

# IP<sub>3</sub>R 钙离子通道集团中的 blip 动力学

祁宏, 帅建伟

(厦门大学物理系, 福建厦门 361005)

**摘要:** 利用一个双 Ca<sup>2+</sup> 浓度模型系统地研究了 IP<sub>3</sub>R 钙离子通道集团所产生的 blip 的动力学行为, 并与最近关于人类成神经细胞瘤 SH-SY5Y 细胞中 IP<sub>3</sub>R 通道 Ca<sup>2+</sup> 释放事件的实验进行了比较。结果发现在由几个 IP<sub>3</sub>R 通道所形成的集团中, blip 事件与受它激发而产生的 puff 事件之间存在竞争关系。因此, 从单通道 IP<sub>3</sub>R 集团和从多通道 IP<sub>3</sub>R 集团所释放的 blip 的动力学行为并不相同。

**关键词:** 钙信号; blip; 三磷酸肌醇分子受体; puff

**中图分类号:** O552.4

**文献标志码:** A

**文章编号:** 2095-2783(2013)06-0534-04

## Ca<sup>2+</sup> blip dynamics for IP<sub>3</sub>R channel clusters

Qi Hong, Shuai Jianwei

(Department of Physics, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)

**Abstract:** A two-level Ca<sup>2+</sup> release model has been applied to study the blip dynamics, and it was compared with recent experiments of Ca<sup>2+</sup> events released from a few inositol 1,4,5-trisphosphate receptor (IP<sub>3</sub>R) channels in neuroblastoma cells. We found that there is a competition between blip events and triggered puffs for a cluster with several IP<sub>3</sub>Rs. As a result, different behaviors were observed for Ca<sup>2+</sup> blips released from a cluster of IP<sub>3</sub>Rs and the ones from a single IP<sub>3</sub>R.

**Key words:** Ca<sup>2+</sup> signal; blip; IP<sub>3</sub>R; puff

钙离子(Ca<sup>2+</sup>)是细胞内广泛存在的一种重要的第二信使,参与并控制细胞分裂、基因表达、新陈代谢、学习记忆、细胞死亡等几乎所有的生命活动过程。细胞处于静息状态时,细胞内的大部分 Ca<sup>2+</sup> 储藏于内质网中,其浓度在 500 μmol/L 左右,而胞质内的 Ca<sup>2+</sup> 浓度在 20~100 nmol/L 范围之内。当细胞受到刺激需要执行生理功能时, Ca<sup>2+</sup> 可通过三磷酸肌醇(IP<sub>3</sub>)分子受体(IP<sub>3</sub>R)从内质网中释放,从而使胞质内的 Ca<sup>2+</sup> 浓度迅速提高<sup>[1-3]</sup>。

IP<sub>3</sub>R 是一种位于内质网膜上的钙离子通道,它不仅受 IP<sub>3</sub> 的调控,而且还受到 Ca<sup>2+</sup> 的双相调控。实验表明,活跃的 IP<sub>3</sub>R 在内质网膜上往往呈集团化非均匀分布,每个集团内约有几个到几十个 IP<sub>3</sub>R。因此 Ca<sup>2+</sup> 信号呈现时间和空间的多尺度行为,包括:单个钙通道所释放的单位钙信号(blip),集团化的钙通道所释放的局域钙信号(puff),单个细胞内扩散的胞内钙波以及细胞间所传播的胞间钙波<sup>[4-5]</sup>。

Parker 实验室于 2009 年利用全内反射荧光显微技术,指出局域钙 puff 信号能够量化分解成单位钙 blip 信号的线性叠加<sup>[6]</sup>,随后在 2012 年他们观察到在每个集团内,一般仅有 4 到 6 个活跃的通道<sup>[7]</sup>,从而导致 IP<sub>3</sub>R 通道具有很强的随机开关动力学。笔者推测,由于受 IP<sub>3</sub> 和 Ca<sup>2+</sup> 随机结合/解离的影响,

某一集团内第一个开放的 IP<sub>3</sub>R,即可能关闭而仅产生 blip,又可能诱导此集团内的其他 IP<sub>3</sub>R 打开而产生 puff。因此,在 blip 和 puff 的产生之间存在着竞争机制。在本文中,笔者利用双 Ca<sup>2+</sup> 浓度模型<sup>[8]</sup>阐释了一个集团内 Ca<sup>2+</sup> 释放的动力学特征,重点比较了单 IP<sub>3</sub>R 通道集团和多 IP<sub>3</sub>R 通道集团所产生的 blip 的动力学差异,此外笔者还系统地研究了集团的大小和 IP<sub>3</sub> 浓度对 blip 释放动力学的影响。

## 1 模型

笔者构建的模型(具体参数见表 1)由一个简单的 Ca<sup>2+</sup> 动力学微分方程和一个详细的马尔科夫动力学模拟组成,IP<sub>3</sub> 和 Ca<sup>2+</sup> 与 IP<sub>3</sub>R 通道的结合/解离过程由马尔科夫动力学所决定。笔者利用修饰的 DeYoung-Keizer 模型<sup>[9]</sup>来讨论 IP<sub>3</sub>R 通道的开关动力学,详述如下:每个 IP<sub>3</sub>R 通道由 4 个相同的独立亚基构成,每个亚基又包括 3 个位点,即 1 个 IP<sub>3</sub> 结合位点,1 个激活 Ca<sup>2+</sup> 结合位点和 1 个抑制 Ca<sup>2+</sup> 结合位点,每个位点均可被占据或空闲。因此每个亚基有 8 种状态,并且由结合速率  $a_i$  和解离速率  $b_i$  所控制(图 1)。1 个亚基当且仅当其 IP<sub>3</sub> 位点与激活 Ca<sup>2+</sup> 位点被占据而抑制 Ca<sup>2+</sup> 位点空着时(110 态)才处于激活态,当 1 个通道中至少有 3 个亚基处于激活态时

收稿日期: 2013-03-13

基金项目: 高等学校博士科学点专项科研基金资助项目(20090121110028); 国家杰出青年科学基金资助项目(11125419)

作者简介: 祁宏(1984—),男,博士研究生,主要研究方向:钙信号动力学

通信联系人: 帅建伟,教授,主要研究方向:钙信号及神经元动力学, jianweishuai@xmu.edu.cn

IP<sub>3</sub>R 通道便处于开放状态。

表 1 本模型所使用的参数及其取值

Table 1 Parameter values used in the model

参数	符号	值	单位
IP <sub>3</sub> 结合	a <sub>1</sub>	1 000	(μmol/L s) <sup>-1</sup>
	a <sub>3</sub>	500	(μmol/L s) <sup>-1</sup>
	b <sub>1</sub>	5	s <sup>-1</sup>
	b <sub>3</sub>	100	s <sup>-1</sup>
激活 Ca <sup>2+</sup>	a <sub>5</sub>	100	(μmol/L s) <sup>-1</sup>
	b <sub>5</sub>	20	s <sup>-1</sup>
抑制 Ca <sup>2+</sup>	a <sub>2</sub>	0.1	(μmol/L s) <sup>-1</sup>
	a <sub>4</sub>	0.1	(μmol/L s) <sup>-1</sup>
	b <sub>2</sub>	5	s <sup>-1</sup>
	b <sub>4</sub>	0.125	s <sup>-1</sup>
静息 [Ca <sup>2+</sup> ]	c <sub>0</sub>	0.02	μmol/L
耦合强度	c <sub>1</sub>	0.3	μmol/L
衰减率	r	1 000	s <sup>-1</sup>

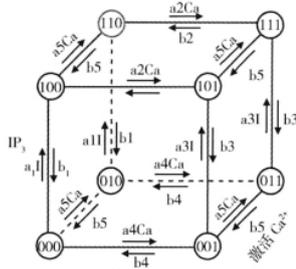


图 1 IP<sub>3</sub>R 通道单个亚基的结构模型

Fig. 1 IP<sub>3</sub>R subunit structure

亚基状态由数字组合 *ijk* 表示,其中 *i* 表示 IP<sub>3</sub> 位点的结合状态, *j* 表示激活 Ca<sup>2+</sup> 位点的结合状态, *k* 表示抑制 Ca<sup>2+</sup> 位点的结合状态;1 代表结合态,0 代表解离态

由于打开的 IP<sub>3</sub>R 通道周围 Ca<sup>2+</sup> 浓度的分布十分陡峭<sup>[5]</sup>,所以模型采用不同的 Ca<sup>2+</sup> 浓度分别作用于开和关的通道。对于开通道,它将直接暴露在自己释放的很高的 Ca<sup>2+</sup> 浓度微域下,因此 c<sub>s</sub> = 120 μmol/L 被用于此种情况的通道自抑制浓度。而对于闭通道,它周围的 Ca<sup>2+</sup> 浓度,是由同一集团内已经开放的通道所释放出的 Ca<sup>2+</sup> 扩散至其通道口形成的浓度 c<sub>d</sub>,所决定。当一个 IP<sub>3</sub>R 通道由关态变为开态时,它附近的 Ca<sup>2+</sup> 浓度将会被 c<sub>s</sub> 迅速替代,但当通道由开态向关态转变时,它附近 Ca<sup>2+</sup> 浓度的变化将受到 Ca<sup>2+</sup> 自身扩散和 Ca<sup>2+</sup> 缓冲蛋白结合/解离的影响;所以,采用方程(1)考虑 Ca<sup>2+</sup> 浓度倒塌动力学(collapsing dynamics)<sup>[10]</sup>

$$\frac{\partial c}{\partial t} = r(c_d - c) = r(c_0 + nc_1 - c). \quad (1)$$

式中, *r* 表示受缓冲蛋白影响 Ca<sup>2+</sup> 浓度的衰减率, c<sub>0</sub> 为静息 Ca<sup>2+</sup> 浓度, *n* 为某一拥有 *N* 个 IP<sub>3</sub>R 通道的集团中开通道的数目 (*n* ≤ *N*), c<sub>1</sub> 代表由于 Ca<sup>2+</sup> 扩散导致的临近通道之间的空间耦合强度, *c* 可以被认为是

整个集团的平均 Ca<sup>2+</sup> 浓度,本文称之为“集团域钙浓度”并以此记录计算结果。

## 2 结果与讨论

### 2.1 局域钙 blip 和 puff

实验上人们利用全内反射荧光显微技术,在人类成神经细胞瘤 SH-SY5Y 细胞中可以观察到高分辨率的单通道水平 Ca<sup>2+</sup> 的释放。小的矩形信号(blip)和相对较大的有着不同振幅的信号(puff)均已被观测到。对于载有 Ca<sup>2+</sup> 缓冲蛋白(如 EGTA)的细胞,puff 显示出在不同荧光水平间步进式的转变(参见文献[6]中的图 2C),这样的行为主要是由于步进式的募集集团内不同数目的 IP<sub>3</sub>R 通道参与钙信号事件所造成的。

在数值模拟中,不仅可以得到集团域钙浓度随时间变化的轨迹,而且可以同时看到其所相应的开放通道数随时间变化的轨迹。图 2 显示的是在 *N* = 8 和 [IP<sub>3</sub>] = 0.2 μmol/L 条件下集团域钙浓度 *c* 和开放通道数 *n* 的轨迹。在模拟中,通过计算 1 次释放事件中开通道的最大数量,很容易分辨出只有 1 个开通道的 blip 和有多个开通道的 puff。如图 2 所示,blip 和 puff 均能被发现。在局部放大图中可以看到,puff A 包含 2 个先打开的通道和 6 个后打开的通道,这样的行为类似于先前实验中发现的“trigger puff”<sup>[11]</sup>,即小的 Ca<sup>2+</sup> 浓度瞬时上升事件之后便是 puff 主体。当有 1 个 puff 释放时,通道的随机开关也可以产生多个峰(图 2 puff B),类似的现象在 SH-SY5Y 细胞中已被发现<sup>[6]</sup>。

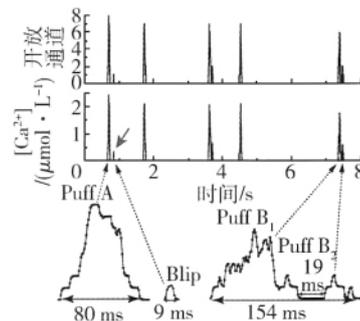


图 2 开放通道的数目及其相应的 Ca<sup>2+</sup> 浓度的轨道图

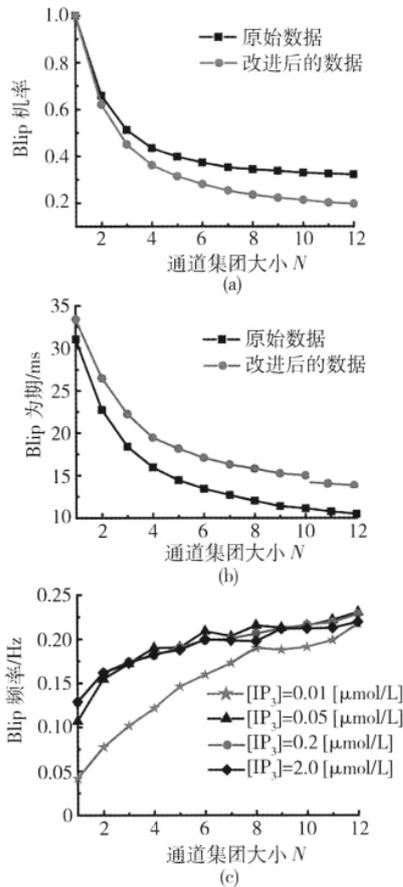
Fig. 2 Trajectories of open channel number and the corresponding cluster domain [Ca<sup>2+</sup>]

### 2.2 IP<sub>3</sub>R 通道集团大小对 blip 的影响

实验上测得人类成神经细胞瘤 SH-SY5Y 细胞中 blip 事件在所有局域钙释放事件中发生的概率在 13% 左右,而且 blip 的持续时间满足指数分布(时间常数为 17 ms)<sup>[6]</sup>。

图 3(a)显示的是在不同大小的 IP<sub>3</sub>R 通道集团中 blip 事件占有所有释放事件的比例。本模型最初预

测的 blip 出现的概率很高(图 3(a)中正方形),即使在  $N=12$  的集团内,blip 事件仍占 30%。图 3(b)中正方形表示由原始数据计算得出的 blip 平均持续时间,其中在  $N=12$  时,blip 平均持续时间为 11 ms,比观测到的 17 ms 短<sup>[6]</sup>。



在  $IP_3$  浓度为  $0.2 \mu\text{mol/L}$  的情况下,(a) 在所有释放事件中 blip 发生的概率和 (b) 平均 blip 持续时间随  $IP_3R$  通道集团大小  $N$  的变化。用原始数据和基于实验结果处理后的数据得出的结果分别用正方形和圆形表示。(c) 平均 blip 频率随  $IP_3R$  通道集团大小  $N$  的变化,  $IP_3$  浓度为  $0.01$  (星形)、 $0.05$  (三角形)、 $0.2$  (圆形) 和  $2 \mu\text{mol/L}$  (菱形)

图 3 Blip 随通道集团大小的动力学

Fig. 3 Dynamics of blip against cluster size

但需要注意的是,在实验中观测一个清晰的 blip 至少需要 2 到 3 个记录点,且每个点的时间精度为  $2.4 \text{ms}$ <sup>[6]</sup>。考虑到实验精度的影响,笔者在模拟中去掉了持续时间小于  $6 \text{ms}$  的 blip。而且如果两个相邻的钙释放事件靠得太近,即发生时间间隔小于  $20 \text{ms}$ ,它们将被看作一个事件。如图 2 中所示,释放事件 puff  $B_1$  和 puff  $B_2$  只相差  $19 \text{ms}$ ,因此它们将被合并成一个事件 puff  $B$ 。

在进行上述两点处理之后,笔者重新计算了 blip 的出现概率和持续时间(图 3(a)和 3(b)中的圆圈)。如图 3(a)所示,blip 概率随  $N$  的增大而递减,且在  $N \geq 8$  时,blip 概率值在 20% 左右。同时,如图 3(b)所示,在  $N \geq 8$  时,blip 的持续时间在  $15 \text{ms}$  左右。这

两个指标均接近实验值。因此下面对 blip 和 puff 讨论,都将使用处理后的数据。

笔者还讨论了  $IP_3R$  通道集团大小对 blip 释放频率的影响。如图 3(c)所示,对于不同的  $IP_3$  浓度,忽略了所有 puff 释放事件之后,根据 blip 之间的平均时间间隔,预测出 blip 频率随集团大小  $N$  的增大仅发生小幅度的提升。

### 2.3 $IP_3$ 浓度对 blip 的影响

实验上可通过改变紫外线闪烁持续时间释放不同量的  $IP_3$ ,来研究不同的  $IP_3$  浓度对局域  $Ca^{2+}$  释放动力学的调控<sup>[12-13]</sup>。但是,由于测量细胞溶质内  $IP_3$  浓度存在一定的困难,使得  $IP_3$  浓度对局域  $Ca^{2+}$  释放影响的系统研究很难开展。这里,笔者用模型详细地讨论 blip 动力学如何随  $IP_3$  浓度而变化。

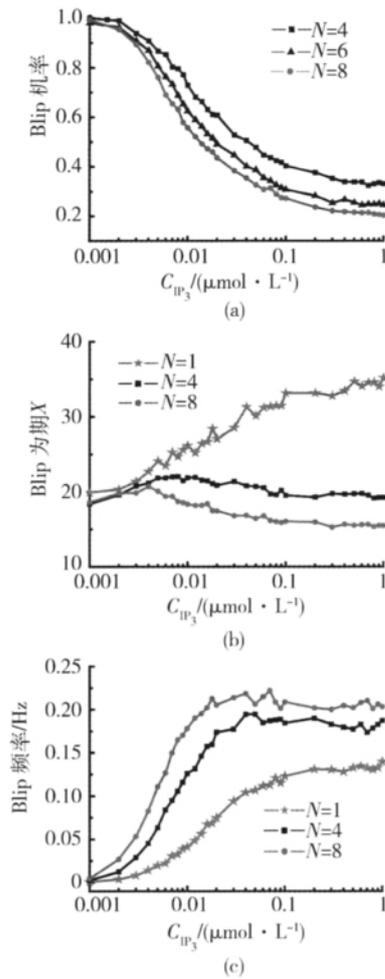
图 4(a)显示的是在不同的  $IP_3R$  通道集团大小的情况下,blip 发生的概率与  $IP_3$  浓度的关系。 $N=1$  时,所有的释放事件都是 blip。对于  $N>1$ ,模型指出随着  $IP_3$  浓度的增高,在所有释放事件中找到 blip 的概率下降。这是因为随着  $IP_3$  结合的增多,blip 更容易激发 puff 的产生,使得 blip 在总事件中的比例下降。

图 4(b)是 blip 的平均持续时间和  $IP_3$  浓度的关系。在  $N=1$  时,blip 的持续时间随  $IP_3$  浓度单调上升。对于  $N>3$ ,blip 的平均持续时间一开始随  $IP_3$  浓度上升,然而在  $IP_3$  浓度大于  $0.004 \mu\text{mol/L}$  后有略微的下降。

虽然  $IP_3R$  通道中每一个亚基的平均活性时间,即它处于 110 态的平均时间与  $IP_3$  浓度无关,但是通道的 blip 持续时间却依赖于  $IP_3$  浓度。因为开通道状态的定义是 4 个亚基中至少有 3 个亚基处于激活态,这就造成影响通道开关的因素比较复杂。对于单  $IP_3R$  通道来说,当  $IP_3$  浓度很小时,通道的关闭受  $IP_3$  未结合和抑制  $Ca^{2+}$  双重因素的影响。随着  $IP_3$  浓度的上升, $IP_3$  未结合这一因素被去除,只剩下抑制  $Ca^{2+}$  的作用。因此,在较高的  $IP_3$  浓度下,blip 持续时间会变长。但是对于由几个  $IP_3R$  通道组成的集团来说,较高的  $IP_3$  浓度不仅会使第一个开的通道开的持续时间变长,而且也会导致 puff 的产生。所以笔者的模拟得出,在  $IP_3$  浓度大于  $0.004 \mu\text{mol/L}$  后,第一个开的通道激发其他通道打开的能力变强,同时 blip 的持续时间下降。

图 4(c)是 blip 频率和  $IP_3$  浓度的关系图。在  $N=1$  时,blip 频率随着  $IP_3$  浓度单调递增,并在大的  $IP_3$  浓度时达到饱和。当  $N>3$  时,blip 频率随  $IP_3$  浓度的增大呈现微弱的单峰模式。在  $IP_3$  浓度小于  $0.03 \mu\text{mol/L}$  的情况下, $IP_3$  的量不足以与每一个  $IP_3R$  通道结合,所以只有少数通道能与  $IP_3$  结合,使得它们能够打开。因此,在  $IP_3$  浓度小的区域, $IP_3$  浓度的增大将导致 blip 事件和 puff 事件更频繁地发生。但当  $IP_3$  浓度大于  $0.03 \mu\text{mol/L}$  后,许多通道都有机

会与 IP<sub>3</sub> 结合。因此,当 IP<sub>3</sub> 浓度较大时,第一个开的 IP<sub>3</sub>R 通道更容易激发 puff 事件,使 puff 事件更频繁地发生,同时 blip 频率随 IP<sub>3</sub> 浓度的增加而减小。



(a)在所有释放事件中 blip 发生的概率;(b)平均 blip 持续时间;  
(c)平均 blip 频率随 IP<sub>3</sub> 浓度的变化,IP<sub>3</sub>R 通道  
数目  $N=1$  (星形), 4 (正方形), 6 (三角形) 和 8 (圆形)

图 4 Blip 随 IP<sub>3</sub> 浓度的动力学

Fig. 4 Dynamics of blip against [IP<sub>3</sub>]

### 3 结 论

在量化实验研究局域钙信号 (blip 和 puff) 的基础上,发展了一种混合模型来研究由集团化的 IP<sub>3</sub>R 通道所引发的 blip 动力学。在该模型中,IP<sub>3</sub>R 通道的门控动力学由随机且离散的马尔科夫链描述, Ca<sup>2+</sup> 浓度的时空动力学则由决定性的微分方程所控制。该模型的主要理论基础为:在已开放的 IP<sub>3</sub>R 通道口采用一个很高的 Ca<sup>2+</sup> 浓度来考虑通道的自抑制动力学,而采用一个小且平均的 Ca<sup>2+</sup> 浓度来考虑关

闭的 IP<sub>3</sub>R 通道的激活动力学。模拟结果证明,由于受 IP<sub>3</sub> 浓度和 Ca<sup>2+</sup> 浓度以及 IP<sub>3</sub>R 通道集团大小的复杂影响,某一集团内第一个开放的 IP<sub>3</sub>R 通道,即可能关闭而仅产生 blip,又可能诱导此集团内其他的 IP<sub>3</sub>R 通道打开而产生 puff。这一 blip 和 puff 的产生之间存在的竞争机制决定了 blip 的动力学呈现出复杂的模式。

(由于印刷关系,查阅本文彩色图片,请浏览 <http://journal.paper.edu.cn>)

### [参考文献] (References)

- [1] Berridge M J, Bootman M D, Lipp P. Calcium—a life and death signal [J]. *Nature*, 1998, 395 (6703): 645-648.
- [2] Berridge M J, Lipp P, Bootman M D. The versatility and universality of calcium signaling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2000, 1(1): 11-21.
- [3] Berridge M J, Bootman M D, Roderick H L. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodeling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003, 4(7): 517-529.
- [4] Bootman M D, Berridge M J, Lipp P. Cooking with calcium: the recipes for composing global signals from elementary events [J]. *Cell*, 1997, 91(3): 367-373.
- [5] Foskett J K, White C, Cheung K H, et al. Inositol triphosphate receptor Ca<sup>2+</sup> release channels [J]. *Physiol Rev*, 2007, 87(2): 593-658.
- [6] Smith I F, Parker I. Imaging the quantal substructure of single IP<sub>3</sub>R channel activity during Ca<sup>2+</sup> puffs in intact mammalian cells [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2009, 106(15): 6404-6409.
- [7] Dickinson G D, Swaminathan D, Parker I. The probability of triggering calcium puffs is linearly related to the number of inositol triphosphate receptors in a cluster [J]. *Biophys J*, 2012, 102(8): 1826-1836.
- [8] Rüdiger S, Shuai J W, Sokolov I. Law of mass action, detailed balance, and the modeling of calcium puffs [J]. *Phys Rev Lett*, 2010, 105(4): article No. 048103.
- [9] De Young G W, Keizer J. A single-pool inositol 1, 4, 5-trisphosphate-receptor-based model for agonist-stimulated oscillations in Ca<sup>2+</sup> concentration [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 9895-9899.
- [10] Rüdiger S, Jung P, Shuai J W. Termination of Ca<sup>2+</sup> release for clustered IP<sub>3</sub>R channels [J]. *PLoS Comput Biol*, 2012, 8(5): article No. e1002485.
- [11] Rose H J, Dargan S, Shuai J W, et al. ‘Trigger’ events precede calcium puffs in *Xenopus* oocytes [J]. *Biophys J*, 2006, 91(11): 4024-4032.
- [12] Smith I F, Wiltgen S M, Parker I. Localization of puff sites adjacent to the plasma membrane: functional and spatial characterization of Ca<sup>2+</sup> signaling in SH-SY5Y cells utilizing membrane-permeant caged IP<sub>3</sub> [J]. *Cell Calcium*, 2009, 45(1): 65-76.
- [13] Parker I, Smith I F. Recording single-channel activity of inositol triphosphate receptors in intact cells with a microscope, not a patch clamp [J]. *J Gen Physiol*, 2010, 136(2): 119-127.