

肌球蛋白工作循环的一个新模型*

郭维生 罗辽复**

(内蒙古大学理论生物物理研究室, 呼和浩特 010021)

摘要 分析总结关于分子马达肌球蛋白的最新研究结果, 给出一个新的肌球蛋白工作循环的机械化学偶联模型. 从新模型出发, 用一组化学动力学方程描述肌肉中大量肌球蛋白的集体工作行为. 利用动力学方程的非平衡定态解, 并结合 Pate 和 Cooke 的实验结果得到了力作为变量的肌肉态方程. 理论结果同热力学原理一致, 与传统的肌肉收缩理论有一定区别. 根据肌肉的特殊结构, 对肌肉态方程做了进一步讨论.

关键词 肌球蛋白, 循环模型, 化学动力学方程, 肌肉态方程

学科分类号 Q61

在已发现的诸类分子马达中, 关于骨骼肌肌球蛋白的研究最多. 利用 X 射线衍射给出了分辨率为 0.28 nm 的肌球蛋白的三维结构^[1]. 利用光学捕捉器 (optical trap) 等手段测试了肌球蛋白的单分子力学性质^[2, 3]. 建立了肌球蛋白工作循环过程的机械化学偶联模型^[4, 5]. 然而, 已有的肌球蛋白工作循环模型同近年的实验结果^[6, 7]存在矛盾. 肌肉收缩时产生的力与肌肉中大量肌球蛋白的生化状态分布间的关系缺乏理论解释. 本文的第一部分给出一个新的肌球蛋白工作循环的机械化学偶联模型. 在第二部分中, 从描述肌球蛋白工作循环的化学动力学方程出发得到了力作为变量的肌肉态方程. 在第三部分, 根据肌肉的特殊结构对肌肉态方程作了进一步讨论.

1 肌球蛋白工作循环的机械化学偶联模型

肌球蛋白头部兼有 ATP 分解酶作用及与肌动蛋白结合作用. 肌动蛋白结合面与 ATP 活性部位位于肌球蛋白头部的相反两面^[1], 给出肌肉收缩动力学模型的关键是搞清一个机制: 肌球蛋白水解 ATP 是如何驱动肌球蛋白与肌动蛋白周期性相互作用过程的? 而肌动蛋白与肌球蛋白周期性结合与分离又是如何促进肌球蛋白水解 ATP 的? 虽然这些问题还未彻底解决, 然而, 总结过去近 50 年在离体运动分析、分子遗传学及结构生物学三方面的探索^[4, 5, 7, 8], 可给出图 1 所示的机械化学偶联的肌动蛋白激活肌球蛋白水解 ATP 循环.

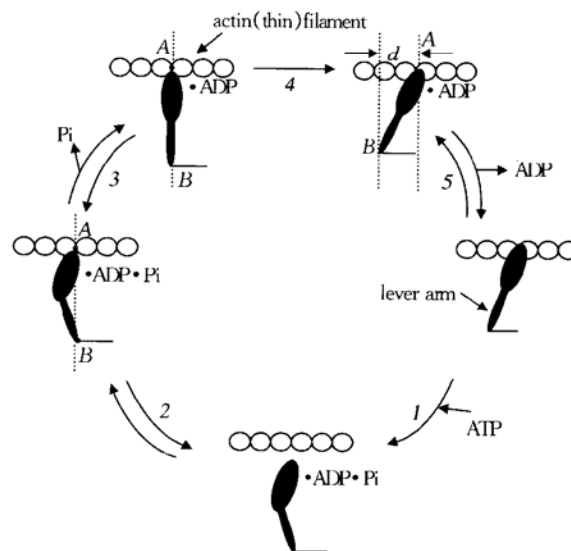


Fig 1 The schematic mechanochemical actin activated myosin ATPase cycle

根据这个假设, 肌球蛋白和肌动蛋白存在一个分离态, 两个弱结合态和两个强结合态. 图 1 中步骤 1, ATP 结合到肌球蛋白的球状头部, 引起肌球蛋白的肌动蛋白结合部位的构象变化^[4], 使得肌球蛋白同肌动蛋白迅速分离. ATP 被水解为 ADP 和 Pi, ADP 和 Pi 同肌球蛋白处于结合态, 表示为 myosin•ADP•Pi. 水解过程引起肌球蛋白头部

* 国家自然科学基金资助项目 (59967001).

** 通讯联系人.

Tel: 0471-4992676, E-mail: lfluo@mail.imu.edu.cn

收稿日期: 2002-09-28, 接受日期: 2002-11-20

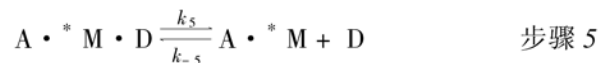
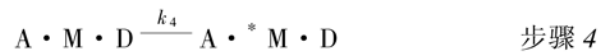
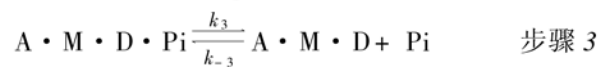
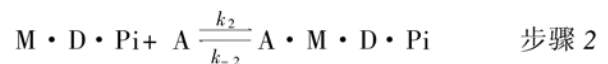
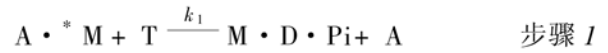
的构象变化, ATP 水解的化学能转化为肌球蛋白的构象能. 此时肌球蛋白头部的杆状部分 (也称为杠杆臂) 所处的状态称为过渡态^[7] (transition state). 步骤 2, myosin·ADP·Pi 和肌动蛋白形成弱结合态, 表示为 actin·myosin·ADP·Pi. 步骤 3 为 Pi 的释放, 表示为 actin·myosin·ADP. Pi 的释放触发了肌球蛋白头部的杆状部分发生约 60° 角的摆动^[8]. 图 1 中 A 点表示肌球蛋白与肌动蛋白的结合位点, B 点表示肌球蛋白杠杆臂末端. 由于肌肉负载的阻碍作用, 弱结合态时杠杆臂的摆动没有引起杆臂末端 B 相对结合位点 A 的滑动, 而是肌球蛋白绕结合位点 A 有一转动. 杠杆臂摆动的同时肌球蛋白的肌动蛋白结合部位的构象也发生相应的变化, 变化后的构象适宜与肌动蛋白形成强结合态^[7]. 步骤 4, 从弱结合态过渡到强结合态, 表示为 actin·*myosin·ADP. 此时杠杆臂所处的状态称为近僵直态^[7] (near rigor state). B 点相对 A 点移动 $d \approx 10$ nm. 这一步可看作动力冲程 (power stroke). 动力冲程发生在强结合态的形成过程. 肌动球蛋白的构象能转化为机械能. 步骤 5, 强结合态形成以后, ADP 得以释放. 此时肌球蛋白与肌动蛋白仍处于强结合态, 表示为 actin·*myosin. ADP 的释放使得 ATP 又可以迅速结合, 以此循环下去.

在传统的六态模型^[5]中, 假定杠杆臂的摆动发生在强结合态 actin·*myosin·ADP 形成之后并将之视为动力冲程. 而在我们提出的模型中, 假定了弱结合态 actin·myosin·ADP 转变为强结合态 actin·*myosin·ADP 过程中发生动力冲程. 这和文献^[7]的实验结果一致——杠杆臂的摆动发生在弱结合态 actin·myosin·ADP. 如果把弱结合态和强结合态的能量差别看作是结合能的差别, 那么结合能原则上可分为两部分, 一是构象态的能量, 二是在给定构象下电子态的能量^[9]. 前者与生物大分子中原子基团和原子整体的运动有关, 是涉及分子形状的能量. 在肌球蛋白工作循环过程中, 不同步骤中构象能和电子态能量所起的作用是不同的. 在 ATP 水解和化学能的释放一步中涉及到电子态的变化. 而在弱结合态到强结合态的过渡中则主要是构象态的变化^[4], 尚未存在任何实验现象表明电子态的变化. 因此本文认为在这一步中的能量变化主要是由构象能的变化引起. 由于弱结合态构象能较高, 而强结合态构象能较低, 动力冲程是实现构象能转化为机械能的环节, 应该对映弱结合态向强

结合态的转化. 因此, 从能量转化的观点看, 我们的模型更合理. 从上面的讨论可以看出, 肌球蛋白将化学能转化为机械能的途径是: ATP 分解的化学能 → 肌动球蛋白复合物的构象能 → 机械能.

2 肌肉态方程

由图 1, 可以写出肌球蛋白工作循环过程的化学反应方程式:



其中: M 表示肌球蛋白; A 表示肌动蛋白 (actin); T 表示 ATP; D 表示 ADP; Pi 表示无机磷酸盐; * 表示肌球蛋白同肌动蛋白处于强结合态.

肌肉中体积 $\Delta V =$ 半个肌节长 $\times 1 \text{ m}^2$ 内约有 10^{-7} mol 的肌球蛋白, 浓度为 5×10^{-5} mol/L. 因此, 肌节中处于各个生化状态的肌球蛋白可用浓度变量描述. 在肌肉离体实验中, 设溶液中 ATP、ADP、Pi 的浓度为 $[ATP] = a_1$, $[ADP] = a_2$, $[Pi] = a_3$. 实验中可以控制 $[ATP]$ 、 $[ADP]$ 及 $[Pi]$, 因此 a_1 、 a_2 和 a_3 可以看作常数. 肌节有特殊的结构, 肌球蛋白和肌动蛋白分子都是一维排列 (图 2). M·D·Pi 附近的肌动蛋白不可能处于其他结合态, 所以可将步骤 1 和 2 中的肌动蛋白的浓

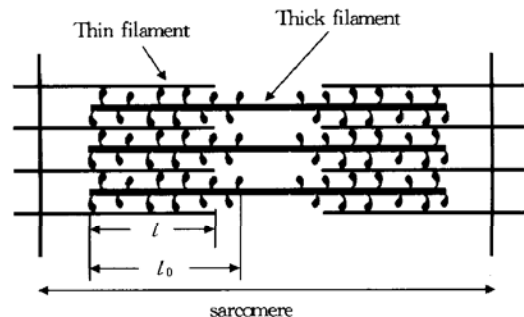


Fig 2 Schematic longitudinal cross section of a myofibril, showing the interdigitating thick (myosin) and thin (actin) filaments forming a single sarcomere

l denotes the overlapping length of thick and thin filament in the half sarcomere, while l_0 denotes the length of thick filament in the half sarcomere.

度看作常数, 表示为 a . 设处于各个生化状态的肌球蛋白的浓度为: $[A \cdot^* M] = x_1$, $[M \cdot D \cdot Pi] = x_2$, $[A \cdot M \cdot D \cdot Pi] = x_3$, $[A \cdot M \cdot D] = x_4$, $[A \cdot^* M \cdot D] = x_5$. 肌节中大量肌球蛋白工作时的集体行为可用下面一组化学动力学方程描述.

$$\frac{dx_1}{dt} = k_5x_5 - (k_{-5}a_2 + k_1a_1)x_1 \quad (1a)$$

$$\frac{dx_2}{dt} = k_1a_1x_1 + k_{-2}x_3 - k_2ax_2 \quad (1b)$$

$$\frac{dx_3}{dt} = k_2ax_2 - (k_{-2} + k_3)x_3 + k_{-3}a_3x_4 \quad (1c)$$

$$\frac{dx_4}{dt} = k_3x_3 - (k_{-3}a_3 + k_4)x_4 \quad (1d)$$

$$\frac{dx_5}{dt} = k_4x_4 - k_5x_5 + k_{-5}a_2x_1 \quad (1e)$$

在肌节中, 处于各个生化状态的肌球蛋白分子总和应为常数:

$$x_1 + x_2 + x_3 + x_4 + x_5 = a_4 \quad (1f)$$

在许多重要情形下, 图 1 所示的肌球蛋白的工作循环要达到定态. 设方程 (1) 中的时间导数为零, 得到定态解:

$$x_1 = k_2k_3k_4k_5aa_4/A \quad (2a)$$

$$x_2 = (k_1k_{-2}k_{-3}k_5a_1a_3a_4 + k_1k_{-2}k_4k_5a_1a_4 + k_1k_3k_4k_5a_1a_4)/A \quad (2b)$$

$$x_3 = (k_1k_2k_{-3}k_5aa_1a_3a_4 + k_1k_2k_4k_5aa_1a_4)/A \quad (2c)$$

$$x_4 = k_1k_2k_3k_5aa_1a_4/A \quad (2d)$$

$$x_5 = (k_2k_3k_4k_{-5}aa_2a_4 + k_1k_2k_3k_4aa_1a_4)/A \quad (2e)$$

定态解满足:

$$\begin{aligned} k_1a_1x_1 &= k_2ax_2 - k_{-2}x_3 = k_3x_3 - k_{-3}a_3x_4 \\ &= k_4x_4 = k_5x_5 - k_{-5}a_2x_1 = k_1k_2k_3k_4k_5aa_1a_4/A \\ &\neq 0 \end{aligned} \quad (2f)$$

并且得到

$$\begin{aligned} \frac{x_5}{x_2} &= \frac{[A \cdot^* M \cdot D]}{[M \cdot D \cdot Pi]} \\ &= \frac{k_2k_3k_4k_{-5}aa_2 + k_1k_2k_3k_4aa_1}{k_1k_{-2}k_{-3}k_5a_1a_3 + k_1k_{-2}k_4k_5a_1 + k_1k_3k_4k_5a_1} \end{aligned} \quad (2g)$$

在上面 (2a) ~ (2g) 式中

$$A = k_2k_3k_4k_{-5}aa_2 + k_2k_3k_4k_5a + k_1k_{-2}k_{-3}k_5a_1a_3 + k_1k_{-2}k_4k_5a_1 + k_1k_3k_4k_5a_1 + k_1k_2k_{-3}k_5aa_1a_3 + k_1k_2k_4k_5aa_1 + k_1k_2k_3k_4aa_1 + k_1k_2k_3k_5aa_1 \quad (2h)$$

由于 $k_2 \gg k_{-2}$, $k_3 \gg k_{-3}$, $k_5 \gg k_{-5}$, 可将每一反向速率常数看作一阶小量, 反向速率常数之积为高阶小量. 从 (2) 式可以看到, 所有包含 a_2 或 a_3 的项均为一阶或二阶小量. 说明肌球蛋白处于

各个生化状态的比例受 ADP 及 Pi 的影响很小, 特别是 $[A \cdot^* M \cdot D] / [M \cdot D \cdot Pi]$ 几乎不受 Pi 浓度的影响. 这些理论结果同 Baker 等^[10] 的实验结果一致. 值得注意的是 (2) 式是非平衡定态解. 平衡态须遵从爱因斯坦细致平衡原理, 即 (2f) 式等于零. (2f) 式不为零意味着在定态时肌球蛋白还在不停地经历着它们的化学循环.

为了进一步理解肌肉中的机械化学偶联, 需要确定肌肉产生的力与定态的关系. 从肌球蛋白与肌动蛋白的结合到动力冲程的发生其生化反应为:



将反应前后肌球蛋白构象能的差值称为构象势, 用 μ_{con} 表示. 构象势应平衡生化反应中的自由能变化,

$$\mu_A + \mu_{M \cdot D \cdot Pi} = \mu_{A \cdot^* M \cdot D} + \mu_{Pi} + \mu_{con} \quad (3)$$

(3) 式可写作:

$$\Delta G^0 = -RT \ln \frac{[A \cdot^* M \cdot D][Pi]}{[M \cdot D \cdot Pi][A]} - \mu_{con} \quad (4)$$

其中 $\Delta G^0 = \mu_{A \cdot^* M \cdot D}^0 - \mu_{Pi}^0 - \mu_A^0 - \mu_{M \cdot D \cdot Pi}^0$ 是标准反应自由能. 将 Pi 的浓度从 $[Pi]_{initial}$ 变化到 $[Pi]_{final}$, 由于 $[A \cdot^* M \cdot D] / [M \cdot D \cdot Pi]$ 不随 $[Pi]$ 变化, 由 (4) 式得构象势的变化

$$\Delta \mu_{con} = -RT \ln \frac{[Pi]_{final}}{[Pi]_{initial}} \quad (5)$$

另一方面, 在肌肉的等长收缩实验中, 当 Pi 的浓度从 $[Pi]_{initial}$ 变化到 $[Pi]_{final}$ 时, Pate 等^[11] 观察到肌肉张力的变化为

$$\Delta F \propto -RT \ln \frac{[Pi]_{final}}{[Pi]_{initial}} \quad (6)$$

他们对 (6) 的定性解释是: $[Pi]$ 的增加减少了处于动力冲程态的肌球蛋白分子数, 从而减少了肌肉收缩张力. 由 (5) 和 (6) 式得

$$\mu_{con} \propto \Delta F \quad (7)$$

依据 (7) 式, 当肌肉收缩达到定态时, 设 μ_{con} 和 F 的关系为

$$\mu_{con} = \frac{Fd}{n} \quad (8)$$

d 的意义见图 1, 为动力冲程. 而 n 为体积 $\Delta V =$ 半个肌节长 $\times 1 \text{ m}^2$ 内的肌球蛋白分子数. 将 (8) 式代入 (4) 式得

$$\Delta G^0 = -RT \ln \frac{[A \cdot^* M \cdot D][Pi]}{[M \cdot D \cdot Pi][A]} - \frac{Fd}{n} \quad (9)$$

Baker 等^[12] 从实验中得到了 (9) 式, 由于此式将力与表征肌肉中肌球蛋白生化状态分布的

$[A \cdot^* M \cdot D] / [M \cdot D \cdot Pi]$ 联系在一起, 因此 Baker 称其为肌肉态方程. 肌肉态方程将肌肉系统产生的宏观力同肌动蛋白、肌球蛋白和 Pi 的自由能联系在一起, 说明自由能并不是局域系统的单一成分而是可以在系统的所有成分中交换. 肌肉系统在保持态分布不变的情况下其产生的力可随 $[Pi]$ 变化, 这同传统的肌肉理论观点^[13] 是不同的. Baker 等^[10] 在文章中这样写道: “几十年来, 一直假设机械化学偶联只局域于肌球蛋白. 这是传统的肌肉模型, 却不是建立在传统的生化热力学原理基础上, 忽略了肌球蛋白同其他配体交换自由能”. 我们的讨论为从实验中得到的肌肉态方程提供了理论

$$F = -l \frac{n_0}{l_0 d} \left[\Delta G^0 + RT \ln \frac{[A \cdot^* M \cdot D][Pi]}{[M \cdot D \cdot Pi][A]} \right]$$

$$= -l \frac{n_0}{l_0 d} \left[\Delta G^0 + RT \ln \frac{k_2(k_3 k_4 k_{-5} a a_2 + k_1 k_3 k_4 a a_1)[Pi]}{(k_1 k_{-2} k_{-3} k_5 a_1 a_3 + k_1 k_{-2} k_4 k_5 a_1 + k_1 k_3 k_4 k_5 a_1)[A]} \right] \quad (11)$$

(11) 式是给定 l 时单位横截面积的肌肉产生的力. 肌节中肌球蛋白和肌动蛋白沿粗丝和细丝一维排列. 细丝上肌球蛋白的结合位点是不连续的, 肌球蛋白与一个结合位点分离之后移动到下一个相邻结合位点并与其结合. Leibler 等^[14] 指出, 当肌肉以一定速度收缩时, 肌球蛋白可能跃过几个相邻结合位点与后面的结合位点结合. 相当于减弱了肌球蛋白与肌动蛋白的结合过程. 考虑这一因素, (11) 式中的 k_2 在一阶近似下可做如下替换

$$k_2 \Rightarrow k_2 \left[1 - a \frac{d}{dt} \left(\frac{l}{l_0} \right) \right] \quad (12)$$

做 (12) 式的替换, (11) 式为

$$F = -l \frac{n_0}{l_0 d} \left[\Delta G^0 + RT \ln \frac{[A \cdot^* M \cdot D][Pi]}{[M \cdot D \cdot Pi][A]} \right]$$

$$+ RT \ln \left[1 - a \frac{d}{dt} \left(\frac{l}{l_0} \right) \right] \quad (13)$$

由于 $a \frac{d}{dt} \left(\frac{l}{l_0} \right)$ 是一个小量, (13) 式可写成下面形式

$$F = -l \frac{n_0}{l_0 d} \left[\Delta G^0 + RT \ln \frac{[A \cdot^* M \cdot D][Pi]}{[M \cdot D \cdot Pi][A]} \right]$$

$$- RT a \frac{d}{dt} \left(\frac{l}{l_0} \right) \quad (14)$$

在文献 [15] 中, 我们从 Baker 肌肉态方程出发, 用不同的方法得到了 (14) 式, 并依据此式给出了描述肌肉收缩及自发振动的统一的动力学方程.

(14) 式中 $\frac{n_0 RT}{d} \ln \frac{[A \cdot^* M \cdot D][Pi]}{[M \cdot D \cdot Pi][A]}$ 项的值决定

基础.

3 关于肌肉态方程的进一步讨论

肌球蛋白须经肌动蛋白激活才能完成工作循环, 依据图 2, (9) 式中的 n 应为

$$n = n_0 \frac{l}{l_0} \quad (10)$$

其中 l 是半个肌节中粗丝和细丝重叠的长度, l_0 是半个肌节中粗丝的长度, n_0 是体积 ΔV ($\Delta V = l_0 \times 1 \text{ m}^2$) 内肌球蛋白的摩尔数. 将 (2g) 和 (10) 式代入 (9) 式得到

肌肉是收缩还是振动, 而 $\frac{n_0 RT a}{d} \left(\frac{l}{l_0} \right) \frac{d}{dt} \left(\frac{l}{l_0} \right)$ 项在肌肉自发振动中起增益作用.

4 总 结

a. 给出了一个新的描述肌球蛋白工作循环的机械化学偶联模型. 这一模型符合关于肌球蛋白的最新研究结果.

b. 给出了描述肌节中大量肌球蛋白工作循环的化学动力学方程. 动力学方程的非平衡定态解表明处于各个生化状态的肌球蛋白比例基本不受 ADP 及 Pi 的浓度的影响, 并据此得到了力作为变量的肌肉态方程, 理论结果同热力学原理一致.

c. 根据肌肉的特殊结构对肌肉态方程作了进一步讨论.

参 考 文 献

- 1 Rayment I, Rypniewski W R, Schmidt-Base K, *et al.* Three-dimensional structure of myosin subfragment-1: a molecular motor. *Science*, 1993, **261** (5117): 50~ 59
- 2 Finer J T, Simmons R M, Spudich J A. Single myosin molecule mechanics: piconewton forces and nanometre steps. *Nature*, 1994, **368** (6467): 113~ 119
- 3 Molloy J E, Burns J E, Kendrick-Jones J, *et al.* Movement and force produced by a single myosin head. *Nature*, 1995, **378** (6553): 209~ 212
- 4 Rayment I, Holden H M, Whittaker M, *et al.* Structure of the actin-myosin complex and its implications for muscle contraction. *Science*, 1993, **261** (5117): 56~ 65
- 5 Spudich J A. How molecular motor work. *Nature*, 1994, **372** (6506): 515~ 518

- 6 Kitamura K, Tokunaga M, Iwane A H, *et al.* A single myosin head moves along an actin filament with regular steps of 5.3 nanometres. *Nature*, 1999, **397** (6715) : 129~ 133
- 7 Houdusse A, Sweeney H L. Myosin motors: missing structures and hidden springs. *Current Opinion on Structure Biology*, 2001, **11** (2) : 182~ 194
- 8 Suzuki Y, Yasunaga T, Ohkura R, *et al.* Swing of the lever arm of a myosin motor at the isomerization and phosphate release steps. *Nature*, 1998, **396** (6709): 380~ 383
- 9 Luo L F. Conformation dynamics of macromolecules. *Int J Quant Chem*, 1986, **32** (4) : 380~ 392
- 10 Baker J E, Laconte L E, Brust-Mascher I, *et al.* Mechanochemical coupling in spin-labeled, active, isometric muscle. *Biophys J*, 1999, **77** (5): 2657~ 2664
- 11 Pate E, Cooke R. A model of cross-bridge action: effects of ATP, ADP and Pi. *J Muscle Res Cell Motil*, 1989, **10** (2): 181~ 196
- 12 Baker J E, Thomas D D. Thermodynamics and kinetic of a molecular motor ensemble. *Biophys J*, 2000, **79** (4): 1731~ 1736
- 13 Hill T L. *Free Energy Transduction and Biochemical Cycle Kinetics*. New York: Springer-verlag, 1989. 54~ 80
- 14 Leibler S, Huse D A. Porters versus rowers: a unified stochastic model of motor proteins. *J Cell Biol*, 1993, **121** (6): 1357~ 1368
- 15 Guo W S, Luo L F, Lee Q Z. A chemical kinetic theory on muscle contraction and spontaneous oscillation. *Chemical Physics Letters*, 2002, **363** (5~ 6): 471~ 478

A New Model of The Mechanochemical Actin-activated Myosin ATPase Cycle*

GUO Wei Sheng, LUO Liao-Fu**

(Laboratory of Theoretical Biophysics, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China)

Abstract A new model of the mechanochemical actin-activated myosin ATPase cycle is proposed. In active muscle, the collective behavior of a large number of myosins in muscle can be described with a set of chemical kinetic equations. The non-equilibrium steady state solution of equations shows that the fraction of myosin heads in any given biochemical state is independent of both the concentrations of ADP and Pi. Combining muscle mechanics data of Pate and Cooke, the muscle state equation is deduced. The theoretical results are consistent with Baker's experimental data but some what different from conventional muscle theory. Based on the knowledge of special structure of muscle, the muscle state equation is discussed thoroughly.

Key words myosin, the cyclic model, chemical kinetic equation, the muscle state equation

* This work was supported by a grant from The National Natural Sciences Foundation of China (59967001).

** Corresponding author. Tel: 86-471-4992676, E-mail: lflu@mail.imu.edu.cn

Received: September 28, 2002 Accepted: November 20, 2002