

专论与综述

选 择 素 (一)

唐 传 业

(南京大学生物系)

选择素与生物膜研究

生物膜的研究是当前分子生物学最活跃的领域。目前认为细胞间的联系,细胞的生长和分化,免疫反应和肿瘤发生,都和遍布于细胞表面的枝状糖分子有关。有关这方面的知识,很大程度上是由于采用了一类叫做选择素的蛋白质作为工具而获得的。

选择素是一类含糖的(少数例外)并能与糖呈专一性结合的蛋白质,它具有凝聚细胞和刺激细胞分裂的作用。

自上世纪末,Стильмарк 首先报道了蓖麻豆 (*Ricinus communis*) 含有能凝聚红血球的蛋白质——蓖麻蛋白 (ricin) 以后,在很多豆科植物种子中发现这类凝血物质,统称为凝血素 (haemagglutinin) 或植物凝血素 (phytohaemagglutinin, 简称 PHA)。只是到了四十年代末期,才发现这类蛋白质具有血型专一性。那时,Boyd^[1] 发现利马豆 (*P. limensis*) 抽提物能选择性地凝聚人 A 型红血球,但对 B 或 O 型不起作用,因之借用拉丁文 “legere” 将此蛋白质命名为 lectin,即本文所述的“选择素”。现在这个名词已愈来愈多地为人们接受^[2-6],因为“凝集素”(agglutinin)、“凝血素”或“植物凝血素”都只是从“凝聚”涵义而来,而实际上这类蛋白质除了有凝聚作用外,还有很重要的刺激细胞分裂的作用^[7]。此外,这类蛋白质几乎遍及整个生物界(见表 1),而 PHA 则一般专指菜豆选择素的粗制品^[8],显然,“选择素”一词比其他名称更能概括这类蛋白质的特性。

一、分离和测定

选择素的分离和提纯,过去一般用经典的蛋白质分离法,如盐析、加酸沉淀,或离子交换层析和分子筛层析等。亲和层析的应用给这一工作带来重大的突破^[4],目前大都用这个方法。一些已提纯的选择素见表 1。

测定选择素活性的原理是基于它的两个基本特性:凝聚细胞作用和刺激细胞分裂作用,利用凝聚作用测定选择素活性,大都将选择素进行系列稀释,并使之与红血球(通常用胰蛋白酶处理戊二醛固定的红血球)在一定条件下作用后,用显微镜测定样品中凝聚细胞与未凝聚细胞之间的比例,或用分光光度法测定选择素作用前后细胞悬浮液的浊度变化。

测定刺激细胞分裂的作用是将淋巴细胞与选择素作用后,用微量快速法测定标记胸嘧啶、尿嘧啶或亮氨酸的渗入量,以确定其对 DNA、RNA、或蛋白质在试管内合成的促进作用^[12]。

二、化学结构

选择素都是蛋白质,它们大多数含有共价结合的糖;含糖量有的高达 55% (土豆选择素),也有不含糖的选择素,如伴刀豆素 A (Con A)、小麦选择素(WGA)和花生选择素 (PNA)。

选择素都是蛋白质,但其结构彼此并不相同,其组成、分子量、每个分子所含亚单位数、亚单位的结构以及每个亚单位上的结合位数都不一样。

选择素之所以能凝聚细胞和刺激细胞分裂是因为它具有能专一性结合细胞表面糖分子的结合位。用半抗原抑制法,可帮助我们了解选

表1 已提纯的一些选择素

类别	中文名称	西文名称	分子量	亚单位数	糖专一性*	凝聚细胞	刺激细胞分裂	文献
豆	相思子树	(<i>Abrus precatorius</i>)	134,000	4	半乳糖	神经酰胺处理的细胞	+	JBC *249: 803, 1974
	花生	(<i>Arachis hypogaea</i>)	98,000	4	半乳糖			ABB., 190: 637, 1978
	刀豆	(<i>Canavalia ensiformis</i>)	25,000	4	甘露糖, 葡萄糖			Adv. Exp. Med. Biol., 55:1, 1975
	蚕豆	(<i>Dolichos biflorus</i>)	124,000	2	N-乙酰半乳糖胺	A ₁ 型(人)血球		BBA., 500: 344, 1977
	百脉根	(<i>Lotus tetragonolobus</i>)	A120,000 B590,000 C120,000	4 2 4	岩藻糖	O型(人)血球		BBA., 264: 171, 1972
	大豆	(<i>Glycine max</i>)	120,000	4	半乳糖 N-乙酰半乳糖胺	人 ABO 型血球		BBRC., 62: 144, 1975
科	扁豆	(<i>Lens culinaris</i>)	52,000	4	N-乙酰葡萄糖胺, α葡萄糖	人 ABO 型血球		BBA., 351: 416, 1974
	菜豆	(<i>Phaseolus vulgaris</i>)	126,000	4	N-乙酰半乳糖胺	人 ABO 型血球	+	PNAS., 72: 1388, 1975
			120,000	4	N-乙酰半乳糖胺	人 ABO 型血球	+	Agre. Biol. Chem., 44: 125, 1980
	利马豆	(<i>Phaseolus limensis</i>)	II 247,000 III 124,000	4 2	N-乙酰半乳糖胺	A型(人)血球		J. Biochem., 11: 3976, 1972
	豌豆	(<i>Pisum sativum</i>)	I 54,000 II 53,000	2 2	甘露糖		+	BBA., 237: 513, 1971
	荆豆	(<i>Ulex europaeus</i>)	110,000	4	壳多糖水解物, 纤维二糖	人 ABO 型血球		BBA., 577: 389, 1979
植	巢菜	(<i>Vicia sativa</i>)	60,000 70,000 40,000	2 4 4	L-岩藻糖 千位上自由羟基的吡喃糖 千位上自由羟基的吡喃糖	马、兔红血球 B型(人)血球	+	Experientia, 35: 1556, 1979 BBA., 577: 71, 1979 Hoppe-seyler's Z. physiol. Chem., 360: 1727, 1979
	蚕豆	(<i>Vicia faba</i>)	50,000	2	甲醛-甘露糖苷		+	BBA., 444: 374, 1976
	野豌豆	(<i>Vicia graminea</i>)	100,000			N-型(人)血球		BBA., 420: 112, 1976
	草藤	(<i>Vicia cracca</i>)	100,000	4		A-型(人)血球		BBA., 622: 337, 1980
	绿豆	(<i>Mung bean</i>)	160,000	4	半乳糖			JBC, 253: 7791, 1978
	豇豆	(<i>Onobrychis viciifolia</i>)	26,000	2	甘露糖, 葡萄糖	血细胞		BBA., 580: 186, 1979
物	山黧豆	(<i>Lathyrus odoratus</i>)	37,000	2		人 ABO 型血球	+	Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. C 86c(3): 991, 1978
	四棱豆	(<i>Bandieraes simplifolia</i>) (<i>Psophocarpus tetragonobus</i>)	114,000 46,000	4 2	半乳糖 对消基 β-半乳糖	B型(人)血球 人 ABO 型血球		JBC 250: 6837, 1975 BBA., 581: 63, 1979
	香草碗豆	(<i>Lathyrus sativus</i>)	43,000	2	葡萄糖, 甘露糖		+	ABB., 201:137, 1980

蓖麻	(<i>Ricinus communis</i>)	120,000	4	β -半乳糖	凝血活性低	抑制蛋白合成	JBC, 249: 803, 1974
马铃薯	(<i>Solanum tuberosum</i>)	60,000	2	N-乙酰半乳糖胺			FEBS. Lett., 44: 286, 1974
小麦	(<i>Triticum vulgare</i>)	120,000	2	(N-乙酰半乳糖胺) _n		+	JBC, 249: 3116, 1974
美商陆	(<i>Phytolacca Americana</i>)	360,000	2	N-乙酰半乳糖胺		+	
非		Pa-1 (22,000) _n Pa-2-5 19,000— 37,000					
豆		120,000	2	壳多糖水解物	人 ABO 型血球	+	BBA, 532: 92, 1978
曼陀罗	(<i>Datura stramonium</i>)	18,000	3		凝血		J. Biochem., 85: 163, 1979
芦荟	(<i>Aloe arborescens, mill</i>)	24,000	4	N-乙酰半乳糖胺	凝血		
刺槐	(<i>Robinia pseudoacacia</i>)	100,000	4	N-乙酰半乳糖胺	凝血		Planta, 144: 367, 1979
植物		A 30,000		N-乙酰半乳糖胺低聚糖	凝血		Biochem. Physiol. Pflanz. 175: 58, 1980
山羊臭花	(<i>Ononis hircina</i>)	B 5,000	4	N-乙酰半乳糖胺	O-型(人)血球		BBA, 539: 287, 1978
番茄	(<i>Lycopersion esculentum</i>)	110,000	2	半乳糖、棉子糖	人 ABO 型血球		Experientia 34: 123, 1978
苦瓜	(<i>Momordica charantia</i>)	115,000		(N-乙酰半乳糖胺) _n	胰蛋白酶处理的红血球	+	JBC, 225: 2056, 1980
水稻种子	(<i>Rice seed</i>)	71,000	2	(N-乙酰半乳糖胺) _n	O-型(人)血球	+	BJ., 185: 296, 1980
水稻糠	(<i>Rice bran</i>)	52,000			凝血		Experientia 36: 524, 1980
		10,000					Agric. Biochem., 37: 29, 1973
		37,000	2	N-乙酰葡萄糖胺		+	J. Biochem., 86: 1451, 1979
蘑菇	(<i>Flammulina velutipes</i>)	20,000	2		凝血	+	J. Biochem., 86: 1463, 1979
伞菌	(<i>Agaricus bisporus</i>)	58,000			人 ABO 型血球		JBC, 247: 6937, 1972
伞菌	(<i>Agaricus campestris</i>)	64,000	4				JBC, 244: 4713, 1969
脉孢菌	(<i>Neurospora crassa</i>)	39,000		N-乙酰半乳糖胺	人 ABO 型血球		FEMS Microbiol. Lett., 6: 247, 1979
粉霉菌	(<i>Dictyostelium discoideum</i>)	1100,000	4	N-乙酰半乳糖胺	凝血		BBA, 550: 297, 1979
大肠杆菌	(<i>E. coli</i>)	(36,000) _n	4	甘露糖, 对硝基甘露糖			BBRC, 85: 1551, 1978
蜗牛	(<i>Helix pomatia</i>)	79,000	6	N-乙酰半乳糖胺	A-型(人)血球		Method in Enzymol., 28(B):368,1973
蜗牛	(<i>Arion empirocum</i>)	43,000					BBA, 582, 154, 1979
马蹄蟹	(<i>Limulus polyphemus</i>)	335,000	18	N-乙酰神经氨酸			BBRC, 58: 1127, 1974
蛤	(<i>Tridacna maxima</i>)	470,000		N-乙酰半乳糖胺			BJ, 175: 467, 1978
白蛙	(<i>Coregonus lavaretus maraema</i>)	25,000		甲基-鼠李糖	B-型(人)血球		BBA, 532: 209, 1978
电鳗	(<i>Anguilla restrata</i>)	123,000		半乳糖	H(O)-型(人)血球		Method in Enzymol., 28(B):383,1973
电鳗	(<i>Electrophorus electricus</i>)	33,000		半乳糖	胰蛋白酶处理的红血球		PNAS, 72: 1383, 1975
兔		500,000		半乳糖			JBC, 251: 1296, 1976

* 所列的糖,凡未特殊说明者,均为 α -D 型

择素结合位的专一性,例如大豆选择素(SBA)凝聚红血球时,加入 N-乙酰半乳糖胺,则凝聚作用即受抑制,说明 SBA 具有结合 N-乙酰半乳糖胺的专一性结合位。这里,小分子的糖(N-乙酰半乳糖胺)如同免疫沉淀反应的半抗原一样,竞争性地占据了选择素的结合位,干扰了它与细胞表面的糖分子结合,因而抑制其对红血球的凝聚作用。用这个方法测得 ConA 的结合位是对甘露糖专一性的,百脉根选择素是对岩藻糖专一性的等。

ConA 是现今已了解得较清楚的一个选择素,糖的结合位置已基本弄清,此处不赘述。另有一些选择素是由不同亚单位所组成。这些不同的亚单位往往在选择素分子中行使不同的功能。这点在菜豆选择素(PHA)中表现得较明显。组成 PHA 的亚单位有两种,一种名 L-亚单位,仅对淋巴细胞膜有高亲和力;一种名 R-亚单位,仅对红血球膜有高亲和力。两种亚单位按不同比例组成的四聚体,其生物功能各异。全部由四个 L-亚单位组成的 L-PHA,仅对淋巴细胞有凝聚和刺激分裂作用,但不凝聚红血球。所谓 H-PHA 系由 L 和 R 亚单位按不同比例组成的杂种(hybrid)四聚体,其刺激白细胞分裂的能力,随 L-亚单位的比例减少而降低,对红血球凝聚的能力则依次递增^[9]。过去假想的有强凝血作用,但无刺激分裂作用的 4R 四聚体,最近已成功地分离出来^[10]。此外 H-PHA 能沉淀血浆蛋白,而 L-PHA 则否,这就进一步说明两类亚单位的糖结合位的专一性不同。已经证实: L-和 R-亚单位的一级结构存在差异,它们 N-端的最初七个氨基酸残基中,有六个彼此不同的(图 1)。

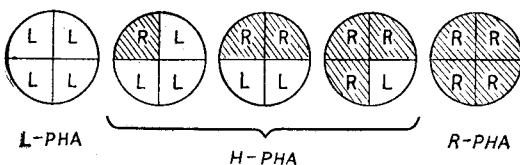


图 1 由两种不同亚单位(L 和 R)按不同比例组成的菜豆选择素四聚体示意图

三、研究膜的工具

用选择素研究生物膜的工作,大致可概括为以下几方面:

1. 探测膜表面的糖分子

细胞表面的枝状糖分子是膜糖蛋白和膜脂的组成部分,弄清这些枝状糖分子的组成和顺序对了解细胞活动有重要意义。选择素凝聚细胞和刺激细胞分裂的实验,可帮助我们获悉膜表面糖分子结构的一些信息。

如前所述,选择素具有专一性的糖结合位,因而能选择性地凝聚细胞。如利马豆选择素具有 N-乙酰半乳糖胺专一性的结合位,它能凝聚 A 型血球,对 B、O 型不起反应,说明 A 型血球表面糖分子含有 N-乙酰半乳糖胺的末端^[11]。同理, *Banderaea simplicifolia* 选择素具半乳糖专一性结合位,它能专一性凝聚 B 型血球,表明 B 型血球表面糖分子的末端是半乳糖^[12]。对于 O 型血球,因其能被具岩藻糖专一性的百脉根选择素凝聚,其血球表面的末端糖因子一定是岩藻糖^[11]。PNA 一般并不凝聚红血球和淋巴细胞,但用酶切去这些细胞膜上的神经氨酸后,即能使红血球和淋巴细胞凝聚^[13]。PNA 具有半乳糖专一性结合位,可以推测这些细胞表面的枝状糖分子末端,含有“神经氨酸-半乳糖”的组分。

选择素刺激细胞分裂也必须与细胞表面糖分子起专一性结合,利用这一作用也可为我们提供细胞表面糖残基组合的一些信息。SBA 和 PNA 并不刺激鼠淋巴细胞,但用唾液酸苷酶将细胞表面的唾液酸切去后,即有刺激作用。这两种选择素具有半乳糖专一性结合位,如用 β -半乳糖苷酶对细胞作进一步处理将半乳糖除去后, SBA 和 PNA 即不复对此细胞起刺激作用。但此细胞却可为 ConA 刺激,而 ConA 是甘露糖专一性的,这表明大鼠淋巴细胞表面末端糖残基的组合顺序为:“唾液酸-半乳糖-甘露糖”^[14]。

2. 研究膜的动态结构

用标记选择素与细胞膜上的受体结合后,在光学或电镜下进行观察,可了解膜的一些动

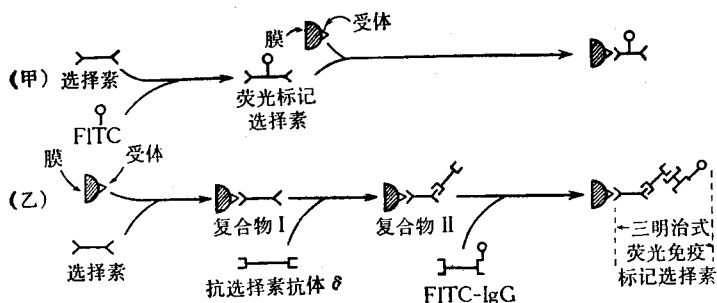


图2 荧光法标记选择素示意图

态结构。标记选择素常用荧光素、铁蛋白或过氧化物酶等。现以荧光法标记选择素为例，概述如下：

分直接法和间接法。直接法系将荧光物质如荧光异硫氰酸盐(简称 FITC) 直接标记在选择素上，标记好的选择素即可与细胞膜上的受体专一性结合(如图 2 甲所示)。间接法则是通过免疫反应得到“荧光免疫标记选择素”，它的制备过程是：将纯选择素注入动物，使产生能与选择素专一性结合的抗选择素抗体(用 δ 表示)，后者能与 FITC 标记的免疫球蛋白(FITC-IgG) 结合，以形成“选择素- δ -FITC-IgG”夹心面包(“Sandwich”)式结构的荧光免疫标记选择素。应用时，先用选择素处理细胞使形成复合物 I，后者再与抗选择素抗体 δ 结合形成复合物 II，然后再将 FITC-IgG 与复合物 II 上的 δ 呈专一性结合(图 2 乙)。据报道，间接法比直接法的灵敏度要高。

自从 Singer 和 Nicolson 提出膜结构的流动镶嵌模型^[45]以来，大量事实都支持这个模型，认为组成膜的蛋白质在类脂基质上漂动。用标记选择素对膜结构的研究结果也支持这个模型。现已证实，不同类型细胞，如红血球、正常或转化的成纤维细胞、淋巴细胞等，其选择素受体在膜上可作侧向运动。用激光局部漂白结合在膜上的荧光素群的技术，测得试管中培养的成纤维细胞的膜蛋白扩散系数为 $5-10 \times 10^{-11}$ 厘米²/秒^[46]。此外偏振荧光法还证实，选择素受体能在膜平面作旋转运动^[47]。显然，这些实验对流动镶嵌结构模型是个有力支持。

用荧光选择素研究细胞膜的结果还表明，当其与淋巴细胞结合的瞬间，选择素受体在细胞表面的分布是均匀的，但在 37℃ 数分钟后，受体即在膜上运动成簇或块，最后簇或块在细胞一端集成冠^[48](图 3)。这个过程受温度、时间以及选择素的结合位多寡和浓度等影响。最近报道，成簇过程很快，而且最初是可逆的^[49]。成簇和成冠的过程不同，前者为简单的扩散，后者是需能过程(但也有人认为成簇也需能^[5])。成冠过程可被破坏微管结构的试剂如秋水仙碱和长春花碱所抑制，这说明淋巴细胞表面受体的运动是受和膜相联的细胞骨架系统所控制。

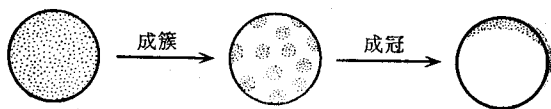


图3 受体运动的示意图

3. 分离受体

选择素之所以能与膜起专一性结合，是因为膜上有相应的选择素受体。这些受体是糖蛋白和糖脂，它们部分地暴露在膜外，部分和膜的类脂成分紧密结合。

基于这一事实，可用选择素来分离膜上的受体。目前大都采用固相选择素亲和层析法进行分离。此法是用 CNBr 或戊二醛将选择素固定在琼脂糖或聚丙烯酰胺上成为固相选择素，作为柱层析的支持物。凡能与某固相选择素专一性结合的膜糖蛋白或糖脂，便被吸附在层析柱上。洗去不被吸物后，再加含有适当糖的洗脱液，释出物即为要分离的受体。用这个方法分离受体既适用于细胞膜，也适用于完整的细胞；如用于后者则须先用去污剂使细胞解体，膜糖蛋白才能被固相选择素分离。表 2 是用固相选择素分离的一些受体。

脂肪细胞和肝细胞的胰岛素受体是糖蛋白，后者也带有 WGA 或 ConA 受体，因此用

表 2 用固相选择素分离受体的例举

方 法	来 源	受 体	文 献
ConA-Sepharose	人红血球	小分子糖蛋白 (膜 IV 带)	<i>JBC</i> , 249 : 4398, 1974.
	猪淋巴节细胞	糖蛋白	<i>Nature</i> , 236 : 23, 1972.
	鼠淋巴细胞	糖蛋白	<i>J. Exp. Med.</i> , 140 : 597, 1974.
	鼠脑细胞	髓磷脂糖蛋白	<i>B. J.</i> , 183 (2): 213, 1979.
	脂肪细胞肝细胞	胰岛素受体	<i>PNAS</i> , 69 : 318, 1972.
WGA-Sepharose	同上	同上	同上
	人红血球	血型糖蛋白	<i>BBA</i> , 426 : 464, 1976.
扁豆选择素-Sepharose	鼠嗜碱性白细胞	IgE 受体	<i>Int. Arch. Allergy. Appl. Immunol.</i> , 58 (1): 90, 1973.
RCA-Sepharose	人红血球	糖蛋白	<i>JBC</i> , 249 : 4696, 1974.

WGA-或 ConA-Sepharose 就可方便地分离胰岛素受体。这是用选择素分离受体的一个突出例子^[20]。

4. 研究细胞发育、衰老和分化时膜的变化

大量事实证明,细胞发育、衰老和分化时膜也经历着改变。例如用荧光标记选择素研究成红细胞发育成为红血球的过程表明,膜上选择素受体的侧向运动降低,而红血球膜蛋白(Spectrin)的聚合增加,当晚期成红细胞排除胞核时,红血球膜蛋白的集合作用达到最大,到早期网织红细胞时,红血球膜蛋白则完全分开,同时在排核周围的浆膜上 ConA 受体增多,说明在红血球成熟过程时膜也随之变化^[21]。此外,红血球衰老时,膜上 WGA 受体显著减少,而 RCA-II 和 BPA (羊蹄甲选择素 *Bauhinia purpurea* agglutinin) 的受体却成倍增加^[22],暗示细胞衰老时膜也发生变化。

膜表面的变化在神经细胞分化时表现得尤为明显。用荧光标记选择素,研究日本鹌的神经嵴细胞分化成色素细胞和无色素的肾上腺功能细胞的过程时证实,无色素细胞在整个过程中能结合大量的 ConA 和 WGA,而色素细胞则否,说明鹌神经嵴细胞分化成这两类细胞时,其膜表面的变化是不相同的;无色素细胞发育的不同阶段对选择素的结合也各异,在它的发育后期,即当儿茶酚胺出现时,才能与 SBA 结合,而且, SBA 常集中在细胞质突出处以及和相邻细胞接触的部分^[23]。由于 ConA、WGA 和 SBA 的糖结合位的专一性不同,显然细胞分化和发育时,膜上的糖结构也发生了变化。

5. 探测肿瘤细胞的膜

六十年代初,就有人认识到所谓“接触抑制”,即正常细胞生长到一定阶段时,由于相互接触而使分裂受到抑制。而因病毒或药物而转化的细胞则因丧失接触抑制而无休止地分裂,为什么会这样呢? Aub 等^[24]的工作给这个问题提供了解释。他们发现小麦芽脂酶抽提物中含有某种蛋白质,可凝聚某些转化细胞株,而不凝聚相应的正常细胞,并认为凝聚的差异表明转化细胞的表面必定发生了和正常细胞不同的某些变化,随后证实了此蛋白质为 WGA。此后用选择素探测肿瘤细胞表面的大量工作证明,这种变化确实存在。例如最近报道,正常鼠的肝脏与患肝癌鼠的肝脏,用胶原酶灌注后分离的肝细胞,其被 ConA 与 WGA 的凝聚情况就不相同,用木瓜蛋白酶处理此细胞膜所释放出来的糖肽也各异^[25]。可能膜表面的改变导致了癌细胞丧失接触抑制。

标记选择素的研究还表明,转化细胞的膜的流动性和微管微丝系统均发生了某种改变,因而使得癌细胞膜的受体易于活动^[8]。

用选择素作探测实验,目前只能说明肿瘤细胞的确经历了某种改变,还不能详尽地说明肿瘤细胞膜所发生的具体变化,至于后者如何导致癌变就更不清楚了。由于发现正常细胞分裂时也经历着和转化细胞某些类似的变化,因而有人认为在细胞生长周期中可能存在着某种关键性开关点,癌转化就像扳动转辙器那样使细胞偏离正常生长周期,丧失接触抑制而恶性生长^[26]。

选择素与识别

识别是生命体的重要活动之一。无论单细胞生物或多细胞生物,都需具有对自身识别和对外界环境因子识别的系统,才能使其生命活动按一定的程序进行。识别的本质是分子与分子间的相互专一性作用,而蛋白质在其中占有重要的地位。

生物体含有三类与识别有关的蛋白质,第一类是酶,第二类是抗体,第三类则是选择素。这些蛋白质都具有专一性强、分布面广的特点。关于酶和抗体的生物学意义,已为人们所熟知,但对选择素在形成它的生物体内的作用则了解甚少。但人们越来越清楚地意识到,像酶和抗体一样,选择素(或类选择素)也在生命过程中起着重要的识别作用。作为研究生物膜工具的外源性选择素和对产生它的生物体起识别作用的内源性选择素是有区别的。下面将讨论内源性选择素在产生它的机体中的作用。显然,这种区分只是功能上的,并无化学本质上的意义。

1. 选择素在生命活动中的识别作用

(1) 细胞粘合 在粘霉菌 *Dictyostelium* 的生活史中,要经过以细菌为食的单细胞变形虫阶段,后者约每三小时分裂一次。当在细菌供应被耗尽后 9—12 小时,单细胞变形虫即凝聚,并相互结合成为一种稳定的凝聚状态,称假合胞体。这个凝聚过程是种属专一性的,如果将不同种的粘霉菌变形虫混合在一起,则只有同种的变形虫才能凝聚成假合胞体。已经发现,粘霉菌 (*D. discoideum*) 凝聚体的抽提物含有选择素,单个变形细胞则无;凡能与此选择素专一性结合的糖,都能抑制粘霉菌单细胞的凝聚。这说明选择素在凝聚过程中起了种的识别作用^[27]。

异叶状酵母 (*Hansenula wingei*) 融合时,单倍体细胞必须是对立和互补的配对型。这个品种的两个配对型,菌株 5 和 21,混合后立即凝聚。现已证实菌株 5 含有多价的选择素名因子 5,菌株 21 含有无凝聚作用的单价糖蛋白名因子 21,当这两种细胞一旦发生融合,两个因子

即不再进一步作用,二倍体也不再为任一因子所凝聚^[28]。

关于高等动物组织内细胞粘合问题,目前流行的看法是细胞膜上的糖分子与另一细胞上的蛋白质之间相互作用的结果,这个过程受酶,例如糖基转移酶的调节^[20]。最近有不少事实指出,选择素在细胞粘合成组织时起识别作用。例如,鸡胚胸肌含有两种选择素,一种具乳糖专一性,另一种具 N-乙酰半乳糖胺专一性^[31]。它们在肌细胞发育时大量出现,发育到一定阶段则减少,在成年的肌细胞中则完全消失,暗示此类选择素在肌细胞粘合过程中起了一定的作用。乳糖专一性的选择素已提纯,并证实存在于肌细胞膜上。新近还发现,这种选择素不存在于成年肌细胞膜上,但却存在于成年的肝、小肠和胰腺细胞膜上^[32];其意义尚不清楚。具有 N-乙酰半乳糖胺专一性的选择素和肝素、硫酸软骨素 B 都有高亲和力,而且在成肌细胞融合后立即释放至培养液内^[33]。

(2) 共生过程 豆科植物的根有和根瘤菌专一性共生的能力。二者形成结节的過程是专一性的,即一种豆科植物只能与其特定的根瘤菌成结节。最近证实,豆科植物根部有选择素,能识别根瘤菌的特殊细胞结构,它是决定能否成根瘤结节的首要环节^[34]。用荧光标记的 SBA 与 22 个日本根瘤菌菌株结合的试验表明,只有 15 个能与大豆成节结的根瘤菌可与 SBA 结合, N-乙酰半乳糖胺可抑制这种结合;不与大豆成结节的根瘤菌则不与 SBA 结合。³H-SBA 与细菌的亲合常数为 $5 \times 10^{-7}M$,每个细菌结合的选择素分子数平均为 2×10^6 ^[35]。用冰冻刻蚀法进行电子显微镜研究根瘤菌的结果表明,荧光标记的选择素能专一性地与细菌荚膜结构相结合,而细菌的外膜和鞭毛却不结合荧光标记的 SBA^[36]。新近用欧氏双扩散免疫沉淀法证实, SBA 能与日本根瘤菌表面的酸性表多糖 (exopolysaccharides) 呈专一性结合^[37],进一步从免疫化学上阐明了这种结合是一种分子识别过程。

(3) 病菌感染 细菌在人体粘膜组织上繁

表3 一些内源性选择素及其生理意义

来 源	糖专一性*	被凝聚的细胞类别	生理意义	文 献
豌 豆	葡萄糖甘露糖	人A型血球	与根瘤菌共生	<i>Plant sci. Lett.</i> , 18 (1): 65, 1980
南 瓜	壳低聚糖 N-乙酰葡萄糖胺		抗寄生虫作用	<i>Biochem. J.</i> , 183 (1): 133, 1979
捕食线虫菌 (<i>Arthrobotrys oligospora</i>)	N-乙酰半乳糖胺	红血球	参与捕食线虫 (<i>Panagrellus seduius</i>)	<i>Nature</i> , 281 , 477 1979
黄色粘球菌 (<i>Myxococcus xanthus</i>)	胎球蛋白中的糖醛	羊、豚鼠的红血球	细胞凝合作用	<i>PNAS</i> , 76 (11): 5505, 1979
电 鳗 (<i>Electrophorus electricus</i>)	β -半乳糖	胰蛋白酶处理的 红细胞	参与神经支配的 组织分化过程	<i>PNAS</i> , 72 : 1383 1975.
蛙鳟鱼卵	半乳糖 L-鼠李糖	人B型红血球 兔红血球	抑制鱼卵病菌生长	<i>ABB</i> , 183 (1): 25 1978
鸡胚视盖	乳糖	红血球	参与神经细胞的发育	<i>J. Cell Biol.</i> , 79 (2): 491, 1978
鸡胚视网膜及脊髓	乳糖	兔红血球	同 上	<i>BBRC.</i> , 83 (4): 1246, 1978
鸡胚胸软骨	乳糖	红血球	细胞分化	<i>Proc. Jpn. Acad. Ser</i> <i>B</i> 55 (8) 393, 1979
鼠星状细胞	半乳糖	神经胺苷酶处理 的兔红血球	细胞粘合	<i>BBRC.</i> 85 (2): 678, 1978
新生鼠脑	半乳糖胺	兔红血球	可能参与轴突 的形成	<i>Keio Igoku</i> 56 (4): 229, 1979
人血小球基膜	N-乙酰葡萄糖胺 N-乙酰半乳糖胺 N-乙酰神经氨酸	Kb 口腔表皮肿瘤 细胞胚包皮成纤 维细胞	细胞粘合	<i>PNAS</i> , 76 (10): 5129, 1979

* 本栏内的单糖,凡未特殊说明者均为 α -D型

殖是感染的一个重要步骤^[38]。现在已有事实说明选择素在感染过程中起识别作用。例如大肠杆菌和上皮细胞的结合,是由大肠杆菌表面上的具甘露糖专一性的选择素所促进,加入甘露糖则这种结合受到抑制^[39]。这个选择素已被提纯^[40],它的强抑制物是对-硝基酚 α -D-甘露糖。SOS 凝胶电泳实验指出,此选择素是一种具相同亚单位的聚合物,其亚单位的分子量为36500。

一般说来,由于细菌和被感染动物细胞都有糖分子构成的毡状糖包被 (glycolyx),二者的糖分子的相互作用,无疑是感染的一个关键,而选择素在此过程中往往起着十分重要的桥梁作用^[41]。

(4) 抗菌作用 对植物来说,选择素还可抵抗某种病菌的侵袭。WGA 对绿色木霉 (*Tr-*

ichoderma viride) 的抑制作用就是一个例子^[42]。用荧光标记的 WGA 与绿色木霉结合的实验指出,木霉新生菌丝体的顶端和中隔处有大量 WGA。而且 WGA 能抑制 ³H-乙酸进入菌丝体,壳三糖 (Chitotriose) 可以解除 WGA 的抑制作用。因为 N-乙酰葡萄糖胺及其低聚物壳三糖是菌丝体细胞壁壳多糖 (Chitin) 的前体,可能 WGA 以某种方式干扰了菌丝体顶端细胞壁的沉积作用,而抑制霉菌生长。由于植物种子的选择素含量一般较高,这可能是植物自身抗病的一种手段。

除 WGA 外, SBA 和 PNA 都能和麴霉 (*Aspergilli*) 的新生菌丝体的胞壁结合,并能抑制 ³H-醋酸, N-乙酰半乳糖胺-³H 和 ¹⁴C-半乳糖进入其菌丝体,以干扰霉菌生长。如果事先将选择素与相应的专一性糖结合,则它们不再表

现出对菌丝体的抑制作用^[43]。因此小麦、大豆、花生等种子对霉菌的抑制作用，可能是由于它们的选择素能识别霉菌合成细胞壁所需的糖而与之结合，从而使得霉菌不能正常地合成细胞壁所致。

(5) 花粉受精 植物的雌性生殖器官柱头，只接受同种花粉而拒绝异质花粉。有些植物，甚至其本身的花粉也不能萌发和穿过柱头表面，只有相宜的花粉才能在柱头上萌发，形成花粉管，穿入花柱，最后到达子房。这是一个促进种内异型杂交 (Outcrossing) 的自身不相容性的机制。它是花粉细胞壁的蛋白样结构和柱头表面的蛋白样结构相互作用的结果。现已初步弄清，樱草 (*Primula obconica*) 的柱头上的蛋白样物质，具有类选择素的作用，并可刺激花粉管的生长^[44]，它可能是花粉受精过程中自身不相容系统的一个成分。

(6) 衰老分子的清除 哺乳动物的血浆糖蛋白在血液中存在，其糖分子必须保留末端唾液酸残基，否则便被肝脏结合从血循环中被清除。肝脏之所以能清除这种去唾液酸的糖蛋白是因为它具有有一种叫肝结合糖蛋白(简称HBG)的选择素。它在清除去唾液酸糖蛋白时要求被清除的去唾液酸糖蛋白具有非还原性的末端 β -半乳糖残基。因为去唾液酸的血浆糖蛋白经半乳糖氧化酶作用后，或用唾液酸转移酶使它重新被接上唾液酸后，均可完全恢复该糖蛋白

在血中的循环，而不被 HBG 所清除。这说明肝脏的 HBG 可识别具半乳糖末端的糖蛋白^[45]。此外兔红血球在血循环中的半衰期可因唾液酸酶的处理而明显缩短，说明血浆蛋白或红细胞被酶除去其末端的唾液酸后裸露出了次末端的半乳糖分子。这可能是细胞和分子在生理衰老过程中的一个步骤^[46]。

兔肝脏的 HBG 已提纯^[47]，它对具有 β -半乳糖残基的糖蛋白和兔红血球表面的低聚糖苷有识别作用。这是第一个提纯的哺乳动物的选择素，含有 10% 左右的共价结合的糖，糖分子具有唾液酸、半乳糖、甘露糖和葡萄糖胺。HBG 能凝聚人和兔的红血球，此凝聚作用可专一性地被半乳糖、N-乙酰半乳糖胺所抑制，表明此选择素具有结合此类糖的结合位。这个选择素由分子量为 40,000 和 48,000 的两个亚单位所组成。

最近从牛脾脏内也分离出一种类选择素，名 BSBP (bovine spleen binding protein)，它能结合唾液酸酶处理的牛红血球，而对正常的红血球无作用；即和 HBG 相似，能识别红血球表面去唾液酸后的次末端半乳糖。SDS 凝胶电泳测定 BSBP 的分子量为 240,000 的酸性蛋白，等电点为 4.8，含 13% 的糖。BSBP 对人的外周淋巴细胞有刺激分裂的作用。和 HBG 一样，它可能参与清除衰老红细胞的过程^[48]。

(未完待续)

蛋白质晶体学——分子生物学的得力工具(二)

王 家 槐

(中国科学院生物物理研究所)

三、识别、活性和分子调节

蛋白质分子在几乎所有的生物学过程(包括酶的催化、传输和贮存、肌肉收缩、机体的机械支撑、免疫保护、神经脉冲的产生和传导、代谢调节以及生长和分化的控制等)中都起关键

的作用。一百多个不同类型蛋白质分子三维结构的测定，对于生物学家从分子水平理解这些过程的机理有很大帮助。在此仅从识别、活性和调节三个方面举一些实例。

概括地讲，任何生物学过程总是信息、能量和物质的传递。对其中大多数过程而言，实现