, 光镊也被提升为力钳 (force clamp)^[24]. 光镊实验揭示了马达运动的很多重要特征, 例如, 马达并不是在直径为 50 nm 的整个微管表面随机游动, 而是沿着单根原丝 (protofilament) 做直线运动, 并且可以沿微管连续运动 1 μm 左右的距离. 下面我们简要介绍单分子技术在驱动马达运动学、动力学、力学化学耦合机制等方面取得的重要研究成果.

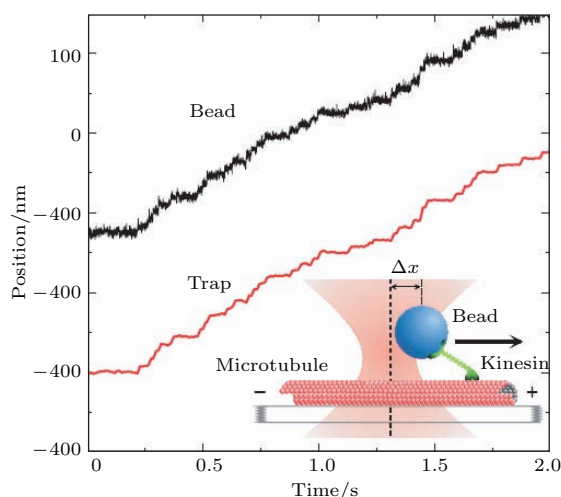


图3 驱动马达的力钳实验装置示意图^[24]

Fig. 3. Single molecule motility experiment of kinesin-1 by force clamp^[24].

2 运动学: 驱动马达是步行马达

1993年, Block小组^[25]用位钳测得的马达轨迹(图4)表明双头驱动马达整体是步进 (stepping) 马达, 步长是 8 nm, 对应于B型微管极性周期. 那么, 马达双头采取怎样的策略实现整体步进呢? 双头是步行还是跛行?

1993年, Song和Mandelkow^[16]用克隆和化学交联等方法已经证明驱动马达头部吸附在B型微管的 β 亚基上, 且一个 β 亚基只能作用单个头部. 考虑到驱动马达两个头部的全同性, 可以合理地推断双头是交替地与微管作用从而产生步行的 (hand-over-hand, HoH). 但2002年, Gelles小组^[26]极具争议的实验引起了对步进模式的质疑. 该实验将马达茎区变短, 从而提高了硬度, 再在茎区末端横向粘上荧光细丝, 作者认为如果马达步行, 则双头交替会带动细丝做180°转动. 实验结果表明细丝转动没有超过45°, 因此作者断言驱动马达是双

头跛行的 (inchworm 或 limping). 该结果引发了一系列实验进行反驳, 最著名的两个反驳实验如下.

2004年, Selvin小组^[27]利用荧光技术对驱动马达其中一头进行标记, 然后用单分子技术观察荧光轨迹, 发现马达其中一头的步长是 16.6 nm, 正好是微管极性周期的两倍 (图5), 表明驱动马达是步行马达. 同年, Howard小组^[28]在体外的运动性 (motility) 实验中测量了底物 (ATP) 和产物 (ADP 和 Pi, 在此充当抑制剂的角色) 相当宽的浓度范围内的马达速度, 通过对实验数据的拟合和分析, 也排除了跛行模式. 马达的这个特征与两段颈链的总长度 (约28个氨基酸, 10 nm) 正好是匹配的: 如果颈链过短, 则马达两头无法同时稳定结合到微管上; 如果颈链过长, 则马达步长将不再是均匀的. 这暗示着马达颈链结构很可能经历了进化优化,

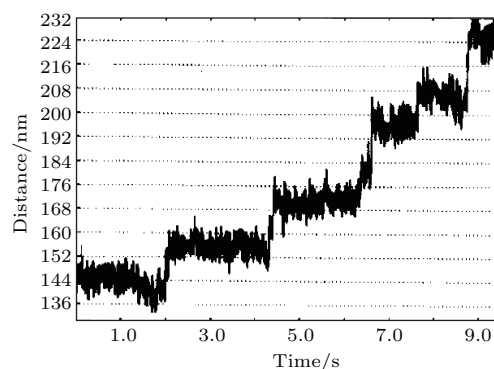


图4 驱动马达 8 nm 步进轨迹^[25]

Fig. 4. The trajectory of 8 nm stepping of kinesin-1^[25].

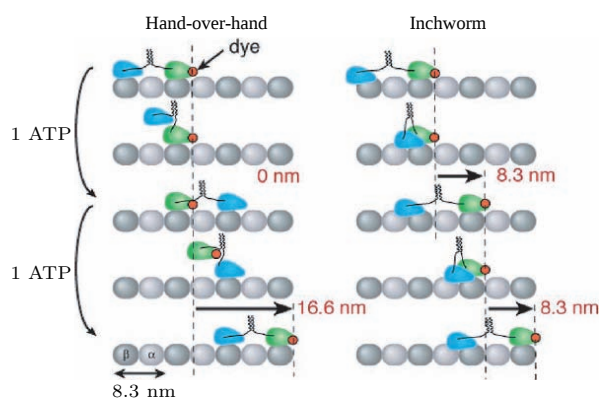


图5 驱动马达步行和跛行原理图, 步行时每个头的行程是马达质心行程的两倍 (16.6 nm), 而跛行时每个头的行程等同于马达质心行程 (8.3 nm)^[27]

Fig. 5. Single molecule experiment for kinesin-1 to distinguish between "hand-over-hand" and "inchworm". The hand-over-hand model (left) predicts that a dye on the head of kinesin will move alternately 16.6 nm, 0 nm, 16.6 nm, whereas the inchworm mechanism (right) predicts uniform 8.3 nm steps^[27].

以保证马达按最整齐、最快捷的步伐前进(这与马达速度优化有关, 后文另有提及).

2010年, Ando 等^[29]利用自己开发的高速高分辨原子力显微镜实时获取了另一个大体积的双头持续马达肌球蛋白 V (myosin V) 的步行影像. 这些结果似乎表明, 双头持续马达的步行模式可能是自然进化所偏爱的模式.

3 动力学: 驱动马达是力学化学紧密耦合马达

大量实验确认驱动马达沿微管定向运动的驱动力是 ATP 水解, 那么, 这两个过程是如何耦合的? 这无疑是驱动马达乃至所有分子马达研究中的核心问题. 从物理学看, 耦合问题的实质是: 分子马达如何将标量过程(化学反应)转化为矢量过程(定向运动)? 简单地说, 产生定向运动意味着空间方向发生对称性破缺, 而标量过程本身并不具备任何方向性. 那么, 分子马达如何可能定向运动? 答案非常简单: 马达运动必须依附于轨道, 只要其与轨道之间的相互作用非对称即可. 具体到驱动马达, 就要求其行走的轨道(微管)必须是前后不对称的, 这使得马达两个头部都按明确的同一指向与微管上的 β 亚基结合, 导致马达的两个亚基(一前一后)构象有别(如图 5), 于是马达就可能产生前后不对称的构象变化并进一步转化为定向运动. 这就是轨道极性对于马达运动的根本意义.

为了更深入地理解力学化学耦合的一般性原理, 人们提出过不少想法和模型. 其中, 等温化学棘轮学说最为清晰、简练地反映了标量过程与矢量过程耦合的实质(可参阅文献^[30]), 是理解分子马达的重要概念框架之一. 广义棘轮学说(与下文提及的布朗棘轮模型区分)的要点大致如下: 马达所催化的化学反应并不直接推动马达运动(极小尺度上的化学事件无法导致分子的大尺度定向形变), 而是赋予马达不同的内部化学状态(例如 ATP 结合态、ADP 结合态、空态等); 处于不同内部态的马达与轨道的非对称相互作用势也不同(例如亲和能不同), 马达不仅会在各势能面上做单纯的布朗运动, 还会在化学反应驱动下(例如 ATP 结合、ATP 水解、Pi 释放、ADP 释放等, 可参见图 8)在各内部态即各势能面之间跃迁. 理论分析表明^[30], 轨道极性(为运动提供方向性)以及化学过程非平衡(为

运动提供能源)是马达运动的两个充要条件. 当化学反应处于平衡时(态态之间的跃迁均达到细致平衡), 尽管存在轨道极性, 马达分子也只能做单纯的热扩散; 而一旦化学反应处于非平衡(例如活细胞内 ATP 水解反应就远离平衡), 马达分子就会利用轨道极性产生净的定向运动. 换句话说, 化学过程对热运动进行“整流”从而产生定向运动. 这个结论与马达的分子结构、动力学等细节并无直接关系, 因此具有极强的普适性. 以驱动马达为例, 图 5 HoH 模型中后随头向前跨步的关键步骤最充分地展示了这一点. 粗略地看, 当后随头从后方位点脱离后, 会在颈链对接作用下以及颈链约束下做布朗运动, 直到它靠近、对准前方位点并最终与之稳固吸附. 在这一过程中, 与前方位点吸附这一局域“化学事件”(空间尺度约几个 Å)实现了对后随头大范围热运动(若干 nm)的整流.

除了上述原理性讨论, 人们还对驱动马达力学化学耦合的细节进行了深入细致的研究. 实验上的首要问题是确定马达每前进一步消耗的 ATP 的数目, 这个数是固定值还是呈现随机分布? 如果是前者, 那么表明马达的力学化学过程几乎是按确定的模式耦合的, 称之为紧耦合; 如果是后者, 则表明马达是松耦合的.

1997年, Gelles 小组^[31]同时测量了马达步进速度(平均位移除以时间)、ATP 消耗速率与 ATP 浓度的关系, 发现两者都符合米氏关系, 并且马达每一步消耗的 ATP 数目大约为 0.77, 接近于 1(图 6 上), 似乎可由此推测马达是紧耦合的, 而且每前进一步消耗一个 ATP. 但由于实验结果离散性较大, 由此尚不能完全肯定上述推测(例如, 可能每两步消耗 1 个 ATP). 通过更精细的数据统计分析后(图 6 下), 作者进一步确认了马达每走一步消耗一个 ATP. 1999 年, Howard 小组^[32]优化了这种比对方案, 测得马达每步消耗 ATP 的数目约为 1.08, 再次确认了上述结果.

不同于上述研究策略, Block 和 Bustamante 等发展了更精细的单分子实验数据分析方法, 从而完全由单分子实验、而无需借助不确定性较大的 ATP 水解实验来研究上述问题. 由于仅凭马达平均位移的信息并不足以区分某些模型, 因此需要从位移涨落中提取更精细的信息. 为此, 这两个研究组都定

义了无量纲量“随机度”(randomness):

$$r \equiv \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{\langle x^2(t) \rangle - \langle x(t) \rangle^2}{d \langle x(t) \rangle},$$

表征了马达位移涨落与平均值之间的关系, 可以用测得的马达轨迹 $x(t)$ (图4) 直接进行计算 [33–35]. 另一方面, 采用化学主方程方法对马达的运动机制进行建模, 对于不同的模型(例如, 每步消耗一个 ATP 或两个 ATP), 还可以从理论上计算相应的随机度. 将这些理论值与实验测量值进行比对, 就可以判定哪种模型更为合理. Block 等 [36] 的理论分析表明, 只有马达一步消耗一个 ATP 的模型才能很好地拟合随机度的实验数据 (图7 虚线).

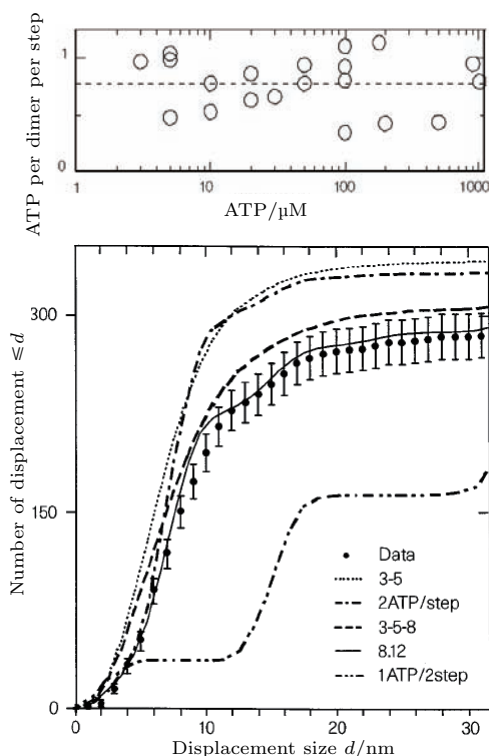


图6 上图为驱动马达每前进一步消耗的 ATP 数目 (ATP 消耗速率乘以步长再除以步进速度), 平均值约为 0.77, 但分布较宽; 下图为不同力化学耦合情况下, 马达位移累积分布之间的比较 [31], 图中标识为 8.12 的实曲线就对应着紧耦合机制, 即马达每前进一步消耗一个 ATP

Fig. 6. Upper, The ratio of the rate of hydrolysis rate of ATP to stepping rate of kinesin-1 is equal to 0.77; bottom, Cumulative histograms of displacements of bead-labelled enzyme compared to histograms calculated for various enzyme mechanisms [31].

2008 年, Vale 小组 [37] 对颈链加长的变异型驱动马达开展了系统的单分子实验. 2011 年, Block 小组 [38] 进一步在高外力条件下对这类变体进行了定量的实验和理论研究. 这些研究都发现, 这类变异型马达的力学化学耦合效率有很大降低, 出现了

无效水解现象, 变成了松耦合. 这反过来表明野生型马达在力学化学耦合方面已经达到了最优化, 也表明颈链部分对耦合效率有着重要的作用.

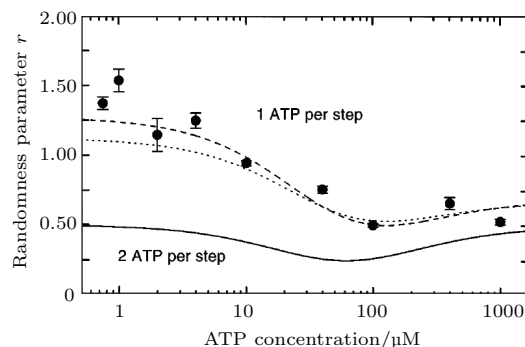


图7 随机度数据分析表明, 驱动马达每步进 8 nm 消耗一个 ATP [36]

Fig. 7. Randomness shows that kinesin-1 consumes one ATP for each step [36].

4 驱动马达两头交替的协同机制

单分子实验不仅确定了驱动马达力学化学耦合的程度, 还揭示了耦合机制中的大量重要细节, 其中一个关键问题是马达两头的异步(out of phase)协同性, 即马达的哪个部件负责协调双头交替步进以维持马达持续性, 且保证每跨一步水解一个 ATP? 生化实验、单分子实验和分子动力学模拟研究表明, 承担这个功能的是由 14 个氨基酸 (amino acid: a.a.) 组成的颈链 (图2, $\beta 9-\beta 10$).

2008 年, Vale 小组 [37] 对颈链进行修饰 (在其 C 端插入不同长度的 spacer 短肽), 对上述问题进行了非常系统的研究. 他们发现马达的速度随 spacer 变长而下降, 步长变得不均一, 且马达每前进一步所消耗的 ATP 数目增加. 由于颈链大致可视为熵弹簧, 当马达两头都与微管结合时, 颈链内部会产生张力. 因此, 上述变化似乎可直观地归结为颈链张力的改变 (之前已有此猜测, 例如文献 [39]). spacer 越长, 张力越小, 马达运动就越慢; 如果对 spacer 进行化学交联, 使得颈链上的张力部分恢复, 则马达速度升高, 这一点也得到了实验的证实. 因此, 可自然地认为颈链张力也是马达双头异步协同性的根源. 颈链张力越小, 两个头部的状态越相近, 则其异步性可能越弱, 两头同时处于弱吸附态的概率会增加, 即马达更容易从轨道脱落. 然而, 实验表明此时马达仍然能够步进, 其持续性并无显著改变, 暗示着两个头部之间的异步性仍然很好. 因此,

颈链在马达运动中可能扮演了很复杂的多重角色(例如杠杆、开关). 关于颈链如何影响甚至决定马达两头的协同性, 至今仍存在着不同理解, 下面介绍两个最典型的假说.

单分子实验揭示马达头部不同的核苷结合态导致其与微管的作用呈现三种不同程度^[37,40]: “弱”吸附的ADP结合态、“中等”吸附的空态和“强”吸附的ATP结合态. 由于两头同时吸附在微管上的状态在整个过程中占很大比例, 从这个状态出发可衍生出两种机制.

1) 力学门控(mechanical gating, 图8左)^[41]: 该机制将颈链内部张力的变化类比于直观的力传递. 当两头都吸附在微管上时, 前导头催化位点为空态, 后随头为ATP结合态, 与微管之间的吸附作用分别为“中”和“强”. 在这种情况下, 两段颈链上会产生拉伸张力. 当前导头结合一个ATP时, 与之连接的颈链会向前倾斜并与头部对接, 这导致一个额外的张力通过整个颈链传递到后随头, 催化后随头上的ATP水解并释放Pi, 弱化了后随头与微管的吸附; 在颈链张力的作用下, 后随头从微管上脱落并向前做有偏布朗运动, 直至吸附到微管上的前方位点, 完成一次跨步. 按照这一设想, 即便没有ATP结合, 只需有正向辅助力也可替代内部张力作用在后随头上, 加速后随头上ATP的水解, 并加速其从微管上脱离. 甚至可以将颈链完全替换为其他spacer, 如DNA^[42], 正向辅助力仍然可以加速后随头从微管脱离. 这些都得到了实验数据的支持^[37,38], 表明颈链张力调控机制似乎是合理的.

2) 化学门控(chemical gating, 图8右)^[32]: 该机制认为是颈链相对前导头的指向控制了头部与ATP的结合. 早期的生物化学研究^[39]发现, 马达催化ATP水解的速率与马达是单头还是双头几乎无关. 将颈链加长^[43], 也发现ATP水解的速率几乎不受影响. 这两个实验意味着颈链张力并不影响ATP水解. 进一步的单分子实验证明, 前导头上颈链后仰会阻碍其与ATP的结合, 只有当后随头上ATP水解使其从微管上脱离后, 导致前导头上颈链构象改变, ATP才能结合到前导头, 这样就造成两头之间的异步协同^[44]. 颈链上的拉伸张力对此协同性没有决定性贡献(例如上面提到的2008年Vale小组的实验), 但可以影响马达的发力以及能量转化效率^[45]. 早期的化学门控模型认为ATP结合触发完全的颈链对接, 导致后随头完全吸附到微

管的前方位点. 而最近Block组更精细的研究表明, ATP结合只触发部分颈链对接, 导致悬空的后随头向前做有偏布朗运动, 但未与前方位点结合. 此后前导头上ATP水解, 完成整个颈链对接, 并使后随头完全吸附到前方位点上^[46].

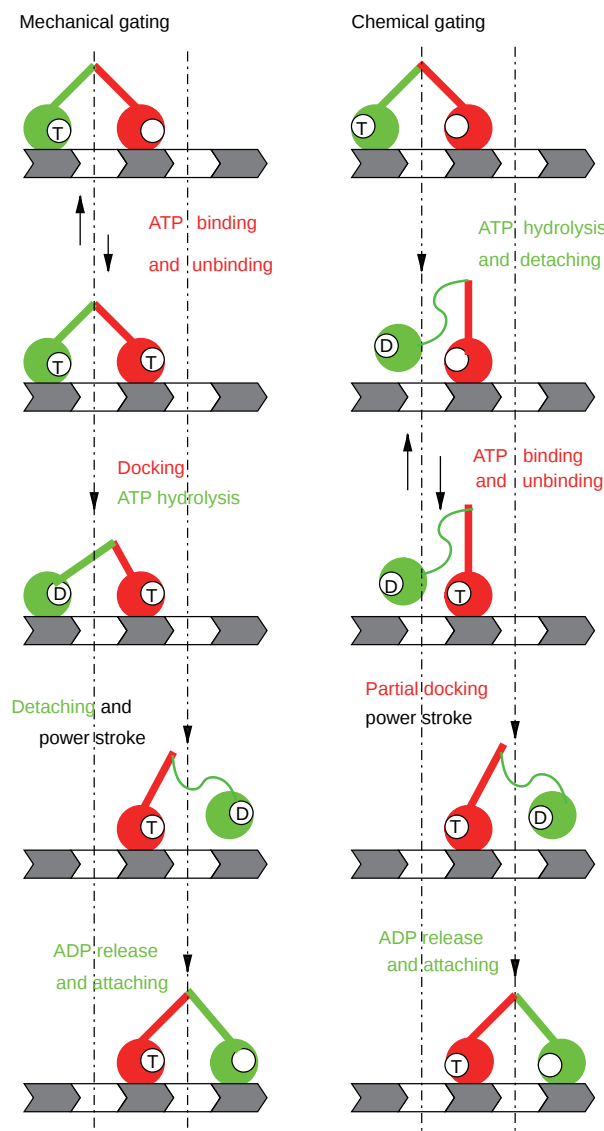


图8 左, 力学门控; 右, 化学门控

Fig. 8. Left, mechanical gating; right, chemical gating.

如果力学门控机制正确, 即颈链上的张力对后随头的脱离很重要, 那么当马达承受正向辅助力时, 后随头应该更容易脱离, 从而使得马达速度增大. 然而实验发现野生型马达在辅助力下的运动速度几乎不变^[47], 意味着力学门控假说对野生型马达是不恰当的. 然而, 2015年Hancock研究组^[48]利用最新发展的高精度单分子观测技术“相干散射显微镜”(interferometric scattering microscopy), 明确观察到当ATP浓度不太低的时候, 马达是在两

头吸附态、而不是在单头(前导头)吸附态中等待 ATP 结合, 而且后随头的脱落也需要 ATP 的结合. 因此似乎倾向于支持“力学门控”机制. 但实验又发现 ATP 水解发生在单头吸附态, 只有当前导头结合的 ATP 水解后, 悬空的后随头才能完全吸附到前方位点, 这一点与上述 Block 组的观测^[46]一致, 似乎又支持“化学门控”机制. 总之, 由于各研究所使用的技术手段、实验条件以及数据分析方法都有差异(例如所涉及的时空尺度不同), 难以得到完全一致的结果. 到底哪种机制更合理, 目前还在争论当中.

尽管颈链张力对马达持续性可能没有决定性作用, 但它能显著影响马达的速度. 当颈链加长时, 其上的张力可能减小, 单分子实验观察到其速度也随之减小^[37,38], 笔者近期的一项理论工作通过一个高度简化的力学化学棘轮模型也分析了这个问题^[49], 对野生型马达颈链的长度(14 a.a.)给出了一个有趣的理解. 由于马达 neck coiled coil 相互缠绕得很紧密、很难撕开^[50], 因此马达两个头部感受到的张力就是颈链(作为熵弹簧)产生的力, 尤其悬空头就是在这个力以及颈链对接作用下做有偏布朗运动. 我们对具有不同长度颈链的马达的运动速度进行了计算和比较, 结果表明, 颈链长度约为 14 a.a. 时, 马达速度显示出最大值. 更短的颈链将导致悬空头难以吸附到前方位点, 使得速度降低; 更长的颈链则使得悬空头结合到后方位点的概率增加, 同样也使速度降低. 因此, 野生型马达的颈链长度很可能也达到了一定程度的进化优化, 以保证马达按最优的速度前进.

5 发力机制: 动力冲程(power stroke)还是布朗棘轮(Brownian ratchet)

前面已经提及, 大量单分子实验表明野生型驱动马达最高能承受约 7 pN 的负载力(又称为失速力, stall force), 并在行走过程中将化学能转化为力学能. 驱动马达对外发力的机制是什么? 分子中哪部分结构具体承担了这个功能? 这些问题也是马达研究中的重要内容, 至今已提出不少模型.

最为直观的是基于力学类比的动力冲程模型(power stroke), 这个想法最早源于对驱动马达结构的观察^[21]. 该模型认为颈链与前导头的对接会

将后随头向前“抛掷”(见示意图 8), 这个过程被形象地称为动力冲程. 由于单分子实验中外力都加载在马达茎区, 在对接步骤中茎区会向前移动一段距离, 因此该模型认为颈链对接就是马达对外发力的根源. 这个移动距离目前还没有直接的实验测量数值. 早期实验中曾报道马达的每一步(8 nm)都含有两个子步(3 和 5 nm)^[51,52], 其中某个子步可能就源于颈链对接, 但这个结果的准确性一直受到质疑. 对茎区移位的直接估计来自于另一项实验研究^[53], 作者通过数据拟合估计这个值约 2 nm. 在近期的一个粗粒化模拟工作中也观察到了这个数值^[54], 其估值为 2—3 nm 左右. 类比于通常的力学经验, 不难理解, 当马达接近失速时, 对外做功的能量就是颈链对接前后的自由能之差. 然而, 按照一些研究的估计, 这个差值仅有 $1-2k_B T$ 左右(约 4—8 pN·nm)^[55,56], 按位移 2 nm 粗略估算, 最多能提供 4 pN 左右的力, 不能解释失速力数值. 当然, 也可认为马达是在后随头的整个跨步过程(茎区位移 8 nm)中发力, 于是可以用后随头从后方位点脱离到与前方位点吸附之间的自由能差来解释失速力. 这个自由能差(包含了颈链对接能量)的估值大约为 $5-7k_B T$ (约 20—28 pN·nm)^[53], 粗略估算也只能提供约 3.5 pN 左右的最大施力, 仍不能解释高达 7 pN 的失速力.

另一个关于失速力的估计源于高度简化的力学化学耦合假设, 将失速力与 ATP 水解自由能直接联系起来. 假设马达可进可退, 而且这两个过程在微观上是互逆的. 于是, 当马达接近失速时, 整个力学和化学过程都接近平衡态, 马达每一步(8 nm)对外所做的力学功近似等于水解一个 ATP 所释放的自由能 $22k_B T$ (88 pN·nm), 由此可估算出对外发力为 11 pN 左右, 远大于实际观测值.

此外, 颈链变异型驱动马达的失速力与 ATP 浓度显著相关^[38], 这是纯力学的动力冲程模型无法解释的; 而野生型驱动马达的失速力与 ATP 浓度无关^[57], 这是简化的力学化学模型不能解释的. 从广义棘轮学说的基本思想出发不难理解为何上述模型都不能准确解释马达的失速力. 按照该学说, 马达发力的来源既包含能量学的因素(马达的构象自由能、与轨道的相互作用势、化学反应释放的自由能等), 也包含动力学的因素(扩散运动、化学反应速率等); 当马达承受外力时, 相关化学反应的速率都发生改变, 而不仅是体系能量态发生改

变,前者对马达发力有实质性贡献.上述两类简单模型都只考虑了系统的能量变化,而忽略了动力学变化.因此,为理解马达失速力,需要诉诸于更复杂的棘轮模型,其中最简单的是布朗棘轮 (Brownian ratchet).前面曾提及,悬空的后随头在颈链约束下做随机运动,并与前方位点吸附.布朗棘轮模型假设,与悬空头自身的布朗运动速率相比,悬空头与后方位点的吸附速率趋于零(悬空头一旦脱离就难以再吸附,近似为反射边界^[58]),而与前方位点吸附的速率趋于无穷大(一旦结合就不再脱离,近似为吸收边界),因此前方位点起到对悬空头热运动整流的作用,使得马达前进并不对外发力(实验可参阅文献^[53];详细的理论分析可参阅文献^[59]).显然,按这个极端模型,马达发力纯粹是由动力学而非热力学决定的.为了调和动力冲程模型和布朗棘轮模型,一些研究者认为马达每一步中都包含了两者,例如近期的一些分子动力学模拟表明,悬空头先是在动力冲程作用下向前移动一段距离,而后在通过布朗运动寻找前方吸附位点,直到最终与之稳定吸附^[45,54].这类混合模型看似更为合理,但为了精确理解驱动马达的失速力,仅对悬空头的运动进行分析是不够的,需要对马达的整个力学-化学耦合过程进行建模和计算.这里值得一提的是最近发表的一篇理论文章^[60],作者从化学反应的微观可逆性原理出发,用化学主方程方法,对马达的化学动力学和热力学进行了非常一般性的讨论,特别是着重分析了动力冲程与马达运动的定向性、失速力以及最优能量效率之间的关系,得到的普适结论是与三者均无关(粗略地讲,这三者从根本上只取决于向前与向后步骤的动力学差异),表明最直观的动力冲程模型在物理上反而是不恰当的.驱动马达利用动力学而非热力学差异来做出向前走还是向后走的选择,这一点非常类似于遗传信息处理过程中的分子机器(DNA复制酶、RNA聚合酶、核糖体等),后者也是利用不同底物在合成速度上的差异而不是热力学自由能上的差异,从而实现了对底物分子的甄别(kinetic proofreading)^[61].动力学选择(kinetic selection)在生物学中很可能是一个普遍现象.

由上述可知,马达发力是一个很复杂的力学-化学综合效应,原则上并不存在着单一结构元件作为发力机构.不过,由于动力冲程模型的流行,人们习惯将颈链视为主要的发力元件,并对此展开了

大量实验和理论研究.1999年,Vale等^[21]使用冷冻电镜、荧光共振能量转移等多种方法首次观察到了颈链对接这一大尺度构象转变,但其分子细节一直不清楚.直到2008年,Karplus等^[45]才第一次用分子动力学模拟的方法研究了颈链对接过程,发现当ATP结合到前导头的结合口袋中时,会触发与之相邻的螺旋 $\alpha 4$, $\alpha 6$ 相继发生构象变化,从而将颈链与前导头上长为9个残基的肽段(cover strand, CS)拉拢,两者大致按照“拉链”的方式结合形成 β 片层结构(cover-neck bundle, CNB),造成颈链对接.作者还粗略估算了形成CNB时对外产生的力,并在一定的假设条件下得到大致为7 pN的失速力(这个值似与实验测量值吻合,但正如前所述,这种基于动力冲程的估算原则上并不正确).2008年,Khalil等^[62]通过实验对CS肽段进行变异或删除,结果表明CS对于CNB的行程不可或缺.实验上对CS进行变异后,马达失速力会降低;完全剔除CS后,失速力会降到1.5 pN.这些都表明CS也是主要的发力元件.当然,如前所述,实验中测到的失速力是多种因素的产物,不太可能仅由CNB来解释.颈链对接的贡献到底有多大,有待于将来更精细的实验加以澄清.

6 马达的后退现象

当驱动马达所承受的负载力较大时,单分子实验发现马达可以反向步行.这种后退(backstepping)现象首先由Block小组在1994年发现^[63].当外力很小时,后退步骤是稀有事件,偶尔夹杂在一系列前进步骤之间.但当马达接近失速时,后退的频率增大,与前进的频率达到平衡.外力继续增大时,后退成为主导.这一现象不仅有趣,而且涉及到对马达步行机制的深入理解,因此引起了广泛关注和研究.

2002年,Yanagida小组^[64]用光镊实验测量了野生型驱动马达在不同负载力、不同ATP浓度条件下前进和后退的现象,发现了两个重要事实:1)不管是在前进过程中还是后退过程中,每一步的等待时间(dwelling time)都随ATP浓度的增加而减少,表明两个过程都被ATP激活;2)马达前进和后退频率之比值并不依赖于ATP浓度,这也表明马达的失速力不依赖于ATP浓度.2005年,Carter和Cross^[57]在更大的力范围内研究了持续的后退现

象,进一步确认了上述事实.这两个事实表明,马达后退过程不可能是前进过程的逆过程.因为如果两者是互逆过程,那么前进过程消耗ATP,后退过程就必然合成ATP,则高浓度ATP会抑制后退过程,这与第一点矛盾.而且,合成ATP是自由能升高的过程,因此从热力学的角度可初步判断这个逆过程发生的可能性很低.相比之下,如果后退过程仍然水解ATP,那么这条反应通路是释放自由能的过程,发生的概率可能会更高.另一方面,正如上一小节分析的,当马达接近失速时,马达对外做功的能量等于ATP水解自由能,因此失速力必然与ATP浓度相关,这与第二点矛盾.因此,野生型驱动马达的完整运动过程不能用简单的可逆反应图描述(例如单圈循环通路图^[65]),而是需要用到更复杂的反应网络图.2007年, Liepelt 和 Lipowsky^[66]首次开展了这方面的系统理论研究,他们对马达前进、后退过程分别进行建模.前进过程与之前已有的模型一致,认为ATP与前导头的结合触发了悬空后随头向前运动.对于后退过程,作者采取了大致镜像的图像,认为ATP与后随头的结合触发悬空的前导头向后运动(后随、前导仍按马达向微管正极方向前进来定义),而且在前进、后退过程中都假设ATP发生水解,由此建立了双圈循环通路图(甚至三圈循环通路图模型).这些模型不仅很好地解释了上述定性事实,而且能定量拟合当时获得的主要实验数据.2009年, Onuchic 等^[67]在对更多实验数据进行细致分析的基础上,改进了Lipowsky等人的后退通路模型(认为后退并非前进过程的镜像,ATP起作用的方式在两个过程中是不同的),对一些之前未曾很好理解的数据给出了更合理的解释.虽然这些理论工作在细节上都还有进一步改进的余地,但它们都强有力地支持了马达后退不是前进的逆过程这一观点.

2008年, Vale 小组^[37]对野生型和突变体(颈链加长)驱动马达持续的受力运动进行了系统的研究,尤其观察到了野生型马达在无任何核苷的溶液中也产生持续的向前或向后的步进,这表明即便没有ATP结合、解离和水解等化学事件,马达都可以在外力作用下产生持续的被动运动.这一结果颠覆了之前认为马达行走必须要核苷参与的观点,对运动建模和数据分析提出了更多的挑战.2009年, Onuchic 等^[67]的理论模型第一次明确纳入了马达

的被动后退行为(尤其在高负载力的情况下),同时也考虑了前进过程的逆过程(其中存在ATP合成),提出了更为复杂的多圈循环通路图,对马达的运动行为进行了更全面的分析.他们的结果表明,在典型的核苷浓度以及外力下,上述两个额外过程基本上可以忽略,只有在极端条件下这些过程才可能变得显著.这也进一步支持了野生型驱动马达“前进-后退”双通路模型.

2011年, Block 等^[38]进一步详细研究了外力作用下马达突变体(颈链加长)后退的运动学,发现在高于失速力的力钳作用下,马达后退速率与ATP浓度的关系符合米氏动力学,由此提出了一个五态模型,其中不仅包含前进、后退通路,而且还引入了一个全新的无效水解通路(马达变成松耦合,即,马达每一步消耗的ATP分子数目不确定),较好地解释了实验数据.最新的一项理论工作对此进行了更深入的剖析^[60],在对突变体与野生型的动力学数据进行拟合及对比后,表明两者在动力学上的差别可以恰当地归结于无效水解,而这仅仅是因为对颈链进行了改动.如果进一步的分析和理论工作能够确认这一点,那这无疑会成为野生型马达趋于进化优化的另一个证据.前面已经提及,颈链的指向对马达两头的异步协同性至关重要;而此处的结果表明,颈链的长度会严重影响力学-化学耦合效率.我们之前的理论工作也暗示颈链的长度与马达速度优化有密切关系^[49].综合这些因素,对于野生型马达来说,颈链可能是决定其功能的最核心元件,它似乎经过进化优化,以保障马达工作在最优状态.

上述实验和理论工作都是针对体外实验体系的,马达的后退行为是否具有真正的生物学意义,目前尚不得而知.如果这的确是体内驱动马达的生物学功能之一(例如与动力蛋白这类反向马达共同运输囊泡,驱动蛋白的后退可以增加运输的协同性),那么马达采取专门的后退机制、而不是直接逆转前进过程的机制,就是非常必要的.如上所述,无论从热力学角度的粗略估计,还是从动力学角度的分析^[67],都表明在有利于ATP水解放能的条件下,后一过程几乎难以发生.至于马达是如何利用自身结构(例如颈链)以及轨道极性来打破这种前进、后退的镜像对称性,未来还需要通过分子动力学模拟等方法进行细节的研究,这些研究甚至有望揭示野生型驱动马达更多的进化优化迹象.

7 总结与展望

驱动蛋白是生物物理学中研究最多最深入的少数几个生物分子马达之一. 自1980年代驱动蛋白被发现以来, 人们已经从结构、运动学、酶学等多方面开展了大量研究, 尤其是在单分子水平上的精细定量研究, 大致厘清了马达运动的机制, 初步揭示了其结构与运动特征之间的关系. 其中有的问题只涉及马达分子构象, 相对来说更容易进行研究, 目前已经有了明确结论. 例如马达的步态问题, 大量单分子实验都表明驱动蛋白(野生型)按照双头交替方式步进, 步长正好为一个轨道周期(8 nm). 又如, 在马达运动中扮演重要角色的颈链对接构象变化, 也在结构研究、分子模拟中明确观察到了. 但如果问题涉及ATP水解反应, 则研究难度就会大大增加. 虽然几个实验一致确认了马达的力学化学紧耦合特征, 但耦合的具体机制目前还有很多细节不清楚. 不同实验方法得出的图像不尽相同, 甚至有很大差异, 例如力学门控和化学门控之争、动力冲程和布朗棘轮之争. 这些争论背后的最关键问题在于目前的实验手段还无法直接同时观察马达的每个动作以及相应化学态的改变. 尽管从理论上存在着这种可能, 例如未来的冷冻电镜技术或许可以获取马达行走过程中的主要构象并解析ATP催化口袋的状态(空态、ATP结合态、ADP结合态等), 但目前看来仍是一个巨大的挑战.

另一个还未得到澄清的重要问题是马达的能量学. 野生型驱动马达在一个力学化学耦合循环内水解一个ATP, 释放的自由能为80 pN·nm(生理条件下). 但它对外做功的上限是56 pN·nm(接近失速时), 最大能量转化率只有70%左右.(与之相比, 旋转马达ATP合酶正/反转可以合成/水解ATP, 两者是互逆的过程^[68,69], 因而在接近失速时马达几乎处于平衡态, 其能量转化效率可以达到100%^[70,71].) 由此可以推断驱动马达的水解、合成不是互逆过程, 马达始终工作在非平衡定态而不是接近平衡态(前文指出, 这一点已获得了不少实验和理论工作的确认). 换句话说, 即便在接近失速的条件下, 马达的工作循环中也至少有一步是不可逆的. 那么, 到底是哪个或哪些不可逆步骤消耗了这30%的剩余自由能? 根据前面描述的马达行走机制, 我们猜测这些自由能很可能损耗在后随头上

ATP水解、以及后随头脱离微管这两个步骤中, 因为其他步骤在外力作用下都可以达到平衡, 而这两个步骤几乎不受负载力的影响, 即便在马达失速时, 这两个步骤都可能是不可逆的. 类似这样的推测还有待更多定量的实验和理论模拟研究来证实. 如何对马达结构进行改造从而提升其能量转化率(或至少提高失速力)? 这一问题对于深入理解和优化驱动马达的结构与性能都是非常重要的. 然而, 由于能量学参数比运动学参数更难测量, 目前还很难开展精确的能量学分析, 因此上述问题还未得到深入的研究. 这也是未来驱动马达研究中的重点、难点之一, 要求发展更新的实验测量技术以及更精确的分子模拟技术.

除上述基本问题外, 还有一个理论技术问题有待解决. 前文中我们没有专门讨论分子马达研究中的理论方法. 这里我们只想指出, 目前看来化学主方程方法依然是马达建模和实验数据分析中最直观、最便捷的方法. 尽管如此, 该方法中也涉及大量的待定速率参数(态态之间的跃迁速率). 如果只利用单分子实验中的少数几个观测量(例如马达速度、随机度等), 在模型拟合方面难免有过拟合之嫌. 如何从单分子实验数据中提取尽可能多的信息来适当拟合这些参数, 除了要求实验数据本身具有高质量之外, 还要求发展系统的统计分析方法. 尽管目前已有一些方法, 例如驻留时间分布(dwell time)、关联分析、隐马模型、贝叶斯推断等^[72,73], 但这些方法各有优缺点. 如何将它们恰当地整合(甚至发展全新的方法), 从而更完备、更可靠地分析数据, 是未来理论与实验结合的重要方向.

参考文献

- [1] Shu Y G, Ouyang Z C 2007 *Physics* **36** 735 (in Chinese) [舒咬根, 欧阳钟灿 2007 物理 **36** 735]
- [2] Berlinrood M, McGee-Russell S M, Allen R D 1972 *J. Cell Sci.* **11** 875
- [3] Allen R D, Allen N S, Travis J L 1981 *Cell Motil.* **1** 291
- [4] Allen R D, Allen N S 1983 *J. Microscopy* **129** 3
- [5] Allen R D, Metuzals J, Tasahi I, et al. 1982 *Science* **218** 1127
- [6] Brady S T, Lasek R J, Allen R D 1982 *Science* **218** 1129
- [7] Allen R D, Weiss D G, Hayden J H, et al. 1985 *J. Cell Biol.* **100** 1736
- [8] Vale R D, Schnapp B J, Reese T S, et al. 1985 *Cell* **40** 449
- [9] Vale R D, Schnapp B J, Reese T S, et al. 1985 *Cell* **40** 559

- [10] Vale R D, Reese T S, Sheetz M P 1985 *Cell* **42** 39
- [11] Brady S T 1985 *Nature* **317** 73
- [12] Lawrence C J, Dawe R K, Christie K R, *et al.* 2004 *J. Cell Biol.* **167** 19
- [13] Bloom G S, Wagner M C, Pfister K K, *et al.* 1988 *Biochemistry* **27** 3409
- [14] Kuznetsov S A, Vaisberg E A, Shanina N A, *et al.* 1988 *EMBO J.* **7** 353
- [15] Hirokawa N, Pfister K K, Yorifuji H, *et al.* 1989 *Cell* **56** 867
- [16] Song Y H, Mandelkow E 1993 *PNAS*. **90** 1671
- [17] Kull F J, Sablin E P, Lau R, *et al.* 1996 *Nature* **380** 550
- [18] Sablin E P, Kull F J, Cooke R, *et al.* 1996 *Nature* **380** 555
- [19] Kozielski F, Sack S, Marx A, *et al.* 1997 *Cell* **91** 985
- [20] Case R B, Pierce D W, Hom-Booher N, *et al.* 1997 *Cell* **90** 959
- [21] Rice S, Lin A W, Safer D, *et al.* 1999 *Nature* **402** 778
- [22] Ashkin A, Dziedzic J M, Bjorkholm J E, *et al.* 1986 *Opt. Lett.* **11** 288
- [23] Ashkin A, Dziedzic J M 1987 *Science* **235** 1517
- [24] Visscher K, Schnitzer M J, Block S M 1999 *Nature* **400** 184
- [25] Svoboda K, Schmidt C F, Schnapp B J, *et al.* 1993 *Nature* **365** 721
- [26] Hua W, Chung J, Gelles J 2002 *Science* **295** 844
- [27] Yildiz A, Tomishige M, Vale R D, *et al.* 2004 *Science* **303** 676
- [28] Schief W R, Clark R H, Crevenna A H, *et al.* 2004 *PNAS* **101** 1183
- [29] Kodera N, Yamamoto D, Ishikawa R, *et al.* 2010 *Nature* **468** 72
- [30] Jülicher F, Ajdari A, Prost J 1997 *Rev. Mod. Phys.* **69** 1269
- [31] Hua W, Young E C, Fleming M L, *et al.* 1997 *Nature* **388** 390
- [32] Coy D L, Wagenbach M, Howard J 1999 *J. Biol. Chem.* **274** 3667
- [33] Chemla Y R, Moffitt J R, Bustamante C 2008 *J. Phys. Chem.* **112** 6025
- [34] Svoboda K, Mitra P P, Block S M 1994 *PNAS* **91** 11782
- [35] Schnitzer M J, Block S M 1995 *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology* **LX** 793
- [36] Schnitzer M J, Block S M 1997 *Nature* **388** 386
- [37] Yildiz A, Tomishige M, Gennerich A, *et al.* 2008 *Cell* **134** 1030
- [38] Clancy B E, Behnke-Parks W M, Andreasson J O L, *et al.* 2011 *Nat. Struct. Mol. Biol.* **18** 1020
- [39] Rosenfeld S S, Fordyce P M, Jefferson G M, *et al.* 2003 *J. Biol. Chem.* **278** 18550
- [40] Kawaguchi K, Ishiwata S 2001 *Science* **291** 667
- [41] Block S M 2007 *Biophys. J.* **92** 2986
- [42] Miyazono Y, Hayashi M, Karagiannis P, *et al.* 2010 *EMBO J.* **29** 93
- [43] Hackney D D, Stock M F, Moore J, *et al.* 2003 *Biochemistry* **42** 12011
- [44] Dogan M Y, Can S, Cleary F B, *et al.* 2015 *Cell Rep.* **10** 1967
- [45] Hwang W, Lang M J, Karplus M 2008 *Structure* **16** 62
- [46] Milic B, Andreasson J O, Hancock W O, *et al.* 2014 *PNAS* **111** 14136
- [47] Andreasson J O, Milic B, Chen G Y, *et al.* 2015 *Elife Sciences* **4** e07403
- [48] Mickolajczyk K J, Deffenbaugh N C, Ortega Arroyo J, *et al.* 2015 *PNAS* **112** E7186
- [49] Shu Y G, Zhang X H, Ouyang Z C, *et al.* 2012 *J. Phys.: Condens. Matter* **24** 035105
- [50] Bornschlöggl T, Woehlke G, Rief M 2009 *PNAS* **106** 6992
- [51] Coppin C M, Finer J T, Spudich J A, *et al.* 1996 *PNAS* **93** 1913
- [52] Nishiyama M, Muto E, Inoue Y, *et al.* 2001 *Nat. Cell Biol.* **3** 425
- [53] Taniguchi Y, Nishiyama M, Ishii Y, *et al.* 2005 *Nat. Chem. Biol.* **1** 342
- [54] Zhang Z, Thirumalai D 2012 *Structure* **20** 628
- [55] Wade R H, Kozielski F 2000 *Nat. Struct. Biol.* **7** 456
- [56] Rice S, Cui Y, Sindelar C, *et al.* 2003 *Biophys. J.* **84** 1844
- [57] Carter N J, Cross R A 2005 *Nature* **435** 308
- [58] Fox R F, Choi M H 2001 *Phys. Rev. E* **63** 051901
- [59] Mather W H, Fox R F 2006 *Biophys. J.* **91** 2416
- [60] Astumian R D 2015 *Biophys. J.* **108** 291
- [61] Hopfield J J 1974 *PNAS* **71** 4135
- [62] Khalil A S, Appleyard D C, Labno A K, *et al.* 2009 *PNAS* **105** 19247
- [63] Svoboda K, Block S M 1994 *Cell* **77** 773
- [64] Nishiyama M, Higuchi H, Yanagida T 2002 *Nat. Cell Biol.* **4** 790
- [65] Kolomeisky A B, Fisher M E 2007 *Annu. Rev. Phys. Chem.* **58** 675
- [66] Liepelt S, Lipowsky R 2007 *Phys. Rev. Lett.* **98** 258102
- [67] Hyeon C, Klumpp S, Onuchic J N 2009 *Phys. Chem. Chem. Phys.* **11** 4899
- [68] Shu Y G, Ouyang Z C 2007 *Chinese Journal of Nature* **29** 249 (in Chinese) [舒咬根, 欧阳钟灿 2007 自然杂志 **29** 249]
- [69] Shu Y G, Lai P Y 2008 *J. Phys. Chem. B* **112** 13453
- [70] Toyabe S, Watanabe-Nakayama T, Okamoto T, *et al.* 2011 *PNAS* **108** 17951
- [71] Toyabe S, Muneyuki E 2015 *New J. Phys.* **17** 015008
- [72] Tsygankov D, Lindén M, Fisher M E 2006 *Phys. Rev. E* **75** 95
- [73] Chowdhury D 2012 *Phys. Rep.* **529** 1

SPECIAL TOPIC — Progress in Soft Matter Research

Advances in the mechanism of mechanochemical coupling of kinesin^{*}

Li Ming¹⁾ Ouyang Zhong-Can²⁾ Shu Yao-Gen^{1)2)†}

1) (*School of Physical Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*)

2) (*Institute of Theoretical Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China*)

(Received 14 July 2016; revised manuscript received 2 August 2016)

Abstract

Kinesin is one of the most important linear motors for intracellular transport. It has two main features. One is its persistence: at least one head is attached to the microtubule during stepping, so that it can move a long distance before detaching. Another feature is the tight mechanochemical coupling: it consumes one adenosine-triphosphate for each step. Therefore, there should be a mechanism responsible for the coordination of the two heads to achieve the high persistence and tight coupling. The underlying mechanism is the mechanochemical coupling, which is the basic issue for all chemical-driven molecular motors. Owing to the developments of single-molecule experiments and molecular dynamics simulations, a breakthrough in the coupling mechanism has been made in recent decades. In this article, we review the progress of the relevant researches from the perspective of kinematics, energetics, coordination of two heads and force generating mechanism. We also present a personal perspective on the future studies of kinesin.

Keywords: kinesin, single molecule technology, mechanochemical coupling

PACS: 87.16.Nn, 87.15.rp, 87.15.R–

DOI: 10.7498/aps.65.188702

^{*} Project supported by the National Basic Research Program of China (Grant No. 2013CB932804), the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 11574329, 11322543, 11105218), and the Joint NSFC-ISF Research Program (Grant No. 51561145002).

[†] Corresponding author. E-mail: shuyg@itp.ac.cn