

文章编号: 1004-7220(2024)06-1197-07

采用分子动力学模拟研究张力对 $\beta 1$ 整合素与 ICAP1 互作的影响

石玉珍, 方颖, 吴建华

(华南理工大学 生物科学与工程学院, 生物力学研究所, 广州 510006)

摘要: **目的** 探究张力调控 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素相互作用的机制与分子结构基础。**方法** 基于 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素胞质尾部复合物的晶体结构数据(PDB ID: 4DX9), 通过拉伸分子动力学模拟, 观察分析 $\beta 1$ 整合素上的张力加载对 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素复合物结构和结合力的影响。**结果** 张力将通过诱导结合界面的局部变构来双向调节 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素复合物的解离, 它将先提高后降低 $\beta 1$ 整合素对 ICAP1 的结合亲和力, 阈值点发生在 10 pN。对张力加载敏感的主要残基相互作用主要存在于 ARG¹⁴⁰-THR⁷⁸⁹、MET¹⁴¹-THR⁷⁸⁹ 和 ASP¹⁴⁵-SER⁷⁸⁵ 之中。**结论** 随着加载在 $\beta 1$ 整合素胞质尾部的张力增加, 结合面的变构将导致 ICAP1 对 $\beta 1$ 整合素活化的抑制作用先增强后减弱, 张力转捩点出现在 10 pN, 提示力开启的整合素激活, 需要具备足够的力学刺激强度。研究结果为靶向 $\beta 1$ 整合素的抗体药物研发提供了一条新思路。

关键词: $\beta 1$ 整合素; 整合素胞质结构域相关蛋白-1; 分子动力学模拟; 力信号转导

中图分类号: R 318.01 **文献标志码:** A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2024.06.026

Effects of Tension on $\beta 1$ Integrin and ICAP1 Interaction Using Molecular Dynamics Simulations

SHI Yuzhen, FANG Ying, WU Jianhua

(Institute of Biomechanics, School of Bioscience and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China)

Abstract: **Objective** To investigate the mechanism and molecular structural basis of the tension-regulated interaction between ICAP1 and $\beta 1$ integrin. **Methods** Based on the crystal structure data of the ICAP1/ $\beta 1$ integrin cytoplasmic tail complex (PDB ID: 4DX9), tensile molecular dynamics simulations were conducted to observe and analyze the effects of tension loading on $\beta 1$ integrin on the structure and binding affinity of the ICAP1/ $\beta 1$ integrin complex. **Results** The tension modulated the dissociation of the ICAP1/ $\beta 1$ integrin complex bidirectionally by inducing local conformational variations at the binding interface. It initially increased and then decreased the binding affinity of $\beta 1$ integrin for ICAP1. The threshold point occurred at 10 pN. The main tension-sensitive residue interactions were primarily located among ARG¹⁴⁰-THR⁷⁸⁹, MET¹⁴¹-THR⁷⁸⁹, and ASP¹⁴⁵-SER⁷⁸⁵. **Conclusions** As the tension applied to the cytoplasmic tail of $\beta 1$ integrin increased, the conformational variations at the binding interface resulted in an initial enhancement followed by a reduction in the inhibitory effect of ICAP1 on $\beta 1$ integrin activation. A tension threshold of 10 pN was observed. This indicated that force-induced integrin

收稿日期: 2024-05-31; 修回日期: 2024-07-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(12172137, 12072117)

通信作者: 吴建华, 教授, E-mail: wujianhua@scut.edu.cn

activation requires sufficient mechanical stimulus strength. This study has provided a new approach for the development of antibody drugs targeting $\beta 1$ integrins.

Key words: $\beta 1$ integrin; ICAP1; molecular dynamics simulation; force signal transduction

跨膜蛋白 $\beta 1$ 整合素是整合素家族中的主要成员之一,是细胞与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)之间的关键互动蛋白,介导细胞-细胞和细胞-ECM 相互作用,参与一系列细胞生理与病理过程,如细胞黏附、炎症反应与肿瘤转移等。在静息状态下, $\beta 1$ 整合素一般呈现为低亲和力的静息态,但可以通过力化学信号的刺激下而转变为高亲和力状态,这个过程对于细胞响应外界环境变化至关重要^[1-5]。整合素胞质结构域相关蛋白-1(integrin cytoplasmic associated protein-1, ICAP1)是 $\beta 1$ 整合素的一个关键调节蛋白和重要配体,由 200 个氨基酸组成,它通过其 C 末端的 PTB 结构域与整合素 $\beta 1$ 胞质尾部特异性结合,调节 $\beta 1$ 整合素的激活状态,参与调控细胞增殖、血管生成和骨发育等一些列关键生物学过程^[6-10]。

研究表明,ICAP1 会抑制 $\beta 1$ 整合素的激活,这种抑制作用需要 ICAP1 与 $\beta 1$ 整合素直接相互作用^[10]。ICAP1 与 $\beta 1$ 整合素的结合位点邻近激活因子 talin 和 kindlin 的结合位点,由之产生的空间位阻效应,意味 ICAP1 需要通过竞争性结合来抑制整合素的激活,并提供了一种 ICAP1 抑制整合素激活的可能机制^[11-12]。内源性 ICAP1 定位分析表明,ICAP1 在黏着斑(focal adhesion, FA)形成前发挥作用^[11],提示 ICAP1 对 $\beta 1$ 整合素的抑制作用的解除应发生在 talin、kindlin 等激活蛋白激活整合素之前。作为迄今为止查明的少数显示出负调节整合素激活作用的蛋白质之一,ICAP1 通过调节黏着斑周转,进而调节体外和体内的基质传感^[7,13]。

此外,研究发现,II 型跨膜蛋白 CD98 是 $\beta 1$ 整合素的另一个配体,不但参细胞与基质间的相互作用,还可通过和整合素相互作用来支持下游信号,介导 RhoA 小 GTP 酶的激活^[14-15]。静息和活化的 $\beta 1$ 整合素均可通过它们最末端区域的 NPKYEGK 序列试剂 CD98^[3,15],而 ICAP1 结合于 $\beta 1$ 整合素胞质尾部 SAVTIVVN 基序之上,这提示存在一条可能的经由“CD98- $\beta 1$ 整合素”轴的力信号转导通路,它将导致 $\beta 1$ 整合素胞质尾部的伸张及随后发生的对

ICAP1 结合亲和力的改变,即张力可能影响 ICAP1 抑制 $\beta 1$ 整合素的活化。遗憾的是,目前不但没有这一可能事件的实验证据,也鲜有相关模拟研究的工作报道。

本课题组早先的工作表明,通过拉伸分子动力学(steered molecular dynamics, SMD)模拟,可以有效预测胞内力化学信号通路的强度和稳定性^[16-19]。本文利用 ICAP1 和 $\beta 1$ 整合素胞质尾部复合物的晶体结构,采用 SMD 技术,探究张力加载对 $\beta 1$ 整合素/ICAP1 复合物稳定性的影响,旨在加深相关生理病理过程的理解,并为靶向 $\beta 1$ 整合素的抗体药物研发提供新思路。

1 材料与方法

1.1 体系搭建

蛋白 ICAP1 和 $\beta 1$ 整合素胞质尾部复合物的晶体结构源自蛋白质数据库(protein databank, PDB)(PDB ID:4DX9)^[9]。利用 CHARMM-GUI^[20] 网络服务器补充空缺的氨基酸,得到的 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素胞质尾部复合物含有 ICAP1 的第 58~196 号残基和 $\beta 1$ 整合素的第 784~794 号残基。采用 VMD1.9.2^[21] 对复合物体系进行溶质化和离子化处理,使系统更接近真实的生理环境,调用 SOLVATE 程序包将蛋白质复合物浸入在各方向延伸 1 nm 的 TIP3P 立方水体中,再调用 AUTOIONIZE 程序包添加 0.154 mol/L NaCl 使体系呈电中性,总原子数为 21 885。

1.2 拉伸分子动力学模拟

所有模拟过程均在 NAMD 2.14^[22] 中采用 CHARMM36 力场文件^[23-24] 进行。为了进一步保证体系构象的稳定性和数据的可靠性,对体系进行 3 次 15 000 步的能量最小化和 3 次 40 ns 平衡分子动力学模拟。系统首先在固定蛋白质的情况下进行 15 000 步能量最小化,然后在固定骨架的情况下进行 15 000 步,最后在所有原子自由的情况下进行 15 000 步。以最小化的最后一帧作为平衡分子动力学模拟初始构象,在恒温恒压下进行 40 ns 平衡。

应用周期性边界条件来避免表面效应,积分时间步长为 2 fs, Langevin 动力学控制温度在 36.85 °C, 压强用 Langevin 活塞方法维持在 1.013 kPa, 采用埃瓦尔德粒子网格算法 (particle mesh Ewald, PME) 处理静电相互作用, 范德华相互作用 (van der Waals interaction) 的截止点设为 1.2 nm^[25]。

基于平衡后期最稳定的构象作为拉伸模拟的初始构象进行了“ramp-clamp”拉伸分子动力学。在“恒速拉伸 (force-ramp)” MD 模拟中, $\beta 1$ 整合素尾部的 C 末端 (Lys⁷⁹⁴ 残基) 的 C α 原子通过一个虚拟弹簧与一个虚拟原子连接, 虚拟弹簧弹性系数为 139 pN/nm, 同时固定了 $\beta 1$ 整合素尾部的 N 末端 (Lys⁷⁸⁴ 残基) 的 C α 原子。根据前期摸索, 以恒定速度 0.1 nm/ns 沿从固定原子到受拉原子的方向拉动虚拟原子, 分别进行 3 次 20 ns 恒速拉伸模拟。当 $\beta 1$ 整合素上的拉力达到一定的张力 (10、20 或 30 pN) 时, 选择拉伸复合物结构作为后续“恒力拉伸” MD 模拟的初始构象, 撤去虚拟弹簧, 继续使用相同的固定点、拉伸点以及拉伸方向, 但保持力的大小不变, 即调整为恒力拉伸模式。每个恒力条件下拉伸均以 2 fs 的时间步长进行 40 ns 的 3 次重复模拟计算, 平衡模拟过程视为 0 pN 力条件下拉伸。

1.3 数据分析

借助可视化分析软件 VMD 1.9.2 和 Tcl 脚本, 完成对于蛋白质模拟轨迹和结构分析。采用蛋白质 α 碳原子位置的均方根偏差 (C α -root mean square deviation, C α -RMSD) 和旋转半径表征蛋白质复合物构象变化和结构的稳定性。本研究通过统计分析模拟过程中的以下数据, 来定量表征复合物结合亲和力和强度, 包括复合物溶剂不可及表面积 (buried solvent accessible surface area, buried-SASA)、复合物结合自由能 (E)、氢键数目 (Hm), 以及基于模拟过程中氢键和盐桥存在时长占整个模拟时长的比值 (即氢键和盐桥生存率), 来计算复合物残基相互作用指数和解离概率^[19]。其中, 当供体原子与受体原子间的距离小于 0.35 nm 且键角小于 30°, 则定义为氢键存在; 当酸性氨基酸侧链上任意氧原子与碱性氨基酸侧链上的氮原子形成的键长小于 0.4 nm 时, 则定义为盐桥存在^[18,26]。复合物结合自由能采用分子力学泊松-玻尔兹曼表面积 (molecular mechanics Poisson-Boltzmann surface area, MM-PBSA)

方法计算^[25]。残基相互作用指数 (两个残基间至少存在 1 个氢键的概率)、配 (受) 体残基结合到受 (配) 体的概率、复合物解离概率等, 依照本课题组早先发展的方法计算^[19]。

1.4 统计分析

所有模拟均进行 3 次独立实验重复, 对不同条件采取非配对双尾 t 检验的统计学方法进行两两分析。

2 结果

2.1 平衡过程中 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素复合物的构象稳定性

为研究恒温恒压条件下 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素的动态平衡相互作用并确保后续拉伸模拟初始构象的合理性, 系统进行了 3 次 40 ns 的平衡模拟。对平衡模拟过程中 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素复合物的结构稳定性进行分析。结果表明, 在模拟过程中, C α -RMSD、Buried-SASA、回转半径以及氢键数目在其各自的稳定水平上波动, 表明系统达到了平衡稳定状态。3 次模拟的氢键数目分布均符合正态分布, 其 R^2 分别为 0.99、0.98 和 0.99, 表明复合物已经具备了准完备的构象取样空间。随着平衡模拟的进行, 不同时间段复合物结合面平均氢键数目趋于稳定 (见图 1)。所获处于平衡态的复合物体系被用于后续的拉伸 MD 模拟的初始态。

通过平衡模拟, 探测出的结合面上主要残基相互作用对 (残基间的相互作用指数 $P_{\text{RL}} > 0.1$) 被列于表 1 中。结果显示, ILE¹³⁹-ASN⁷⁹²、MET¹⁴¹-VAL⁷⁹⁰、CYS¹⁴³-THR⁷⁸⁸ 3 组残基对间形成较强的氢键相互作用, 其相互作用指数均超过 0.9; 残基相互作用指数为 0.4~0.75, 提示温和的相互作用呈现于残基对 ILE¹³⁸-ASN⁷⁹²、ARG¹⁴⁰-THR⁷⁸⁹、MET¹⁴¹-THR⁷⁸⁹ 和 ASP¹⁴⁵-SER⁷⁸⁵ 之中。其中, ASP¹⁴⁵-SER⁷⁸⁵ 是尚未报道的残基相互作用对。此外, 还探测到 3 个未报道的具有弱相互作用 ($P_{\text{RL}} < 0.32$) 的残基对, 分别为 ASP¹⁴⁵-LYS⁷⁸⁴、ASP¹⁴⁵-SER⁷⁸⁶ 和 GLN¹⁸¹-THR⁷⁸⁸。这些新发现的相互作用可能在生物体内具有特定的、尚未完全理解的功能。

2.2 力诱导 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素复合物亲和力增强

为探查张力对蛋白复合物 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素结构亲和力的影响, 采用“先恒速-再恒力”拉伸的分

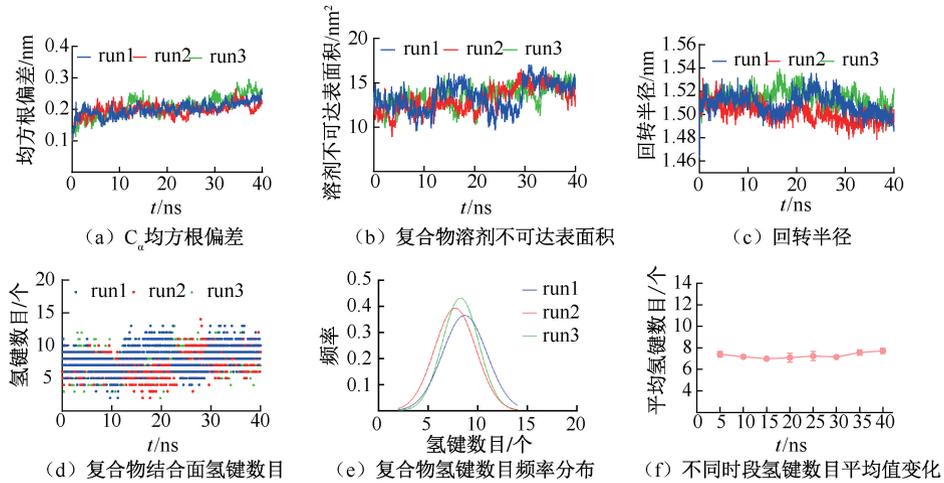


图1 平衡模拟过程中的ICAP1/ β 1整合素复合物结构稳定性分析

Fig. 1 Structural stability analysis of ICAP1/ β 1 integrin complex during equilibrium simulation

- (a) Root mean square deviation of C_{α} atom, (b) Solvent unreachable surface area, (c) Rotation radius, (d) Hydrogen bond number, (e) Frequency distribution of the number of hydrogen bonds in the complex, (f) Variation of the average value of the number of hydrogen bonds over different time periods

表1 主要的平衡态ICAP1/ β 1整合素复合物结合面残基相互作用指数 P_{RL}

Tab. 1 P_{RL} of the key residue interactions on binding site for ICAP1/ β 1 integrin complex at equilibrated state

序号	ICAP1	β 1	P_{RL}			
			run1	run2	run3	数值
1	ILE ¹³⁸	ASN ⁷⁹²	0.74	0.73	0.70	0.72±0.02
2	ILE ¹³⁹	ASN ⁷⁹²	0.91	0.88	0.87	0.89±0.02
3	ARG ¹⁴⁰	THR ⁷⁸⁹	0.64	0.51	0.41	0.52±0.12
4	MET ¹⁴¹	THR ⁷⁸⁹	0.73	0.72	0.74	0.73±0.01
5	MET ¹⁴¹	VAL ⁷⁹⁰	0.97	0.96	0.97	0.97±0.01
6	CYS ¹⁴³	THR ⁷⁸⁸	0.95	0.95	0.97	0.96±0.01
7	ASP ¹⁴⁵	LYS ⁷⁸⁴	0.35	0.35	0.11	0.27±0.02
8	ASP ¹⁴⁵	SER ⁷⁸⁵	0.56	0.18	0.57	0.44±0.22
9	ASP ¹⁴⁵	LYS ⁷⁸⁶	0.08	0.12	0.13	0.11±0.01
10	GLN ¹⁸¹	THR ⁷⁸⁸	0.13	0.18	0.31	0.21±0.09

子动力学模拟策略,分别将 β 1整合素近膜端残基(LYS⁷⁸⁴)和远膜端残基(LYS⁷⁹⁴)的 C_{α} 原子取为固定和拉伸原子,模拟张力传递到 β 1整合素的机械信号。结果发现,当 β 1整合素受到10~30 pN的张力作用后,复合物构象(或RMSD)可迅速趋于稳定。该结果提示, β 1整合素内部张力不会破坏复合物构象稳定性;随着作用在 β 1整合素的张力,结合面氢键数量和溶剂不可及表面积均呈现先增强后减弱的特征,而结合能和解离概率则先减少后增加,力转捩点发生在10 pN这一较低的张力水平上。这一张力双向调节的ICAP1与 β 1整合素间的相互

作用提示,通过在 β 1整合素胞质尾部上施加10 pN左右的张力刺激,可显著增强ICAP1与 β 1整合素间的相互作用,但过大的张力(≥ 20 pN)将降低复合物结合亲和力(见图2)。

2.3 不同张力下ICAP1/ β 1整合素结合面残基作用网络的动态演变

为了揭示张力诱导复合物结合亲和力变化过程中涉及的关键残基,在不同张力条件下,通过拉伸分子动力学模拟,观测了结合界面上氢键网络的演化。结果发现,有10个氨基酸残基参与了氢键相互作用,并展现出张力依赖的特征。在这些残基对之中,ARG¹⁴⁰-THR⁷⁸⁹、MET¹⁴¹-THR⁷⁸⁹、ASP¹⁴⁵-SER⁷⁸⁴、ASP¹⁴⁵-SER⁷⁸⁵或ASP¹⁴⁵-SER⁷⁸⁶间的相互作用呈现出不同的力学调控特征。在10 pN张力作用下, β 片层两端残基相互作用增强,特别是N端附近的ASP¹⁴⁵-SER⁷⁸⁵这对残基,而ARG¹⁴⁰-THR⁷⁸⁹、MET¹⁴¹-THR⁷⁸⁹、ASP¹⁴⁵-SER⁷⁸⁴这3对靠近 β 片层中间的残基对间的相互作用则明显减弱。该结果提示,较小的力(10 pN)可能通过部分牺牲 β 1整合素 β 片层中间残基(THR⁷⁸⁹)的相互作用,触发局部结构重构,从而增强ICAP1/ β 1整合素复合物的整体结合强度。介导ICAP1结合到整合素上的关键残基主要是MET¹⁴⁰、CYS¹⁴³、ILE¹³⁹和ILE¹³⁸,而介导整合素黏附到ICAP1的残基主要是ASN⁷⁹²、VAL⁷⁹⁰、THR⁷⁸⁸和THR⁷⁸⁹(见图3)。

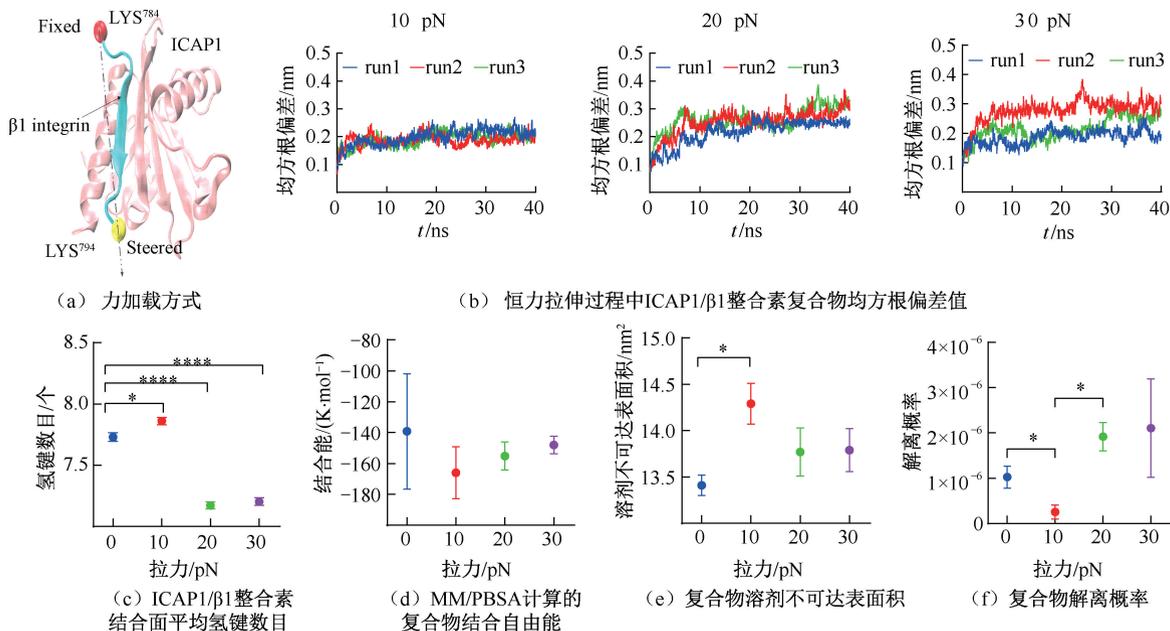


图2 恒力拉伸模拟过程中的 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素复合物结合亲和力的力依赖性

Fig.2 Force dependence of ICAP1/ $\beta 1$ integrin complex binding affinity during constant force stretching simulations (a) Force loading mode, (b) Root mean square deviations of ICAP1/ $\beta 1$ integrin complexes during constant-force stretching, (c) Average number of hydrogen bonds on the binding surface of the ICAP1/ $\beta 1$ integrin complexes, (d) Free energy of complex binding calculated by MM/PBSA, (e) Solvent-undachievable surface area of the complex, (f) Dissociation probability of the complex

注:图2(a)中 ICAP1 用粉色表示, $\beta 1$ 整合素胞质尾端用蓝色表示,红色小球代表近膜端固定原子 LYS⁷⁸⁴ 的 α 碳原子,黄色小球代表远膜端拉伸原子 LYS⁷⁹⁴ 的 α 碳原子。图2(e)~(h)数据以3次实验的(平均值 \pm 标准误)表示,基于非配对双尾 t 检验。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; $n = 3$ 。

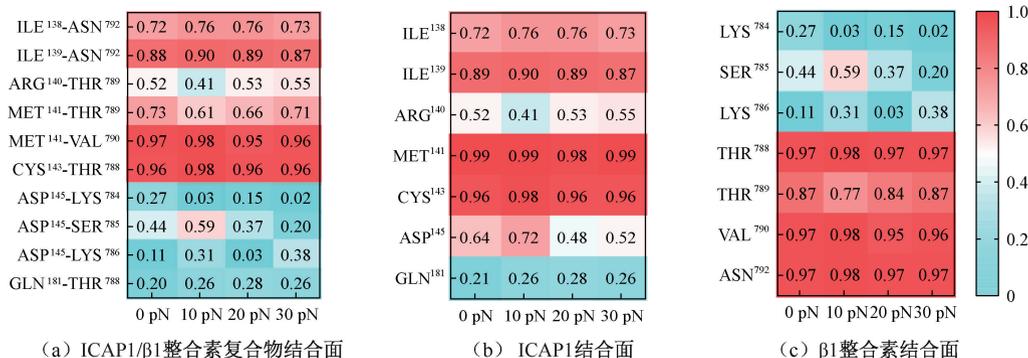


图3 在不同力条件下 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素复合物结合界面关键残基的相互作用网络热图

Fig.3 Heat map of the interaction network of key residues at the binding interface of the ICAP1/ $\beta 1$ integrin complex under different force conditions (a) On the binding surface of ICAP1/ $\beta 1$ integrin complex, (b) On the binding surface of each protein of ICAP1, (c) On the binding surface of each protein of $\beta 1$ integrin

结构功能关系 THR⁷⁸⁹ 残基不仅在不同力条件下显示出显著的作用指数,而且在结构层面上是调控复合物结合力的核心残基。由此,本文定义了一个特定的角度 μ ,以 THR⁷⁸⁹ 为顶点,以 ICAP1 的 $\beta 5$

片层两端残基 ILE¹³⁸ 和 ASP¹⁴⁵ 为端点,用以表征 THR⁷⁸⁹ 残基与 ICAP1 的 $\beta 5$ 片层之间的空间关系。当 $\beta 1$ 整合素的 THR⁷⁸⁹ 残基越靠近 ICAP1 的 $\beta 5$ 片层时, μ 增大,表明双方的相互作用越强。同时,采

用 d_1 和 d_2 这两个参数代表 $\beta 1$ 整合素的 β 片层与 ICAP1 的 $\beta 5$ 片层端点间的质心距离,用于衡量结合界面的接近程度。

2.4 张力诱导的 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素复合物构象改变

为揭示张力诱导的构象变化及随后发生的功能改变,度量了 3 个复合物构象几何参数,包括残基 ILE¹³⁸ 与 ASN⁷⁹² 间的距离 d_1 、残基 ASP¹⁴⁵ 与 SER⁷⁸⁵ 间的距离 d_2 、残基 ASP¹⁴⁵-THR⁷⁸⁹-ILE¹³⁸ 所构成的以残基 THR⁷⁸⁹ 为顶点的夹角 μ ,用以表征张力诱导的复合物结合面的改变。结果表明,承载着张力的 $\beta 1$ 整合素尾部将伸张开来; $\beta 1$ 整合素适度的伸张,如施加 10 pN 的张力,可减小 d_1 和 d_2 ,即缩短残基 ILE¹³⁸ 与 ASN⁷⁹² 间的距离,并使残基 ASP¹⁴⁵ 和 SER⁷⁸⁵ 更靠近,促进这两对残基间的相互作用;随着张力的进一步增加,上述伸张诱导的黏附增强效应将变弱;同时,伸张的 $\beta 1$ 整合素胞质尾部上的残基 THR⁷⁸⁹ 将会稍微偏离 ICAP1,导致夹角 μ 变小(见图 4)。这一张力诱导的复合物结合面构象的改变,使得伸张的 $\beta 1$ 整合素尾部具有和蛋白 ICAP1 更好的亲和性。

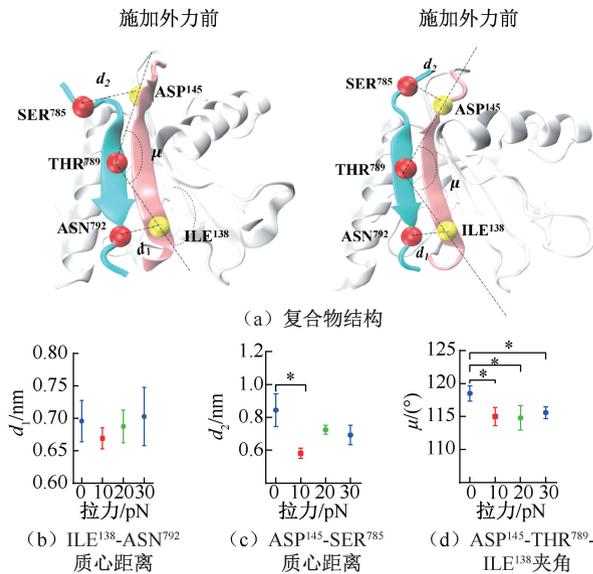


图 4 力诱导复合物变构的分子与结构基础

Fig. 4 Molecular and structural basis of force-induced complex metamorphosis (a) Structure of the complex, (b) ILE¹³⁸-ASN⁷⁹² centre-of-mass distance, (c) ASP¹⁴⁵-SER⁷⁸⁵ centre-of-mass distance, (d) ASP¹⁴⁵-THR⁷⁸⁹-ILE¹³⁸ pinch angle

注:图 4(b)~(d)数据以 3 次实验的(平均值 \pm 标准差)表示,基于非配对的尾尾 t 检验。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; $n = 3$ 。

3 结果与讨论

作为细胞与 ECM 交互的关键蛋白质, $\beta 1$ 整合素通过胞质尾部与多种胞内适配蛋白相互作用,调节细胞黏附、迁移等多种细胞生物学过程。ICAP1 能特异性与 $\beta 1$ 整合素胞质尾部结合,发挥负调控 $\beta 1$ 整合素活性的功能,并可能受到力学微环境的调控。

本文分子动力学模拟结果表明,作用在 $\beta 1$ 整合素胞质尾部上的适度的张力,如 10 pN,将显著提高 $\beta 1$ 整合素胞质尾部与 ICAP1 的结合亲和力。10 pN 张力可强化 ICAP1 对 $\beta 1$ 整合素活性的抑制作用,这也许是避免细胞对轻微力学信号的过激反应。随着张力的增加,复合物 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素解离的速率将快速提高到一个更高的水平,ICAP1 对 $\beta 1$ 整合素活性的抑制效果将大幅下降。这一双向依赖的张力对 $\beta 1$ 整合素/ICAP1 互作已在本课题组关于 $\beta 1$ 整合素/ICAP1 相互作用的研究中观察到^[10,27-28]。该结果提示,张力对促进整合素激活的促进作用,只有大于 10 pN 张力阈值才会发挥。在 $\beta 1$ 整合素胞质尾部伸张过程中,对张力信号敏感的残基互作主要存在于 ARG¹⁴⁰-THR⁷⁸⁹、MET¹⁴¹-THR⁷⁸⁹ 和 ASP¹⁴⁵-SER⁷⁸⁵ 之中。张力诱导的 β 片层端部残基互作增强与中间残基互作减弱,可能触发局部结构重构,增强 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素的相互作用。本文猜想,张力调节 ICAP1/ $\beta 1$ 整合素复合物亲和力的一种可能机制为:当 $\beta 1$ 整合素胞质尾部感受到适度张力信号时,其 β 片层可能发生以 THR⁷⁸⁹ 为中心的偏移,这种力致变构可能会牺牲 THR⁷⁸⁹ 残基的一些成键机会,但会增强残基端部残基间的相作,提高复合物的力学稳定性。

本文通过分子动力学模拟,揭示了一种张力双向调节 ICAP1 抑制 $\beta 1$ 整合素活化的可能力学调控机制及分子基础。本研究工作有助于加深理解整合素活化这一细胞黏附、胞内与跨膜力化学信号传导中的重要事件,理解和预测相关疾病进程(如癌症转移)与发展有效的诊疗策略,并为以 $\beta 1$ 整合素为靶标的抗体新药物提供新思路。

利益冲突声明:无。

作者贡献声明:石玉珍负责论文中的研究性工作及论文撰写;方颖和吴建华负责论文指导与修改。

参考文献:

- [1] TAKAGI J, PETRE B, WALZ T, *et al.* Global conformational rearrangements in integrin extracellular domains in outside-in and inside-out signaling [J]. *Cell*, 2002, 110(5): 599-511.
- [2] 杨本艳姿, 王红兵, 谭乔燕, 等. 不同基底硬度对人肝癌细胞黏附、铺展和迁移的影响 [J]. *医用生物力学*, 2012, 27(3): 305-311.
- YANG BYZ, WANG HB, TAN QY, *et al.* Effects of different substrate stiffness on adhesion, spreading and migration of human hepatocellular carcinoma cells [J]. *J Med Biomech*, 2012, 27(3): 305-311.
- [3] BACHMANN M, KUKKURAINEN S, HYTÖNEN VP, *et al.* Cell adhesion by integrins [J]. *Physiol Rev*, 2019, 99(4): 1655-1699.
- [4] RAHIKAINEN R, OHMAN T, TURKKKI P, *et al.* Talin-mediated force transmission and talin rod domain unfolding independently regulate adhesion signaling [J]. *J Cell Sci*, 2019, 132(7): jcs226514.
- [5] SUN ZQ, COSTELL M, FÄSSLER R. Integrin activation by talin, kindlin and mechanical forces [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(1): 25-31.
- [6] FOURNIER HN, DUPÉ-MANET S, BOUVARD D, *et al.* Nuclear translocation of integrin cytoplasmic domain-associated protein 1 stimulates cellular proliferation [J]. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(4): 1859-1871.
- [7] BOUVARD D, ASZODI A, KOSTKA GN, *et al.* Defective osteoblast function in ICAP-1-deficient mice [J]. *Development*, 2007, 134(14): 2615-2625.
- [8] BRÜTSCH R, LIEBLER SS, WÜSTHUBE J, *et al.* Integrin cytoplasmic domain-associated protein-1 attenuates sprouting angiogenesis [J]. *Circ Res*, 2010, 107(5): 592-601.
- [9] LIU W, BOGGON TJ. Cocystal structure of the ICAP1 PTB domain in complex with a KRIT1 peptide [J]. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun*, 2013, 69(5): 494-498.
- [10] LIU W, DRAHEIM K, ZHANG R, *et al.* Mechanism for KRIT1 release of ICAP1-mediated suppression of integrin activation [J]. *Mol Cell*, 2013, 49(4): 719-729.
- [11] BOUVARD D, VIGNOUD L, DUPÉ-MANET S, *et al.* Disruption of focal adhesions by integrin cytoplasmic domain-associated protein-1 α [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(8): 6567-6574.
- [12] BRUNNER M, MILLON-FRÉMILLON A, CHEVALIER G, *et al.* Osteoblast mineralization requires $\beta 1$ integrin/ICAP-1-dependent fibronectin deposition [J]. *J Cell Biol*, 2011, 194(2): 307-322.
- [13] MILLON-FRÉMILLON A, BOUVARD D, GRICHINE A, *et al.* Cell adaptive response to extracellular matrix density is controlled by ICAP-1-dependent $\beta 1$ -integrin affinity [J]. *J Cell Biol*, 2008, 180(2): 427-441.
- [14] FERRELL CC, NISHIYA N, FENCZIK CA, *et al.* CD98hc (SLC3A2) mediates integrin signaling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(2): 355-360.
- [15] PRAGER GW, FÉRAL CC, KIM C, *et al.* CD98hc (SLC3A2) interaction with the integrin β subunit cytoplasmic domain mediates adhesive signaling [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(33): 24477-24484.
- [16] JI YR, FANG Y, WU JH. Tension enhances the binding affinity of $\beta 1$ integrin by clamping talin tightly: an insight from steered molecular dynamics simulations [J]. *J Chem Inf Model*, 2022, 62(22): 5688-5698.
- [17] SU S, LING Y, FANG Y, *et al.* Force-enhanced biophysical connectivity of platelet $\beta 3$ integrin signaling through Talin is predicted by steered molecular dynamics simulations [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 4605.
- [18] ZHANG Y, LIN ZY, FANG Y, *et al.* Prediction of catch-slip bond transition of kindlin2/ $\beta 3$ integrin via steered molecular dynamics simulation [J]. *J Chem Inf and Model*, 2020, 60(10): 5132-5141.
- [19] 余哲, 姬彦儒, 黄文华, 等. 力调控 Talin 与 Rap1b 相互作用的分子动力学模拟 [J]. *生物医学工程学杂志*, 2023, 40(4): 645-653.
- [20] JO S, KIM T, IYER V, *et al.* CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM [J]. *J Comput Chem*, 2008, 29(11): 1859-1865.
- [21] HUMPHREY W, DALKE A, SCHULTEN K. VMD: visual molecular dynamics [J]. *J Mol Graph*, 1996, 14(1): 33-38.
- [22] PHILLIPS J C, BRAUN R, WANG W, *et al.* Scalable molecular dynamics with NAMD [J]. *J Comput Chem*, 2005, 26(16): 1781-1802.
- [23] BROOKS B, BROOKS C, MACKERELL A, *et al.* CHARMM: The biomolecular simulation program [J]. *J Comput Chem*, 2009, 30(10): 1545-1614.
- [24] LAUDA JB, VENABLE RM, FREITES JA, *et al.* Update of the CHARMM all-atom additive force field for lipids: Validation on six lipid types [J]. *J Phys Chem B*, 2010, 114(23): 7830-7843.
- [25] 邵鑫, 方颖, 吴建华. 力依赖的 $\beta 2$ 整合素-FLNa 相互作用与 THR758 磷酸化 [J]. *医用生物力学*, 2021, 36(S1): 204.
- [26] LIU GJ, FANG Y, WU JH. A mechanism for localized dynamics-driven affinity regulation of the binding of von Willebrand factor to platelet glycoprotein Iba α [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(37): 26658-26667.
- [27] ZHANG Y, LIN Z, FANG Y, *et al.* Prediction of catch-slip bond transition of Kindlin2/ $\beta 3$ integrin via steered molecular dynamics simulation [J]. *J Chem Inf Model*, 2020, 60(10): 5132-5141.
- [28] RAKSHIT S, ZHANG YX, MANIBOG K, *et al.* Ideal, catch, and slip bonds in cadherin adhesion [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(46): 18815-18820.