



分子黏附中的逆锁键研究进展*

曹旭^{1,2)**} 常晟源¹⁾⁽¹⁾ 复旦大学化学系, 上海 200433; ⁽²⁾ 复旦大学大数据学院, 上海 200433)

摘要 逆锁键是受体和配体蛋白质相互作用过程中的一种“反常”现象, 属于受体-配体动态键的一种, 在 pN 量级外力的影响下, 其键寿命在特定范围内会随着所施加外力的增加而增加. 逆锁键主要参与细胞黏附、细胞活化等过程, 并与滑移键组成分子开关来调节各项与分子黏附相关的生命活动. 其中, 致病性大肠杆菌引发尿路感染、T 细胞受体抗原识别、微丝解聚、Notch 信号通路激活等重要生命活动已被证实与逆锁键密切相关. 近期已有发现证实 TCR-pMHC 复合物中的逆锁键与癌症的引发也存在密切联系, 这一发现提供了改进 TCR-T (T 细胞受体基因工程改造的 T 细胞) 免疫疗法的新方向. 本文概述了逆锁键在几类重要生命活动中的最新研究进展, 并讨论了其潜在的医学研究前景.

关键词 逆锁键, 滑移键, 键寿命, 细胞黏附, T 细胞受体
中图分类号 Q28, Q66

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0280

逆锁键 (catch bond) 是一种与力相关的非共价结合作用, 是参与受体-配体结合的动态键 (dynamic bond) 之一^[1]. 逆锁键的键寿命 (lifetime) 随着施加到键上外力的强度增加而增加 (图 1 红色曲线), 与之相对的是在生命活动中已被广泛发现的滑移键 (slip bond) (图 1 蓝色曲线), 其键寿命随着施加到键上的力的强度增加而减小.

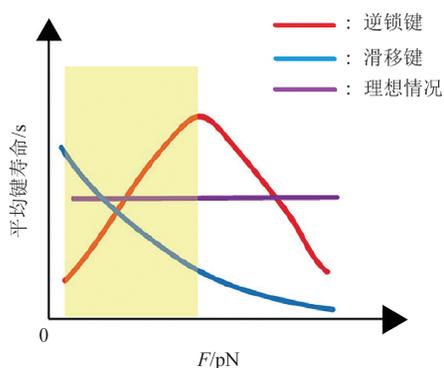


Fig. 1 The average lifetime versus force curves of catch bond and slip bond^[1]

图1 逆锁键与滑移键的平均键寿命与受力曲线^[1]
逆锁键 (红色), 滑移键 (蓝色) 和理想情况 (紫色) 的受力图示, 其中浅黄色标记的区域为逆锁键的有效范围, 在这个区域中逆锁键的键寿命随施加到键上的力的强度增加而增加, 超出这个范围的力将会使逆锁键变回为滑移键.

逆锁键能够促进受体-配体复合物构象的改变, 进而影响与黏附相关的各种生命活动^[2]. 自从 2003 年逆锁键被实验证实存在以来^[3], 对逆锁键的研究经历了重要的发展阶段, 现已证实, 逆锁键在生物体中参与 T 细胞受体抗原识别、微丝解聚、Notch 信号通路激活等重要生命活动. 在医学领域, 逆锁键不仅被发现可以影响 T 细胞受体基因工程改造的 T 细胞 (T cell receptor-gene engineered T cells, TCR-T) 免疫治疗过程^[4-5], 而且还被证实与致病性大肠杆菌^[6]、疟原虫在宿主体内的黏附与转移^[7] 密切相关. 本综述以原核生物大肠杆菌中的黏附现象为例介绍了逆锁键的作用机制, 重点归纳逆锁键在几类重要生命活动中的最新研究进展, 并讨论其潜在的医学研究价值.

1 逆锁键概述

1.1 逆锁键的发现

细菌或细胞之间的黏附作用通过受体-配体结

* 复旦大学启明星科创计划(2016-2017-016)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 13332921593, E-mail: caox16@fudan.edu.cn

收稿日期: 2020-08-02, 接受日期: 2020-12-02

合的形式实现，这一过程需要抵抗外力。外力通常来源于细胞或细菌胞外流体剪切流动产生的拖曳力，或生物分子马达拉动蛋白质细丝及蛋白质网络所产生的拖曳力，例如，流体施加在选择素-配体键 (selectin-ligand bonds) 上的剪切力，该剪切力介导了白细胞在血管表面的黏附和移动^[3]。为了解释力在细胞黏附与解离过程中起到的作用，研究人员于20世纪末提出可能存在两种形式相互矛盾的键。其中，Bell^[8]根据动力学明确了滑移键的存在，根据动力学理论，力可以降低束缚态和自由态之间的能垒，从而缩短受体-配体间的键寿命导致

二者解离。在Bell之后，Dembo等^[9]推测，力也可以促使黏附复合物变形为锁定的束缚状态，从而无法继续单一地施加外力使复合物解离，他们将这一现象命名为逆锁键。在这之后，Marshall等^[3]通过原子力显微镜证实了逆锁键存在于P选择素 (P-selectin) 和P选择素糖蛋白配体1 (P-selectin glycoprotein ligand-1, PSGL-1) 相互作用的过程中。如图2所示，Marshall等^[3]首次测量出了P选择素-PSGL-1复合物逆锁键的键寿命，并探究了逆锁键键寿命与力的关系。

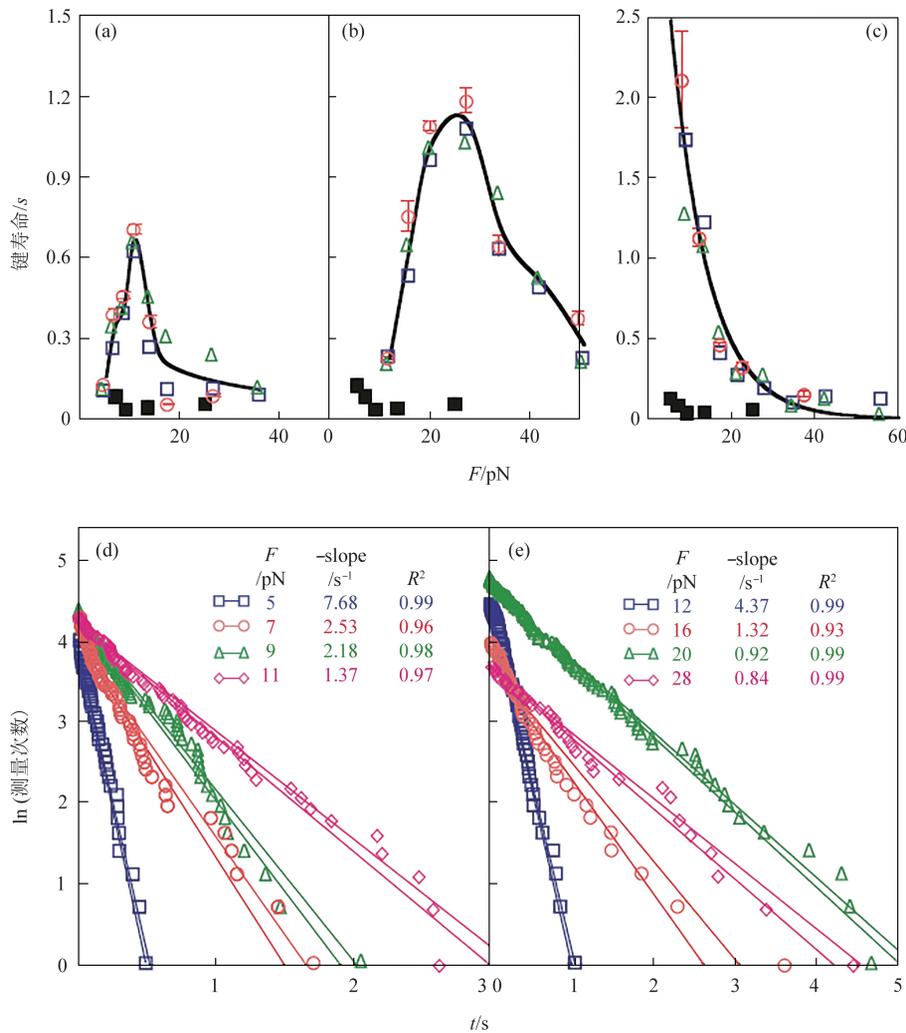


Fig. 2 P-selectin-PSGL-1 catch bonds' lifetime measured by AFM^[3]

图2 使用AFM测量P选择素-PSGL-1复合物逆锁键的键寿命^[3]

(a~c) P-选择素与sPSGL-1 (a)、PSGL-1 (b) 以及G1 (一种封闭性单克隆抗体) (c) 的键寿命与力关系曲线；(d, e) 通过F检验比较sPSGL-1 (d) 和PSGL-1 (e) 两幅图ln(测量次数)对时间的斜率。

1.2 逆锁键的激活

逆锁键是一种与力相关的现象,可以说,外力的存在加速了逆锁键的激活.但是,受体-配体复合物能量状态和构象的变化才是产生逆锁键现象及导致细胞或分子黏附的主要原因,力的作用主要是加速了受体-配体从能障中的短寿命状态跨越到长寿命状态这一过程.从化学动力学角度来分析,短寿命和长寿命状态分别处在能量屏障的两端,在非自然状况下,能量屏障也可以通过诸如热激活、光激活等无需外力的方式跨越.这表明,如果受体-配体复合物处于弱结合状态且配体解离速率足够慢,配体可以在不需要外力的情况下诱导受体变构激活,将复合物转变为活化的牢固连接状态.除了施加外力,一些特异性的分子可以调节能障的高度,加速逆锁键的形成,例如活化整联蛋白和细菌黏附素I型菌毛FimH蛋白的抗体^[2, 10],这些分子可被看作是激活或抑制逆锁键的催化剂/负催化剂.

早期研究者认为,可以基于现象学来对逆锁键的激活和受体-配体变构过程进行解释.Chakrabarti等^[11]分析比较了这一领域的现象学模型和微观模型,得出结论:相比传统的现象学模型,基于结构和能量景观的微观模型具有更好的发展前景.受到这一结论的启发,Dansuk等^[12]构造出了一种基于能量景观的机械模型来模拟逆锁键的形成,在该模型中,受体-配体蛋白质的构象转换可以通过一种类似镊子的开关来模拟,其实验结果的键寿命曲线与自然中逆锁键的键寿命曲线接近.虽然新的物理模型已经可以解释部分生命活动中逆锁键的作用模式,但是迄今为止,尚没有一种可以解释各个系统中逆锁键激活的通用理论.

1.3 逆锁键的键寿命

在逆锁键中,键寿命即受体-配体分子的结合时间是一个非常重要的概念.当施加在受体-配体上的外力强度增加时,形成逆锁键的键寿命会随之增加,受体-配体的结合时间也就越长.键寿命可以通过原子力显微镜(atomic force microscopy, AFM)、生物膜力学探针(biomembrane force probe, BFP)、光镊(optical tweezer)和磁镊(magnetic tweezer)等仪器进行测定^[3-4, 13].在数十年的研究中,研究人员已经获得了不同蛋白质相互作用所形成的逆锁键平均键寿命和可以维持逆锁键力的区间关系(表1),不同分子所形成逆锁键的键寿命的平均响应时间均达到秒级.其中,FimH蛋白和甘露糖残基形成的逆锁键键寿命可长达

15~17 min,远远高于其他受体-配体结合形成的逆锁键^[14].此外,维持逆锁键的力均处于pN量级.

Table 1 The relationship between the force and catch bonds' average lifetime

表1 逆锁键平均键寿命和可以维持逆锁键的力的关系

受体-配体结合	平均键寿命/s	F/pN
FimH-terminal α -D-mannoside ^[15]	>900	20~30
P-selectin-sPSGL-1 ^[3]	1.1	10~20
TCR-pMHC (OVA) ^[13]	0.8	0~10
Integrin (FN-tro5 β 1 bonds) ^[16]	12	10~30
G-actin/G-actin ^[17]	0.6	0~10
G-actin/F-actin ^[17]	1.0	0~20
Notch1 (8-12)-WTJag1 (N-3) ^[18]	0.4	0~10

Robin等^[19]推导出了团簇黏附键寿命的解析方程,并发现在一定力的范围内,键寿命的平均值和标准差非常相似,这表明逆锁键所引发的聚合物解离实际上是单步马尔可夫过程,产生的键寿命时长可以通过需跨越的主要能障高度来确定.对于这一范围外的力,键寿命的概率分布偏离指数分布^[19].Robin等推导出的键寿命解析方程已经可以应用于分析可以形成逆锁键小团簇的键寿命,但仍无法模拟生物体内逆锁键键寿命的变化过程.Li等^[15]对逆锁键和键寿命的关系持有不同的观点,他们通过蒙特卡洛模拟建立了机械模型,提出:形成逆锁键时,键的随机反应与细胞滚动动力学之间的竞争导致了黏附作用的增强,键寿命的增加与黏附的增强无关.

2 逆锁键和滑移键的转换

早期研究发现有两种类型的黏附蛋白可以形成逆锁键,分别为原核生物中的FimH蛋白和真核生物中的选择素(selectin),两者都介导剪切力增强的黏附,目前关于这两种黏附蛋白的逆锁键作用机制的研究也最为全面^[20].本综述将以这两类黏附蛋白的黏附机制为例介绍逆锁键与滑移键的关系.

黏附蛋白FimH蛋白是大肠杆菌中最常见的黏附素,它具有两种不同的构象,不同构象的FimH蛋白对宿主上皮细胞糖蛋白末端甘露糖残基的亲合力不同.实验发现,大肠杆菌在宿主表面黏附后,其黏附能力会随环境流量的改变而改变,影响其黏附能力的正是逆锁键^[21-22].Le Trong等^[22]发现,在FimH蛋白-甘露糖这一受体-配体结合过程中,配体结合结构域和配体结合口袋远端的调节结构域

在没有流体剪切的时候会保持紧密接触,当流体剪切产生的机械力将调节结构域从配体结合结构域拉开时,FimH蛋白由低甘露糖亲和构象被变构激活为高甘露糖亲和构象.Carlucci等^[14, 23]测量了高亲和构象FimH蛋白在各种恒定力作用下与糖蛋白末端甘露糖残基相互作用的持续时间,证实了FimH蛋白-甘露糖在受体-配体结合过程中形成了非常稳定的配体结合口袋.这些发现揭示了大肠杆菌表面黏附的原理:当外界流体剪切力较低时,FimH蛋白与甘露糖仅形成短暂的相互作用,大肠杆菌可以在宿主表面滚动(低亲和构象对应弱黏附、短寿命),当外界流体剪切力较高时,FimH蛋白-甘露糖复合物被作用于大肠杆菌的外力变构激活形成逆锁键.这种活化触发了大肠杆菌与表面的牢固黏附(高亲和构象对应强黏附、长寿命),防止其被环境中的流体带走^[2, 22-23].通过这种机制,大肠杆菌能够抵抗在肠道或尿道高流量环境中的强大剪切力,进而引发尿路感染(urinary tract infection, UTI)等疾病^[6].Sauer等^[24]通过配体相互作用的动力学分析和分子动力学模拟揭示了FimH蛋白在上皮细胞表面形成逆锁键的三态机制,进一步解释了FimH蛋白逆锁键的机理.

P-选择素-PSGL-1复合物在类似的原理下也可形成逆锁键,白细胞表面的PSGL-1与内皮细胞表面上的P-选择素发生短暂相互作用从而使得白细胞可以沿着血管壁滚动,这一过程被证实与施加在P-选择素-PSGL-1复合物上的剪切力有关^[3, 20, 25-26].实验表明,P-选择素-PSGL-1在低于10~20 pN的剪切力范围会形成逆锁键加强黏附^[27],这一可变机械力条件下调节细胞黏附的机制使得白细胞可以在内皮细胞滚动并到达病灶部分,实现白细胞的聚集.除此之外,逆锁键也被证实与E-选择素、L-选择素参与的细胞黏附过程有关^[28-30],它们与P-选择素共同介导炎症反应时血管内皮细胞上白细胞的滚动与束缚.

由此可见,逆锁键与滑移键的相互转换使得细胞可以动态地在表面束缚与迁移.在外力影响下,通过构象及能量状态的改变,与逆锁键形成相关的受体-配体蛋白质起到了分子开关的作用.后续研究发现,能够形成逆锁键的其他蛋白质也大都具有使细胞黏附到其他细胞或组织表面上的能力,并与信号转导及细胞活化密切相关.

3 逆锁键的生物学功能

研究表明,逆锁键和滑移键这一分子开关在生物体内的各种生命活动中起到了不可或缺的作用,本综述将就逆锁键在各个方向的最新研究进展进行介绍.

3.1 参与T细胞受体的抗原识别

T细胞受体(T cell receptor, TCR)是T细胞表面的特异性受体,负责识别抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)表面主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)所提呈的抗原肽,形成TCR-pMHC复合物,其中,人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)是人类主要组织相容性复合体的表达产物.TCR和pMHC/HLA的结合会触发T细胞活化,进而释放细胞因子或细胞毒性分子消灭人体内癌变的细胞^[31].

早期研究发现,淋巴细胞黏附时存在剪切阈值现象,抗原受体交联可以短暂且迅速地增强淋巴细胞功能相关分子1(lymphocyte function association antigen-1, LFA-1)和细胞间黏附分子(intercellular adhesion molecule, ICAM)的黏附强度.这一现象是之后探究免疫系统中存在逆锁键的现象学基础^[32].

在十年前,TCR和pMHC相互作用形成TCR-pMHC复合物的研究主要在不机械力环境下进行.随着新的研究发现,作用于TCR/CD3的机械力可以影响Src激酶依赖的激活机制从而启动T细胞中的信号传导^[33],这表明T细胞-抗原提呈细胞界面上形成的TCR-pMHC复合物很可能受到机械力的作用^[10, 34].为了探究力与T细胞活化的关系,Liu等^[13]研究发现,TCR和抗原肽-主要组织相容性复合物之间可以经由逆锁键引发下游激活T细胞的信号,所激发信号的强度取决于施加外力的强度、逆锁键键寿命、频率等.在卵清蛋白衍生肽OVA(SIINFEKL)等激动型的外源抗原分子的诱导下,pMHC可能发生变构,并在TCR与pMHC间形成逆锁键,当力在10 pN时有最高的Ca²⁺响应,键寿命达到最佳长度0.8 s(图3).而拮抗型抗原分子(一般为生物体体内的自身抗原)在力的作用下仅会形成滑移键,键寿命很短.Liu等研究成果表明,逆锁键可以激活T细胞识别外来抗原,但并未解释TCR-pMHC形成逆锁键的原理和机制.在此基础上,Pullen等^[35]观察到了TCR-pMHC形成逆锁

键时细胞膜形状会发生变化, 基于统计计算和数学建模方法提出逆锁键可以启动细胞膜重组这一观点, 键寿命长的单个 TCR-pMHC 逆锁键可以促进细胞膜上其他 TCR-pMHC 逆锁键的形成. 新的研究发现, TCR-pMHC 相互作用过程中的力不仅参与激活 CD₈⁺T 细胞和 CD₄⁺T 细胞上的激动剂特异性 TCR-pMHC 逆锁键^[36-37], 而且在引发 TCR 近端信号通路传导过程中也起着重要作用, 例如参与诱导胸腺细胞中的阴性选择信号传递^[38]. Wu 等^[5]研究了 TCR-pMHC 逆锁键和 TCR 抗原识别的动态机械化学耦合机制, 发现了激动剂的关键残基和 TCR 的互补决定区 (complementarity determining region, CDR) 在开始接触时存在较弱的结合, 并揭示了机械力激活逆锁键并诱导 pMHC 构象变化的机理 (图 3). 除了机械力可以激活逆锁键外, 在 TCR 和 MHC 结合界面间的力诱导产生的氢键 (H-bonds) 也间接促进了 TCR-pMHC 逆锁键的形成^[5], 这一发现揭示了力诱导 MHC 构象变化重建

了 TCR-MHC 结合界面上的互作网络. 然而, 在新的研究中也发现, 逆锁键的形成并不仅仅只依靠 TCR 和 pMHC 的相互作用, 在无细胞系统中 Limozin 等^[39]并未发现逆锁键, 这说明细胞膜的流动性和其他外在的动力学因素也可能影响逆锁键的形成, 这一研究为 Pullen 等提出细胞膜重组的假设提供了依据.

pMHC 的多态性也可能影响其在力作用下的构象变化, 从而直接影响抗原识别过程^[5]. Wu 等^[5]进一步将对 TCR-pMHC 逆锁键的研究扩展到了人类 TCR, 发现 HLA-A2 中与癌症相关的体细胞突变会抑制 pHLA-A2-1G4-TCR 逆锁键的形成, 此前已有研究发现, 具有更大的 HLA 基因多样性的癌症患者对免疫检查点抑制剂治疗能更好地作出反应^[40], Wu 等的研究成果表明, HLA 多态性很可能与 pMHC 构象变化以及 TCR-pMHC 逆锁键的机械调节密切相关. 这一发现极有可能是改进 TCR-T 免疫治疗的新方向.

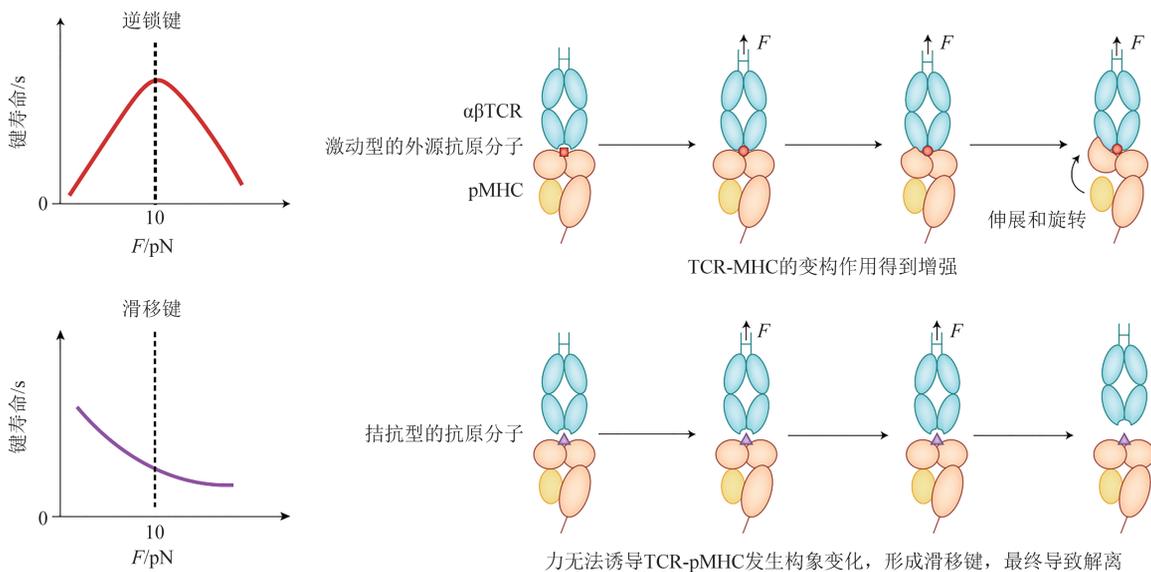


Fig. 3 Force induced catch bonds or slip bonds can influence TCR-pMHC bonds allosterically^[4-5]

图3 力诱导逆锁键或滑移键影响TCR-MHC的变构作用^[4-5]

3.2 参与整合素与配体的结合

继选择素通过逆锁键参与细胞黏附的作用机制得到证实之后, 研究发现, 真核细胞与细胞外基质黏附的另一类黏附蛋白——整合素 (integrin), 也可以形成逆锁键. 整合素是一种异质二聚体受体, 介导细胞与细胞外基质或另一细胞的黏附^[41]. 整合素与配体结合提供跨膜机械连接可以将来自细胞

外的机械力传递至细胞内的细胞骨架等结构, 并且参与细胞间的信号传递.

在参与细胞黏附肌动蛋白-肌球蛋白系统中, 由力介导的细胞和细胞外基质之间的初次接触促进了整合素的活化. Kong 等^[16]证实纤连蛋白和整合素在施加的力<30 pN时可以形成逆锁键, 并且发现逆锁键的形成可能与整合素头部的外力辅助激活

有关. Chen 等^[42]研究了整合素 LFA-1 和其配体 ICAM-1 结合时的构象变化, 发现力会影响 LFA-1 的伸展和弯曲状态, 当外力较低时 LFA-1 和 ICAM-1 表现逆锁键, 随力的增加解离率也随之增加, 最终 LFA-1/ICAM-1 构象改变, 使得逆锁键转变为滑移键. Bidone 等^[43]利用锰离子 (Mn^{2+}) 激活进一步发现, 整合素逆锁键动力学的改变可以影响整合素-配体结合与下游的细胞伸展过程. 虽然整合素形成逆锁键这一现象很早就得到了证实, 但是相比选择素而言, 这一领域的研究相对较少, 关于逆锁键在整合素跨膜机械连接中的机理仍需进一步研究来进行分析.

3.3 参与微丝解聚过程

微丝 (micro filaments) 是由肌动蛋白单体通过非共价相互作用组装聚合成的纤丝, 形成微丝的过程包括快速且受控的聚合和解聚, 微丝参与形成的肌动蛋白细胞骨架可以在力的影响下控制细胞黏附等生命活动^[44]. 除此之外, 微丝和肌球蛋白之间的循环相互作用可以驱动肌肉收缩和各种细胞运动. Guo 等^[45]发现, 在快速施加负荷的一定范围内, 肌动蛋白与肌球蛋白结合形成的肌动球蛋白表现出逆锁键, 随着力负荷增加到 6 pN, 键寿命也随之增加到最大值. 同时, 他们也发现达到最大黏附键寿命的 6 pN 力负荷接近于等长收缩时单个肌球蛋白分子产生的力^[45].

肌动蛋白之间可以经由逆锁-滑移键影响微丝的解聚过程. Lee 等^[17]研究发现, 微丝解聚由 K113 : E195 盐键所介导的逆锁-滑移键 (catch-slip bond) 控制, G-actin/G-actin 和 G-actin/F-actin 分别在 10 pN 和 20 pN 时达到持续 0.6 s 和 1.0 s 的最长键寿命, 这一研究揭示了肌动蛋白形成逆锁-滑移键的分子基础. Lee 等^[46]进一步发现该盐键受小 G 蛋白-成蛋白 (RhoA-formin) 机制调控. 肌动蛋白间在加入不同的调控分子后能够使肌动蛋白/肌动蛋白相互作用在逆锁键和滑移键间转换, 进而可以作为分子开关影响微丝的解聚来改变细胞的生理功能. Lee 等^[47]使用 AFM 研究了一系列动态拉伸力作用下的肌动蛋白解聚过程, 发现由循环产生的外部拉伸力引起的机械载荷可显著增加键的寿命, 进而会影响 G-actin/G-actin 和 G-actin/F-actin 的解离动力学. 除此之外, 肌球蛋白 V 在微丝上移动时, 其解离过程也被证实存在逆锁键与滑移键的相互转换^[48]. 微丝解聚过程中发现的逆锁-滑移键现象可能有助于我们进一步理解肌动蛋白依赖性机械转导

和机械敏感细胞骨架动力学的调节机制.

3.4 参与其他生命活动

除了参与 T 细胞受体抗原识别、微丝解聚过程外, 逆锁键也被发现在体内的其他重要生命活动中起到关键作用. 机械力可以影响血纤蛋白的形成并通过机械稳定性在血栓形成和止血过程中起到重要作用. Litvinov 等^[49]研究发现, 通过 knob-hole 键稳定的血纤蛋白聚合物也受到逆锁-滑移键的调控, 并提出可以参照 FimH 蛋白-配体结合时低亲和构象和高亲和构象之间的变构作用解释这一现象. 在信号转导领域已有研究表明, Notch 信号通路中的 Notch 受体可以与其配体 Jag1 经由逆锁键调控负性调节域, 从而促进其受体的激活^[18]. Luca 等^[18]研究发现, Notch 受体与其配体 Jag1 在结合后发生构象变化, 表现出逆锁键, 在 9 pN 附近时达到持续超过 0.4 s 的最长键寿命. 通过不同配体激活 Notch 信号所需力的大小不同, 可调节表达 Notch 信号细胞的敏感性并区分不同 Notch 配体.

4 调节逆锁键用于疾病治疗的设想

由于逆锁键增强了配体-受体相互作用, 病原体可以通过黏附素 FimH 蛋白附着于宿主上皮细胞. 致病性大肠杆菌通过这一方式加强黏附造成严重的尿路感染, 未来研究人员可以针对 FimH 蛋白的逆锁键形成机制研发新的抗黏着药物. 另一种思路是, 研究人员可以进一步研究是否可以通过药物分子与调节结构域靶向结合从而阻止 FimH 蛋白被变构激活, 干扰配体结合口袋的稳定性并最终终止逆锁键的形成, 从而治疗尿路感染等问题.

在逆锁键参与 T 细胞受体抗原识别过程中, 在外力的作用下 TCR-pMHC 复合物通过逆锁键发生变构, 产生紧密连接, 进而发出信号使细胞膜上的抗原识别蛋白和信号转导蛋白产生联系, 发挥免疫调节作用. 假如新的论据支撑 pHLA-A2-1G4-TCR 逆锁键与 HLA 基因及癌症具有相关性这一发现, 可以进一步展开对 pHLA-A2-1G4-TCR 的作用机制、其上游的基因转录和下游的信号转导过程的研究. 其中, 与逆锁键形成相关的蛋白质极有可能和未知的癌症新抗原有关^[4], 研究者可以通过这些信息预测新的抗原, 从而改进现有的 TCR-T 免疫细胞治疗的疗效或开发针对癌症的新的靶向治疗方案.

虽然逆锁键在 T 细胞受体抗原识别起到关键作用在近年来已经得到证实, 但是长期以来关于抗

原-抗体间的机械作用及其可能的生理功能知之甚少, 直到最近, González 等^[50] 测量了微球结合 CD16 抗原与表面结合抗 CD16 纳米抗体 (或单域抗体) 之间形成的单键的结合和解离, 同时观测到了滑移键和逆锁键现象. 这一研究成果表明了抗原-抗体结合可能也存在基于逆锁键的变构调节作用, 对这一发现的进一步研究可能有助于设计双特异性抗体应用于免疫疾病的治疗.

5 总 结

逆锁键是在外力诱导下经由受体-配体间复杂的相互作用所形成一种动态键, 其寿命随着施加到键上的外力增加而增加. 外力的作用是提高键的强度、延长受体-配体蛋白质复合物结合时间, 并最终促使复合物构象发生改变, 形成牢固的锁定结构. 当配体与受体分子构象改变后, 其连接作用也进而大大增强, 从而可以起到黏附、识别、与滑移键共同组成分子开关等作用. 现有研究结果表明, 由不同蛋白质分子相互作用所形成的逆锁键, 达到最适键寿命所需 pN 量级的力的大小不同, 所起到的作用也不相同. 在致病性原核生物于人体肠道、尿道中的黏附以及在与 TCR-pMHC 有关的免疫治疗过程中, 针对逆锁键以及与逆锁键形成相关蛋白质的研究有很大的疾病治疗前景. 未来, 这种与力相关的蛋白质间非共价作用在人体不同生理反应研究中的应用还有待进一步的研究与探讨.

参 考 文 献

- [1] Zhu C, Chen Y, Ju L A. Dynamic bonds and their roles in mechanosensing. *Curr Opin Chem Biol*, 2019, **53**: 88-97
- [2] Hertig S, Vogel V. Catch bonds. *Curr Biol*, 2012, **22**(19): R823-R825
- [3] Marshall B T, Long M, Piper J W, *et al.* Direct observation of catch bonds involving cell-adhesion molecules. *Nature*, 2003, **423**(6936): 190-193
- [4] Zhu C, Chen W, Lou J, *et al.* Mechanosensing through immunoreceptors. *Nat Immunol*, 2019, **20**(10): 1269-1278
- [5] Wu P, Zhang T, Liu B, *et al.* Mechano-regulation of peptide-MHC class I conformations determines TCR antigen recognition. *Mol Cell*, 2019, **73**(5): 1015-1027.e7
- [6] Spaulding C N, Klein R D, Ruer S, *et al.* Selective depletion of uropathogenic *E. coli* from the gut by a FimH antagonist. *Nature*, 2017, **546**(7659): 528-532
- [7] Lim Y B, Thingna J, Kong F, *et al.* Temperature-induced catch-slip to slip bond transit in plasmodium falciparum-infected erythrocytes. *Biophys J*, 2020, **118**(1): 105-116
- [8] Bell G I. Models for the specific adhesion of cells to cells. *Science*, 1978, **200**(4342): 618-627
- [9] Dembo M, Torney D C, Saxman K, *et al.* The reaction-limited kinetics of membrane-to-surface adhesion and detachment. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 1988, **234**(1274): 55-83
- [10] Huse M. Mechanical forces in the immune system. *Nat Rev Immunol*, 2017, **17**(11): 679-690
- [11] Chakrabarti S, Hinczewski M, Thirumalai D. Phenomenological and microscopic theories for catch bonds. *J Struct Biol*, 2017, **197**(1): 50-56
- [12] Dansuk K C, Keten S. A simple mechanical model for synthetic catch bonds. *Matter*, 2019, **1**(4): 911-925
- [13] Liu B Y, Chen W, Evavold B D, *et al.* Accumulation of dynamic catch bonds between TCR and agonist peptide-MHC triggers T cell signaling. *Cell*, 2014, **157**(2): 357-368
- [14] Carlucci L A, Thomas W E. Analysis of the lifetime of the FimH catch bond under force. *Biophysical Journal*, 2020, **118**(3): 514a
- [15] Li L, Kang W, Wang J Z. mechanical model for catch-bond-mediated cell adhesion in shear flow. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, **21**(2): 584
- [16] Kong F, Garcia A J, Mould A P, *et al.* Demonstration of catch bonds between an integrin and its ligand. *Journal of Cell Biology*, 2009, **185**(7): 1275-1284
- [17] Lee C Y, Lou J Z, Wen K K, *et al.* Actin depolymerization under force is governed by lysine 113:glutamic acid 195-mediated catch-slip bonds. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(13): 5022-5027
- [18] Luca V C, Kim B C, Ge C, *et al.* Signal transduction Notch-Jagged complex structure implicates a catch bond in tuning ligand sensitivity. *Science*, 2017, **355**(6331): 1320-1324
- [19] Robin T, Sokolov I M, Urbakh M. Life time of catch bond clusters. *Physica A*, 2018, **507**: 398-405
- [20] Thomas W E, Vogel V, Sokurenko E. Biophysics of catch bonds. *Annual Review of Biophysics*, 2008, **37**: 399-416
- [21] Yakovenko O, Sharma S, Forero M, *et al.* FimH forms catch bonds that are enhanced by mechanical force due to allosteric regulation. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, **283**(17): 11596-11605
- [22] Le Trong I, Aprikian P, Kidd B A, *et al.* Structural basis for mechanical force regulation of the adhesin FimH via finger trap-like beta sheet twisting. *Cell*, 2010, **141**(4): 645-655
- [23] Carlucci L A, Johnson K, Thomas W E. Mechanical strength of catch bond forming FimH and mannose. *Biophysical Journal*, 2019, **116**(3): 151a-152a
- [24] Sauer M M, Jakob R P, Eras J, *et al.* Catch-bond mechanism of the bacterial adhesin FimH. *Nature Communications*, 2016, **7**: 10738
- [25] Finger E B, Puri K D, Alon R, *et al.* Adhesion through L-selectin requires a threshold hydrodynamic shear. *Nature*, 1996, **379**(6562): 266-269
- [26] Ling Y C, Fang Y, Yang X F, *et al.* Regulation of shear stress on rolling behaviors of HL-60 cells on P-selectin. *Sci China Phys Mech*, 2014, **57**(10): 1998-2006
- [27] Barsegov V, Thirumalai D. Dynamics of unbinding of cell adhesion molecules: transition from catch to slip bonds. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, **102**(6): 1835-1839

- [28] Li Q H, Wayman A, Lin J G, *et al.* Flow-enhanced stability of rolling adhesion through E-selectin. *Biophysical Journal*, 2016, **111**(4): 686-699
- [29] Yago T, Wu J H, Wey C D, *et al.* Catch bonds govern adhesion through L-selectin at threshold shear. *Journal of Cell Biology*, 2004, **166**(6): 913-923
- [30] Ivetic A, Green H L H, Hart S J. L-selectin: a major regulator of leukocyte adhesion, migration and signaling. *Front Immunol*, 2019, **10**: 1068
- [31] Wang J H. T cell receptors, mechanosensors, catch bonds and immunotherapy. *Prog Biophys Mol Bio*, 2020, **153**: 23-27
- [32] Dustin M L, Springer T A. T-cell receptor cross-linking transiently stimulates adhesiveness through Lfa-1. *Nature*, 1989, **341**(6243): 619-624
- [33] Li Y C, Chen B M, Wu P C, *et al.* Cutting edge: mechanical forces acting on t cells immobilized *via* the TCR complex can trigger TCR signaling. *Journal of Immunology*, 2010, **184**(11): 5959-5963
- [34] Saitakis M, Dogniaux S, Goudot C, *et al.* Different TCR-induced T lymphocyte responses are potentiated by stiffness with variable sensitivity. *Elife*, 2017, **6**: e23190
- [35] Pullen R H, Abel S M. Catch bonds at T cell interfaces: impact of surface reorganization and membrane fluctuations. *Biophysical Journal*, 2017, **113**(1): 120-131
- [36] Das D K, Mallis R J, Duke-Cohan J S, *et al.* Pre-T cell receptors (Pre-TCRs) leverage Vbeta complementarity determining regions (CDRs) and hydrophobic patch in mechanosensing thymic self-ligands. *J Biol Chem*, 2016, **291**(49): 25292-25305
- [37] Hong J S, Persaud S P, Horvath S, *et al.* Force-regulated *in situ* TCR-peptide-bound MHC class II kinetics determine functions of CD4(+) T cells. *Journal of Immunology*, 2015, **195**(8): 3557-3564
- [38] Hong J S, Ge C H, Jothikumar P, *et al.* A TCR mechanotransduction signaling loop induces negative selection in the thymus. *Nature Immunology*, 2018, **19**(12): 1379-1390
- [39] Limozin L, Bridge M, Bongrand P, *et al.* TCR-pMHC kinetics under force in a cell-free system show no intrinsic catch bond, but a minimal encounter duration before binding. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, **116**(34): 16943-16948
- [40] Chowell D, Morris L G T, Grigg C M, *et al.* Patient HLA class I genotype influences cancer response to checkpoint blockade immunotherapy. *Science*, 2018, **359**(6375): 582-587
- [41] Hynes R O. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell*, 2002, **110**(6): 673-687
- [42] Chen W, Lou J Z, Evans E A, *et al.* Observing force-regulated conformational changes and ligand dissociation from a single integrin on cells. *Journal of Cell Biology*, 2012, **199**(3): 497-512
- [43] Bidone T C, Oakes P W, Beckham Y, *et al.* Integrin catch bond kinetics mediate mechanosensing during cell spreading. *Biophysical Journal*, 2017, **112**(3): 28a
- [44] Doherty G J, McMahon H T. Mediation, modulation, and consequences of membrane-cytoskeleton interactions. *Annual Review of Biophysics*, 2008, **37**: 65-95
- [45] Guo B, Guilford W H. Mechanics of actomyosin bonds in different nucleotide states are tuned to muscle contraction. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(26): 9844-9849
- [46] Lee C Y, Lou J Z, Wen K K, *et al.* Regulation of actin catch-slip bonds with a RhoA-formin module. *Sci Rep-Uk*, 2016, **6**: 35058
- [47] Lee H, Eskin S G, Ono S, *et al.* Force-history dependence and cyclic mechanical reinforcement of actin filaments at the single molecular level. *Journal of Cell Science*, 2019, **132**(4): jcs216911
- [48] Xie P. Dynamics of ATP-dependent and ATP-independent steppings of myosin-V on actin: catch-bond characteristics. *J R Soc Interface*, 2020, **17**(165): 20200029
- [49] Litvinov R I, Kononova O, Zhmurov A, *et al.* Regulatory element in fibrin triggers tension-activated transition from catch to slip bonds. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, **115**(34): 8575-8580
- [50] González C, Chames P, Kerfelec B, *et al.* Nanobody-CD16 catch bond reveals NK cell mechanosensitivity. *Biophysical Journal*, 2019, **116**(8): 1516-1526

Research Progress of Catch Bonds in Molecular Adhesion*

CAO Xu^{1,2)**}, CHANG Sheng-Yuan¹⁾

¹⁾Chemistry Department, Fudan University, Shanghai 200433, China;

²⁾School of Data Science, Fudan University, Shanghai 200433, China)

Abstract Catch bond is a type of dynamic bond that exists in receptor protein and ligand interactions. The bond lifetime of catch bond is positively correlated with the pN-level external force that applied onto it within a certain range. Catch bond is mainly involved in cell adhesion and cell activation processes and it forms molecular switch with slip bond to regulate cell adhesion related cell activities. Catch bond has proven link with the urinary tract infection process that initiated by the pathogenic *E. coli*, T cell receptor-antigen recognition, microfilament depolymerization and Notch signaling pathway activation. This review summarized the progresses and new findings of catch bond research in cell adhesion, T cell activation, actin interaction. For cell adhesion of prokaryotes and eukaryote, catch bonds exist in a wide range of related proteins, including FimH, selectin, integrin. For T cell activation, recent research revealed that the catch bond in TCR-pMHC interaction is closely related to cancer cell development processes and this finding provides a new direction in improving T cell receptor-gene engineered T cells (TCR-T) immunotherapy. For actin interaction, the actin catch bond has been proven involving in RhoA-formin switch force-induced actin cytoskeleton alignment process. To further illustrate the prospect of catch bonds in medical research, we also discussed the potential of catch bonds in the development of anti-bacterial or anti-adhesion drugs and improvement for the TCR-T immunotherapy.

Key words catch bond, slip bond, lifetime, cell adhesion, T-cell receptor

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0280

* This work was supported by a grant from Fudan University Science and Technology Development Funds(2016-2017-016).

** Corresponding author.

Tel: 86-13332921593, E-mail: caox16@fudan.edu.cn

Received: August 2, 2020 Accepted: December 2, 2020