

细胞表面 DNA

黄建东 冷 麟 王贤树

(复旦大学生物系, 上海)

提 要

一些实验表明细胞表面存在 DNA, 并且具有一定的功能。本文介绍了细胞表面 DNA 的研究情况, 并对其可能存在的结构与功能作了推测。

一、细胞表面存在 DNA 的实验证据

Clark (1966), Lindholm 和 Britten (1967) 运用 Feulgen 染色法发现质膜可被染色, 在胸腺细胞表面, 分枝的丝状网格中有核酸。随后他们又用放射自显术证明, 标记的 ^3H -胸苷出现在 Feulgen 阳性颗粒中。Ito 等^[1] 1969 年实验证明, 结合到质膜上的标记物可被 DNase 全部除去。1975 年, Agarwall 等^[2] 用电镜发现铂啶蓝可沉积于核及细胞表面。这些染料可被 DNase 除去。

Solage 和 Loskov, 1976 年做了生化分析^[10]。他们发现小鼠黑瘤细胞的 DNA 总量的 1~2% 存在于细胞质中, 其中一部分在细胞表面, 通常与质膜紧密相联。Reid 和 Charlson (1979)^[8] 证明膜 DNA 接近细胞 DNA 总含量的 0.5%。

有人^[5,6]认为这些现象是核 DNA 在处理过程中造成的假象。于是人们便另辟研究道路。

二、与细胞表面 DNA 结构、功能有关的实验

1976 年, Van Snick 和 Masson^[9] 报道, 人的乳铁蛋白 (Lactoferrin, 简称 LF), 可与小鼠腹膜巨噬细胞结合。1981, 1982 年, Bennett 和 Davis 观察到 LF 也可与有粘着力的单核细胞结合^[2,3]。同时, 他们发现细胞膜 DNA 起

着 LF 结合位点的作用。

1985 年, Sudar 等对小鼠巨噬细胞表面 DNA 的定位与内在化作用进行了研究^[11]。

他们用 NMRI 成年小鼠的腹膜巨噬细胞作材料。又用牛胰 DNase-I 与金溶胶制备了 DNase-金复合物, 其中酶的浓度为 0.1~0.2mg/ml。

然后将细胞与复合物一起在 37°C 保温 5、10、30 和 60 分钟。固定、电镜检验。在对照实验中先将细胞用 5mg/ml 的 DNase 溶液进行处理, 再与复合物一起保温 5、10、30 和 60 分钟, 然后固定、镜检。

他们发现巨噬细胞对复合物有吞噬作用, 并将复合物逐步转运到胞内, 甚至接近了核膜。在对照实验中, 复合物近乎或根本未出现在细胞表面及细胞内的任何部分。

实验过程见图 1。

用高浓度的 DNase 处理, 可能移去了细胞表面的 DNA。Bennett 等 1982 年的观察也支持这一点^[9], 在复合物中的 DNase 可能因为浓度很低, 未能破坏细胞表面 DNA, 反而与金颗粒一起被吞入细胞。并且可能将细胞表面 DNA 也带入胞质内, 接近了核膜。

三、细胞表面可能的结构和分布

细胞表面 DNA 可能与质膜有以下几种关系:

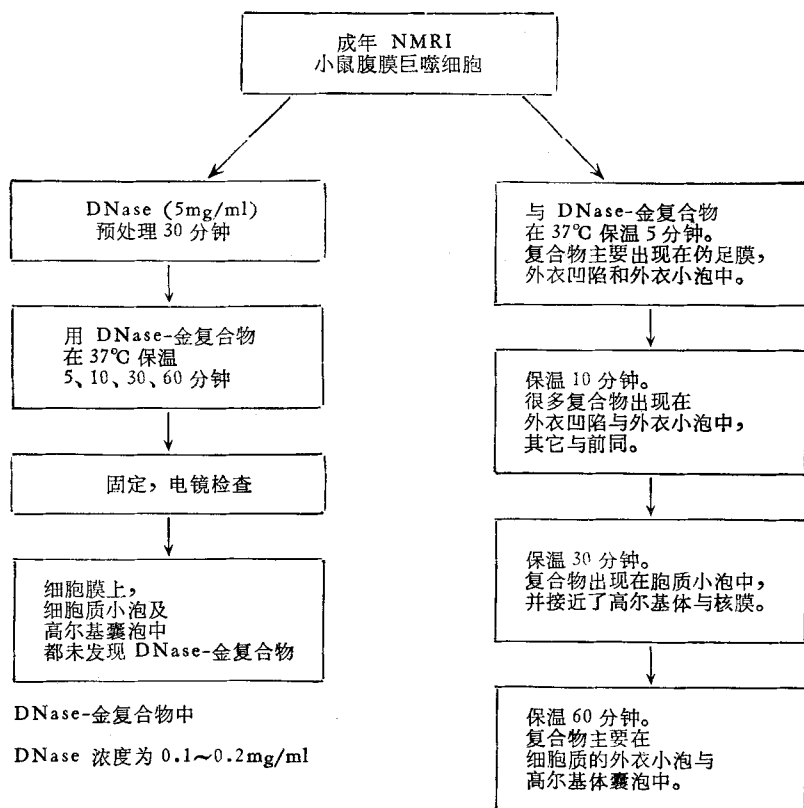


图 1 F. Sudar 实验示意图

(a) DNA 在质膜内部与蛋白质相联,这与核膜下板层蛋白和染色质的相互联接方式相似。

(b) DNA 至少应有一部分暴露在质膜外部,与质膜共价或非共价相连。否则就不易解释 DNase 可移去细胞表面的染料^[1]并影响细胞的吞噬功能^[11]。我们知道 DNase-I 专一性作用于 DNA 分子。难以想象这样大的亲水分子会如此容易地穿过质膜的疏水区域,破坏其内部的 DNA 结构。

(c) DNA 也有可能跨过脂双层,成为镶嵌 DNA。1982 年 Bennett 研究了 LF 与 DNA 的相互作用^[3],他发现 LF 与单、双链 DNA 分子都可结合,但却更倾向与双链 DNA 分子的作用。不妨假设细胞表面 DNA 分子是双链的。根据 Watson 和 Crick 提出的 DNA 双螺旋结构,双螺旋 DNA 是亲水分子,它不易直接穿过脂双层的疏水区。所以在膜中应有蛋白质形成的类似亲水通道样的结构,使双链

DNA 得以通过。这样双链 DNA 便与膜蛋白一起形成了高级结构。

另外, Bennett 对 LF 的研究^[2,3]表明, LF 常以多聚形式存在,所以其受体很可能有多个结合位点。1976 年 Van Snick 和 Masson^[9]描述了 LF 与小鼠腹膜巨噬细胞的结合:每个细胞表面 DNA 分子可结合多个 LF。较为合理的解释是这种 DNA 分子有重复顺序,形成了多个结合位点,即受体簇。

与配位体结合后,细胞表面 DNA 位于外衣凹陷中。1982 年, Bennett 等^[3]用免疫荧光技术发现,细胞表面有特异的球状荧光物质,他们认为这就是 LF 在外衣凹陷中的集合体。而 LF 是以细胞膜 DNA 分子结合后被内吞的。Sudar 等人的研究也有助于说明 DNA 分子与配位体结合后将位于外衣凹陷中^[11]。

四、细胞表面 DNA 的功能

Bennett 等认为细胞表面 DNA 可能是 LF

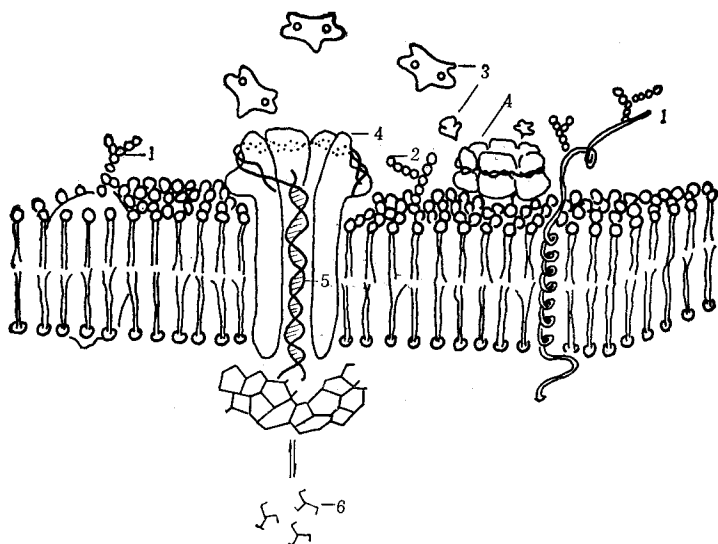


图2 细胞表面 DNA 结构假想图

根据 Bennett 等研究,细胞表面 DNA 起着 LF 结合位点的作用,它主要为双链结构,同时也含许多单链区。由 DNA 与 LF 的作用特点推测它可能有许多重复顺序,与其它蛋白一起形成了受体簇,并常位于膜穴处。

1.糖蛋白 2.糖脂 3.乳铁蛋白分子 4.乳铁蛋白受体簇 5.双链 DNA 分子 6.包涵素三元骨架单元。

的结合位点^[2,3,9],即起着受体的作用。特别是这种受体可结合多分子配位体,成为一个受体簇。Sudar 认为细胞表面 DNA 会被内在化,其作用与多肽激素和低密度脂蛋白(low density lipoprotein, 缩写成 LDL) 的内在化作用相似^[11]。

Reid 和 Charlson 1979 年提出细胞膜上的核酸可能是后来产生的免疫细胞发生二次或长期反应的潜在因素,即所谓的淋巴细胞记忆^[8]。由于细胞表面 DNA 是缺乏保护的,它便可直接与抗原结合,然后被内在化。Briggs 等 1981 年证明了由周围血液中分离出的正常多核白细胞,其活体对给予的 LF 有突出的核定位作用^[4]。这种作用使得信息有可能从细胞膜直接转送到细胞核中^[11]。Sudar 等人的实验虽未证明核对 DNase-金复合物有定位作用,却证明复合物接近了核膜。他们认为这种不同是由于金颗粒的大小造成的^[11]。

五、细胞表面 DNA 的来源

由上所述可知,细胞表面 DNA 不会完全是附着其上的病毒或处理过程中沾染的核 DNA。

否则,细胞表面 DNA 所表现出的功能就不易解释了。

Reid 等认为,细胞表面 DNA 是有一定特异功能的一类^[8]。有证据表明,细胞表面 DNA 与核 DNA 十分相似,所以 Reid 等人认为这些 DNA 可能是由核中转运而来的^[8]。

现在细胞表面 DNA 还是一个藏得很深的谜,这方面的研究是很有意义的,也是很吸引人的。

参 考 文 献

- [1] Agarwal, S. K., et al.: *Proc. Natn. Acad. Sci. U. S. A.*, 72, 928, 1975.
- [2] Bennett, R. M. and Davis, J.: *J. Immunol.*, 127, 1211, 1981.
- [3] Bennett, R. M. and Davis, J.: *J. Lab. Clin. Med.*, 99, 127, 1982.
- [4] Briggs, R. C. et al.: *J. Histochem. Cytochem.*, 29, 1128, 1981.
- [5] Fromson, D. and Nemer, M.: *Science*, 168, 266, 1970.
- [6] Melera, P. W. and Cronin-Sheridan, A. P.: *Biochem. Biophys. Acta*, 432, 300, 1976.
- [7] Ito, S. et al.: *J. Protozool.*, 16, 638, 1969.
- [8] Reid, B. L. and Charlson, A. J.: *Int. Rev. Cytol.*, 60, 27, 1979.
- [9] Snick, van, J. L. and Masson, P. L.: *J. Exp. Med.*,

(下转第34页)

作用。

3. 补硒增强机体的免疫功能, 抵抗克山病及其他病毒(如柯萨奇病毒)的侵入。

此外补硒对心肌细胞增强保护作用^[17]; 补硒和磷脂, 尤其再补足与内源性磷脂代谢相关因素(胆碱及甲硫氨酸), 提高心肌细胞色素氧化酶的活力; 以及补硒抑制多发性灶状凝固性坏死的心肌病变^[18]等, 对克山病和其他心肌病变的病因研究和预防都具有重要意义。

近来研究表明似乎克山病区居民对低硒环境存在代谢上的适应能力。对此还待研究。

(二) 硒与骨节病

1. 与大骨节病

大骨节病也是一种地方病, 用硒预防此病也收到了较好的效果。硒对干骺端病变能防止恶化, 促进修复。补硒能防止软骨萎缩、变性、老化等改变。说明硒在软骨组织细胞发育上很重要^[19]。

现在多数研究者认为, 低硒环境只是大骨节病发病的条件因子, 元素之间比例失调才是根本因素。

另外水中有机物如腐植酸^[20]含量过高对软骨细胞有损害, 可能导致大骨节病发生。硒能抑制其毒性。这是最新的研究。

2. 与关节炎^[3]

血清中巯基缺乏是关节炎的特征。而硒在蛋白质合成中促进二硫键转变为巯基, 这可能是硒防止风湿性关节炎发生的关键所在。这种作用还会因 VE 增加而增强。

硒与许多疾病相关, 已知的有 40 余种, 除上述几类研究较深入而外, 还有白肌病、白内障等。尤其值得注意的是在 tRNA 中发现有硒代尿嘧啶核苷^[3]。因此硒与疾病的关系、用硒防治疾病的临床试验以及基础研究还有大量的工作有待进行。

承蒙蒋丽金先生指教, 谨此谢忱。

参 考 文 献

- [1] 唐任寰等:《北京大学学报》(自然科学版), (1)58, 1985.
 - [2] 刘胜杰等:《卫生研究》, 15(1), 27, 1986.
 - [3] Frost, D. V. et al: *Annu. Rev. Pharmacol.*, 15, 259, 1975.
 - [4] Frieden, E.: *Biochemistry of Selenium*, Plenum Press, N. Y., London, 1983.
 - [5] 《第三届国际专题讨论会——硒在生物学上的作用论文摘要集》, 北京, 1984.
 - [6] 刘元方等:《生物化学动态》, (1), 9, 1985.
 - [7] Bielstein, M. A. et al: *J. Inorg. Biochem.*, 15, 339, 1981.
 - [8] Bielstein, M. A. et al: *J. Nutr.*, 113, 2138, 1983.
 - [9] Naganuma, A. et al: *Toxicology*, 29, 77, 1983.
 - [10] 李荫葵:《北京大学学报》(自然科学版), (4), 47, 1986.
 - [11] 唐任寰等:《营养学报》, 8(3), 224, 1986.
 - [12] 杨福愉等:《中国科学 B 辑》, (4), 396, 1986.
 - [13] 沃维汉等:同上, (4), 401, 1986.
 - [14] 于树玉等:《中华肿瘤杂志》, 7(5), 372, 1985.
 - [15] 罗慧玲等:《癌症》, 5(4), 341, 1986.
 - [16] 胡国刚等:《中华肿瘤杂志》, 7(1), 22, 1985.
 - [17] 刘广林等:《中华心血管病杂志》, 14(4), 250, 1986.
 - [18] 南柏松等:《第四军医大学学报》, 6(4), 281, 1985.
 - [19] 任宏造等:《中华病理学杂志》, 14(2), 141, 1985.
 - [20] 彭安等:《中国科学 B 辑》, (6), 635, 1986.
- [本文于 1986 年 10 月 16 日收到]
-
- (上接第 25 页)
- 144, 1568, 1976.
- [10] Solage, A. and Loskov, R.: *Eur. J. Biochem.*, 60, 1976.
- [11] Sudar, F. et al.: *Cellular and Molecular Biology*, 32 (1), 87, 1986.
- [本文于 1987 年 1 月 5 日收到]