

细胞内钙振荡和钙波的 生成、演化及其生理响应

作者：施小民

专业：流体力学

导师：戴世强



上海大学出版社

· 上海 ·

2004 年上海大学博士学位论文

细胞内钙振荡和钙波的 生成、演化及其生理响应

作 者： 施小民
专 业： 流体力学
导 师： 戴世强

上海大学出版社

• 上海 •

Shanghai University Doctoral Dissertation (2004)

**The Generation, Evolution and Physiological
Responses of Intracellular Calcium
Oscillations and Waves**

Candidate: Shi Xiao-min

Major: Fluid Mechanics

Supervisor: Prof. Dai Shi-qiang

Shanghai University Press

• Shanghai •

上海大学

本论文经答辩委员会全体委员审查, 确认符合上海大学博士学位论文质量要求。

答辩委员会名单:

主任:	丁光宏	教授, 复旦大学力学与工程科学系	200433
委员:	张志鸿	教授, 复旦大学生物物理系	200433
	缪国平	教授, 上海交大船舶海洋工程学院	200030
	周连第	研究员, 中国船舶科研中心	200011
	丁祖荣	教授, 上海交大工程力学系	200031
	刘宇陆	教授, 上海大学力学所	200072
	王道增	教授, 上海大学力学所	200072
导师:	戴世强	教授, 上海大学力学所	200072

评阅人名单:

丁光宏	教授, 复旦大学力学与工程科学系	200433
刘曾荣	教授, 上海大学数学系	200436
顾凡及	教授, 复旦大学生物物理系	200433

评议人名单:

吴家睿	研究员, 中科院上海生命科学研究院	200031
张志鸿	教授, 复旦大学生物物理系	200072
柳兆荣	教授, 复旦大学力学与工程科学系	200433
刘应中	教授, 上海交大船舶海洋工程学院	200030
许世雄	教授, 复旦大学力学与工程科学系	200433
陶明德	教授, 复旦大学力学与工程科学系	200433

答辩委员会对论文的评语

细胞内钙离子浓度的振荡和波动的研究是生命科学中关于细胞信号转导的前沿热点之一。本学位论文通过改进和建立一系列非线性动力学模型,围绕细胞内钙离子浓度振荡和波动的生成与演化开展了比较系统的研究,选题新颖,研究成果具有创新性,主要表现在如下几个方面:

(1) 改进和推广了 Atri(1993)的细胞内钙振荡模型,考虑了含线粒体和钙缓冲蛋白影响的钙振荡模型,得到了一些重要的创新性的结论,模拟结果符合现有的实验观测结果;

(2) 通过对 Atri 钙波动力学模型方程的求解,得到了非洲爪蟾卵母细胞内的螺旋钙波和靶波的解析表达式,首次采用解析形式展现细胞内钙波的空间传播规律,还从理论上给出了细胞内周期钙波的产生条件;

(3) 建立了蛙交感神经细胞内的钙波模型,采用多种力学和数学分析工具,得到了一维孤立脉冲钙波波速和波形的解析关系式,所得结果与已有的实验观察基本相符;

(4) 首次建立了一个蛋白质磷酸化-脱磷酸化的联合模型,得到了活性磷酸化蛋白的转换率与钙振荡的频率成正比的结论,所得结论符合现有的生物学理论和实验结果。

论文表明,作者对所研究领域的国内外发展动态和主要文献资料有深入的了解,具有坚实宽广的基础理论和系统深入的专门知识,从所做的有创新性的工作来看,作者具有较强的独立从事科学研究工作的能力。

论文内容翔实，条理清晰，行文流畅，计算结果真实可靠，是一篇优秀的博士学位论文。

在答辩中，施小民同学能正确地回答答辩委员会提出的有关问题。

答辩委员会表决结果

经答辩委员会表决，全票同意通过施小民同学的博士学位论文答辩，建议授予工学博士学位。

答辩委员会主席：**丁光宏**

2003 年 12 月 12 日

摘 要

钙离子是普遍存在的第二信使, 细胞内钙离子浓度的振荡和波动调节着多种细胞的生理过程, 引发了细胞受精过程中的生命活动, 并控制着细胞的发育和分化过程.

本文通过建立一系列改进的非线性动力学模型, 研究细胞内钙振荡和钙波的生成、演化及其生理响应, 采用数值的或解析的方法进行量化处理, 较深入地分析钙振荡和钙波的有关特性, 并与有关的实验进行比较, 从而定性地验证相关的实验结论, 阐明它在生物体内信号传递过程中的功能和作用. 论文的创新点及主要结果如下:

(1) 建立了一个包含线粒体钙循环的细胞内钙振荡模型, 首次证明了线粒体内钙离子大量聚集可引发细胞编程性死亡(细胞凋亡)的实验结论; 首次验证了线粒体钙循环的参与可提高胞质钙振荡的频率的实验结论, 并且认定, 线粒体的活性越大, 胞质钙振荡的频率越高.

(2) 通过一个考虑钙缓冲蛋白影响的钙振荡模型, 指明了调控胞质钙振荡的两种方法, 一种是调节钙缓冲蛋白的解离常数; 另一种是调节细胞中缓冲蛋白的总浓度.

(3) 首次建立了一个蛋白磷酸酶活性也依赖于钙离子浓度的钙振荡驱动的蛋白质磷酸化-脱磷酸化的联合模型, 得到了活性磷酸化蛋白的转换率与钙振荡的频率成正比的结论. 并且, 当胞质钙振荡态转化为非振荡的定态时, 在相同钙离子浓度的环境下, 其活性磷酸化蛋白的转换率就大大降低. 所得结论符合现有的理论和实验

结果.

(4) 首次得到了非洲爪蟾卵母细胞内的螺旋钙波和靶波的解析表达式. 给出了细胞内周期性钙波的产生, IP_3R 通道失活的时间常数必须大于 2.43 s 的解析判据.

(5) 建立了蛙交感神经细胞内的钙波模型, 并得到了一维孤立脉冲钙波波速和波形的解析关系式. 求得的一维孤立脉冲钙波波速为 $21.5 \mu\text{ms}^{-1}$, 符合实验结果.

本文的工作为实验调控胞质钙振荡提供了具体的操作方向, 同时也为通过调控胞质钙振荡来控制蛋白质的磷酸化-脱磷酸化循环, 进而为实现对细胞生理响应的控制提供了理论依据.

关键词 钙振荡, 钙波, 频率编码, IP_3 受体, 雷诺定受体, 蛋白质磷酸化

Abstract

Calcium is a ubiquitous second messenger. The calcium oscillations and waves of intracellular concentration regulate multiple cellular physiological processes. It triggers life at fertilization and controls the development and differentiation of cells.

In this dissertation, by establishing a series of improved nonlinear dynamic models, the generation, evolution and physiological responses of intracellular calcium oscillations and waves were meticulously studied. Various numerical and analytical methods were applied to deal quantitatively with those models and to analyze extensively some characteristic of calcium oscillations and waves. After having compared with experimental data, the obtained results from models could be used to explain qualitatively the relevant experimental discoveries, especially those about the functions and effects of intracellular calcium signals. The creative points and main conclusions of this dissertation are as follows:

(1) An intracellular calcium oscillations model including mitochondrial calcium cycle is constructed. With this model, the experimental conclusion that the build-up of mitochondrial calcium initiates a program of cell death (apoptosis) is first verified. And is also first confirmed that mitochondrial calcium uptake can increase the frequency of cytosolic calcium oscillations, which was discovered in experiments. In addition, it is found that increasing mitochondrial calcium activity, the frequency of cytosolic calcium

oscillation will be raised.

(2) An improved model of intracellular calcium oscillations is established with the consideration of the effects of buffers on cytoplasm calcium. With this model, two ways concerning the control of cytoplasm calcium oscillations are worked out. One is to regulate the dissociation constant of the calcium buffer, the other is to regulate the total concentration of the buffer.

(3) By considering the fact that protein phosphatase could be activated by calcium, a unified model concerning the protein phosphorylation-dephosphorylation cycle driven by cytosolic calcium oscillations is first set up. Calculations from the model are presented to show that the fraction of phosphorylated protein is directly proportional to the frequency of cytosolic calcium oscillations. Furthermore, when cytosolic calcium oscillations are turned into a steady state, at the same cytosolic concentration of calcium, the fraction of activated phosphorylated protein is remarkably decreased. The results obtained from the model are in agreement with those from previous theoretical and experimental ones now available.

(4) The analytical solutions concerning intracellular calcium spiral and target wave in the *Xenopus laevis* oocyte are obtained. In addition, it is claimed that unless the inactivation parameter of the IP_3R is greater than 2.43 s intracellular calcium periodic waves cannot be generated.

(5) The intracellular calcium wave model in frog sympathetic neurons is established. Then the analytical expressions of velocity

and waveform of calcium solitary pulse wave are derived. The propagation velocity of solitary pulse wave obtained by the model is $21.5\mu\text{ms}^{-1}$, in accordance with results of experiment.

The work presented in this dissertation provides not only the way to regulate cytosolic calcium oscillations for experiment, but also theoretical basis for the control of protein phosphorylation-dephosphorylation cycle driven by calcium oscillations to achieve control of cell physiological responses.

Key words: calcium oscillations, calcium wave, frequency encoding, IP_3 receptors, protein phosphorylation

目 录

第一章 绪 论	1
1.1 生物学的若干基本概念	6
1.2 钙振荡和钙波的形成和传播	8
1.3 钙振荡和钙波的实验研究	12
1.4 钙振荡和钙波的数学模型	18
1.5 本论文内容简介	21
第二章 改进的细胞内钙振荡的单池模型	24
2.1 钙振荡模型	26
2.2 模型的求解	31
2.3 结果和讨论	36
第三章 含有线粒体钙循环的细胞内钙振荡的模型	37
3.1 包含线粒体钙循环的钙动力学模型	39
3.2 模型算例分析	41
3.3 结论和讨论	50
第四章 钙离子缓冲蛋白对细胞内钙振荡的影响	51
4.1 包含 n 类快速缓冲蛋白的钙离子浓度 动力学方程	52
4.2 模型的求解	56
4.3 结果和讨论	59
第五章 非洲爪蟾卵母细胞内的螺旋钙波和靶波	61

5.1 问题的归结和控制方程.....	64
5.2 模型的求解.....	66
5.3 结果和讨论.....	70
第六章 蛙交感神经细胞内的孤立脉冲钙波.....	73
6.1 Friel 的钙致钙释放模型.....	75
6.2 基于 Friel 模型改进的钙致钙释放模型.....	76
6.3 蛙交感神经细胞内的钙波模型.....	79
6.4 分段线性近似的模型方程.....	80
6.5 孤立脉冲波解.....	82
6.6 结果和讨论.....	88
第七章 细胞内钙振荡驱动的蛋白质磷酸化的联合模型.....	89
7.1 钙振荡作用下蛋白质磷酸化的联合模型.....	92
7.2 肝细胞内钙振荡驱动的糖原磷酸化酶的 磷酸化模型.....	101
7.3 结果和讨论.....	109
第八章 结论和展望.....	111
8.1 主要结论.....	111
8.2 研究展望.....	114
参考文献.....	116
致 谢.....	124

第一章 绪 论

21 世纪是生物学的世纪, 生物学已被誉为当今自然科学的核心.

生命是最复杂、最神奇, 也是最迷人的自然现象. 生物学就是研究生命现象本质及其演化规律的科学, 又称生命科学. 现代生物学是经过漫长的历史发展过程而逐步形成的. 生物学的发展经历了三个主要的阶段: 16 世纪以前, 是生物学的奠基时期; 从 16 世纪到 20 世纪中叶是系统生物学创立和发展的时期, 其间的重大进展就是细胞学说的出现和进化论的建立; 20 世纪中叶以后, 生物学顺应各学科纵横交错发展的大趋势, 出现了不同分支学科的大交汇、大渗透、大综合, 数理科学广泛深刻地渗入到生物学中, 全面改变了生物学的面貌, 开辟了在分子水平上研究生命现象的新学科——分子生物学, 这是 20 世纪生物学的最伟大的成就. J.D.Watson 和 F.Crick (1953) 阐明了脱氧核糖核酸 (DNA) 分子的双螺旋结构, 这是分子生物学发展史上的一个里程碑, 由此导致对生物遗传信息 DNA→RNA→蛋白质中心法则的揭示, 人们从中可以探索到生命运作的基础框架和生物世代交替的传递方式. 从此, 生命科学进入了一个分子生物学的时代, 对遗传信息的载体——核酸和生命功能的执行者——蛋白质的研究成了生命科学研究的主要内容(吴家睿, 2001; 陈阅增, 1997).

随着人类基因组总图的绘就, 生命科学进入了后基因组时代, 生命科学的研究内容也就更加广泛、复杂. 纵观当今生命科学的研究方略, 具有集中力量打歼灭战的特点, 就是在一段时期内集中全世界相关领域内的精兵强将, 对某几个领域内的问题进行研究, 由此形成了各个不同时期内的热点问题. 美国 ISI 对 SCI 收录及引用论文关键词检索发现, 全球自然科学论文发表最集中的三个领域是细胞信号转导、细胞凋亡和基因组研究(季红斌等, 2000). 细胞内钙离子浓度的振荡和波动的研究则属于细胞信号转导专题.

生物体的生长发育主要受遗传信息及环境变化信息的调节控制. 遗传基因决定个体发育的基本模式, 它可以受到环境信息的调控. 掌握了遗传密码破译及转录、翻译的基本规律, 成功地获取此类遗传信息之后, 如何控制细胞的基因表达及增殖、分化、发育就成为当今生命科学最具挑战性的问题. 由于环境刺激在此过程中起着重要的调节作用, 因此细胞信号转导研究的主要内容就是研究细胞感受、转导环境刺激的分子途径及其在生物个体发育过程中如何调节基因表达和代谢生理反应(孙大业, 2000).

20 世纪 40 年代, 薛定谔 (E. Schrödinger) 在《生命是什么》一书中阐明了生命的基本问题就是信息问题. 生物体内存在调节物质和能量代谢的信号系统, 生物细胞内进行着十分错综复杂的新陈代谢过程. 生物细胞的信号环境, 在代谢调节控制上起着重要的作用. 因为生物体内的大分子、细胞器、细胞、组织和器官在空间上是相互隔离的, 生物体与环境之间更是如此. 两个空间隔离的组分之间的相互影响和协调一致, 不管是采取何种方式, 都必须有信号的传输或信息的交流. 因此, 生物体在新陈代

谢时, 细胞信号转导在应答环境刺激和调节基因表达、生理反应的同时, 不仅维持着细胞的正常代谢, 而且最终决定了细胞增殖、生长、分化、衰老和死亡等生命的基本现象(孙大业, 2000).

人们较早认识到细胞间可依赖激素与神经递质等进行信号传递. 自 20 世纪 80 年代开始, 人们才比较清楚地知晓了信号的跨膜转换和细胞内信号的存在. 细胞信号可分为生物大分子的结构信号、物理信号和化学信号. 生物体内普遍使用的是化学信号. 本文所涉及的钙离子浓度的振荡和波动信号是一种化学信号, 所以我们这里仅介绍化学信号的类型和转导机理.

化学信号分子是生物体内的一种化学物质, 其主要功能既非提供营养, 又非用作能源, 也非形成结构, 而是在细胞间和细胞内传递信息. 化学信号分子可分为两类: 一类是细胞间通讯的信号分子, 如内分泌激素、神经递质等, 此类胞间信号分子又称为第一信使; 另一类是胞内信号分子, 称为第二信使, 它是细胞内介导信号通路的活性物质. 一般公认的有环腺苷酸(cAMP)、环鸟苷酸(cGMP)、钙离子(Ca^{2+})、肌醇三磷酸(IP_3)等. 胞间通讯的化学信号与胞内通讯的化学信号在功能上是密切相关的. 多细胞生物体受到刺激后, 先产生胞间信号, 到达细胞面或胞内受体位点后, 通过胞内信号将信息传递到胞内的特定效应部位而起作用, 从而完成整个通讯过程(孙大业, 2000). 如果知晓了细胞的整个通讯机制, 就可以为根治细胞信号转导障碍引起的一些严重危害人类健康的疾病(如癌症、糖尿病和免疫系统疾病), 提供新的思路和策略.

钙信号是一种化学信号, 它的产生和终止是细胞内钙离子浓度的时空增减波动的结果. 作用在细胞膜上某种外界环境刺激所引起的细胞内的钙释放是一种非线性动力学过程, 它导致了一