

细胞骨架动态重组及其力学行为研究进展

贾康昱, 刘小虎

华中科技大学力学系, 武汉 430074

收稿日期: 2014-04-01; 接受日期: 2014-04-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(111172110)

通讯作者: 刘小虎, 电话: (027)87543538, E-mail: xhliu@hust.edu.cn

摘要: 细胞骨架是生物大分子在力学 - 化学 - 生物学耦合作用下形成的一个动态平衡系统, 是具有多尺度特征的动态纤维网络结构。在细胞铺展、迁移及细胞力传导等生理过程中, 细胞骨架均起着重要作用, 其多态性微结构及其动态重组行为决定着细胞的力学行为。因此, 探索细胞骨架在这些生理过程中的微观机制有重要意义。文章从实验及理论模型两个方面, 对细胞骨架的动态重组及其复杂力学行为的研究进行梳理总结, 并对未来可能的发展方向和应用前景进行展望。

关键词: 分子细胞生物学; 细胞骨架; 微结构; 动态重组; 力传导

中图分类号: Q66

DOI: 10.3724/SP.J.1260.2014.40048

引言

随着微纳米科技的迅猛发展, 人们不仅可以认识组织、器官层次上由于基因缺陷、疾病、伤口等因素造成的长期生理过程, 还能够观察到细胞在外界诱导下发生的细胞铺展、迁移、生长、分化等一系列生理过程。近年来, 人们陆续发现了细胞在不同时间尺度和空间尺度下的许多重要现象^[1], 其中, 细胞力传导过程 (cellular mechanotransduction) 是近期一个非常重要的发现^[2,3]。简单而言, 细胞力传导过程就是指细胞与外界环境接触时, 外界力信号通过不同方式传递到细胞内部, 影响细胞骨架纤维的生长 / 解聚 (growth/depolymerization) 和交联 / 分离 (cross-linking/unbinding) 等生理过程, 使得细胞对力刺激产生一系列动态响应。而这些响应反过来又会对环境产生影响, 使得细胞最终达到力 - 化学 - 生物的平衡状态。细胞力传导对细胞和生物组织的多种生理过程有着极其重要的影响, 探索和揭示细胞力传导机制, 不仅是生物医学组织工程快速发展的需要, 也是众多科学家追求的目标之一, 对于生物医学工程乃至生命科学的发展有着深远的意义。目前, 人们对细胞力传导的微观机制仍然缺乏深入认识, 但一个普遍认同的事实就是, 细胞骨架在细胞力传导过程中扮演着极其重要的角色。

细胞骨架是一个极其复杂的生物分子系统, 其中, 分子尺度的组分一起组成了介观尺度的结构, 而介观尺度的结构又进一步耦合相互作用, 组成了接近连续介质尺度的网络结

构。在这一多尺度耦合的系统中，分子尺度的微观信息最终决定了宏观尺度结构的性质，而宏观、介观尺度结构反过来又影响了分子尺度结构。

细胞骨架支撑了细胞整体结构。它不仅决定了细胞的力学行为及稳定性，而且还控制了细胞的移动和变形，帮助细胞完成生物分子的运输^[4]等多种生物功能。在细胞铺展、迁移、生长、分化及对外界环境响应等一系列生理过程中，细胞骨架均起着重要作用^[5~7]。此外，细胞骨架网络结构表现出不同于普通纤维网络结构的半柔性 (semi-flexible) 特性。真实描述和定量表征细胞骨架动态结构及其力学特性，是探索和揭示细胞力传导行为的关键所在。

学者们对细胞骨架进行了大量的实验和理论建模研究，本文旨在对其进行梳理总结。由于篇幅所限，我们全面地回顾该领域研究现状的同时，只对几个有代表性的例子进行重点介绍。下面分别从实验发现的诸多现象及理论模型两个方面进行综述。

细胞骨架动态特性及微观机制的实验研究进展

细胞骨架的组成及其微观机制

人们一般采用基因敲除 (gene knockout)、基因抑制 (gene knockdown)、基因过度表达 (gene overexpression) 等基因技术来消除、减少或者增加某种蛋白质的表达，从而对在体 (*in vivo*) 细胞的细胞骨架形成的微观机制进行研究^[8]。而且，这一过程可以通过采用纯化蛋白质分子、重构细胞骨架纤维网络来印证，即结合高解析度光学显微镜、原子力显微镜 (AFM)、微射流 (microfluidic jetting) 等实验手段，对细胞骨架结构进行直接观察、操作及重构。目前，人们对细胞骨架的组成，以及各组分在分子层次上的动态特性已经有了一定程度的认识^[9,10]。

细胞骨架中的肌动蛋白纤维、微管和中间丝三种组分之间通过特异性连接 (通过连接蛋白相互交联) 和非特异性连接 (在空间上相互缠绕连接) 的方式相互连接^[11]，是一种极其复杂的多态性动态网络结构。它与细胞膜、细胞核、细胞液及细胞液中溶解的蛋白质分子等相互作用，组成了亚浓溶液网络结构 (semidilute network)，将一堆表面上看起来杂乱无序的分子构成高度有序的生物活体细胞^[9]。细胞骨架的三种组分中，微管刚度最大且组装和解聚过程最复杂。微管的持久长度 (persistence length) 较大，最大可达到毫米量级，能够形成横跨整个细胞尺度的管道，并且可在一定外力作用下发生屈曲^[12]。微管可以在聚合态 (稳态生长) 和解离态 (迅速解聚缩短) 两个状态之间进行转换^[13]。肌动蛋白纤维的刚度比微管小很多，但可以在交联蛋白的促进下形成各向同性网络结构、聚束网络结构和分支网络结构等高度有序的网络结构。肌动蛋白纤维能在核苷酸 (ATP 及 GTP 等)、应力等调控因子和局部信号的作用下不断地组装生长，为迁移细胞前进端提供持续的动力^[14]，而其主要模式分为两种：1) 用多束排列有序的肌动蛋白纤维支持迁移细胞伪足的前伸，该现象往往发生在化学极化作用 (细胞沿化学梯度方向运动) 和细胞与外界之间的相互作用过程中。例如在粘附成纤维细胞中，细胞表面受体分子，即整联蛋白 (integrins)，同其配体相互结合时，形成收缩性肌动蛋白纤维束结构，即应力纤维 (stress fibers, SFs)^[15]；2) 用高度分叉的纤维网络结构支撑迁移细胞的前伸边缘并产生力，以改变细胞的形状。例如处于迁移过程的白

细胞, 在细胞表面受体分子感知进而传导进细胞的信号作用下, 细胞的前端组装形成具有前伸性、高度分叉的肌动蛋白纤维网络结构^[16]。中间丝是细胞骨架纤维中刚度最小的一个, 中间丝能通过网蛋白 (plectins) 同肌动蛋白纤维和微管连接, 使得细胞骨架能够更好地承受拉力/压力作用^[17]。许多类型的细胞在机械力的刺激作用下能够组装中间丝, 例如在呼吸道上皮细胞中, 角质蛋白中间丝在呼吸气流的剪切力作用下形成网状结构, 帮助细胞承受剪切应力^[18]。此外, 肌动蛋白纤维和微管都是极化聚合物, 组成它们的单体在分子层次结构上是非对称的。由于结构的极化性, 这两种聚合物都能够当作分子马达 (如肌球蛋白、驱动蛋白等) 的轨道, 使其沿着单一方向移动。

近年来的一系列细胞骨架体外重构 (reconstitute *in vitro*) 实验研究了细胞骨架纤维的分子组成及动态微观机制^[19~25]。例如, Bieling 等^[19]通过体外重构实验及荧光标记法, 对在调控微管正端动态行为过程中起到重要作用的正端连接蛋白家族 (+TIPs) 的微观分子机制进行了研究, 指出这一动态过程中只涉及到三种正端连接蛋白 (Mal3、Tip1 和 Tea2 驱动蛋白) 来保证微管正端的正常功能。Jégou 等^[25]采用微流体 (microfluidic flow) 对肌动蛋白纤维施加拉力, 发现锚定的成蛋白 (formin) mDia1 能够感知并维持肌动蛋白纤维的张力。而且, 在拉力作用下, 肌动蛋白纤维的生长速率增加了两倍。Jégou 等进一步指出, 除了肌动球蛋白外, 在锚定的成蛋白帮助下, 解聚的肌动蛋白纤维也能够产生拉力。

尽管有越来越多的与细胞骨架功能相关的蛋白质分子不断被发现, 但细胞骨架单体蛋白分子与骨架纤维之间相互作用、进而形成大尺度层次上细胞骨架的微观分子机制目前仍然不清楚。总之, 细胞骨架是一个动态的多尺度结构, 它在宏观空间尺度上表现出的有序行为, 是由细胞内部纳米尺度组分在外部条件和物理-化学规律约束下进行自组装而形成的。从细胞骨架的微结构形成过程着手, 对其微观机制进行研究显得非常必要。

细胞骨架动态力学特性

流变学方法 (rheology), 如光镊钳 (optical tweezers)、微吸管 (micropipette)、原子力显微镜 (AFM) 等, 已经被广泛用于研究细胞的力学性质^[26~28]。在许多实验中, 人们都观察到了细胞骨架网络并不是简单均匀、各向同性的网络结构, 它在空间尺度和时间尺度上呈现高度各向异性, 并具有主动和被动两方面的力学行为^[29]。传统的宏观微流变学方法 (macroscopic rheology) 难以获得细胞骨架网络结构的局部非均匀性以及动态重组特性。Crocker 等^[29]采用动态微流变学 (active micro-rheology) 测量方法, 在细胞骨架中嵌入磁性和非磁性颗粒, 并施加磁场, 根据磁性颗粒的位移确定细胞骨架粘弹性性质对频率的敏感度, 通过观察悬浮的非磁性颗粒的受迫运动获得细胞骨架纤维网络结构的变形场, 研究局部非均匀性以及应力传播过程。Liu 等^[30]认为细胞骨架的局部柔度取决于其组分的尺寸比例, 以及网络结构或其组分的特征长度尺度。

作用在细胞上的机械力, 对细胞骨架纤维的生长/解聚和交联/分离进程有显著影响, 例如, 遇到阻力时, 微管的生长速度随着阻力的增大呈指数衰减^[31], 少数肌动蛋白纤维的聚合过程也受到类似的力效应影响^[32]。当树枝状纤维网络在 AFM 悬臂末端重新生成时, 逐渐增加其承载力, 树枝状肌动蛋白纤维网络在很大范围力的作用下都以一个恒定的速度生长^[33]。在测量爬行细胞板状伪足前突的实验中, 逐渐增大载荷, 同样可以观察到肌动蛋白

纤维网络仍然以恒定速度生长, 不受载荷大小的影响^[34]。成纤维细胞的活体实验中发现, 在幅值为 2%~20% 的循环应变作用下, 成纤维细胞的排列方向同循环应变的方向垂直^[35,36]。细胞内部及外界诸多因素共同决定了细胞骨架的多态性结构, 细胞骨架结构则决定了细胞的动态力学行为。

在外界刺激及细胞内部调控蛋白分子的影响下, 细胞骨架可以形成多种超结构^[37], 例如纤维束状^[38]、簇状^[39]、树枝状^[40]和层状结构^[41], 其中, 层状结构的细胞骨架比较特别, 它是紧挨细胞膜内侧形成的一个层状纤维网络, 对细胞膜起一定支撑作用。而且, 细胞膜同肌动蛋白皮质层之间的相互连接 (membrane-to-cortex attachment, MCA) 在细胞膜变形过程中起着十分重要的作用。例如, Diz-Muñoz 等^[42]研究了在体条件下斑马鱼 (zebrafish) 胚胎中胚层和内胚层祖细胞 (progenitor cells) 的 MCA, 通过干涉皮质层和细胞膜连接分子的活性, 并用 AFM 测量 MCA 的变化, 发现伴随着中内胚层祖细胞 MCA 的减少, 膨胀均匀扩展的细胞比例会增大, 有向迁移细胞的比例会减少。

还有学者结合细胞骨架体外重构及 AFM 技术研究了细胞骨架的力学特性及其动态重组行为^[43~47], 发现细胞骨架表现出独特的动态非线性流变学性质。例如, Chaudhuri 等^[43]采用基于 AFM 的微流变学方法, 测量了细胞骨架中肌动蛋白纤维网络结构与频率相关的粘弹性模量。他们发现, 在弹性临界应力以上, 应力处于应力软化区域时, 网络的弹性逐渐减小; 当应力卸载到临界应力时, 测量得到的储能模量同加载到临界应力时的储能模量相同, 即肌动蛋白网络的应力软化行为是可逆的。MacKintosh 等^[47]发现细胞骨架的剪切模量会在 10% 左右的应变水平下提升一个数量级。此外, 细胞骨架网络结构在受到剪切作用时表现出负的正应力, 与柔性聚合物网络结构截然相反^[48], 并且, 半柔性纤维网络结构比柔性网络结构表现出更强的非线性剪切硬化现象^[49]。

Risca 等^[49]采用体外重构技术和高解析度光学显微镜研究了细胞骨架肌动蛋白纤维在聚合过程中的关键步骤。实验观察到施加在细胞骨架上的外力使得细胞骨架纤维发生弯曲, 这反过来又导致细胞骨架纤维向与力相反的方向生长。在细胞膜附近, 肌动蛋白往往形成零点几微米长的纤维网络, 纤维因受到来自细胞膜的表面力的作用而发生弯曲, 其凸曲的一侧 (convex side) 正好面对着细胞膜, 这又促使纤维新的分叉朝着细胞膜生长, 形成新的抵抗外力的结构。这种基于曲率的力学-化学耦合作用可能是肌动蛋白聚合/解聚与细胞前端细胞膜表面力的正反馈回路的一部分, 能够帮助肌动蛋白纤维朝细胞膜表面聚合生长, 从而使细胞发生前凸或者运动迁移。极化细胞前端受到的压力作用和“前端蛋白” Arp2/3 一起促进了分叉状网络结构的生长, 而细胞后端的 II 型肌动球蛋白等“后端蛋白”产生拉力, 使得细胞后端收缩^[49]。Uyeda 等^[50]指出, 在细胞后端也存在一个直接的力反馈回路, 其中, 拉伸应力改变了肌动蛋白纤维的构型, 使得肌动蛋白纤维更容易同 II 型肌动球蛋白结合, 而 II 型肌动球蛋白反过来增大了纤维的拉力。

除了以上介绍的学者们对亚细胞层次上细胞骨架动态特性的研究之外, 还有学者对细胞骨架网络结构在大尺度组织运动中起到的作用进行了研究。例如, Solon 等^[51]研究果蝇胚胎背部闭合 (dorsal closure) 过程时发现, 在外胚层前部边缘细胞的前端聚集了大量的肌动蛋白及 II 型肌动球蛋白, 形成了一个超细胞肌动蛋白索, 能够收缩产生张力。与此同时,

背部鳞片状上皮组织 (羊浆膜) 产生收缩拉动侧面的外胚层向中间闭合。羊浆膜产生的脉动收缩力使得前端产生瞬态位移, 而肌动蛋白索的连续收缩作用则保证了这一位移不会侧向恢复。据此, 当肌动蛋白纤维及羊浆膜二者的收缩特性结合起来时, 前端就会以一种棘轮 (ratchet) 形式移动, 果蝇胚胎背部最终闭合。

从上述实验结果可以发现, 第一, 细胞骨架与其组分纤维拥有不同的特征长度, 具有多尺度特征。第二, 细胞骨架大尺寸的长时间有序行为是由细胞内部组分在外部条件和物理 - 化学规律约束下进行自组装形成的。第三, 细胞骨架结构决定细胞的物理性能。细胞骨架的几种组分可以构成形态各异的细胞骨架结构, 这些结构, 而不是细胞内部各个细胞器的简单叠加, 决定了细胞的物理特性。第四, 细胞骨架能够对外界环境的机械力刺激做出主动和被动响应, 调控细胞在不同时间尺度上的行为。

细胞骨架动态特性及微观机制的理论模型进展

结合力学、化学和生物学理论对细胞骨架进行建模, 能够验证、重现实验现象, 解释实验现象背后的深层次微观机制, 还可以预测未发现的细胞骨架行为, 促进实验技术及方法的发展。人们根据感兴趣的尺度大小, 已经建立了不同的细胞骨架模型, 描述细胞骨架在不同尺度实验中所表现出来的特性。这些模型可以分为连续介质模型和离散模型两类, 下面将分别进行综述。

细胞骨架的连续介质模型

连续介质模型实际上把细胞骨架当作连续体, 建立其力学本构模型 (应力 - 应变关系)。一些学者根据不同的实验现象, 采用不同复杂度的本构模型来描述细胞骨架的力学行为, 例如简单的弹性和粘弹性模型、多孔弹性介质 (poroviscoelastic continuum) 模型^[52]、多孔胶体 (porous gel) 模型^[53]及软玻璃材料 (soft glassy material) 模型^[54]等。

细胞骨架的生物力学和生物化学性质取决于细胞液中浓度不断变化的带电或不带电的高分子、离子及其它分子组分之间的相互作用^[7]。鉴于细胞骨架结构的复杂性, 一些学者提出了多相介质模型 (multi-phasic model)^[55~58]和动态向列晶体模型 (dynamic nematic liquid crystal model)^[59]。细胞骨架的多相模型描述了细胞中固体组分、流体组分及某些情况下离子组分之间的相互作用, 一定程度上反映了细胞骨架的粘弹性物理机制。Vernerey 等^[50]考虑了细胞内部与收缩行为相关的四个要素 (细胞骨架、细胞液、应力纤维和肌动蛋白单体) 及它们之间的相互作用, 提出了一种约束多相混合模型 (constrained mixture model), 研究了细胞骨架通过黏着斑同细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 之间的动态力学行为。多相模型的一个主要缺点是建模难度较大, 需要进行一系列实验测试来校核模型参数。Zeng 等^[59]将细胞内肌动蛋白网络的动态聚集行为同向列液晶胶体的有向性质进行类比, 依据介观层次上肌动蛋白网络从各向同性液晶体到向列液晶体相变的现象^[60,61], 提出了动态向列晶体模型, 采用向列液晶体材料本构关系来模拟细胞骨架中的肌动球蛋白纤维的动态行为。

还有学者采用连续介质模型模拟了肌动蛋白纤维在循环载荷作用下的动态力学响应^[62~65]。例如, Dowling 等^[62]提出了针对软骨组织的三维代表单元法 (3-D representative

volume element, 3-D RVE), 研究了软骨细胞在动态循环载荷作用下产生的肌动蛋白网络结构的解聚等现象。模型中, RVE 包含了一个软骨细胞及其细胞周围的基底, 且为了预测软骨细胞的生物力学性能, 该模型还考虑了肌动蛋白细胞骨架的重组和收缩性质。模拟表明, 局部的缺陷显著影响了细胞的变形, 增加了细胞核所承受的应力, 改变了肌动蛋白骨架的分布。

本质上讲, 连续介质力学模型是一种粗糙的模型, 它将细胞各种离散纤维的贡献用宏观尺度上的均匀化方法表示为一个全局性的应力-应变关系。连续介质模型的主要缺点为: 1) 无法揭示细胞骨架的微观结构; 2) 无法全面地考虑细胞骨架的动态特性, 而且, 模型中的参数数量有限且不随时间变化, 但实验发现细胞骨架本身表现出幂指数流变性能, 这意味着模型必须包含无穷多个时间尺度^[69]; 3) 不能考虑细胞骨架受到细胞液分子无规则运动产生的布朗运动效应, 而这一行为在细胞力学中扮演着重要角色^[67]。

细胞骨架的离散模型

与连续介质模型不同, 细胞骨架离散模型认为细胞骨架由大量的离散应力承载单元组成, 每一个离散单元满足力平衡条件、几何相容条件及外部约束条件^[68~70]。Coughlin 等^[71]采用肌动蛋白二维索网结构近似细胞骨架, 通过增加连接点数量的方法, 模拟了细胞骨架的铺展过程; Head 等^[72]采用二维随机半柔性链网模型模拟皮质层肌动蛋白纤维网络, 研究了皮质层肌动蛋白柔韧性对细胞力学性能的影响。为了提高计算效率, Roy 等^[73]使用了代表体积单元方法, RVE 由四个半柔性链(主链)和四个等效弹簧组成, 代表各向同性的半柔性链网结构单元, 于是, 细胞骨架就视为由许多 RVE 单元组成的半柔性链网。但是, RVE 均匀化忽略了细胞骨架的局部非均匀性, 不能反映细胞骨架对局部外界刺激所产生的动态响应。Ingber 等^[74,75]根据建筑结构中的张拉整体结构, 考虑细胞骨架中的微管及肌动蛋白纤维, 提出了一个细胞骨架张拉整体结构模型, 假设细胞骨架包含了预先拉伸应力(预应力)来维持细胞形状和结构稳定性。细胞骨架的预应力主要由肌动蛋白-肌球蛋白收缩产生, 大部分预应力与细胞在黏着斑处的锚定力平衡, 其余部分由微管承受。Barreto 等^[76]提出了单个粘附细胞的多结构三维有限元模型, 该模型包括了细胞质中的预应力纤维束和微管、细胞核及肌动蛋白皮质层。他们采用该模型研究了载荷作用下不同细胞骨架组分所起到的不同生物物理及生物化学作用。计算模拟结果显示, 肌动蛋白皮质层及微管是抵抗压力的主要组分。然而, 这些模型都过于简单, 并未考虑细胞骨架的动态重组行为, 即细胞骨架纤维的生长/解聚及交联/分离。

Maurin 等^[79]采用由大量颗粒单元组成的颗粒模型来模拟细胞的动态铺展过程, 该模型包括三种类型的小颗粒, 分别表示细胞核、细胞骨架和细胞膜。细胞质颗粒之间采用线弹性弹簧和杆连接, 分别代表肌动蛋白纤维和微管, 并假设了微管的动态聚合规则来模拟细胞骨架结构的主动响应过程。该颗粒模型能够描述充分铺展的细胞内细胞骨架应力的分布情况。Kang 等^[78,79]采用了一种基于蒙特卡洛(Monte Carlo)方法的随机模型, 研究了循环拉伸载荷作用下, 肌动蛋白纤维网络结构的应力分布及重组过程。该模型表明, 在循环拉伸载荷作用下, 为了减小节点力合力, 节点位置发生了改变, 致使纤维沿着同拉力垂直的方向排列, 而细胞骨架网络中纤维的应力也减小。这几个模型简单地将细胞骨架纤维用弹簧、

杆等离散单元来代替, 没考虑细胞骨架纤维的半柔性特征, 不能描述细胞骨架纤维的微观机制及热力学运动。

还有学者借鉴建筑结构工程中平衡找形 (form-finding) 的概念来寻找细胞骨架结构的自然形态。Gong 等^[80]采用一个二维找形模型来研究肌动蛋白纤维网络的弹性性质。该模型中, 肌动蛋白纤维及纤维交联蛋白最初呈随机分布, 然后不断地迭代计算直到由最初的随机分布阵列形成一个稳定的平衡构型。该模型考虑了肌动蛋白纤维密度和长度、交联蛋白附着点的距离及整个计算域尺寸, 最终得到的构型同真实细胞骨架的网络拓扑结构有一定程度的相似。但是, 这种细胞骨架纤维网络模型无法反映细胞骨架结构的动态特征, 不能描述纤维同细胞液之间的相互作用, 也不能反映纤维的弯曲变形。

前面提到的理论模型都未能包含细胞骨架微观分子层级的信息, 不能很好地解释细胞骨架动态结构的分子机理, 有学者试图从分子层次出发来研究细胞骨架动态行为的微观机理, 例如采用 MD (molecular dynamics) 方法模拟肌动蛋白单体的折叠、变构等行为^[81]。MD 方法能够准确地模拟肌动蛋白单体的动力学行为, 但是, 囿于计算规模的限制, MD 方法远远不能描述完整细胞骨架真实行为的微观机制。即使是单个肌动蛋白纤维尺度, 其中也包含了许多肌动蛋白单体, MD 模拟依然无法达到这一计算规模^[82]。

因此, 有研究者借助统计力学中的粗粒化方法 (coarse-graining method, CG) 将分子团等效为准颗粒, 将复杂的现象映射到简单的更加容易计算、分析的模型之上。Kim 等^[83]提出了一种布朗动力学模型 (Brownian dynamics, BD), 考虑了肌动蛋白纤维的热力学运动和肌动蛋白单体聚合行为, 并通过两种交联蛋白分子形成两种交联网状形态, 即由 α -辅肌动蛋白 (α -actinin) 形成的平行纤维束形态和细丝蛋白 (filamin) 形成的垂直交联纤维束形态, 该交联网络表现出与实验观察类似的结构形态和流变学样式。然而, Kim 等所采用的 BD 模型可以达到的计算时间尺度及空间尺度仍十分有限, 为了解决这一问题, Chandran 等^[84,85]进一步对细胞骨架纤维进行粗粒化, 将肌动蛋白纤维段转化为圆柱状片段, 采用粗粒化 BD 模型模拟半柔性纤维的布朗运动, 将半柔性纤维理想化为串联在一起的柔性杆, 并在杆上施加布朗力。Cyron 等^[86-89]采用梁模型来粗粒化近似细胞骨架纤维, 建立随机偏微分方程 (stochastic partial differential equations, SPDEs), 通过有限元离散并用向后欧拉法求解, 其计算效率较 Kim 等提出的模型高出两个量级左右。类似地, Lin 等^[90]提出基于 Langevin 动力学的有限元-郎之万动力学 (finite element-Langevin dynamics, FEM-LD) 方法, 研究了随机交联肌动蛋白纤维网络结构的力学行为。发现随着变形的增加, 这些网络结构的力学响应从熵弹性主导模式转换为由纤维弯曲模式主导, 最终由纤维拉伸模式主导。出现这些转折点的宏观应力分别大约在初始体积模量的 1% 和 10%, 同近期的实验观察现象一致。并且, 该方法对于简单问题所得到的解同经典模态分析所预测的结果相近, 验证了该方法的有效性。

这些方法能够描述半柔性纤维从刚硬到半刚硬及半柔性的动态行为, 并在某种程度上考虑了细胞骨架纤维同细胞液之间的相互作用, 但没有考虑细胞骨架生长/解聚、交联/分离的动态行为。此外, 由于肌动蛋白纤维带电 (其线电荷密度为 4 e/nm)^[91], 而细胞液中也包含有各种带电颗粒及带电离子, 因此, 细胞骨架纤维同纤维单体之间、带电颗粒同纤维

之间会产生静电作用; 而且, 除了非均匀布朗力之外, 其它水动力相互作用产生的非均匀拽力对细胞骨架纤维的运动和变形也有很大的影响, 这些在该模型中都未考虑。

总结与展望

目前, 人们已经从实验现象上对细胞骨架有了一定的知识积累, 并建立了基于传统连续介质和离散结构等理论的细胞骨架模型, 但是, 这些理论模型并不能很好地复现实验结果, 存在不同程度的缺陷: 连续介质模型没有揭示细胞骨架的微观结构, 未考虑细胞骨架纤维受到细胞液分子无规则运动作用而产生的布朗运动; 传统的细胞骨架离散模型, 如预应力索网模型、半柔性链网模型、张拉整体模型等虽然考虑了细胞骨架的部分微观组分, 但都以人为假定的结构形状为基础, 不能描述细胞骨架纤维的布朗运动及动态重组的微观机制; 颗粒模型、找形模型、传统粗粒化布朗动力学模型没有将细胞骨架纤维的生长/解聚和交联/分离过程同细胞骨架的力学行为耦合起来, 而且也未考虑静电力以及水动力相互作用。

综上所述, 需要解决的基本问题如下: 1) 细胞骨架多态性的动态结构形成机制及其多尺度定量表征; 2) 细胞骨架同细胞液之间水动力耦合作用的定量表征; 3) 细胞骨架应力软化可逆性的微观机制描述; 4) 细胞骨架对机械力刺激的动态反馈机制及定量表征等。

因此, 未来细胞骨架的理论研究需要从细胞骨架的微观动态结构出发, 以细胞骨架结构的多尺度和多态性实验为基础, 考虑生物、力学、化学多学科交叉耦合, 建立基于微观尺度、介观尺度相互关联的细胞骨架生物网络结构模型, 兼顾计算空间与计算效率的平衡。探索细胞骨架复杂的多态性微结构的形成过程和机制, 揭示细胞骨架的动态反馈行为及复杂的力学性能, 为细胞骨架体外重构、生物组织体外培养等提供理论基础, 从而推动生物医学工程及生命科学的发展。

参考文献:

1. Buehler MJ, Yung YC. Deformation and failure of protein materials in physiologically extreme conditions and disease. *Nat Mater*, 2009, 8(3): 175-188
2. Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, Discher DE. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*, 2006, 126(4): 677-689
3. Kolahi KS, Mofrad M. Mechanotransduction: A major regulator of homeostasis and development. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2010, 2(6): 625-639
4. Jordan MA, Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drugs. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(4): 253-265
5. Jiang XY, Takayama S, Qian XP, Ostuni E, Wu HK, Bowden N, LeDuc P, Ingber DE, Whitesides GM. Controlling mammalian cell spreading and cytoskeletal arrangement with conveniently fabricated continuous wavy features on poly(dimethylsiloxane). *Langmuir*, 2002, 18(8): 3273-3280
6. Bray MP, Adams WJ, Geisse NA, Feinberg AW, Sheehy SP, Parker KK. Nuclear morphology and deformation in engineered cardiac myocytes and tissues. *Biomaterials*, 2010, 31(19): 5143-5150
7. Yuan B, Jin Y, Sun Y, Wang D, Sun J, Wang Z, Zhang W, Jiang X. A strategy for depositing different types of cells in three dimensions to mimic tubular structures in tissues. *Adv Mater*, 2012, 24(7): 890-896
8. Fletcher DA, Mullins RD. Cell mechanics and the cytoskeleton. *Nature*, 2010, 463(7280): 485-492
9. Pontani LL, van der Gucht J, Salbreux G, Heuvingh J, Joanny JF, Sykes C. Reconstitution of an actin cortex inside a liposome. *Biophys J*, 2009, 96(1): 192-198
10. Lee H, Ferrer JM, Nakamura F, Lang MJ, Kamm RD. Passive and active microrheology for cross-linked F-actin networks *in vitro*. *Acta Biomater*, 2010, 6(4): 1207-1218
11. Campellone KG, Webb NJ, Znameroski EA, Welch MD.

- WHAMM is an Arp2/3 complex activator that binds microtubules and functions in ER to Golgi transport. *Cell*, 2008, 134(1): 148~161
12. Brangwynne CP, MacKintosh FC, Kumar S, Geisse NA, Talbot J, Mahadevan L, Parker KK, Ingber DE, Weitz DA. Microtubules can bear enhanced compressive loads in living cells because of lateral reinforcement. *J Cell Biol*, 2006, 173(5): 733~741
 13. Holy TE, Leibler S. Dynamic instability of microtubules as an efficient way to search in space. *Proc Natl Acad Sci*, 1994, 91(12): 5682~5685
 14. Pollard TD, Borisy GG. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell*, 2003, 112(4): 453~465
 15. Naumanen P, Lappalainen P, Hotulainen P. Mechanisms of actin stress fibre assembly. *J Microsc-Oxf*, 2008, 231(3): 446~454
 16. Parent CA. Making all the right moves: Chemotaxis in neutrophils and Dictyostelium. *Curr Opin Cell Biol*, 2004, 16(1): 4~13
 17. Wiche G. Role of plectin in cytoskeleton organization and dynamics. *J Cell Sci*, 1998, 111(17): 2477~2486
 18. Flitney EW, Kuczmarski ER, Adam SA, Goldman RD. Insights into the mechanical properties of epithelial cells: the effects of shear stress on the assembly and remodeling of keratin intermediate filaments. *FASEB J*, 2009, 23(7): 2110~2119
 19. Bieling P, Laan L, Schek H, Munteanu EL, Sandblad L, Dogterom M, Brunner D, Surrey T. Reconstitution of a microtubule plus-end tracking system *in vitro*. *Nature*, 2007, 450(7172): 1100~1105
 20. Stachowiak JC, Richmond DL, Li TH, Liu AP, Parekh SH, Fletcher DA. Unilamellar vesicle formation and encapsulation by microfluidic jetting. *Proc Natl Acad Sci*, 2008, 105(12): 4697~4702
 21. Liu AP, Fletcher DA. Biology under construction: *In vitro* reconstitution of cellular function. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(9): 644~650
 22. Dogterom M, Surrey T. Microtubule organization *in vitro*. *Curr Opin Cell Biol*, 2013, 25(1): 23~29
 23. Fletcher D. Cytoskeletal assembly under confinement. *Biophys J*, 2014, 106(2): 637a~638a
 24. Vahey MD, Fletcher DA. The biology of boundary conditions: Cellular reconstitution in one, two, and three dimensions. *Curr Opin Cell Biol*, 2014, 26: 60~68
 25. Jégou A, Carlier M, Romet-Lemonne G. Formin mDia1 senses and generates mechanical forces on actin filaments. *Nat Commun*, 2013, 4: 1883
 26. Bausch AR, Kroy K. A bottom-up approach to cell mechanics. *Nat Phys*, 2006, 2(4): 231~238
 27. Mofrad MR, Kamm RD. Cytoskeletal mechanics: Models and measurements. New York: Cambridge University Press, 2006
 28. Mofrad MR. Rheology of the cytoskeleton. *Ann Rev Fluid Mech*, 2009, 41: 433~453
 29. Crocker JC, Valentine MT, Weeks ER, Gisler T, Kaplan PD, Yodh AG, Weitz DA. Two-point microrheology of inhomogeneous soft materials. *Phys Rev Lett*, 2000, 85(4): 888
 30. Liu J, Gardel ML, Kroy K, Frey E, Hoffman BD, Crocker JC, Bausch AR, Weitz DA. Microrheology probes length scale dependent rheology. *Phys Rev Lett*, 2006, 96(11): 118104
 31. Dogterom M, Yurke B. Measurement of the force-velocity relation for growing microtubules. *Science*, 1997, 278(5339): 856~860
 32. Footer MJ, Kerssemakers JW, Theriot JA, Dogterom M. Direct measurement of force generation by actin filament polymerization using an optical trap. *Proc Natl Acad Sci*, 2007, 104(7): 2181~2186
 33. Parekh SH, Chaudhuri O, Theriot JA, Fletcher DA. Loading history determines the velocity of actin-network growth. *Nat Cell Biol*, 2005, 7(12): 1219~1223
 34. Prass M, Jacobson K, Mogilner A, Radmacher M. Direct measurement of the lamellipodial protrusive force in a migrating cell. *J Cell Biol*, 2006, 174(6): 767~772
 35. Danciu TE, Gagari E, Adam RM, Damoulis PD, Freeman MR. Mechanical strain delivers anti-apoptotic and proliferative signals to gingival fibroblasts. *J Dent Res*, 2004, 83(8): 596~601
 36. Joshi SD, Webb K. Variation of cyclic strain parameters regulates development of elastic modulus in fibroblast/substrate constructs. *J Orthop Res*, 2008, 26(8): 1105~1113
 37. Lieleg O, Claessens MM, Bausch AR. Structure and dynamics of cross-linked actin networks. *Soft Matter*, 2010, 6(2): 218~225
 38. Lieleg O, Claessens MM, Heussinger C, Frey E, Bausch AR. Mechanics of bundled semiflexible polymer networks. *Phys Review Lett*, 2007, 99(8): 088102
 39. Lieleg O, Schmolzer KM, Cyron CJ, Luan Y, Wall WA, Bausch AR. Structural polymorphism in heterogeneous cytoskeletal networks. *Soft Matter*, 2009, 5(9): 1796~1803
 40. Risca VI, Wang EB, Chaudhuri O, Chia JJ, Geissler PL, Fletcher DA. Actin filament curvature biases branching direction. *Proc Natl Acad Sci*, 2012, 109(8): 2913~2918
 41. Wong GC, Lin A, Tang JX, Li Y, Janmey PA, Safinya CR. Lamellar phase of stacked two-dimensional rafts of actin filaments. *Phys Review Lett*, 2003, 91(1): 018103
 42. Diz-Muñoz A, Krieg M, Bergert M, Ibarlucea-Benitez I, Muller DJ, Paluch E, Heisenberg C. Control of directed cell migration *in vivo* by membrane-to-cortex attachment. *PLoS Biol*, 2010, 8(11): e1000544
 43. Chaudhuri O, Parekh SH, Fletcher DA. Reversible stress softening of actin networks. *Nature*, 2007, 445(7125): 295~298
 44. Storm C, Pastore JJ, MacKintosh FC, Lubensky TC, Janmey PA. Nonlinear elasticity in biological gels. *Nature*, 2005, 435(7039): 191~194
 45. Janmey PA, Weitz DA. Dealing with mechanics:

- Mechanisms of force transduction in cells. *Trends Biochem Sci*, 2004, 29(7): 364~370
46. Gardel ML, Shin JH, MacKintosh FC, Mahadevan L, Matsudaira P, Weitz DA. Elastic behavior of cross-linked and bundled actin networks. *Science*, 2004, 304(5675): 1301~1305
 47. MacKintosh FC. Polymer-based models of cytoskeletal networks // Mofrad MR, Kamm RD. Cytoskeletal mechanics: Models and measurements. New York: Cambridge University Press, 2006: 152~169
 48. Janmey PA, McCulloch CA. Cell mechanics: Integrating cell responses to mechanical stimuli. *Ann Rev Biomed Eng*, 2007, 9: 1~34
 49. Xiong Y, Huang C, Iglesias PA, Devreotes PN. Cells navigate with a local-excitation, global-inhibition-biased excitable network. *Proc Natl Acad Sci*, 2010, 107(40): 17079~17086
 50. Uyeda TQ, Iwadata Y, Umeki N, Nagasaki A, Yumura S. Stretching actin filaments within cells enhances their affinity for the myosin II motor domain. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26200
 51. Solon J, Kaya-Copur A, Colombelli J, Brunner D. Pulsed forces timed by a ratchet-like mechanism drive directed tissue movement during dorsal closure. *Cell*, 2009, 137(7): 1331~1342
 52. Guilak F, Haider MA, Setton LA, Laursen TA, Baaijens FP. Multiphasic models of cell mechanics // Mofrad MR, Kamm RD. Cytoskeletal mechanics: Models and measurements. New York: Cambridge University Press, 2006: 84~102
 53. Pollack GH. Cells, gels and mechanics // Mofrad MR, Kamm RD. Cytoskeletal mechanics: Models and measurements. New York: Cambridge University Press, 2006: 129~151
 54. Trepast X, Deng L, An SS, Navajas D, Tschumperlin DJ, Gerthoffer WT, Butler JP, Fredberg JJ. Universal physical responses to stretch in the living cell. *Nature*, 2007, 447(7144): 592~595
 55. Deshpande VS, McMeeking RM, Evans AG. A model for the contractility of the cytoskeleton including the effects of stress-fibre formation and dissociation. *Proc Roy Soc A: Math, Phys Eng Sci*, 2007, 463(2079): 787~815
 56. Vernerey FJ, Farsad M. A constrained mixture approach to mechano-sensing and force generation in contractile cells. *J Mechan Behav Biomed Mater*, 2011, 4(8): 1683~1699
 57. Ateshian GA, Humphrey JD. Continuum mixture models of biological growth and remodeling: Past successes and future opportunities. *Ann Rev Biomed Eng*, 2012, 14: 97~111
 58. Farsad M, Vernerey FJ. An XFEM-based numerical strategy to model mechanical interactions between biological cells and a deformable substrate. *Int J Numer Meth Eng*, 2012, 92(3): 238~267
 59. Zeng X, Li S. A three dimensional soft matter cell model for mechanotransduction. *Soft Matter*, 2012, 8(21): 5765~5776
 60. Ramaswamy S, Rao M. Active-filament hydrodynamics: Instabilities, boundary conditions and rheology. *New J Phys*, 2007, 9(11): 423
 61. Cates ME, Fielding SM, Marenduzzo D, Orlandini E, Yeomans JM. Shearing active gels close to the isotropic-nematic transition. *Phys Rev Lett*, 2008, 101(6): 068102
 62. Dowling EP, Ronan W, McGarry JP. Computational investigation of in situ chondrocyte deformation and actin cytoskeleton remodelling under physiological loading. *Acta Biomater*, 2013, 9(4): 5943~5955
 63. Hsu HJ, Lee CF, Kaunas R. A dynamic stochastic model of frequency-dependent stress fiber alignment induced by cyclic stretch. *PLoS One*, 2009, 4(3): e4853
 64. Na S, Meininger GA, Humphrey JD. A theoretical model for F-actin remodeling in vascular smooth muscle cells subjected to cyclic stretch. *J Theor Biol*, 2007, 246(1): 87~99
 65. Palmer JS, Boyce MC. Constitutive modeling of the stress-strain behavior of F-actin filament networks. *Acta Biomater*, 2008, 4(3): 597~612
 66. Desprat N, Richert A, Simeon J, Asnacios A. Creep function of a single living cell. *Biophys J*, 2005, 88(3): 2224~2233
 67. Mogilner A, Oster G. Cell motility driven by actin polymerization. *Biophys J*, 1996, 71(6): 3030~3045
 68. Stamenović D, Fredberg JJ, Wang N, Butler JP, Ingber DE. A microstructural approach to cytoskeletal mechanics based on tensegrity. *J Theor Biol*, 1996, 181(2): 125~136
 69. Boey SK, Boal DH, Discher DE. Simulations of the erythrocyte cytoskeleton at large deformation. I. Microscopic models. *Biophys J*, 1998, 75(3): 1573~1583
 70. Stamenović D. Models of cytoskeletal mechanics based on tensegrity // Mofrad MR, Kamm RD. Cytoskeletal mechanics: Models and measurements. New York: Cambridge University Press, 2006: 103~128
 71. Coughlin MF, Stamenovic D. A tensegrity model of the cytoskeleton in spread and round cells. *J Biomech Eng*, 1998, 120(6): 770~777
 72. Head DA, Levine AJ, MacKintosh FC. Deformation of cross-linked semiflexible polymer networks. *Phys Rev Lett*, 2003, 91(10): 108102
 73. Roy S, Qi HJ. Micromechanical model for elasticity of the cell cytoskeleton. *Phys Rev E*, 2008, 77(6): 061916
 74. Ingber DE. Tensegrity: The architectural basis of cellular mechanotransduction. *Ann Rev Physiol*, 1997, 59(1): 575~599
 75. Ingber DE. Tensegrity I. Cell structure and hierarchical systems biology. *J Cell Sci*, 2003, 116(7): 1157~1173
 76. Maurin B, Cañadas P, Baudriller H, Montcourrier P, Bettache N. Mechanical model of cytoskeleton structuration during cell adhesion and spreading. *J Biomech*, 2008, 41(9): 2036~2041
 77. Barreto S, Clausen CH, Perrault CM, Fletcher DA, Lacroix D. A multi-structural single cell model of force-induced

- interactions of cytoskeletal components. *Biomaterials*, 2013, 34(26): 6119~6126
78. Kang J. Spatiotemporal modeling of actin cytoskeletal mechanics linked to morphology and mechanotransduction. Carnegie Mellon University, 2013
79. Kang J, Steward RL, Kim Y, Schwartz RS, LeDuc PR, Puskar KM. Response of an actin filament network model under cyclic stretching through a coarse grained Monte Carlo approach. *J Theor Biol*, 2011, 274(1): 109~119
80. Gong J, Zhang D, Tseng Y, Li B, Wirtz D, Schafer BW. Form-finding model shows how cytoskeleton network stiffness is realized. *PLoS One*, 2013, 8(10): e77417
81. 吕守芹, 龙勉. 分子动力学模拟与分子生物力学. *生物物理学报*, 2012, 28(1): 6~14
- Lv SQ, Long M. Molecular dynamics simulation and molecular biomechanics. *Acta Biophys Sin*, 2012, 28(1): 6~14
82. Saunders MG, Voth GA. Coarse-graining methods for computational biology. *Ann Rev Biophys*, 2013, 42: 73~93
83. Kim T, Hwang W, Kamm RD. Computational analysis of a cross-linked actin-like network. *Experim Mech*, 2009, 49(1): 91~104
84. Chandran PL, Mofrad MR. Rods-on-string idealization captures semiflexible filament dynamics. *Phys Rev E*, 2009, 79(1): 011906
85. Chandran PL, Mofrad MR. Averaged implicit hydrodynamic model of semiflexible filaments. *Phys Rev E*, 2010, 81(3): 031920
86. Cyron CJ, Müller KW, Bausch AR, Wall WA. Micromechanical simulations of biopolymer networks with finite elements. *J Comput Phys*, 2013, 244: 236~251
87. Cyron CJ, Wall WA. Numerical method for the simulation of the Brownian dynamics of rod-like microstructures with three-dimensional nonlinear beam elements. *Int J Numer Meth Eng*, 2012, 90(8): 955~987
88. Cyron CJ, Wall WA. Consistent finite-element approach to Brownian polymer dynamics with anisotropic friction. *Phys Rev E*, 2010, 82(06670562)
89. Cyron CJ, Wall WA. Finite-element approach to Brownian dynamics of polymers. *Phys Rev E*, 2009, 80(6): 066704
90. Lin Y, Wei X, Qian J, Sze KY, Shenoy VB. A combined finite element-Langevin dynamics (FEM-LD) approach for analyzing the mechanical response of bio-polymer networks. *J Mech Phys Solids*, 2014, 62: 2~18
91. Hosek M, Tang JX. Polymer-induced bundling of F actin and the depletion force. *Phys Rev E*, 2004, 69(5): 051907

Progress on Study of Reorganization and Mechanical Behaviors of Cytoskeleton

JIA Kangyu, LIU Xiaohu

Department of Mechanics, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China

This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (11172110)

Received: Apr 1, 2014 Accepted: Apr 20, 2014

Corresponding author: LIU Xiaohu, Tel: +86(27)87543538, E-mail: xhliu@hust.edu.cn

Abstract: Cytoskeleton is a multiscale dynamic networks, and plays an essential role in many biological processes, such as cell spreading, migration and response to extra cell matrix. The reorganization processes and polymorphism of cytoskeletal networks determine the mechanical behavior and stability of a cell. Exploring the micro-mechanism of these dynamic behaviors is a challenging problem. In this paper, the latest developments of experimental and theoretical studies on the reorganization and mechanical behaviors of cytoskeleton are reviewed. Future development directions and applications of cytoskeleton mechanics are also prospected.

Key Words: Molecular cytobiology; Cytoskeleton; Micro-structure; Reorganization; Mechanotransduction

DOI: 10.3724/SP.J.1260.2014.40048