

驱动蛋白及其研究进展

吕刚 纪青 展永

(河北工业大学文理学院 天津 300130)

卓益忠

(中国原子能科学院 北京 102413)

生命活动与体内的输运过程密切相关。像我们在宏观层次中用到的热机一样,在生物体内也存在着许多具有马达功能的微观“机器”——分子马达(molecular motor)。它们广泛存在于肌肉纤维和细胞组织中,是一种特殊的蛋白质大分子。到目前为止,人们发现的这类分子已有上百种,它们在生物体内执行着各种各样的功能,参与了大量的生命活动过程,从肌肉的收缩,遗传物质 DNA 的复制,一直到细胞的有丝分裂等等。

目前已经知道的分子马达中,研究的比较深入的主要有:(1)肌球蛋白(myosin),对它的研究可以追溯到 1864 年,它是人们最早研究的马达之一,主要存在于肌肉纤维和真核细胞内。它们在肌动蛋白纤丝上运动,执行肌肉收缩,细胞内物质运输和细胞物质形态改变等功能;(2)驱动蛋白(kinesin),发现于 1985 年,主要存在于真核细胞内。它们沿着微管运动,负责运送细胞器和细胞小泡,并参与细胞的有丝分裂;以上两种为线性运动马达。(3)旋转马达,即 ATP(三磷酸腺苷)合成酶。它是一种转动马达;它们广泛存在于线粒体,叶绿体,光和细菌和异养菌中,是生物体能量转换的核心酶,它们参与氧化磷酸化和光和磷酸化过程,在跨膜质子动力势的推动下催化合成 ATP,并可利用 ATP 的能量实现 H^+ 的跨膜运输。

在所有这些分子马达中,驱动蛋白由于其特有的动力学特性引起了人们的广泛兴趣。实验表明,驱动蛋白能够催化 ATP 水解为 ADP(二磷酸腺苷)和 P_i (无机磷),将贮藏在 ATP 分子中的化学能高效地转化为机械能,产生定向运动,将细胞器和各种细胞内物质沿着细胞骨架系统从合成部位快速有效地运送到功能部位。对这一问题的研究,对于人们理解生命中的运动现象是非常重要的和富有启发性的,不仅有助于我们揭示蛋白质的运动机理,深入认识生命活动的本质,而且可以帮助人类搞清生物体内能量转化的过程,从新的角度去认识和利用这一能

量转化机制。此外,驱动蛋白还是一种典型的线性运动马达;因此在这篇文章中我们虽然主要讨论的是驱动蛋白马达,但这对于其他线性运动马达来说也具有普遍意义的。

1. 驱动蛋白简介

驱动蛋白是美国加州大学的 Ronald D. Vale 等人在 1985 年首次在鱿鱼的大轴突中发现并命名的一种细胞质运动蛋白。他们在研究轴突的运动中发现,当存在 ATP 的水解类似物 AMP-PNP 时,该蛋白可以与微管稳定连接,而当加入 ATP 或 KCl(氯化钾)后,该蛋白又很快与微管分开。最初发现驱动蛋白的功能是在动物的神经系统中参与囊泡的运输,随后人们又发现驱动蛋白参与了各种有膜细胞器,如线粒体,溶酶体及内置网上的运输。后来的发现表明在植物运输旺盛的器官及组织中也存在驱动蛋白,参与物质运输的过程。研究发现,在有丝分裂的过程中,驱动蛋白使中心粒分开,导致纺锤体极性的形成。近年来,越来越多的证据表明,驱动蛋白参与了许多重大的生命过程,因此,驱动蛋白引起了科学家越来越多的关注。

2. 驱动蛋白的结构

随着现代实验技术的不断发展,人们对于驱动蛋白的结构有了深入的认识。实验表明,驱动蛋白由两条相同的链组成,如图 1 所示。每条重链的一端由约 340 个氨基酸折叠成球状,称为驱动蛋白的头部,它是马达与微管蛋白结合和催化 ATP 水解的部位。其余部分相互盘绕成双股的 α 螺旋。链的末端结合有轻链,称为驱动蛋白的尾部,用来连接要运送的细胞器。

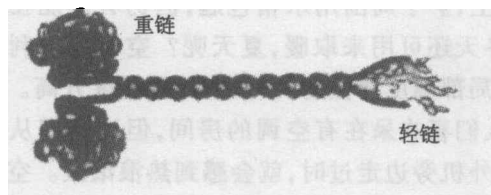


图 1 驱动蛋白结构示意图

1970年,Edelman为了描述免疫球蛋白IgG分子的构象提出了结构域(domain)的概念。结构域是球状蛋白质的折叠单位。人们将驱动蛋白分为3个重要的结构域,两个头部构成了马达结构域(motor domain),它们的结构相同,每个头上都有核酸催化位点和与微管的结合位点。另一个重要的结构域为二聚化结构域(dimerization domain),包括缠绕螺旋部分(coiled-coil),它使两个头连接起来,且用尾部拉住负载(load)。第三个结构域是颈部连接域(neck-linker),它包括两个颈部,它们连接在马达域上,并且可以伸屈,如图2所示。

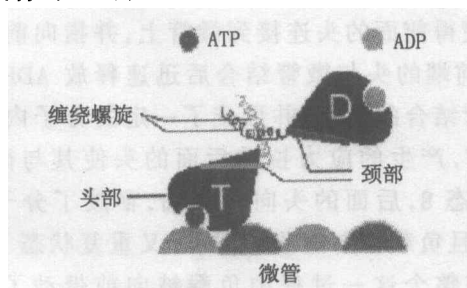


图2 驱动蛋白的结构简图

实验表明,颈部的结构及构象变化对整个马达的运动有着非常重要的影响。通常认为颈部连接域起着力学放大器的作用,它可以将催化位点内产生的微小的构象变化放大为马达的运动。马达两个头部间的相互作用是通过二聚化结构域和颈部连接域来实现的。这两个域也有一定的化学功能。实验发现马达的两个头部的化学状态是相互关联的,当其中的一个头处在一个化学态时,另一个头只能处于某一相应的化学态。

细胞内的分子马达沿着特定的轨道运动,如肌球蛋白沿着肌动蛋白丝(actin filament)运动,驱动蛋白沿着微管作定向运动。驱动蛋白的运动轨道——微管(microtubule),如图3所示。它是由13根纵向原纤维排成的中空管,外径约25~26纳米(nm),平均直径为24nm,每一根纵向原纤维由 α 和 β 两种微管蛋白亚基(tubulin subunit)按着 α 、 β 、 α 、 β ……的顺序周期排列而成。 α 亚基含450个氨基酸残基, β 亚基



图3 微管结构示意图

含455个氨基酸残基,这两种微管蛋白形成了长度为8nm的微管蛋白二聚体。

3. 驱动蛋白的相关实验及其运动特点

关于分子马达的实验,以前主要局限于肌肉收缩机制的研究。实验设备是光学显微镜,电子显微镜及X光晶体衍射仪等等。随着近年来实验技术的不断发展,特别是由于光钳技术,微针技术,原子力显微镜和荧光技术的发展和运用,使得测量的精度大大提高,分辨率达到了原子级的水平,可以测到小于皮牛顿(10^{-12} pN)的力和次纳米(10^{-9} nm)级移动的步长。在实验室中,人们不仅可以直接观测到单个分子马达的运动,而且可以观测到单分子马达中不同部位之间的相对运动。

对单个的驱动蛋白沿微管的运动过程进行的观测表明,它在微管表面作平行于原纤维的运动。驱动蛋白在微管上的运动被简化为“交臂模型(hand-over-hand)”,即马达是在两个头的相互配合的运动中前进的,这有些像一个柔道选手抓住对手的手臂将对手从后向前甩过去的动作。

关于驱动蛋白在微管上的运动,K. Svoboda及其合作者测出了驱动蛋白的平均位置与时间的关系,如图4所示。驱动蛋白的这种运动方式被称为梯跳运动(steping motion)。实验室的观测表明,单个驱动蛋白沿着微管呈梯跳式的运动,平均每步的步长是8nm,恰好与微管蛋白二聚体的长度相等。而且它的运动速度很快,每1%秒约8nm。其运动速度与阻力成反比。

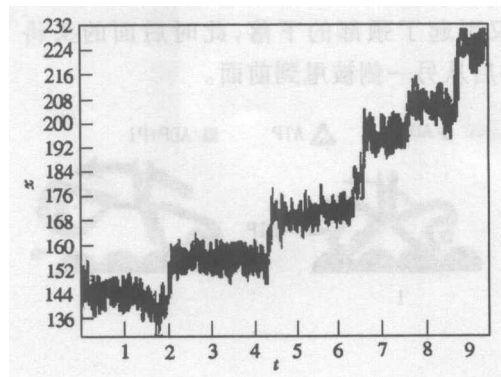


图4 驱动蛋白沿微管运动的实验曲线

为了找出与驱动蛋白的运动有关的因素,人们作了一系列实验。实验发现,利用光钳或玻璃纤维施加阻力,单个驱动蛋白可沿着微管克服阻力运动达数百纳米,直至阻力增加到5—6pN时,它才停止运动,所以单个驱动蛋白能够产生的最大力约5—

6pN。没有 ATP 结合时,驱动蛋白与微管结合很强,能够承受 10pN 以上的力。

驱动蛋白的运动具有高度连续性,它能在脱离微管前走上百步,它在微管上连续移动的距离被称为跑动长度。Steven M. Block 小组作了一系列实验。结果表明,驱动蛋白的跑动长度及平均运动速度与 ATP 的浓度和负载力有关。

驱动蛋白的运动机制一直是人们研究的焦点,近来的实验得到了许多驱动蛋白在不同运动阶段的构象变化的信息。研究表明,这些蛋白分子可以利用其构象的变化而产生运动。人们认为随着 ATP 的水解,发生在马达头部 ATP 结合位点内的微小的构象变化,经过颈部连接域的作用被放大,从而引起马达与负载整体的运动。这是一个化学过程与力学过程相互耦合的过程,对于这一过程,目前有两种不同的观点。

Ronald D. Vale 研究小组认为,马达的运动过程可以分为下面的 4 个态,如图 5 所示。状态 1,开始时,两个头都与微管结合,在这个位置上,后面的头的颈部指向前,前面的颈部指向后,后面的头结合着 ADP,前面的头与 ATP 结合;状态 2,前面的颈部的下落完成后,它将后面的头甩到前面;状态 3,经过一段时间的寻找之后,被甩到前面的头找到了与微管的结合位点,并与微管紧密结合。结合加速了 ADP 的释放,同时带动负载向前运动,在这一过程中,后面的头将 ATP 水解为 ADP 和 Pi;状态 4,当 ADP 从前面的头分离之后,ATP 迅速与之结合,这一结合又引起了颈部的下落,此时后面的头将 Pi 释放,然后从另一侧被甩到前面。

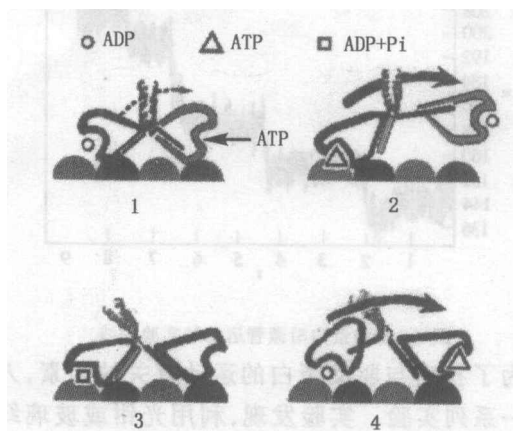


图 5 马达的 4 态运动简图

J. Howard 研究小组通过对实验样品的结晶结果进行分析,对驱动蛋白马达的运动过程给出了

另外一种描述。他们将运动过程分为 8 个状态,如图 6 所示:状态 1,开始时一个头在纸面内,另一个头与纸面向内成 60° ;状态 2,第一个头与微管连接,并迅速释放 ADP,另一个头保持 ADP 结合态,不与微管连接;状态 3,与微管连接的头(称为连接端,下同)结合 ATP 引起了其头部的构象变化,此构象变化主要是指颈部的构象变化。同时,另一个头由纸面内转向纸面外,与纸面向外成 60° ,而且自身翻转 180° ,并带动负载向前运动 $1-2\text{nm}$;状态 4,连接端的 ATP 水解加速了另一端的连接,但水解过程并不引起构象变化;状态 5,颈部的构象变化使得前面的头连接到微管上,并指向前面;状态 6,前端的头与微管结合后迅速释放 ADP,因此与微管结合的更紧,并形成了一定的分子内应力;状态 7,产生的应力拉动后面的头使其与微管分离;状态 8,后面的头向前摆动,释放了分子内应力,并且负载也向前移动,接着又重复状态 1 的过程。在整个这一过程中负载被向前带动了 8nm 。从马达的正上方向下看去,马达的头部翻转是沿着同一方向进行的,因此使得二聚化结构域相对于状态 1 来说又增加了半圈的缠绕,而下一轮的循环是否会从另一侧翻转以减少这额外的半圈,仍是个有待解决的问题。

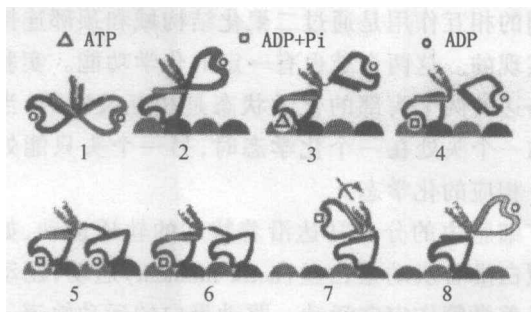


图 6 马达在微管上的 8 个运动状态

上面关于马达运动过程的两种描述有许多重要的不同之处,而且还存在许多问题,如:从二聚化结构域的结构上看,这一结构域很难保证后面的头部以确定的方式摆向前面。

4. 驱动蛋白的理论研究

对驱动蛋白的理论研究工作,主要集中在解释它的运动机制和实验现象上。关于其运动机制的解释,目前主要存在两种研究方法。一种是把分子马达看做是布朗粒子,利用非平衡态统计模型来研究,另一种方法是从力学态与化学态的结合来解释分子马达的运动。

1) 布朗马达

分子马达处在细胞液中,在既不存在宏观定向力,也不存在温度和浓度梯度的情况下沿微管作定向运动。由于分子马达的几何尺度很小,一般在10nm左右,在细胞内的随机环境中,分子马达的运动有一定的布朗运动特征,因此如果不考虑更深的结构层次及运动过程中的结构变化,分子马达可以抽象为布朗粒子,即布朗马达。实验表明,马达与轨道间的结合能有 $k_B T$ 的数量级 (k_B 为玻尔兹曼常数, T 为绝对温度),因此热运动的影响不容忽视。环境的影响被简化为特定形式的噪声激励,轨道的影响被简化为特殊形式的势函数。

在一定的噪声激励和势函数的联合作用下,布朗粒子可以利用非平衡涨落的影响产生定向运动,这就是所谓的“齿轮(ratchet)模型”。有关布朗粒子在周围环境和特别势的作用下可以作定向运动的思想是费恩曼在他著名的《费恩曼物理讲义》一书中提到的。在生物体内,ATP的浓度远高于平衡态的浓度,其水解反应是单向进行的。可以认为,ATP水解所释放的能量为系统提供了一种非平衡的驱动力源,所以可以把布朗马达纳入非平衡输运理论的框架中进行研究。

在非平衡输运理论中,布朗粒子的动力学方程是如下形式的朗之万方程:

$$\gamma \frac{dx}{dt} = -\frac{\partial V}{\partial x} + F(t) \quad (1)$$

其中, γ 为阻尼系数, V 代表布朗马达与轨道之间的相互作用势, $F(t)$ 代表噪声。由于噪声的存在,动力学变量 x 为随机变量。考虑到细胞内的过阻尼效应,上述朗之万方程中的加速度项很小,因而被忽略了。

按照非平衡噪声的来源的不同,马达的布朗运动理论具有多种形式,如闪烁势模型和摇摆力模型。在这些模型中,特定变化的势函数对噪声进行“整流”,产生了定向的粒子流,从而对分子马达的定向运动给出了一种可能的解释。

随着对驱动蛋白的研究工作的快速进展,目前已经知道驱动蛋白是通过构象变化的方式实现其运动的。实验上发现微管和驱动蛋白都是有极性的。组成微管的微管蛋白具有驻极体的特性,其 β 亚基为电正性, α 亚基为电负性。微管蛋白沿着微管纵向排列,在微管表面形成一种特殊的周期电场,驱动蛋白马达就是在这样一种电场中实现其运动的。关

于整个驱动蛋白分子电荷分布的细节目前尚未见报道。对于其马达结构域,目前知道它两端的极性相反,即核酸结合位点与微管结合位点具有相反的极性。随着构象的变化,马达的这种极性电荷分布会对它的运动产生重要影响,这一点首先在文献中通过把马达简化为转动的电偶极子描述了出来:转动着的偶极子在微管电场和环境噪声的联合作用下产生了定向运动。

马达的运动不仅具有定向性,还具有梯跳性的特征。为了对这种梯跳性进行描述,需要根据微管蛋白的实际排布方式计算微管电场的具体形式。数值模拟的结果表明:代表驱动蛋白的转动偶极子在这种微管电场中的运动不仅具有定向性,而且具有梯跳性。这一研究结果意味着,驱动蛋白马达的运动是一种化学-电学-力学循环相互耦合的过程。

2) 化学力学模型

在驱动蛋白的运动周期中包含多个化学态和力学态,基于二者的耦合建立的化学力学模型能够描述马达运动的速度和跑动长度与ATP的浓度及负载力等因素之间的关系。单个马达沿微管运动的速度与ATP浓度的关系服从Michaelis-Menten动力学。在负载力接近从零到5.5pN的范围内,这种关系都成立。此外,在此范围内,力学化学耦合比(即每一力学周期消耗的ATP分子数目)保持为1:1,称为紧耦合。针对驱动蛋白马达的运动速度,Steven M. Block小组提出了一个四态的化学力学模型,并给出在不同负载和不同ATP浓度下的运动速度表达式:

$$v(F, [ATP]) = \frac{V_{\max} [ATP]}{[ATP] + K_m} = \frac{dk_{\text{cat}}(F)[ATP]}{[ATP] + k_{\text{cat}}(F)/k_b(t)} \quad (2)$$

其中, V_{\max} 是在ATP饱和浓度下的速度, K_m 是表观的米氏常数, k_{cat} 是催化转化率常数, k_b 是ATP结合的表现二阶速率常数。他们根据实验发现,常数 K_m 随负载力的增加而增加,这意味着函数 $k_b(F)$ 随负载力的下降必须快于函数 $k_{\text{cat}}(F)$ 。对于跑动长度 L , 他们得出了类似的结果。这种模型能够解释负载和ATP浓度对运动的连续性及速度的影响。实验中利用光钳技术,得到马达的运动速度与它所受的阻力(即负载)成反比,并且服从方程(2)给出的关系。

Fisher等人针对多个化学态和力学态的一般情况建立了较普遍的理论模型,能够描述多种化学力学因素对马达运动的影响。

分子马达的研究是当今生命科学研究的热点之一,也是生物物理的一个重要研究方向。这是一个需要用生物,化学和物理的理论及实验手段进行综合研究的重要领域。这一领域不断有令人惊奇的和意想不到的研究成果出现。2002年2月,J.Gelles小组发表了一篇文章,报告了他们关于驱动蛋白颈部转动的实验结果。文章明确否定交臂模型,并提出了一种新的寸虫(inchworm)模型。人们还发现,有一种肌球蛋白 VI (myosin VI)能够以很大的步幅连续运动,而且梯跳极不规则。这些研究成果向以往的理论 and 实验提出了严峻的挑战。我们期望在实验上和技术上能尽快有所突破,以便获得关于分子马达的结构及与其运动有关的更为详尽和直接的实验数据,来推动研究工作的进一步深入。在理论上,应该突破以往的点粒子模型,从实验出发,结合分子马达的3维结构分析它的实际运动过程。随着对这一问题的研究不断取得突破性的进展,将有助于人们搞清生命中的运动现象的机制。特别是在生物技术飞速发展的今天,我们可以根据分子马达的运动机制发展出一些新的设计思想,如制造纳米级的生物器件,更加有效的利用能源等等,利用分子马达在微观层次上的特有的功能为人类服务。

生命科学以其特有的魅力吸引着众多的人们参与到对它的研究中来,因此向生命学习将是本世纪生命科学研究的特色。

作者简介



吕刚,1978年9月生。2001年7月毕业于河北工业大学应用物理系,现为河北工业大学生物物理专业在读硕士。从事驱动蛋白 kinesin 运动机制的研究。

纪青,1958年4月生。1998年7月毕业于吉林大学,理论物理博士,河北工业大学教授。从事量子场论、重整化群、量子化学及生物大分子动力学等方向的研究。



展永,1954年10月生。1998年12月毕业于中国原子能科学研究院核物理研究所,物理学博士,河北工业大学教授。从事蛋白马达定向运输模型及其能量转化机制的研究及生物大分子动力学的研究。

卓益忠,1932年1月生。1955年毕业于吉林大学物理系,曾在前苏联科学院物理问题研究所学习,在丹麦玻尔理论物理研究所作访问学者,在日本东京大学核物理研究所任客座教授。现任中国原子能科学研究院核物理研究所研究员,博士生导师。从事核物理、统计物理及生物物理等方面的研究工作。



封面照片说明

这是德国制造的磁悬浮快速列车。目前我国与德国正在合作建设从上海机场到上海市区的快速磁悬浮列车工程,这是我国第一条磁悬浮快速列车线。该工程全长33km,采用了德国先进的磁悬浮列车技术。其中路轨由我国建造,工程供电系统由中德两国合作完成,机车和车厢由德国快速运输联合公司提供。这项总造价约20亿马克的工程,计划在2003年初建成通车。届时,从上海机场到市区的车时将不足10分钟。由于容量、速度和环保等因素,在不远的将来,磁悬浮列车必将取代传统机车成为主要的客运工具。目前,正在酝酿建造的磁悬浮列车线有上海——杭州(200km)和北京——上海(1300km)路段。

(李博文)