# C-30 受体-配体键二维正反应率的直接实验测定

孙淦云，章燕，龙勉
（中国科学院力学研究所，国家微重力实验室 / 生物力学与生物工程中心，北京 100080）

细胞粘附分子间相互作用介导了炎症反应、肿瘤转移、动脉硬化和创伤愈合等重要生物学过程，定量描述为受体-配体结合和解离的二维反应动力学。反应动力学参数——分子结合时的正反应率和解离时的负反应率——决定着分子反应发生的可能性、快慢和键的强弱，故反应动力学参数的测量是理解生理现象本质的关键。现有定量测量技术包括微吸管、原子力显微镜、微悬臂梁等等，均是从键的解离过程出发，计算粘附频率、拟合得到正 / 负反应率。对于二维正反应率的测量而言，均为间接方法。比如，Rinko[1]首次从解离过程所得到的键断裂力及键寿命分布估算得到了选择素（selectin）- 配体键的二维正反应率为 1.7 $\mu m^2/s$。但二维正反应率的直接实验测定目前无相关报道，其实现的难点在于很难直接观察到分子结合的过程。

本文采用高力灵敏度（$\sim 10^{-1}$ pN）、高位移灵敏度（$\sim 10^{0}$ nm）、低刚度系数（$\sim 10^{-4}$-$10^{-2}$ pN/nm）的光镊技术[2]，建立了直接测量受体 - 配体二维正反应率的实验方法（Fig. 1）。分子系统采用 P-selectin 及其配体 PSGL-1，分别包被在 $\phi$2.32 μm 和 $\phi$5.66 μm 的玻璃微珠表面；大微珠固定于底板，小微珠在弱光阱约束下作布朗运动；当分子调整取向形成键时，物理连接将约束小球的布朗运动，其振幅、频率、中心位置将发生变化；通过连续记录小微珠布朗运动的位谱曲线（位移 - 时间关系）可观测到分子键的形成 - 解离交替过程。受体 - 配体键作为弱的非共价键，其结合和解离事件是独立的随机事件。由一系列独立的分子结合状态（即键的寿命）、分子解离状态（即键形成所需时间）的时间分布，根据一阶不可逆动力学模型，可分别得到分子键的负反应率、正反应率。此外，本文建立了相应的数值分析方法，包括：(1)时域的位移曲线分析：由振幅和结合时间的双重判据确定两种状态的时间分布，从而得到正、负反应率。(2)频域的小波分析：用小波变换提取分子结合 - 解离状态变换时特定频带的布朗运动随机信号，试图找到比振幅变化更精确、更特征化的分子结合信息。本文工作提供了一种直接测量分子间结合速率的方法，并为考察作用力对分子间结合的影响提供了方法学基础。（致谢：本文得到国家自然科学基金项目（10332060/30225027）、中国科学院知识创新工程项目（KJCX2-SW-L06）和海外杰出学者基金（2005-1-16），以及中国科学院力学所创新领域前沿项目的支持）

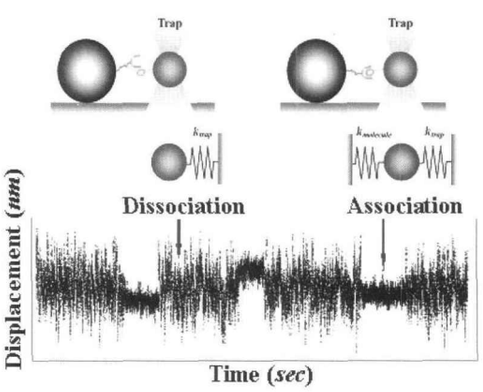


Fig. 1 Schematic of forward rate measurement of receptor-ligand interactions using optical trap assay

**参考文献：**

[1] Rinko, L. J., Lawrence, M. B., Guilford, W. H. 2004. Biophy. J. 86: 544-554.
[2] Ashkin, A., Dziedzic J. M., Bjorkholm, J. E., *et al* 1986. Opt. Lett. 11: 288-290.
[3] McQuarrie, D. A. 1963. J. Chem. Phys. 38: 433-436.

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net