

文章编号:1004-7220(2009)02-0079-06

· 专家论坛 ·

细胞-分子生物力学研究进展

吕守芹, 杨帆, 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 100190)

摘要: 摘要 细胞-分子生物力学作为生物力学的重要分支,近三十年来在力学-生物学、力学-化学耦合等方面取得了重大进展,已成为生物力学乃至生物医学工程领域最活跃的领域,并对生物学、医学乃至农业产生了重要影响。本文介绍了细胞-分子生物力学研究领域的基本概念、科学问题和研究方法,并讨论了尚待解决的问题。

关键词: 细胞分子生物力学; 力学-生物学耦合; 力学-化学耦合

中图分类号: R318.01 文献标志码: A

Advances in study on cellular and molecular biomechanics

LÜ Shou-qin, YANG Fan, LONG Mian. (*National Microgravity Laboratory and Center for Biomechanics and Bioengineering, Institute of Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China*)

Abstract: Cellular and molecular biomechanics is one of the major branches in biomechanics, and the study on mechanobiological and/or mechanochemical coupling has made great progresses in the past three decades. As the most active field in biomechanics and biomedical engineering, cellular and molecular biomechanics has made great impacts on biology, medicine and even on agriculture. The conceptual framework, relative scientific issues and methodological approaches in this field were reviewed here and some of the open issues were discussed.

Key words: Cellular and molecular biomechanics; Mechanobiological coupling; Mechanochemical coupling

细胞作为生命体的基本单元,始终处在各种不同的力学环境中。细胞结构和物理特性对力学刺激响应规律是细胞发挥其生物学功能的重要方面,其相应机理研究是理解细胞生物学功能的基本问题。存在于细胞表面及细胞内外的生物大分子是完成细胞生物化学作用的物质基础,其相互作用与组装动力学及作用力调控规律是执行其生物学功能的前提。因此,外力如何作用于细胞以及细胞如何感应外力刺激并调控其生物学行为、分子结构如何决定其功能以及分子间相互作用怎样调控细胞粘附与聚集等动力学行为构成了细胞-分子生物力学领域关注的主要问题。

1 细胞生物力学

细胞层面力学-生物学耦合规律是细胞生物力学研究的核心。主要包括在不同力学环境下细胞发育、生长、增殖、分化、凋亡以及黏附和聚集,细胞对作用力的感受、响应及其与周围环境(细胞、基质和界面等)的相互作用,细胞的主动运动、力学行为与其生物学关联,细胞生物学图式的形成等生物学过程规律。本文着重介绍在单细胞力学性质、力学环境对细胞生物学功能的影响、细胞黏附与聚集动力学和力学信号转导等方面的工作。

收稿日期:2009-02-20

作者简介:吕守芹(1972-),女,副研究员,研究方向:分子生物力学。

通讯作者:龙勉,研究员,博士生导师,中国科学院力学研究所国家微重力实验室主任,生物力学与生物工程中心主任。

Tel: (010)82544131; E-mail: mlong@imech. ac. cn。

1.1 单细胞力学性质

早期细胞生物力学研究主要集中在回答外力如何作用于细胞的问题。为此,首先需要了解细胞的力学性质。作为人体内最常见、也最容易获得的细胞,红细胞的力学性质研究得最早,相对而言也最清楚。红细胞的典型特征是没有细胞核,且变形能力强。早期的研究者发现了红细胞在流体剪切作用下的聚集和变形现象,进而对个体细胞的变形性进行深入观察。从最初确定细胞形状、几何尺寸,到对细胞膜力学性质的测量,最终建立了细胞膜的本构方程,并提出膜的构造模型^[1]。

到上世纪80和90年代,白细胞的力学模型成为研究热点。作为一种有核细胞,白细胞的力学性质远比红细胞复杂,因此需要采取多种实验手段开展研究。除了常见的微管吸吮技术外,原子力显微、磁珠扭转、光镊操控等技术也成为主要的研究手段,并被广泛应用于其他类型的有核细胞^[2]。其基本思路是通过观察施加外力后细胞的形变,结合相应物理模型来评估其力学性质。同时,研究者相继提出了标准固体黏弹性模型、黏弹性液滴模型和外弹性膜-内黏性流体的修正模型等,用于描述其力学行为^[2]。上述研究的基本思想是基于连续介质力学的假设,即将细胞看作一种连续性材料;其前提是介质中“不连续”的结构尺度远小于研究对象的尺度,以至于“不连续”结构的力学行为对研究对象的整体力学性质不会产生重要影响。但是,细胞具有复杂的内部和表面细胞结构,胞内众多“离散”的亚细胞组元结构的力学行为甚至可能完全不同,从而对整个细胞的力学性质产生不同影响和贡献。显然,连续介质假设具有一定的局限性。

上世纪90年代以来,研究者开始思考细胞(细)微观结构对细胞整体力学行为的贡献,并建立细胞力学性质的离散模型或结构模型。最早是将建筑上的张力整合(Tensegrity)思想引入到细胞模型的构建中^[3,4]。张力整合结构是通过众多的张力和压力元件提供一种空间稳定形式,其关键性质是在外力施加前需要有某些元件产生张力以抵抗形状畸变。同时还有一些类似的力学模型被提出,包括强调肌动蛋白网络(F-actin)对细胞形状和变形贡献的多孔固体(Porous Solid)模型^[5]和偏重于生物聚合物网络的半柔性材料属性的微丝动力学(Filament

Dynamics)模型^[6]。离散模型的共同点在于假设细胞骨架是离散结构单元组装而成的多孔网络。不同的细胞模型均能描述某些特定的细胞行为。相对于连续体模型着重描述细胞的变形能力,离散结构模型则从微观角度出发,更强调结构与功能之间的关系。

1.2 力学环境对细胞生物学功能的影响

细胞所处的微环境均有作用力存在,比如:血流对血管内皮细胞、气流对外耳毛细胞和胞外基质对细胞等的作用,以及细胞间相互作用。细胞所处的力学环境对其生长、增殖、分化和凋亡等生命活动有重要影响。已有研究对象包括与骨重建相关的骨细胞,与心脑血管疾病相关的血细胞和血管内皮细胞等等。近年来,力学信号对具有高度分化潜能的干细胞的调控开始引起研究者的兴趣^[7]。

骨细胞的适应机制直接依赖其所处的应力环境。研究者对骨细胞施加不同的外力(静水压、基底拉伸或弯曲和流体剪切及其组合等),发现细胞对流体剪切更敏感,甚于静水压。力学信号的转导是影响骨细胞响应流体剪切应力作用的关键途径之一,需要细胞骨架和整合素等力学感受蛋白的参与。骨在承载或不承载的情况下,与组织细胞分化有关的细胞因子依赖于其所处的应力环境,可决定细胞的分化水平与方向。

处于循环中的血细胞更是无时无刻不受到血流剪切作用的影响。剪应力会影响血小板的聚集和活化;能调节血小板和宿主细胞的反应动力学,以及受体特异性;甚至在病理条件下会诱导血小板程序性死亡。在体测得的白细胞质膜力学性质不同于离体测量的结果,因为后者忽略了流体剪切的影响;流体的作用除了影响白细胞变形和刚度,还影响伪足生成和粘附,从而影响白细胞在炎症反应中的生理行为^[8]。红细胞在高强的流体作用下会使其变形性明显损害,致使血液粘度增高和微循环障碍。此外,流体作用引起的红细胞膜张力变化会影响阳离子的通透性,进而改变红细胞的正常代谢。

血管内皮细胞的生理活动也受流体剪切的影响。流体剪切应力及其梯度可以调节血管内皮细胞的形状和骨架网络取向;血管中的湍流使血管内皮细胞形态和功能发生改变,可能诱导动脉粥样硬化。离体培养的内皮细胞在流体剪切力作用下持续地产生

生一氧化氮,引起血管舒张。血液剪切力还可诱导血管平滑肌细胞表达血红素加氧酶;后者是血红素分解代谢过程中的限速酶,其产物具有抗氧化损伤和血管调节等作用。内皮细胞外被的多糖-蛋白质复合物中的粘多糖(Glycosaminoglycan)是力感受器^[9]。

干细胞属于未分化的多潜能细胞,具有自我更新、高度增殖和多向分化能力^[10]。研究表明,不仅生长因子、细胞因子等化学刺激可调控干细胞分化、增殖和凋亡,力学信号同样直接或间接地调节干细胞分化。在三维培养条件下,单独对细胞施加张应变可以有效诱导骨髓间充质干细胞向韧带样细胞分化^[11],预示力学刺激作为诱导干细胞分化的独立因素。在化学诱导刺激作用下的骨髓间充质干细胞可在不同硬度的基底上分化成骨细胞、脂肪细胞等不同功能的细胞^[12],表明力学-化学耦合因素调控分化的方向和能力。

1.3 细胞黏附与聚集动力学

细胞间黏附和聚集是细胞发挥生物学功能的另一重要形式,比如炎症反应中白细胞可在血流作用下“着边”,沿血管内皮细胞滚动、稳定黏附,最后跨膜到达炎症发生部位;肿瘤转移过程中白细胞、肿瘤细胞和血管内皮细胞可形成三体黏附;血流下不同或同种血细胞间处于不断的聚集与解聚的动力学过程之中^[13-16]。显然,细胞间黏附和聚集受到力学微环境的调控,是细胞生物力学研究的另一重要内容。采用平行流室技术可模拟血流剪切作用、考察剪切应力、细胞力学特性对细胞黏附和聚集行为的影响等,如白细胞在血管内皮细胞上滚动的“剪切阈值”现象^[17]。表达于细胞表面的黏附分子间的相互作用是调控细胞间黏附和聚集动力学的关键因素。

1.4 力学信号的转导

力学信号可通过传递(transmission)和转导(transduction)两种模式调控细胞与周围环境的相互作用及其生物学行为。前者主要基于胞内骨架系统,可将外力信号传递到远端^[18];后者则可将力学信号转化为化学信号,调控细胞的应答和响应。近年来,细胞力学信号转导成为细胞生物力学研究的又一热点。力学信号从胞外到胞内的转导可基于力敏感离子通道^[19]或基于胞外基质-整合素复合物^[20]。力敏感离子通道包括牵拉活化或失活的离

子通道和切应力敏感的离子通道等;前者存在于血管内皮细胞、心肌细胞及内耳毛细胞等多种细胞的细胞膜,后者仅发现于内皮细胞和心肌细胞。整合素是一类参与力学信号转导的关键细胞表面黏附分子。在力学刺激下,整合素通过与胞外基质蛋白配体结合调整其构象,形成高亲和新的激活态,促进其胞质区与肌动蛋白细胞骨架的连接,以及张力纤维和粘附斑的形成,从而触发细胞内相关的信号传导途径,并最终调控细胞的生理功能^[21]。一个重要进展是关于流动剪切信号在血管内皮细胞中转导途径的研究对深化认识血管内皮细胞功能以及动脉粥样硬化成因做出了重要贡献^[22]。

2 分子生物力学

显而易见,力学刺激下细胞的运动与变形,细胞间的黏附和聚集,细胞内外力学信号的传导均需要生物大分子参与。细胞层次的力学-生物学耦合与分子层次的力学-化学耦合密切相关。因此,一方面对细胞生物力学行为的分子调控机理探索带动了分子生物力学的发展,另一方面大量蛋白质结构的解析也对其结构-功能关系的研究提出了新的需求。分子层面力学-化学耦合规律是分子生物力学的核心。主要包括生物大分子力学行为及其与生物化学过程的关联和耦合,生物大分子折叠、构象变化以及力学-化学信号转导,不同力学环境下生物大分子间特异性相互作用的定量测定和物理描述,生物大分子结合与解离的反应动力学规律,分子马达/分子灯塔的调控规律等。本文着重介绍单分子力学行为、分子间反应动力学和作用力对分子间相互作用的调控和分子间相互作用的结构基础等方面的工作。

2.1 单分子力学行为

研究单分子力学性质,外力作用下构象改变,以及外力影响分子生物化学性质和生物学功能是单分子生物力学的重要研究内容。DNA弯曲和扭转刚度影响其包裹组蛋白形成染色体的模式、复制过程中的超螺旋结构以及与其他蛋白结合的能力等^[23]。ATP水解将诱导分子马达的构象变化,实现化学能-机械能的转换,从而实现肌肉收缩、细胞运动和细胞分裂等生物学功能^[24]。细胞外基质蛋白在外力作用下可以变形,从而影响其与表面受体的相互作用。

原子力显微、光(磁)镊操控、生物膜力探针等技术可应用于对胞外基质蛋白或DNA超螺旋结构的拉伸、DNA双螺旋结构的解离、分子马达的步进运动等研究,而自由链(Freely-Jointed Chain, FJC)和蠕虫链(Worm-Like Chain, WLC)等模型的进一步发展定量描述外力作用下单分子拉伸和去折叠特征提供了理论工具。不同外力作用下分子变形经历不同过程,如DNA拉伸随外力增加而表现出熵弹性主导、WLC、伸展延长和从B-DNA到S-DNA相变等四个不同区域,与分子相关长度(persistence length)和伸直长度(contour length)密切相关^[25]。单分子力学行为研究深化了分子力学特性与生物学功能关联的认识。

2.2 分子间反应动力学

黏附分子受体与其表面配体间相互作用是介导细胞黏附和聚集的主要方式,比如选择素-配体和整合素-配体复合物介导了白细胞-内皮细胞、白细胞-血小板和白细胞-肿瘤细胞间的黏附。细胞间黏附和聚集行为受到受体-配体相互作用反应动力学(正或负反应率、反应亲和性)调控。为描述表面锚定的受体-配体相互作用的随机性质,研究者发展了新的理论、模型、方法和技术。基于力学-化学本构方程和平行流室技术的研究方法可量化在不同流体剪切下选择素-配体和整合素-配体间的负反应率^[26-28],而基于小系统概率动力学模型和微管吸吮技术的方法不仅可以获得无外力作用下的负反应率,而且还可以量化其反应亲和性(亦即正反应率)^[29,30]。同时,上述方法可应用于认识分子表征(分子取向和长度、载体刚度和粗糙度)影响受体-配体相互作用功能等生物学问题^[31,32]。

2.3 作用力对分子间相互作用的调控

力学环境(血液流动和基底变形等)影响受体-配体相互作用的强弱和快慢。外力调控受体-配体分子键解离的力学-化学耦合理论主要包括以下3个模型:理想键是指外力对键的解离不产生影响^[33],滑移键是指外力可以加速键的解离^[34],而逆锁键正好相反,外力非但不加速解离反而降低解离率^[33]。采用原子力显微、光镊操控、生物膜力探针和平行流室等技术可实现两种加载模式:一是寿命模式,即对分子键施加恒力、测量其寿命;二是断裂力模式,即对分子键施以恒加载率、测量其强度。前

者基于力学-化学耦合理论,而后者则符合分子键动力学力谱理论^[35]。应用上述研究方法,不仅发现了选择素-配体键解离存在逆锁键现象并与白细胞的剪切阈值相关^[36,37],而且揭示了外力下受体-配体键解离受到加载历史^[38]和物理因素(加载率、接触时间和速度、力传感器刚度)^[35,39,40]的调控。

2.4 分子间相互作用的结构基础

分子微观结构分析是阐明分子间相互作用机理(受体-配体相互作用位点、外力下生物大分子构象变化)的基础。分子动力学模拟方法既可深入考察已有实验结果的微观结构机理,还可预测特定氨基酸位点的功能并指导实验,因而在分子生物力学研究中起到越来越重要的作用。力致分子动力学模拟通过人为施加外力加速生物学过程的模拟,使得关心的生物学过程在计算模拟能力许可的时间尺度内得以实现,同时还可实现模拟力学加载调控分子生物学过程的目的,从而为考察外力调控生物大分子微观构象的演化过程提供了模拟平台。目前应用力致分子动力学方法主要集中模拟外力作用下生物大分子去折叠(如Titin蛋白去折叠^[41]等)和外力导致分子复合物解离(如生物素-亲和素^[42]和选择素-配体^[43,44]等)。近年来其应用范围逐渐拓展,如考察通道蛋白中离子或水的通透性^[45]和对分子流体动力学环境开展模拟^[46]等。

3 结束语

细胞与分子层面的力学-生物学和力学-化学耦合是认识生命活动和生物学过程的基本问题。在基础研究层面,众多细胞力学模型(连续性模型、离散性模型)和分子力学理论(小系统概率动力学和分子键动力学力谱)的提出和发展体现了细胞-分子生物力学研究在理论层面的飞速发展。微观吸吮、生物膜力探针、原子力显微、光阱捕获和平行流室等技术已广泛应用于细胞-分子生物力学研究并逐步整合。随着计算机水平的发展、计算能力的提高以及计算算法的改进,分子动力学模拟方法在阐明分子结构-功能关系、预测微观结构机理和指导实验设计等方面发挥了愈加重要的作用。上述研究成果为进一步开展细胞-分子生物力学领域的空间、时间跨尺度整合,力学-化学和力学-生物学耦合等研究奠定了坚实的基础。在应用研究层面,细胞-分子生物力

学的发展具有广阔的应用前景。正常细胞与病理细胞力学特性的差别为疾病诊断拓展了新的思路;力学刺激影响干细胞分化为组织工程和再生医学提供了新的线索;力学信号转导通路的发现使通过干预信号转导达到治疗相关疾病成为了潜在的可能。单分子力学性质及其与微观结构关系为合成新型生物大分子物质开辟了道路;生物大分子相互作用的结构-功能关系研究为药物设计、筛选提供了量化的技术平台。基础与应用的有效结合将会进一步促进细胞-分子生物力学研究的更加迅速发展,为量化认识细胞与分子生物学过程、改善人类健康发挥更加重要的作用。

参考文献:

- [1] 冯元帧. 生物力学[M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [2] Lim CT, Zhou EH, Quek ST. Mechanical models for living cells - a review[J]. J Biomech, 2006, 39(2): 195-216.
- [3] Ingber DE, Madri JA, Jamieson JD. Role of basal lamina in the neoplastic disorganization of tissue architecture [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1981, 78: 3901-3905.
- [4] Ingber DE, Jamieson JD. Cells as tensegrity structures: architectural regulation of histodifferentiation by physical forces transduced over basement membranes. In Gene Expression during Normal and Malignant Differentiation (eds. L.C. Andersson, C.G. Gahmberg and P. Ekblom) [M]. Academic Press, Orlando, FL. 1985.
- [5] Satcher RL, Dewey CF. Theoretical estimates of mechanical properties of the endothelial cell cytoskeleton [J]. Biophys J, 1996, 71: 109-118.
- [6] Mackintosh FC, Kas J, Janmey PA. Elasticity of semiflexible biopolymer networks [J]. Phys Rev Lett, 1995, 75(24): 4425-4428.
- [7] Estes BT, Gimble JM, Guilak F. Mechanical signals as regulators of stem cell fate [J]. Curr Top Dev Biol, 2004, 60: 91-126.
- [8] Moazzam F, Delano FA, Zweifach BW, *et al.* The leukocyte response to fluid stress [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94: 5338-5343.
- [9] Florian JA, Kosky JR, Ainslie K, *et al.* Heparan sulfate proteoglycan is a mechanosensor on endothelial cells [J]. Circ Res, 2003, 93 (10): E136-E142.
- [10] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, *et al.* Multilineage potential of adult human mesenchymal Stem Cells [J]. Science, 1999, 284: 143-147.
- [11] Altman GH, Horan RL, Martin I, *et al.* Cell differentiation by mechanical stress [J]. FASEB J. 2002, 16(2): 270-272.
- [12] Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, *et al.* Matrix elasticity directs stem cell lineage specification [J]. Cell, 2006, 126: 677-689.
- [13] Goldsmith HL, Takamura K, Bell D. Shear-induced collisions between human blood cells [J]. Ann N Y Acad Sci, 1983, 416: 299-318.
- [14] Simon SI, Chambers D, Sklar LA. 1990. Flow cytometric analysis and modeling of cell-cell adhesive interaction: the neutrophil as a model [J]. J Cell Biol, 1990, 111 (6): 2747-2756.
- [15] Long M, Goldsmith HL, Tees DFJ, *et al.* Probabilistic modeling of shear-induced formation and breakage of doublets cross-linked by receptor-ligand bonds [J]. Biophys J, 1999, 76: 1112-1128.
- [16] Liang S, Fu CL, Wagner D, *et al.* Two-dimensional kinetics of β 2-integrin and ICAM-1 bindings between neutrophils and melanoma cells in a shear flow [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2008, 294: C743-C753.
- [17] Finger EB, Puri KD, Alon R, *et al.* Adhesion through L-selectin requires a threshold hydrodynamic shear [J]. Nature, 1996, 379: 266-269.
- [18] Wang N, Butler JP, Ingber DE. Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton [J]. Science, 1993, 260: 1124-1127.
- [19] Martinac B. Mechanosensitive ion channels: molecules of Mechanotransduction [J]. J Cell Sci, 2004, 117: 2449-2460.
- [20] Maniotis AJ, Chen CS, Ingber DE. Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleoplasm that stabilize nuclear structure [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94: 849-854.
- [21] Mitra SK, Hanson DA, Schlaepfer DD. Focal adhesion kinase: in command and control of cell motility [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2005, 6: 56-68.
- [22] Chien S. Mechanotransduction and endothelial cell homeostasis: the wisdom of the cell [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007, 292: H1209-H1224.
- [23] Strick T, Allemand J, Croquette V, *et al.* Twisting and stretching single DNA molecules [J]. Prog Biophys Mol Biol, 2000, 74(1-2): 115-140.
- [24] Vale RD, Milligan RA. The way things move: looking under the hood of molecular motor proteins [J]. Science, 2000, 288: 88-95.
- [25] Charvin G, Allemand J-F, Strick TR, *et al.* Twisting DNA: single molecule studies [J]. Contemp Phys, 2004, 45(5): 383-403.
- [26] Kaplanski G, Farnarier C, Tissot O. Granulocyte endothelium initial adhesion. Analysis of transient binding events

- mediated by E-selectin in a laminar shear flow [J]. *Biophys J*, 1993, 64: 1922-1933.
- [27] Alon R, Hammer DA, Springer TA. Lifetime of the P-selectin: carbohydrate bond and its response to tensile force in hydrodynamic flow [J]. *Nature*, 1995, 374: 539-542.
- [28] Piper JW, Swerlick RA, Zhu C. Determining force dependence of two-dimensional receptor-ligand binding affinity by centrifugation [J]. *Biophys J*, 1998, 74: 492-513.
- [29] Chesla SE, Selvaraj P, Zhu C. Measuring two-dimensional receptor-ligand binding kinetics by micropipette [J]. *Biophys J*, 1998, 75: 1553-1572.
- [30] Long M, Zhao H, Huang K, *et al.* Kinetic Measurements of Cell Surface E-Selectin/Carbohydrate Ligand Interactions [J]. *Ann Biomed Eng*, 2001, 29:935-946.
- [31] Huang J, Chen J, Chesla SE, *et al.* Quantifying the effects of molecular orientation and length on two-dimensional receptor-ligand binding kinetics [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(43): 44915-44923.
- [32] Wu L, Xiao BT, Jia XL, *et al.* Impacts of carrier stiffness and microtopology on 2D kinetics of P-selectin-PSGL-1 interactions [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(13): 9846-9854.
- [33] Dembo M, Tournay DC, Saxman K, *et al.* The reaction-limited kinetics of membrane-to-surface adhesion and detachment [J]. *Proc Royal Soc London*, 1988, 234: 55-83.
- [34] Bell GI. Models for the specific adhesion of cells to cells [J]. *Science*, 1978, 200: 618-627.
- [35] Evans E, Ritchie K. Dynamic strength of molecular adhesion bonds [J]. *Biophys J*, 1997, 74: 1541-1555.
- [36] Marshall BT, Long M, Piper JW, *et al.* Direct observation of catch bonds involving cell-adhesion molecules [J]. *Nature*, 2003, 423: 190-193.
- [37] Yago T, Wu JH, Wey CD, *et al.* Catch bonds govern adhesion through L-selectin at threshold shear [J]. *J Cell Biol*, 2004, 166: 913-923.
- [38] Marshall BT, Sarangapani KK, Lou J, *et al.* Force history dependence of receptor-ligand dissociation [J]. *Biophys J*, 2005, 88: 1458-1466.
- [39] Lü SQ, Ye ZZ, Zhu C, *et al.* Quantifying the effects of contact duration, loading rate, and approach velocity on P-selectin-PSGL-1 interactions using AFM [J]. *Polymer*, 2006, 47: 2539-2547.
- [40] Zhang Y, Sun GY, Lü SQ, *et al.* 2008. Low spring constant regulates p-selectin-psgl-1 bond rupture [J]. *Biophys J*, 2008, 95: 5439-5448.
- [41] Marszalek PE, Lu H, Li H, *et al.* Mechanical unfolding intermediates in titin modules [J]. *Nature*, 1999, 402: 100-103.
- [42] Izrailev S, Stepaniants S, Balsera M, *et al.* Molecular dynamics study of unbinding of the avidin-biotin complex [J]. *Biophys J*, 1997, 72: 1568-1581.
- [43] Lü SQ, Long M. Forced dissociation of selectin-ligand complexes using Steered Molecular Dynamics simulation [J]. *Mol Cell Biomech*, 2005, 2 (4):161-177.
- [44] Lou J, Zhu C, A structure-based sliding-rebinding mechanism for catch bonds [J]. *Biophys J*, 2007, 92: 1471-1485.
- [45] Han BG, Guliaev AB, Walian PJ, Jap BK. Water transport in AQP0 aquaporin: molecular dynamics studies [J]. *J Mol Biol*, 2006, 360: 285-296.
- [46] Chen ZZ, Lou JZ, Zhu C, Schulten K. Flow-induced structural transition in the switch region of Glycoprotein Ib [J]. *Biophys J*, 2008, 95: 1303-1313.