

# 肌动蛋白、肌球蛋白等在非肌细胞的存在形式及其形成

## ——细胞的运动(二)

何 泽 涌

(山西医学院)

肌动蛋白、肌球蛋白最初是从肌细胞内发现的,因此名称前都冠以“肌”字。目前已证实这些蛋白质几乎存在于一切细胞内。高等动物的神经细胞、上皮细胞、成纤维细胞、吞食细胞、血小板等等,单细胞的变形虫乃至植物绿海藻以及粘菌等都有肌动蛋白与肌球蛋白。

在真核细胞,有关细胞运动的蛋白质,除肌动蛋白、肌球蛋白、原肌球蛋白、原蛋白外,还有丝蛋白、管蛋白、待宁蛋白(Dynein)等。这些蛋白质直接或间接把细胞内的化学能,如储存在ATP的能量,转变为机械能,如细胞的收缩运动。因此把这类蛋白质统称作机械化学蛋白质(Mechanochemical Proteins)。这些蛋白质可用免疫荧光法,了解它们在细胞内的分布情况。

在电子显微镜下,在非肌细胞内可见到的细丝状细管状的结构有三种:微丝、微管、中间丝。

### 一、微丝、力纤维

微丝、肌动蛋白:微丝(microfilament)是直径5—6毫微米的细丝。倘若将细胞先用甘油处理,使蛋白质这样的大分子物质能透过细胞膜。然后把处理过的细胞浸在HMM(酶解肌球蛋白重部,即带有头的一段肌球蛋白)中,使HMM进入细胞内,而后在电子显微镜下观察,可见许多HMM附着在微丝上,使微丝呈箭尾形[图1,(图2见图版I)]。在前一文中曾提过:肌球蛋白头可牢固地附着在肌动蛋白丝上;但若有ATP存在时,肌球蛋白头便脱离肌动蛋白丝。附着在微丝上的HMM,当有ATP存在时,便脱落。这样,微丝便不出现箭尾状修饰。这进一步证明:HMM所附着的微丝是由

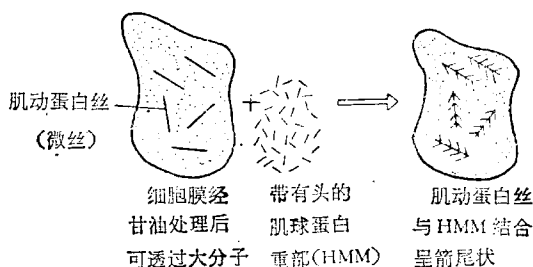


图1 显示非肌细胞内微丝肌动蛋白的HMM修饰法模式图

肌动蛋白构成的;或在微丝中含有肌动蛋白。因此也有人把微丝称作肌动蛋白丝。这种用HMM显示非肌细胞内的肌动蛋白丝的方法,称作HMM修饰法或箭尾修饰法。用这种方法可在上皮细胞、成纤维细胞、巨噬细胞、神经细胞、血小板等多种细胞内观察到有肌动蛋白的微丝。最近把HMM与荧光染料结合,而后使它与细胞内肌动蛋白结合,也可在光学显微镜下,观察肌动蛋白或微丝在整个细胞内的分布情况。

细胞松软素(Cytochalasin B,一种从真菌长蠕孢*Helminthosporium dematioides*代谢产物中提取的生物碱)能特异性地破坏微丝的结构。当除去加于细胞的细胞松软素B后,细胞内微丝的结构与功能即可恢复。用细胞松软素B做它对细胞某种功能影响的实验,即可知肌动蛋白微丝在某种细胞的功能上的意义。

大多数非肌细胞,都有原肌球蛋白,它可能存在于微丝上。关于有无原蛋白,目前这方面研究还不够。现已知血小板存在原蛋白;兔巨噬细胞则不存在原蛋白。

肌球蛋白:各种细胞用生化方法进行测

定,或用免疫荧光法观察,一切有肌动蛋白的细胞,都同时存在肌球蛋白;因此以后本文中谈到某细胞有肌动蛋白时,必然同时存在肌球蛋白(图3见图版I)。

**丝蛋白:** 丝蛋白(Filamin)是最近发现的存在于非肌细胞与平滑肌细胞的一种分子量250,000的蛋白质。用免疫荧光法观察,丝蛋白呈丝状分布于全细胞内(图4见图版I)。在非肌细胞内丝蛋白的含量,相当于细胞内肌球蛋白含量的30—40%。还没有发现丝蛋白有ATP酶的作用。在溶液中,纯丝蛋白与肌动蛋白可凝集在一起,成束状。肌动蛋白与丝蛋白的相互作用机制还不清楚。

**力纤维:** 在荧光显微镜下,肌动蛋白可用HMM与荧光染料结合法来显示,肌球蛋白可用免疫荧光法显示。若显示肌动蛋白的荧光染料(如荧光素)与显示肌球蛋白的荧光染料(如蕊香红)是呈不同颜色荧光的染料,即可在同一细胞对肌动蛋白与肌球蛋白进行复染。用不同的滤光镜,在同一细胞,同一视野,同一焦距,既可观察肌动蛋白的分布情况,又可观察肌球蛋白的分布情况。用同样方法也可在同一细胞比较肌动蛋白与丝蛋白的分布情况。用这种荧光复染法对培养的成纤维细胞观察发现:肌动蛋白、肌球蛋白、丝蛋白是分布在同一部位,构成同一纤维。在细胞内由肌动蛋白丝,肌球蛋白丝、丝蛋白丝集合构成的纤维,称作应力纤维(Stress fiber)或缆(Cable)。

人工培养的成纤维细胞周缘伸出的微刺(microspike)的基部和细胞周缘微突起的薄饼状皱褶部位,以及在两个相邻细胞接触部位,只有肌动蛋白与丝蛋白,而没有或极少有肌球蛋白。微刺和皱褶在细胞边缘不断地作着伸缩振荡运动。当两个相邻细胞的皱褶相接触时,便形成细胞接触;这时运动便停止。在细胞的这样运动的极活跃部位,微刺基部与皱褶,只有肌动蛋白与丝蛋白,而无肌球蛋白。肌动蛋白与丝蛋白怎样相互作用,参与这些部位的活跃的活动,又怎样当相邻细胞接触后引起接触抑制,这是正在研究中的问题。

肌动蛋白、肌球蛋白、丝蛋白在非肌细胞内,除呈丝状结构存在外,还有一部分呈弥散状态存在。

## 二、微管、管蛋白

**微管(microtubule)**是细胞内直径18—25毫微米的细管。微管在有些方面相当于细胞内骨骼,它与细胞的形态、运动、分裂,细胞器在细胞内的一定分布有关。微管是由管蛋白与“微管相连蛋白”构成。有的微管还有待宁蛋白。

**管蛋白(Tubulin)**单体是分子量55,000—60,000,直径4毫微米的球状的蛋白质。管蛋白单体的分子结构分两种: $\alpha$ 管蛋白与 $\beta$ 管蛋白。 $\alpha$ 管蛋白单体与 $\beta$ 管蛋白单体合成二聚体。管蛋白二聚体连成链,由链绕成微管。微管的每一周有十三个管蛋白单体(图5)。

管蛋白占微管蛋白的80%。构成微管的蛋白质还有“微管相连蛋白”(MAPs, Microtubule-Associated Proteins)。这是一种分子量300,000的蛋白质。迄今还不知它有ATP酶的活性。它可能在微管的表面,或许还连结于微管与其他细胞器之间。

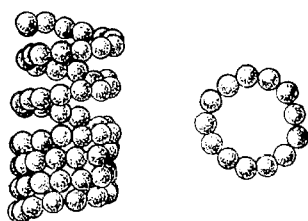


图5 微管的结构

由许多球状的管蛋白聚合成微管

微管可用电子显微镜来观察。用免疫荧光法亦可显示细胞内的管蛋白。在成纤维细胞,管蛋白纤维(微管),以和细胞长轴大致一致的方向,伸展在整个细胞体内。细胞周缘的微管比在细胞内部少。在微刺及皱褶上极少或全无微管。在细胞相接触部位有微管。根据用荧光复染法比较同一细胞内肌动蛋白与管蛋白的分布,微管和肌动蛋白丝不在同一位置上。因此微管并不是力纤维或缆的构成成分之一。微管与力纤维是细胞内不同的结构。

管蛋白单体除聚合成微管外,有些还弥散

地分布在细胞内。不论管蛋白是处于聚合(微管)状态,还是处于弥散状态“微管相连蛋白”(MAPs)总是和管蛋白相伴存在。

在细胞的纤毛等结构内的微管,其周围有分子量 600,000 的待宁蛋白。在电子显微镜下待宁蛋白在微管横断面周围伸如臂状,称作待宁臂(Dynein-Arm)。待宁蛋白是一种 ATP 酶。在有 ATP 存在条件下,微管的管蛋白激活待宁蛋白 ATP 酶的活性,分解 ATP,释放能量,引起微管的运动。上皮细胞纤毛的运动,精子的运动都是由管蛋白与待宁蛋白的相互作用所引起的。有的先天性精子不动症者精子的微管周围缺待宁臂。有些易患呼吸道感染(气管炎、鼻窦炎、肺炎、感冒等)的病人,他的呼吸道上皮纤毛的微管也缺待宁臂,因而纤毛不能运动,影响呼吸道的清除能力。

秋水仙碱、长春花碱等可特异性地使微管解聚合,破坏微管的结构。用秋水仙碱做它对细胞某种功能影响的实验研究即可知微管在某种细胞功能上的意义。

### 三、中间丝

中间丝(intermediate filament)是直径 7—10 毫微米的细丝,又称作 10 毫微米丝构成中间丝的蛋白质有两个亚单位,其分子量分别为 52,000 与 54,000 (因细胞种类不同而略有差异)。这亚单位还没有统一名称,有人把它称作酪蛋白(skeletin)或结蛋白(desmin)从鸟类沙囊提取的分子量为 50,000 的蛋白质或从成神经细胞瘤的细胞提取的分子量为 55,000 的大神经丝多肽的抗体,结合荧光染料后都可显示细胞内的中间丝。在正常的兔血清中自然地含有中间丝蛋白的抗体。当它和荧光染料结合后也可显示细胞内的中间丝。

中间丝和力纤维、微管在细胞内的分布状态完全不同。在上皮细胞(袋鼠 PtK<sub>2</sub> 细胞)中间丝呈细网状分布在整个细胞体内,在细胞核周围尤其密。因此可能中间丝与核在细胞内位置的固定有关。

### 四、细胞分裂与肌动蛋白、肌球蛋白、管蛋白

肌动蛋白、肌球蛋白既参与细胞体的分裂,又参与细胞核染色体的分裂。用荧光 HMM 结合肌动蛋白法观察成纤维细胞的细胞周期各期的肌动蛋白在细胞体的分布状态(图 6):在分裂间期(即细胞不进行分裂时)肌动蛋白成微丝束分布伸展在有突起的细胞内。当细胞要进行分裂时,细胞的突起收缩,细胞变成圆形。这时肌动蛋白弥散地分布在细胞中。在细胞分裂末期,细胞体进行分裂时,肌动蛋白集中在细胞体的裂沟部。当分裂将终了时,肌动蛋白分布在离裂沟远的两端的远端,促使两个子细胞分离。然后肌动蛋白又成微丝束,分布伸展在子细胞内。

肌动蛋白还参与细胞分裂时染色体的移动。在细胞分裂时,在两个中心粒之间有纺锤体。纺锤体包括三部分:1. 染色体丝,在染色体的着丝点与中心粒之间;2. 连续丝,在两个中心粒之间;3. 放射丝,在中心粒周围,呈放射状。连续丝与放射丝都是微管。最近用荧光 HMM 结合法证明染色体的着丝点和染色体丝都具有肌动蛋白。用免疫荧光法发现染色体丝还有肌动蛋白。因此认为,在细胞分裂时两组染色体分别移向细胞的两端,与肌动蛋白、肌球蛋白的功能活动有关。

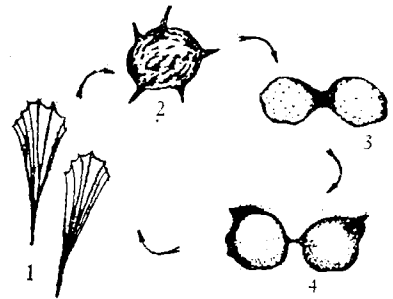


图 6 细胞分裂过程中肌动蛋白在细胞体分布的变化

1. 分裂间期,肌动蛋白成微丝束伸展分布在细胞内。
2. 细胞开始分裂时,肌动蛋白弥散地分布在细胞内。
3. 细胞体分裂时,肌动蛋白分布在裂沟。
4. 即将完全分裂时,肌动蛋白集中在细胞的两端,将两个子细胞扯开。当完全分裂后,肌动蛋白又成微丝束伸展在细胞内。

管蛋白、微管也参与细胞分裂。用免疫荧光法观察培养细胞(小鼠 B16 细胞、大鼠 PtK<sub>2</sub> 细

胞)管蛋白在细胞内的分布: 分裂间期,管蛋白聚合成微管。微管束相连成细网分布在全细胞体内。在细胞分裂期,微管束的细网解体,随着中心粒向细胞两端移动,在细胞两端中心粒之间,在中心粒与染色体着丝点之间,出现微管束,即纺锤体。分裂后期,随着细胞体中部细缩,两端中心粒之间的微管大部中断,解聚合;而后在子细胞内管蛋白又聚合成微管的细网。有人主张: 在分裂中期,构成纺锤体的微管与其周围细胞质内的弥散的管蛋白二聚体之间保持着动态平衡;到分裂后期这动态平衡逐渐破坏,微管逐渐解聚合,使连在中心粒与染色体间的微管逐渐缩短,而导致染色体的移动。但关于影响这动态平衡的因素并没有被说明。

肌动蛋白、肌球蛋白、管蛋白不仅参与细胞体、细胞核的分裂过程;而且,在细胞膜内面的肌动蛋白、肌球蛋白、管蛋白还对细胞是否要进行分裂,即是否要进入S期(DNA合成期)起着调节作用,这将在以后叙述。

### 五、非肌细胞内肌动蛋白丝、微管的聚合、解聚合与 cAMP、cGMP 及细胞的形态

在肌细胞内肌动蛋白、肌球蛋白聚合成丝状的结构——细丝与粗丝,成为肌细胞内恒常的结构。在非肌细胞内肌动蛋白并不总是聚合成丝状。在非肌细胞内肌动蛋白等的聚合与解聚合是在一定条件下进行互变,因此微丝的存在与否,微丝量的多少,即使在同一细胞内在不同情况下也是不同的。将变形虫附着在表面涂有聚赖氨酸的基底上,而后将细胞上端毁掉,用扫描电子显微镜观察细胞底部细胞膜内面,在细胞刚接触基底时,膜内面不存在微丝,经片刻后(一分钟以内),在细胞膜内才见微丝(图7见图版I)。

又如培养成纤维细胞(3T3细胞),若在培养基中加 $Bt_2cAMP(N^6, O^2\text{-dibutyl Cyclic Adenosine } 3', 5'\text{-monophosphate})$ 使细胞内的cAMP增高。电子显微镜观察,细胞基底部的微丝与微管,在加 $Bt_2cAMP$ 的细胞,比不加 $Bt_2cAMP$ 的细胞,其量增多。测定细胞中肌动蛋白及管蛋白的含量,则加 $Bt_2cAMP$ 后并不增多。因此细

胞内cAMP增高时,只是使G肌动蛋白聚合成微丝,使管蛋白聚合成微管。由于微丝微管的增多,细胞伸出突起,细胞的形态也随之变化。

人工培养的成纤维细胞(3T3细胞),当细胞繁殖增多互相接触时,接触的局部cAMP增高,导致细胞接触处出现微丝。

在中性粒细胞中,给予增高细胞内cGMP的药物所起的作用,与给予秋水仙碱所起的作用相拮抗。因此认为,cGMP能促使管蛋白聚合成微管。

一般说在细胞内cAMP与cGMP的作用是相拮抗的,但上述的实验却不同,cGMP与cAMP都能促使微管的形成。这是很难理解的。看来cAMP、cGMP与细胞内微丝、微管形成的关系还须更多的研究。

### 六、在非肌细胞内肌动蛋白微丝的形成

前述在非肌细胞分裂期细胞呈圆形,肌动蛋白弥散地分布在细胞内,而后集中在细胞体的裂沟部,而后在两端。分裂完毕后,在细胞的分裂间期,肌动蛋白聚合成微丝伸展在细胞内,细胞形态亦随之由圆形伸展为细胞固有的形态。肌动蛋白微丝的这种形成、解离现象,也在培养的非肌细胞经胰蛋白酶处理以后出现。观察大鼠胚胎细胞的这种变化时,发现经胰蛋白酶处理后的圆形细胞再附着开始伸展时,即细胞内出现伸展的微丝之前,先出现一种一过性的由肌动蛋白等构成的立体网状结构(图8见图版I,图9-10见封三)。目前认为,在细胞由分裂期进入分裂间期时,细胞内的微丝是由这网状结构制造出的。用间接免疫荧光法观察发现:在这网状结构的网丝交点之间的丝上有肌动蛋白和原肌球蛋白,而无 $\alpha$ 肌动素;在交点上有肌动蛋白、 $\alpha$ 肌动素,而无原肌球蛋白;但在由网丝交点伸到细胞周缘的丝上,则肌动蛋白、原肌球蛋白、 $\alpha$ 肌动素三者都存在。有人把这细胞内一过性存在的网状结构,比作细胞内制造微丝的小工厂:网丝的交点是肌动蛋白聚合成微丝的起始点。 $\alpha$ 肌动素及原肌球蛋白都参与微丝的形成;它们可能是微丝形成过程中必要的辅助因子。

## 参 考 文 献

- [1] Cohen, C. et al.: *J. Mol. Biol.*, 59, 375, 1971.  
[2] Lazarides, E. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 71, 2268, 1974.  
[3] Lehto, V. P. et al.: *Nature*, 272, 175, 1978.  
[4] Sherline, P. et al.: *J. Cell Biol.*, 77, R9, 1978.  
[5] Singer, S. J. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 74, 3883, 1977.  
[6] Wang, K. et al.: *Ibid.*, 74, 2021, 1977.  
[7] Willingham, M. C. et al.: *J. Cell Biol.*, 67, 146, 1975.

(待续)

# 3',5'-环化腺苷酸与 $\lambda$ 噬菌体的基因调控 及其与寄主关系的若干问题

王 身 立

(复旦大学遗传研究所)

$\lambda$  噬菌体作为遗传工程中的一种重要工具,它的基因调控问题,已有综述详尽介绍<sup>[1]</sup>;而 3',5'-环化腺苷酸(以下简称为 cAMP)又是近年来受到广泛重视的一种重要的基因调控物质。因此,本文拟在引述国外有关资料的基础上,对于 cAMP 与  $\lambda$  噬菌体的基因调控及其与寄主关系问题,提出一些看法,以供讨论,希望得到批评指正。

## 一、cAMP 与 $\lambda$ 噬菌体的基因调控

$\lambda$  噬菌体侵入寄主大肠杆菌后,如果它的 DNA 嵌入细菌的染色体,在一定的条件下,噬菌体 DNA 就与细菌的 DNA 同步复制,成为“原噬菌体”。这时我们就说寄主细菌溶原化了。

$\lambda$  噬菌体感染大肠杆菌的腺苷酸环化酶缺陷突变型(*cya*<sup>-</sup>)或 cAMP 受体蛋白缺陷突变型(*crp*<sup>-</sup>, 又称 *cap*<sup>-</sup>)时,极少有溶原化发生,表明溶原化需要 cAMP 及其受体蛋白的存在<sup>[2]</sup>。当在 *cya*<sup>-</sup>突变型细菌的培养基中加入外源性 cAMP 时,则可促进溶原化的发生。在鼠伤寒沙门氏菌中,对噬菌体 P22, MG40 和 MG178 等,也发现了同样的情况<sup>[2,3]</sup>。

$\lambda$  噬菌体寄主细菌溶原化的建立需要两个前提,一是阻遏  $\lambda$  裂解基因的表达,这就需要有一个 mRNA 转录的负调控机制;二是  $\lambda$  噬菌体

DNA 嵌入寄主细菌的染色体<sup>[4]</sup>。有人认为,阻遏对于溶原化来说是更为重要的环节,因为大肠杆菌的噬菌体 PI 并不嵌入寄主的染色体,却以原噬菌体的状态存在于寄主细胞中,和寄主的 DNA 进行同步复制。本文所强调的也是 cAMP 与阻遏的关系。

在  $\lambda$  噬菌体中,阻遏裂解基因表达的负调节基因有三个,即 CI、CII 和 CIII。如图 1 所示,当  $\lambda$  噬菌体侵入寄主细菌后,CI 基因的转录由阻遏建立启动子(Pre)所引发。而 Pre 的读出则需要 CII 或 CIII 基因的产物加上 cAMP

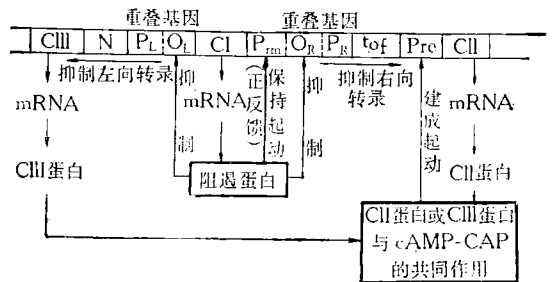
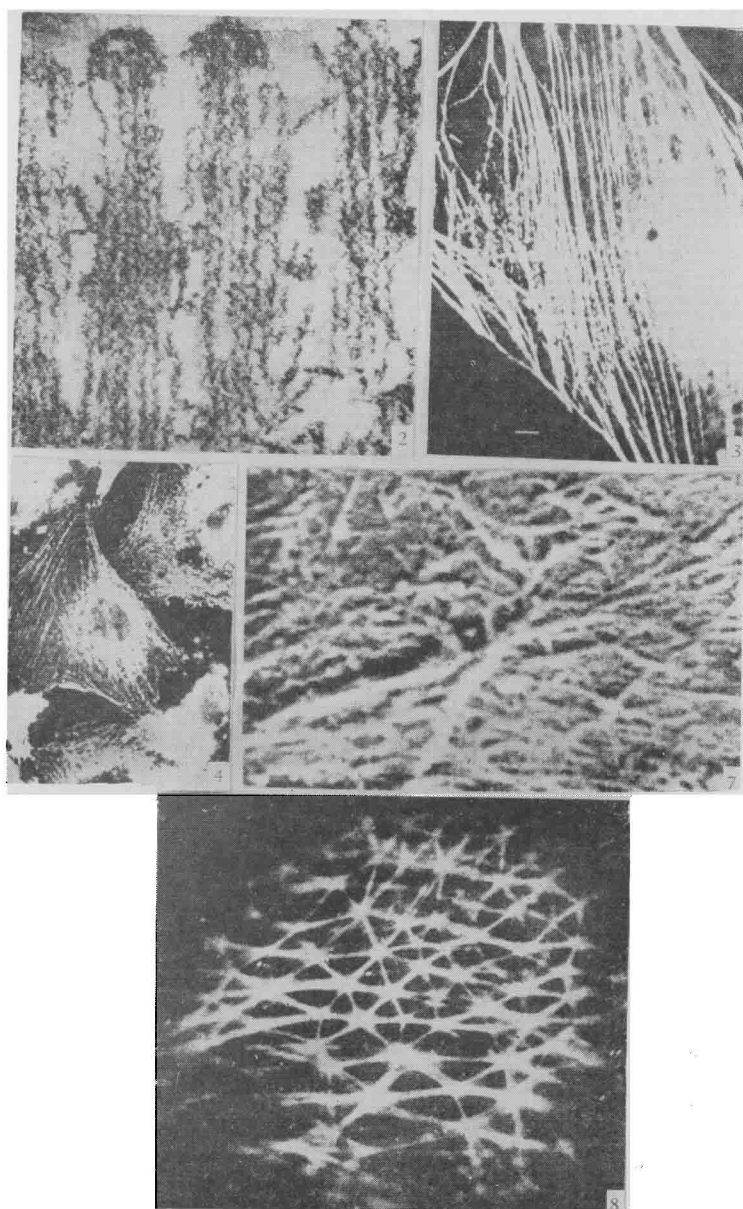
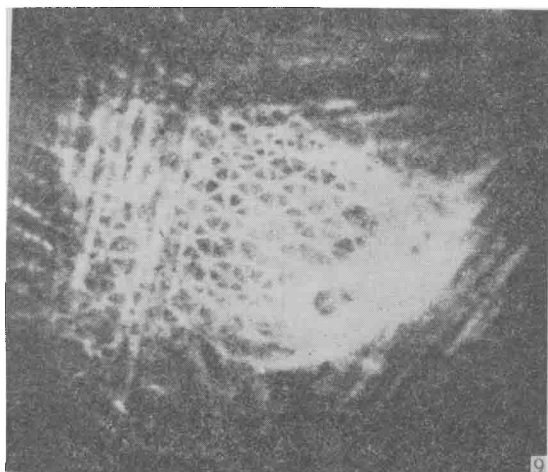


图 1 cAMP 与  $\lambda$  噬菌体的基因调控

的共同作用<sup>[4]</sup>。或者说, cAMP 及其受体蛋白(CRP)为造成溶原化的阻遏蛋白生成所必需<sup>[9]</sup>。当 CI 基因被引发之后,  $\lambda$  噬菌体即可能嵌入细菌的染色体中。CI 制造的阻遏蛋白可阻遏裂解基因的表达。在保持溶原化的细菌中,  $\lambda$  噬

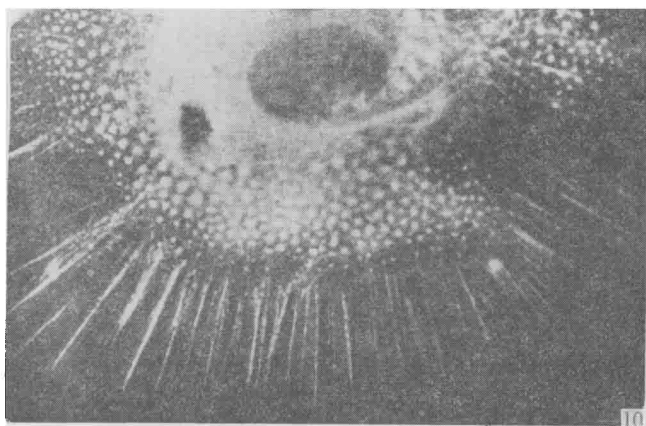


- 图 2** 肠上皮细胞微绒毛内的微丝(肌动蛋白丝)  
(用 HMM 修饰法,电子显微镜放大 138,000 倍)
- 图 3** 成纤维细胞内的肌球蛋白  
(用间接免疫荧光法,长度标志为 10 微米)
- 图 4** 成纤维细胞内的丝蛋白  
(用间接免疫荧光法,放大 600 倍)
- 图 7** 细胞膜内的微丝  
(扫描电子显微观察,放大 25,000 倍,变形虫附着在涂有聚赖氨酸的基底后)
- 图 8** 非肌细胞形成微丝时的网状结构  
(用间接免疫荧光法显示网状结构上的肌动蛋白。大鼠胚胎细胞用胰蛋白酶处理变圆后再伸展时)



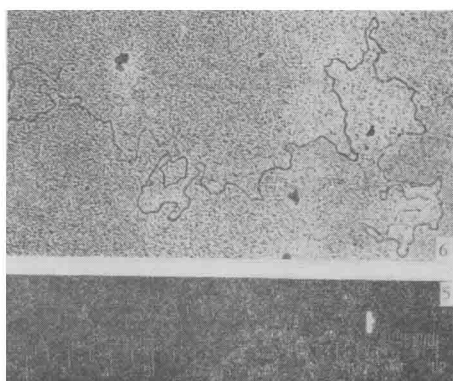
**图 9 非肌细胞形成微丝时的网状结构**

(用间接免疫荧光法显示网状结构上的原肌球蛋白。在网丝交点无原肌球蛋白。大鼠胚胎细胞用胰蛋白酶处理变圆后再伸展时)



**图 10 非肌细胞形成微丝时的网状结构**

(用间接免疫荧光法显示  $\alpha$  肌动素。  $\alpha$  肌动素存在于网丝交点及由交点至细胞周缘的微丝上。大鼠胚胎细胞用胰蛋白酶处理变圆后再伸展时)



**图 2 噬菌体 T<sub>7</sub> 电子显微镜照片**  
(2% 磷钨酸染色放大 11,300 倍)



**图 5 噬菌体 T<sub>7</sub> DNA 葡聚糖凝胶电泳图谱**



**图 6 噬菌体 T<sub>7</sub> DNA 电子显微镜照片**