

# 细胞结构动力学 ——实时调控细胞力学的因素分析\*

张小寒 郭军\*\*

(南京医科大学生化与分子生物学系, 南京 210029)

**摘要** 机械力普遍存在于活细胞的生命活动中, 而细胞内力学活动必须依赖骨架结构传递, 这种独特的力学形式被称为细胞结构力学。单位时间内细胞结构力学变化受多因素调控, 如外力、渗透压、动力分子、张力敏感性离子通道、胞内力学感受器及骨架组装等, 构成了细胞结构动力学研究的重要内容。基于荧光共振能量转移(FRET)原理开发的荧光张力探针能整合到细胞骨架内, 将细胞结构力学变化转化为光学信号, 可能带来细胞力学研究的革命。随着细胞结构动力学研究内容的不断深入, 特别是太空时代细胞力学稳态的打破, 细胞结构动力学将在生命及医学研究领域显露出越来越重要的地位。

**关键词** 细胞骨架, 结构力学, 动力学, FRET, 荧光张力探针

**学科分类号** Q2

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2014.0385

活细胞内有三种信号系统: 电、化学和力学信号, 它们相互协调, 相互联系, 共同维系着细胞的生命活动。前两者已被深入研究, 而细胞内力学活动因缺乏有效的研究手段, 一直对其认识有限。事实上, 包含肌细胞, 所有细胞都能生成力和感受力, 如神经、内皮、骨及干细胞。所有生命过程都涉及机械力的调节, 如分化、分裂、运动和凋亡。不同组织器官的力学活动以各自特有的“稳态”形式存在, 一旦这种力学稳态被打破, 就会导致组织细胞的病变, 如癌细胞恶性增殖及侵袭转移、神经极化障碍、内皮细胞依赖性舒张失调、病毒感染等。

## 1 细胞结构动力学概念的提出

像肌细胞一样, 细胞内力学效应依赖于动力分子的作用, 动力蛋白(dynein)、肌球蛋白(myosin)和驱动蛋白(kinesin)能将化学能转化为机械能, 通过定向作用骨架蛋白(微丝、微管), 实现细胞运动、胞内物质运输以及形态改变<sup>[1]</sup>。同时, 渗透压也能通过作用细胞骨架诱导细胞形态改变<sup>[2]</sup>。此外, 外力作用细胞时, 骨架蛋白能传递外力变化, 通过诱导力学感受器构象改变, 激活力学感受器, 将力学

信号转换为化学或电信号, 协调细胞的力学稳态。

活细胞这种依赖于骨架结构的力学效应及力学信号传递形式, 被命名为细胞结构力学。然而细胞骨架结构既不能生成力, 也不能感受力学变化, 仅仅是细胞力学效应和信号传递必不可缺的媒介。

已识别多种因素参与了细胞结构力学的调节, 在单位时间内, 这些因素相互协调共同决定细胞结构力学变化强度、方向及其相关生物学效应, 这种调控模式被称为细胞结构动力学。

目前发现参与细胞结构力学调控的因素有:

a. 细胞外力。一种外在的被动力学效应, 包括重力、细胞间挤压力、液体剪切力、拉力以及失重等, 传统的生物力学研究多采用力学模型, 来模拟外界环境对细胞的力学作用, 揭示潜在的力学刺激调控机制。已使用的模拟外力刺激细胞的方法有: 流动剪切力法、静水压法、圆周应力法、基底拉伸法等, 它们已用于血液流动剪切力、心脏收缩

\* 国家自然科学基金资助项目(81170714)。

\*\* 通讯联系人。

Tel: 025-86862729, E-mail: Guoj@njmu.edu.cn

收稿日期: 2014-12-13, 接受日期: 2015-04-08

压和舒张压、圆周应力、基底硬度等研究。

b. 动力分子. 一种细胞内生成的主动力学效应. 由动力蛋白、驱动蛋白和肌球蛋白组成, 前两者是微管依赖动力分子, 后者是微丝依赖动力分子. 动力分子是细胞内力学运动的物质基础, 在胞内运输、细胞形态发生、有丝分裂及细胞生存等活动中发挥重要作用, 其生物学效应与钙离子的释放密切联系<sup>[1]</sup>.

c. 渗透压. 由  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$  离子通道和水通道共同调控的胞内被动力学效应. 通过调节细胞内液体容量变化改变细胞形态, 引起细胞骨架结构被动力学效应<sup>[2]</sup>.

d. 力学感受器. 胞内力、外力作用通过骨架结构传递力学变化, 也能诱导力学感受器构象改变, 调控其活性, 激活下游信号通路, 将力学信号转换为化学或电信号. 除传统的张力敏感性离子通道 (mechanosensitive ion channels, MSCs) 外<sup>[3]</sup>, 近年来跨膜力学感受器 (如血管紧张素受体)、胞内张力感受分子 (如 Talin/vinculin、p130Cas、Filamins、Zyxin、Titin 等) 相继被识别, 成为细胞力学研究的热点<sup>[4]</sup>.

e. 导向分子. 如神经肽、生长因子等, 能发挥对细胞结构力学定向调控作用. 如: 神经肽 Y (neuropeptide Y, NPY) 可对胎儿发育轴突生长发挥导向作用<sup>[5]</sup>. 血小板源性生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF) 能招募细胞, 诱导间叶细胞在伤口处聚集, 促进骨再生<sup>[6]</sup>.

f. 细胞骨架蛋白. 也是细胞力学效应和力学信号的唯一载体. 除对力学信号的传递外, 细胞骨架蛋白的聚合和解聚也是调节细胞结构力学必不可少的因素. 细胞定向运动时, 伪足前缘借助细胞骨架的不断聚合推动细胞膜前进, 而在基部, 细胞骨架不断解聚和收缩能向前牵拉细胞体.

## 2 细胞结构动力学研究的有效技术和方法——荧光张力感受探针

细胞力学研究由来已久, 从肌细胞动力分子的识别到渗透压对细胞形态的影响, 以及感觉神经 MSC 的力学感受, 都构成了细胞力学研究的重要内容. 然而这些细胞力学研究并不涉及细胞骨架结构传递力学活动, 对其调控机制研究也有限. 问题在于现有力学研究技术和方法, 如外力模型、原子力显微镜、激光镊、磁镊等, 仅限于模拟外环境力学刺激, 或检测细胞表面力学强度, 并不能实现对

活细胞内或分子内力学变化的实时观察, 也很难定量细胞微观力学变化<sup>[7]</sup>. 一种检测细胞结构力学变化并量化其强弱的实验技术成为解决这一问题的关键.

荧光张力检测探针是基于荧光共振能量转移 (fluorescence resonance energy transfer, FRET) 原理研发的细胞内微观力学检测技术, 其发明可能带来细胞结构力学研究的革命. 这种检测方法, 采用基因克隆技术, 将荧光探针插入细胞结构蛋白内或蛋白之间, 依据荧光供体和受体间 FRET 效率变化, 能将骨架结构传递的力学转化变为光学信号, 从而定量和半定量推测细胞内结构力学变化<sup>[7]</sup>.

目前已开发出两类荧光张力探针, 第一类: 基于生物弹簧 ( $\alpha$  螺旋或  $\beta$  折叠) 连接的两个荧光蛋白对, 在力学作用下, 生物弹簧伸长能导致两个荧光蛋白间距离增加, FRET 效率下降. 第二类: 由短肽连接成特定角度的荧光蛋白对, 结构张力能导致荧光对角度增大, 从而减弱 FRET 效率<sup>[7]</sup>. 通过检测 FRET 效率变化, 能推测出细胞内力学变化. 这些探针已实现对  $\alpha$ -actinin、 $\beta$ -actin、vinculin、spectrin、E-cadherin 和 collagen-19 等骨架结构蛋白传递力学变化的有效检测<sup>[4,8]</sup>.

## 3 细胞结构动力学面临的问题及展望

已有的研究表明: 多种疾病的发生有明显的细胞力学特征, 如: 癌细胞恶性增殖及侵袭转移、神经极化障碍、内皮依赖性舒张失调<sup>[9]</sup>、干细胞反分化障碍和病毒感染<sup>[10]</sup>等.

尽管这些与细胞结构力学相关的发病机制并不明朗, 但一些临床药物已显露出与细胞结构力学潜在的联系. 如以抑制和促进微管蛋白组成为靶点的长春碱类和紫杉醇类抗癌药物、血管紧张素受体抑制剂、 $\text{Ca}^{2+}$  通道阻滞剂等. 此外, 还有大量以细胞结构力学为药物靶点的识别, 如: 驱动蛋白抑制剂 Eg5<sup>[11]</sup>、MSC 抑制剂 GsMTx4<sup>[12]</sup>、抑制 titin 表达的 miR - 144<sup>[13]</sup>、影响生殖功能的海洋药物等<sup>[14]</sup>. 另外, 细胞骨架蛋白也在中枢神经轴突生长再生中发挥重要作用<sup>[15]</sup>. 这些研究提示, 细胞结构力学及其相关信号调控分子可能成为多种疾病治疗的新药靶标.

同时, 作为最具开发前景的干细胞治疗手段, 其反分化与外界力学刺激密切联系. 软基质作为必备因素, 参与了干细胞反分化诱导, 并伴随其内在细胞结构力学不均衡性改变——仅 2/3 显著增强<sup>[16]</sup>,

提示探索干细胞结构力学特征, 可能为干细胞诱导反分化找到新的途径。

太空时代的到来, 亿万年来在地球引力作用下形成的细胞稳态将被打破, 失重状态下的细胞力学研究将成为生命科学不可避免的问题。随着荧光张力探针实验技术的完善, 以及细胞结构力学研究内容的确立, 在未来数十年, 我们将迎来“细胞结构动力学”发展的高峰。

### 参 考 文 献

- [1] Hirokawa N, Niwa S, Tanaka Y. Molecular motors in neurons: transport mechanisms and roles in brain function, development, and disease. *Neuron*, 2010, **68**(4): 610–638
- [2] Noda M, Sakuta H. Central regulation of body-fluid homeostasis. *Trends Neurosci*, 2013, **36**(11): 661–673
- [3] Xiao R, Xu X Z. Mechanosensitive channels: in touch with piezo. *Curr Biol*, 2010, **20**(21): 936–938
- [4] Yang C, Zhang X H, Guo J, *et al.* Mechanical dynamics in live cells and fluorescence-based force/tension sensors. *Biochim Biophys Acta*, 2015, **1853**(8): 1889–1904
- [5] Ubink R, Hökfelt T. Neuropeptide Y expression in Schwann cell precursors. *Glia*, 2000, **32**(1): 71–83
- [6] Shah P, Keppler L, Rutkowski J. A review of platelet derived growth factor playing pivotal role in bone regeneration. *J Oral Implantol*, 2014, **40**(3): 330–340
- [7] Guo J, Sachs F, Meng F. Fluorescence-based force/tension sensors: a novel tool to visualize mechanical forces in structural proteins in live cells. *Antioxid Redox Signal*, 2014, **20**(6): 986–999
- [8] 王鼎玉, 郭 军. 活细胞结构力学与荧光张力检测探针. *中国生物化学与分子生物学报*, 2015, **31**(4): 339–345  
Wang D Y, Guo J. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2015, **31**(4): 339–345
- [9] Durand M J, Gutterman D D. Diversity in mechanisms of endothelium-dependent vasodilation in health and disease. *Microcirculation*, 2013, **20**(3): 239–247
- [10] Delorme-Axford E, Coyne C B. The actin cytoskeleton as a barrier to virus infection of polarized epithelial cells. *Viruses*, 2011, **3**(12): 2462–2477
- [11] Liu X, Gong H, Huang K. Oncogenic role of kinesin proteins and targeting kinesin therapy. *Cancer Sci*, 2013, **104**(6): 651–656
- [12] Park S P, Kim B M, Koo J Y, *et al.* A tarantula spider toxin, GsMTx4, reduces mechanical and neuropathic pain. *Pain*, 2008, **137**(1): 208–217
- [13] Liang Y, Lin Q, Luo F, *et al.* Requirement of miR-144 in CsA induced proliferation and invasion of human trophoblast cells by targeting titin. *J Cell Biochem*, 2014, **115**(4): 690–696
- [14] Silvestre F, Tosti E. Impact of marine drugs on cytoskeleton-mediated reproductive events. *Mar Drugs*, 2010, **8**(4): 881–915
- [15] Li H, Zhu Y H, Chi C, *et al.* Role of cytoskeleton in axonal regeneration after neurodegenerative diseases and CNS injury. *Rev Neurosci*, 2014, **25**(4): 527–542
- [16] Guo J, Wang Y, Sachs F, *et al.* Actin stress in cell reprogramming. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(49): E5252–E5261

## Structural Dynamics of Live Cells\*

ZHANG Xiao-Han, GUO Jun\*\*

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

**Abstract** Almost all biological processes are involved in the modulation of mechanical force whose functions are physically involved with cytoskeleton. This unique form of mechanical force is called structural mechanics and it is regulated realtime by a variety of factors, such as exogenous force, motor proteins, osmotic pressure, mechanosensitive ion channels (MSCs), intracellular mechanosensors and actin assembling. FRET-based force sensors which can be incorporated into structural proteins and turn structural force into optical signal can provide a realtime measurement of force in live cells. With the advent of the space age, structural dynamics will play a more and more important role in life and medical research.

**Key words** cytoskeleton, structural mechanics, structural dynamics, FRET, FRET-based force sensors

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2014.0385

\* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China(81170714).

\*\*Corresponding author.

Tel: 86-25-86862729, E-mail: Guoj@njmu.edu.cn

Received: December 13, 2014 Accepted: April 8, 2015