

微管蛋白 (Tubulin)

——真核细胞微管性质与功能的主角

孔 原 冷 麟

(复旦大学, 上海)

提 要

微管蛋白是真核细胞特有组分——微管的结构单位, 由 α 、 β 两种亚基组成。编码微管蛋白的是一个多基因家族, 其表达时期、表达部位及表达量的不同形成了不同性质和功能的细胞微管。体外实验发现, 微管蛋白在微管上加聚、解聚的反应与 GTP、GDP 有关。作为一种著名的保守分子, 微管蛋白缓慢的进化速率显示了微管对真核细胞的重要意义。

远在一个世纪以前人们就已发现细胞内存在微管, 但迟至 1963 年, 哈佛大学的 M. L. Ledbetter、K. R. Porter 与威斯康星大学的 D. B. Slantterback 才正式命名了微管^[1]。微管在细胞形态发生、胞体运动、胞内运输和机械支持甚至感觉功能等方面均起着重要作用。所有微管都由微管蛋白以纵向偏位的方式组成。近三十年的研究表明, 微管的性质功能几乎都与微管蛋白性质直接相关。

一、微管蛋白: 发现与结构

本世纪中叶, 当原生动物纤毛和鞭毛在电子显微镜下日益显示出复杂的内部结构时, 人们对其大分子组成还几乎一无所知。1957 年, J. Tibbs 才首次揭示: *Polytoma* (无色滴虫属) *uvella* 的鞭毛“部分地具有蛋白性质”。自此, 人们开始对纤毛、鞭毛进行定量生化分析。1959 年 1 月 F. M. Child、12 月 R. F. Jones 与 E. A. Lewin 分别报道首次从 *Tetrahymena* (四膜虫属) *pyriformis* 以及 *Chlamydomonas* (衣藻属) *moewusii* 中分离出足够进行微量化学分析的纤毛和鞭毛, 并报告了其部分理化、酶学性质。1964 年伦敦 King's 大学的 M. R. Wa-

tsen 等人用三氯乙酸沉淀 *T. pyriformis* 纤毛提取物后发现, 其中有一个组分溶于乙醇, 且在超速离心、紫外吸收、胶扩散和氨基酸分析中与其余不溶组分有明显不同; 并且, 该组分在离心沉降中只有一个界面, 在胶扩散中只有一条沉淀线。他们设想该蛋白组分系纤毛主要成份之一。1966 年, 哈佛大学的 F. L. Renaud 从 *T. pyriformis* 的纤毛中提取出外周纤维, 分析后认为它基本是单一蛋白组分, 与肌动蛋白相似, 分子量为 60000 ± 5000 dal.。1968 年, 日本东京大学的森 (Hideo Mohri) 等人总结已有资料认为, 从纤毛、鞭毛中提取的被称为“microtubule protein (微管蛋白质)”的组分, 是与肌动蛋白相似但不相同的一类蛋白。他们首先建议命名为“tubulin”^[14], 即“微管蛋白”。

七十年代确知, 微管蛋白分子量约为 11000 dal.。它在 SDS-尿素凝胶电泳中呈两条清晰的带表明, 它由两个亚基构成; 现称 α -tubulin 和 β -tubulin。但 SDS 凝胶电泳中它只是一条带, 所以, α 、 β 亚基的分子量是相同的——约为 55000 dal.; 其形状是相似的——均呈球形, 直径 4 纳米。显然 α 、 β 亚基在所带净电荷或与尿素反应的性质上有所差别。细胞质

中的微管蛋白一般以二聚体形式存在,也有寡聚体形式^[15],但基本没有大量游离 α 或 β 亚基,因为不形成二聚体的亚基会很快被降解,细胞以此维持其微管蛋白储池中 α 、 β 亚基数量的相等^[19]。

二、微管功能多样性:微管蛋白的贡献

微管功能的多样性是否能在微管蛋白的水平上解释呢?在不同种类的细胞中发现,微管蛋白确实不止一种,如动物脑中可以测到多达18种^[9]。这主要是由于微管蛋白基因的复杂性与其转译后的修饰(β -tubulin磷酸化、 α -tubulin乙酰化和酪氨酸化等)所致。现已知微管蛋白基因是一个多基因家族,各个基因散布在整个基因组中^[11];许多系带有遗传损伤的假基因^[19]。

微管蛋白基因表达具有组织专一性,由胚胎发育分化调节。果蝇 *D. melanogaster* 的基因组有 α -、 β -tubulin基因各4个,其中1个 α 基因主要在卵发生中和胚胎发生后表达;而1个 β 基因则只在精巢中表达,其突变会导致果蝇雄性不育^[1]。不同微管蛋白基因的表达也能形成不同性能的微管。1986年安达(Adachi)在比较了 *Schizosaccharomyces pombe* (粟酒裂殖酵母,含 α_1 -、 α_2 -tubulin和 β -tubulin)的野生型与 α_2 基因破损的突变株后发现,后者对抗微管药物thiabendazole要敏感得多^[11]。似乎 α_2 能使微管更稳定,能抵抗该药物引发的解聚作用。Thompson(1984)用单克隆抗 α -tubulin抗体识别发现,胞质微管由抗原性不同的微管蛋白亚基组成。也就是说胞质微管内存在“微管亚群(Subset)”,它们彼此在组成与功能上均有不同^[18]。Gundersen(1986)发现,海胆鞭毛与纤毛含有不同的 α -tubulin而鞭毛A、B亚纤维也含有不同种微管蛋白^[9]。看来微管多样的结构与功能,“与其各类亚基在不同细胞以及同一细胞不同部位中的专一表达有关。

微管的稳定有利于保持细胞的外形和内部结构。但微管的稳定性各不相同。鞭毛、纤毛的微管特别稳定,一般抗微管药物均不能使之

解聚。较易解聚的胞质微管,其稳定性亦不尽相同。Cassimeris(1986)发现,人单核细胞胞质微管复合物解聚的引发不是同步的:其中70~84%的所谓“易变微管”解聚启动快、进行速度大;其余16~30%则启动慢且进行速度小^[12]。类似的现象Salmon(1984)在海胆胚中已有报告。微管的稳定性是否也与微管蛋白性质有关呢?

M. LeDizet等(1986)发现, α -tubulin乙酰化了的胞质微管对解聚诱发剂秋水仙素和nocodazole的抗性比非乙酰化微管要强得多。它们不仅分布在鞭毛轴丝中(这是鞭毛微管特别稳定的原因之一),还分布在质膜下基粒及其附近,形成辐射状微管群^[11]。MAPs(微管联合蛋白)能与微管中若干个微管蛋白分子连结,促进微管聚合,增加其稳定性^[8]。微管蛋白异构体间的差别对微管的不同稳定性亦有贡献。Cassimeris在发现前述两类微管时就已设想:某些种类微管蛋白能形成更为稳定的微管^[12]。最近,原田(Harada)等人(1986)证实,微管蛋白异构体能聚合成微管的程度有所不同。他们在小鼠淋巴细胞(L5178Y)中找到2种微管蛋白亚基: $M\beta_1$ -tubulin和 $M\beta_{11}$ -tubulin;无论体内还是体外, $M\beta_1$ 更易聚合^[16]。而Whitfield等人(1986)在抗乙酰甲秋水仙素(Cmd)的中国仓鼠卵巢细胞突变体Cmd-4中找到的突变型 β -tubulin能使微管“超稳定”:一旦形成即难以解聚——这会干扰微管的某些重要功能,如染色体分离等^[19]。

以上工作足以说明,反映在微管稳定性以及其他性质功能上的差异实际都是微管蛋白的差异所致;而这些差异可以在转译后经修饰形成,也可以源于分化过程中微管蛋白基因家族的成员在不同时期、不同区域的表达。

三、聚合动力学:微管蛋白 组装微管的初探

真核细胞微管的许多重要功能都与其聚合、解聚的性质有关,如细胞形态变化、定向运动、胞内物质(如色素颗粒)与“器官”的移迁(有

丝分裂、减数分裂中染色体的极向移动)。为理解微管行使这些功能的机制,早在七十年代初就开始了体外微管蛋白与微管动力学关系的研究;不久又展开了体内实验^[17]。对微管蛋白如何聚合成微管, Gaskin (1974)、Amos 与 Klug (1974)、Margolis 和 Wilson (1978)、Inoué 和 Salmon (1981)、Mitchison 和 Kirschner (1984) 以及 Hill 与 Carlier (1983) 等人提出了一系列理论模型来描述微管蛋白组装微管的动力学性质^[7,9,13,17]。目前较为流行的模型有: Margolis 等 (1981) 的“microtubule treadmilling (微管踏车)”模型^[12]、Mitchison (1984) 的“dynamic instability (非稳态动力学)”模型^[13]与 Inoué 等 (1981) 的“breathing or breaking and annealing (呼吸或断裂-粘合)”模型^[9]。它们都建立在微管蛋白具有与 GTP、GDP 分子作用位点的基础上。Margolis 发现, GTP 不存在时,他所谓“tubulin flux (微管蛋白流)”就不发生;而 Mitchison 在其模型中认为,增长的微管末端有 tubulin-GTP 帽,而缩短的微管则是 tubulin-GDP 帽。显然,微管蛋白与 GTP 的反应机制是了解微管组装的基础。以上诸模型认为,微管蛋白亚基可以在微管两端甚至全长上动态地连接、脱卸,并且体外实验已测出其反应速度常数。能否以这些常数来定量描述活细胞内微管蛋白的行为? 考虑到体外条件与体内环境的明显不同, Salmon 等认为必须以微管蛋白扩散系数 D 在这两种情况下的相对大小来校正。他的工作 (1984) 表明,海胆胞质粘度对蛋白质 (包括微管蛋白) 来说是水溶液的 8 倍左右^[15]。经校正,微管蛋白在胞质中连接反应的速度常数就要小许多^[16]。Saxton 等 (1984) 发现,游离微管蛋白与微管中二聚体交换的表现速度在活细胞内还会随时间变化,如有丝分裂时就比在间期快^[17]。这也暗示胞内环境的不同能影响微管蛋白行为。这或许包括对其基因表达的调控。值得一提的是,有迹象表明,胞质微管蛋白浓度似乎能反馈影响其自身 mRNA 的表达^[3]。

今天,对微管组装机制的研究方兴未艾,微管蛋白在其中扮演的重要角色也已经初露端倪。

倪。

四、分子进化: 微管蛋白在真核细胞中的地位

微管蛋白是著名的保守性蛋白。P. Dustin (1980) 认为“约十亿年前第一个真核细胞在地球上出现时,微管蛋白就已这样存在了。”^[4] 微管蛋白保守性可由分子进化学定量地进行估计。1981 年 Valenzuela 等、Ginzburg 等分别定出鸡和小鼠 α -tubulin 羧端附近区域的基因顺序。木村资生 (Motoo Kimura) 比较了其中 145 个密码子,在参照古生物学资料的基础上,他计算出 α -tubulin 的氨基酸替换率——群体遗传学意义上的进化速率—— $K_{aa}=0.0069 \times 10^{-9}$ 氨基酸座位/年。在已研究的蛋白中这几乎是最慢的。相反,进化很快的[血]纤维蛋白肽的 K_{aa} 值可高达 8.3 (一说 4.5) $\times 10^{-9}$ 氨基酸座位/年^[10]。

另一个例子也许更加形象。象粟酒裂殖酵母一样(前文),酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中也有两个 α -tubulin (THB1、THB3) 和一个 β -tubulin 基因 (THB2)。已知 THB1 与 α_1 都是必需的, THB3 与 α_2 则均为非必需。而 THB3 破损的菌株对抗微管药物 benomyl 的敏感性也高于野生型。这两种酵母在分类上不在同一个属,但其微管蛋白基因的作用方式却如此相似。Adachi (1986) 声称这亦是微管蛋白进化保守性的表现^[1]。作为旁证, Gozes 等人及以后有关工作表明,微管蛋白几乎都是专一地在细胞核内合成的^[20]。这似乎是微管蛋白保守性的一种保证。

根据日本数学遗传学家木村资生的“中立突变随机漂变假说”(the neutral mutation-random drift hypothesis), (简称“中立学说”), 生物功能不重要的分子的进化速率,比功能重要的分子进化速率要大。微管蛋白缓慢的进化速度表明,它必定在真核细胞中行使着十分重要的功能。承受着巨大的选择压力。由此微管在真核细胞中的重要性也可见一斑。

微管为真核细胞所特有。要理解真核细胞

热休克蛋白的分子生物学

梅尚筠 梅星元

(华中师范大学生物系, 武汉)

提 要

热休克应答是一种普遍的生物学现象。热休克蛋白 (hsp) 分为高分子量和低分子量两大类。hsp 基因的表达是在转录水平和翻译水平进行调节的。hsp 的功能与调节机体的耐热性有关。

早在 1935 年 Goldschmidt^[1] 就研究了热对果蝇基因表达的影响, 加热果蝇的蛹可诱导出发育缺陷型, 称之为拟表型。1962 年 Ritossa^[2] 观察到果蝇的幼虫在 30°C (比正常温度高 5°C) 时, 其唾液腺的染色体上产生了特殊的膨突 (puffs)。1974 年 Tissierres^[3] 等人在黑腹果蝇中发现了热休克蛋白 (Heat shock protein, 简称 hsp)。热休克 (简称 HS) 和环境的应力 (stress) 诱导产生了 hsp 并关闭了正常蛋白质

合成的生理反应称为热休克应答 (Heat shock response)。热休克应答现象在原核生物和真核生物中都被发现过, 此反应可能是使细胞适应迅速的 HS 并对相继的 HS 产生耐热性。近年来发现这是一种普遍的生物学现象, 因而也是当今非常活跃的研究领域。

一、热休克蛋白的合成

所有有机体诱导产生的 hsp 可以粗略地分

为复杂的生命现象, 不能不理解其骨架的主要成份——微管的作用方式; 这, 又离不开对微管蛋白——微管结构、性质、功能的主角的认识。由于微管遍布整个真核细胞, 微管蛋白几乎与所有的细胞组份都有联系, 故影响其行为的因素特别多: 温度、压力、激素、ATP 浓度、GTP 浓度、胞质粘度、MAPs 等。真正弄清上述因素如何在多个层次上影响微管蛋白基因的转录、转译, 影响各类微管蛋白异构体从而影响微管, 由此而影响到真核细胞的新陈代谢, 将在今后一段长时期内摆在我们面前。这是人类揭示真核细胞生命活动奥秘的必由之路。

参 考 文 献

- [1] Adachi, Y. et al.: *Molecular and Cellular Biol.*, 1986, 6(6), 2169.
- [2] Cassimeris, L. U. et al.: *J. Cell Biol.*, 1986, 102(6), 1023.
- [3] Cleveland, D. W. et al.: *Nature (Lond.)*, 1983, 306,

- 738.
- [4] Dustin, P.: *Sci. Amer.*, 1980, 243(2), 66.
- [5] Gundersen, G. G. et al.: *J. Cell Biol.*, 1986, 102, 1118.
- [6] Harada, F. et al.: *Exptl. Cell Res.*, 1986, 166(2), 265.
- [7] Hill, T. L. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 1983, 80, 7234.
- [8] Holtzman, E. & Novikoff, A. B.: *Cells & Organelles* (3rd ed.), Saunders College Publishing, 1984.
- [9] Inoué, S.: *J. Cell Biol.*, 1986, 103(2), 13.
- [10] Kimura, M.: *The Neural Theory of Molecular Evolution*, Cambridge University Press, 1983.
- [11] LeDizet, M. et al.: *J. Cell Biol.*, 1986, 103(2), 13.
- [12] Margolis, R. L. et al.: *Nature (Lond.)*, 1981, 293, 705.
- [13] Mitchison, T.: *Nature (Lond.)*, 1984, 312, 237.
- [14] Mohri, H.: *Nature (Lond.)*, 1968, 217, 1053.
- [15] Salmon, E. D. et al.: *J. Cell Biol.*, 1984, 99, 2157.
- [16] Salmon, E. D. et al.: *J. Cell Biol.*, 1984, 99, 1066.
- [17] Saxton, W. M. et al.: *J. Cell Biol.*, 1984, 99, 2175.
- [18] Thompson, W. M. et al.: *J. Cell Biol.*, 1984, 98, 1017.
- [19] Whitfield, C. et al.: *Molecular and Cellular Biol.*, 1986, 6(5), 1422.
- [20] 周立庆: «生命的化学», 1986, 6(4), 27.

[本文于 1987 年 3 月 23 日收到]