

肌动蛋白微丝等与细胞膜

——细胞的运动(四)

何 泽 涌

(山西医学院)

细胞膜的结构是液态的脂质双层中镶嵌着各种各样球状的蛋白质。许多实验证明细胞膜内面的微丝、微管不仅和蛋白质在细胞膜上的分布移动有关,而且还和细胞的主动移动,和细胞核内 DNA 是否开始进行复制等细胞的功能活动密切相关。

一、细胞进行吞食作用时细胞膜

蛋白质的移动

细胞进行吞食作用时,当细胞膜和被吞食的物质接触后,附着被吞食物的细胞膜部分向细胞内凹陷;被吞食物被内凹的细胞膜包围成一小泡,叫吞食泡。小泡和表面细胞膜离断,进入细胞内。因此,细胞每经吞食作用后,细胞膜就要向细胞内凹入一部分。吞食作用愈旺盛,表面细胞膜凹入得愈多,从而表面消失也愈多。吞食作用旺盛时,50% 的细胞膜可进入细胞内。

营养物质进入细胞,是靠细胞膜上一定种类的蛋白质输送的。实验发现吞食作用后,虽然一部分细胞膜凹入细胞内成为吞食泡,自细胞表面消失;但营养物质从细胞外到细胞内的输送率,和吞食作用开始前一样。这说明,细胞膜上输送营养物的蛋白质在吞食作用中没有减少。这时若施加蛋白合成抑制剂,营养物的输送仍不受影响。这说明吞食作用后,营养物质输送并非由于新造出的运输营养物的蛋白质镶嵌在细胞膜上;而是吞食作用时,细胞膜一部分内凹进入细胞内时,表面细胞膜上原有的运输营养物的蛋白质,并没有跟吞食泡一起自表面细胞膜消失。

若用秋水仙硷破坏吞食细胞的微管,则细胞进行吞食作用后,细胞膜营养物质输送率便降低。表面细胞膜进入细胞内成吞食泡愈多,营养物质输送率降得愈低。这说明,吞食作用时,微管使细胞膜输送营养物的蛋白质,不跟吞食泡一起自表面细胞膜上消失。

二、细胞膜受体的帽形成

细胞膜上的蛋白质,有些可和外界的物质特异地结合。这样的蛋白质称作受体。能和细胞膜受体特异结合的外界物质,称作受体的配体(Ligand)。有些配体,一个能同时和几个同样的受体结合,这样的配体称作多价配体。多价配体,如抗体、植物血凝集素等,与其相应的受体结合时,在细胞膜上,分散分布的受体配体结合物,先集成小群(cluster),群又集成斑(patch),斑向细胞的一端聚集,形成帽(cap)。由群集成斑的变化可在低温下进行,用 NaN_3 抑制代谢的条件下也可进行,因此这过程是不消耗能量的。由斑集成帽,是耗能的过程需 ATP 供给能量,须在 37°C 进行。若在多价配体与相应受体结合时,加细胞松软素,就不能形成帽。因此帽的形成和肌动蛋白微丝有关。

帽形成后,凹入细胞内,与表面细胞膜离断,此即入胞作用。

用双重荧光染色法,可以同时观察细胞帽形成过程中细胞膜上受体配体结合物的分布情况,和细胞膜内面肌动蛋白或肌球蛋白的分布情况。这是用两种不同颜色的荧光染料,一种与配体结合,用以显示受体配体结合物,另一种

显示肌动蛋白或肌球蛋白(用荧光染料与HMM结合显示肌动蛋白,用间接免疫荧光法显示肌球蛋白)。用双重荧光染色法发现,细胞膜上的受体配体结合物聚成斑、帽时,细胞膜内面的肌动蛋白、肌球蛋白就在细胞膜斑、帽的下边,同时也形成斑、帽。称作下斑(subpatch),或伴斑(copatch),下帽(subcap),或伴帽(cocap)。

目前认为肌动蛋白微丝是在细胞膜内面的一种表在蛋白,它和细胞膜的某种镶嵌蛋白(X蛋白)连结着。镶嵌在细胞膜的某种受体蛋白与相应的多价配体结合时,受体移动,聚成斑。由于这种受体的聚集移动,使它和X蛋白相连接。因此这受体便间接地和肌动蛋白微丝相接。细胞内,肌球蛋白和肌动蛋白是经常相伴存在的(缆)。和肌细胞内肌动蛋白、肌球蛋白的滑动引起收缩一样,由于与受体间接相连的肌动蛋白、肌球蛋白缆的收缩,使斑集成帽。因此,帽形成和肌收缩一样,需ATP供能。细胞松软素破坏肌动蛋白微丝,帽形成便不能出现。

大鼠或兔的卵巢颗粒细胞,用伴刀豆球蛋白A(简写ConA)与细胞膜相应受体结合,引起帽形成。作超薄切片电镜观察帽形成过程中微丝、微管及中间丝的分布,有以下变化:多价配体(ConA)与细胞膜相应受体结合时,受体配体结合物聚成斑,同时在斑下的细胞膜内面有微丝聚集,并且细胞膜内面出现放射状分布的微管(图1A)。这些微管分别通过各斑下的微丝聚集处。诸斑及其下聚集的微丝,以放射状

分布的微管的放射中心为中心,逐渐互相围成环状(图1B)。随微丝环逐渐向中心收缩,它上面细胞膜的斑也随之聚成帽(图1C)。有帽部分的细胞膜凹陷入细胞体内,与表面的细胞膜离断,形成小泡。在小泡的外表有微丝、微管、中间丝的细网包缠着(图1D)。

三、细胞膜蛋白质与肌动蛋白的连接

细胞膜受体蛋白和相应的多价配体结合,形成斑、帽时,细胞膜内面的肌动蛋白同时也出现下斑、下帽。因此推测,细胞膜受体蛋白和细胞膜内面的肌动蛋白,在一定条件下能相连接。但这些实验,还不是细胞膜蛋白质能和肌动蛋白相连接的直接证明。鉴定某种蛋白是否和肌动蛋白相连接的方法,目前有肌球蛋白亲和技术,肌动蛋白和肌球蛋白丝有强亲和力。若某种蛋白和肌动蛋白连结着,那么这种蛋白就能通过其相连的肌动蛋白,和肌球蛋白丝相结合。若使肌球蛋白丝饱和地和单纯的肌动蛋白先结合;那么肌球蛋白丝就不能再和结合有某种蛋白的肌动蛋白结合了。

用肌球蛋白亲和技术发现,淋巴细胞膜表面的免疫球蛋白,没和二价配体结合之前,表面免疫球蛋白并不与其膜内面的肌动蛋白连结。但当免疫球蛋白与相应的二价抗体结合后,也即受体配体结合物聚集成斑后,才能证明表面免疫球蛋白和肌动蛋白结合着。

小鼠肥大细胞瘤的P815细胞37℃培养时,细胞表面微绒毛不断地脱落。组织相容性抗原是贯穿镶嵌在细胞膜脂质双层的一种糖蛋白。P815细胞的脱落物中含有大量的组织相容性抗原和肌动蛋白。用去垢剂处理脱落物,使细胞膜的蛋白质和脂质分离。再用肌球蛋白亲和技术证明,即使组织相容性抗原离开了脂质双层,仍然和肌动蛋白牢固地结合着。

用肌球蛋白亲和技术进一步证明了,镶嵌在细胞膜内的有些蛋白质和细胞膜内面的肌动蛋白在一定条件下能牢固地连结着(图2)。但二者之间的连结,是直接的,还是间接的,有待进一步解决。

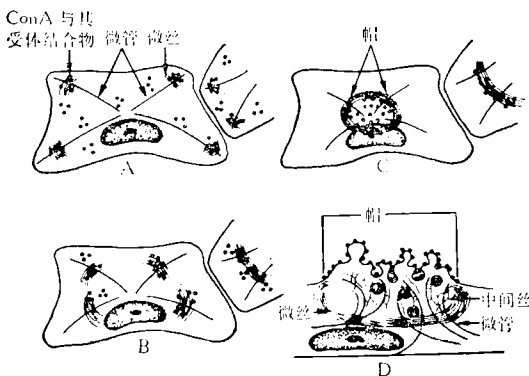


图1 细胞膜受体与其多价配体结合后帽形成过程中,微丝、微管、中间丝的分布变化
(ConA与卵巢颗粒细胞膜上的相应受体结合)

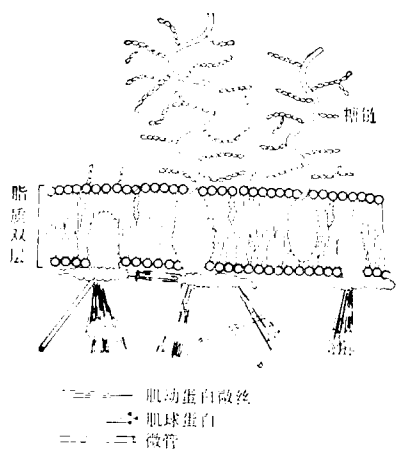


图2 细胞膜蛋白质与肌动蛋白微丝、肌球蛋白、微管的连接

四、细胞膜受体的停泊变化

淋巴细胞膜上的表面免疫球蛋白，与相应抗体结合时，可出现帽。若淋巴细胞先经一定浓度的 ConA 处理，而后表面免疫球蛋白再遇相应抗体时，便不能出现帽。ConA 并不进入细胞内，只在表面与其相应受体结合。因此使表面免疫球蛋白停泊在细胞膜液态的脂质双层的一定位置上，不能移动。细胞膜的这种变化，称作停泊变化 (anchorage modulation)。这种变化是可逆的。当除去表面的 ConA，停泊变化便消失。ConA 是能四个相应受体结合的四价配体。琥珀酰伴刀豆球蛋白 (Succinyl ConA) 是只能和两个 ConA 受体相结合的二价配体。琥珀酰 ConA 即使也和这种受体结合，但不能引起停泊变化。若用秋水仙碱破坏微管，则停泊变化便消失。这些说明，当四价的 ConA 在细胞膜外表，架桥似地和四个 ConA 受体结合，引起细胞膜内面的管蛋白聚合成微管。细胞膜内面微管形成，引起停泊变化。

血小板比淋巴细胞的直径小得多。先使血小板和 ConA 结合，而后使血小板通过结合的 ConA 与淋巴细胞膜的 ConA 受体相结合。以此可以观察淋巴细胞表面 ConA 和相应受体结合的位置及结合的部位的大小。只需少数结合有 ConA 的血小板，和淋巴细胞细胞膜某一局部的 ConA 受体结合，便可阻止淋巴细胞表面免疫球蛋白与相应抗体结合后的帽形成，即引起全

细胞膜的停泊变化。上述实验说明，细胞膜的停泊变化，细胞膜内面的管蛋白聚合成微管，是从细胞膜某一局部开始，向全细胞膜扩展。

另一种观察测定细胞膜受体可动性大小的方法是光消退恢复法。它是将细胞膜某一定受体与用荧光染料标记的相应配体结合。而后用强聚焦激光 ($\lambda = 528.8$ 毫微米) 照射细胞膜上某一极小区域 (约 $3 \mu\text{m}^2$)。小区域受激光照射后，荧光消退，而且消退是不可逆的。倘若细胞膜上受体是可移动的，那末消退区域周围有荧光染色标记配体结合的受体可向这区域移动，从而使这区域的荧光恢复。受体的可动性愈大，受体的扩散率愈高，受照射区域的荧光恢复就愈快。倘若细胞膜出现停泊变化，受照射区域就不能恢复出现荧光。

用结合有 ConA 的血小板作用于 3T3 成纤维细胞，使血小板和细胞膜面积的 4—30% 接触，而后在细胞膜的不同部位，用光消退恢复法测定受体可动性的大小，即测定荧光扩散率的大小。不论离有 ConA 的血小板接触部位的距离多远，荧光扩散率都比没有 ConA 作用时显著低，出现停泊变化。这也证明：当 ConA 与细胞膜的某局部的相应受体结合，可引起全细胞膜的停泊变化。即变化由细胞膜某一局部开始，扩展到全细胞膜。光消退恢复法同样证明：用秋水仙碱破坏微管时，停泊变化便解除。

五、使细胞进行分裂的信号的调度者

细胞的生活周期，一般分四期：M 期、G₁ 期、S 期、G₂ 期。M 期即细胞进行有丝分裂的时期，在显微镜下可以见到染色体分裂、移动等一系列的形态变化。细胞完成有丝分裂后，有的细胞分化成熟，进行其固有的功能活动，经一段时间后终于死亡。过一段时间后细胞核内的 DNA 进行复制。DNA 复制过程可使细胞摄取 ³H 标记的胸腺嘧啶脱氧核苷，然后用放射自显术显示。DNA 复制期称作 S 期。M 期与 S 期之间，有一段形态上不见显著变化的时期，称作 G₁ 期。S 期与 M 期之间是一段细胞形态无显著变化的时期，称作 G₂ 期。实验证明，细胞只要

进入 S 期,便必然地进入 G₂ 期然后进入 M 期。因此细胞进行分裂的关键是: 是否进入 S 期。那么什么机制决定细胞进入 S 期的,即细胞的什么结构调度着细胞进行分裂的信号。这也是阐明肿瘤细胞无限制分裂增殖机转的首要基础理论问题。

培养正常的细胞时,细胞不断分裂,但一个细胞和相邻的另一个接触时,细胞的分裂便停止,因此不会一个细胞叠在另一细胞上面。这称作接触抑制。多细胞动物身体内的细胞不是无限制地分裂增殖,之所以能形成有一定结构的组织、器官;是通过一系列细胞间类似接触抑制样的机转调节的。培养的肿瘤细胞,就没有这样的接触抑制。正进行分裂的人工培养的正常细胞,仅仅细胞膜相接触,便抑制了它们的分裂。即在细胞膜相接触时,发出信号,不让它们进入 S 期。

高浓度 ConA 引起细胞膜停泊,同时也抑制细胞分裂。相反,低浓度 ConA 既不引起细胞膜停泊,还可促使细胞进入 S 期。ConA 促使细胞进入 S 期的作用,可被秋水仙硷阻断。

当培养液中缺血清时鸡胚成纤维细胞便停留在 G₁ 期。若加入血清,便促使细胞进入 S 期。这时加秋水仙硷又可阻断细胞进入 S 期。ConA 的浓度达到可引起细胞膜受体停泊变化时,加血清而促使细胞进入 S 期,也能被它阻断。

培养经鸡肉瘤病毒温度敏感变种 TSNY 68 感染的成纤维细胞,在 37℃ (能向肿瘤转化的温度),由于肿瘤基因 (src 基因) 产物的作用,细胞向肿瘤转化。用免疫荧光法观察转化细胞的肌动蛋白,管蛋白,它们都呈弥散分布,不成微丝、微管。当温度升至 41℃ (非转化温度),细胞外形变得正常,细胞内肌动蛋白,管蛋白聚合成微丝、微管。

这些实验说明,细胞生活周期进入 S 期的控制,一方面与细胞膜受体接受外界相应信号 (配体),如 ConA 与其受体结合等有关,又与细胞内肌动蛋白、管蛋白等聚合状态,与微丝、微管的结构状态有关。秋水仙硷、肿瘤基因产物

都能影响或破坏微管的结构状态,从而影响使细胞进入 S 期的信号的传递与调度。有人把细胞膜受体与细胞膜内面的微丝、微管,合称作细胞表面调节装置。认为细胞表面调节装置是使细胞进行分裂的信号的调度者。

关于细胞表面的信号怎样传递到细胞核,促使 DNA 开始复制,目前看法还不一致。有一种看法是,微丝、微管在细胞内构成网,网连结在细胞膜与细胞核基因组的结构 (DNA) 之间。细胞表面的信号,通过微丝、微管网,传到细胞核内的一定基因组的结构上,调节 DNA 的复制。但微丝、微管与细胞核之间的连结还没有确实的证明。肌动蛋白微丝、微管怎样传递不同的信号,也没有说明。另一种看法是,细胞核内 DNA 的复制受细胞体内的一种赋活物质 (activator) 控制。这种赋活物质的活性又是受细胞表面调节装置 (细胞膜受体 + 微管 + 微丝) 控制。在肿瘤细胞 (图 3),由于肿瘤基因产物的干扰作用,使细胞表面调节装置不能对赋活物质活性进行控制;从而使细胞核内 DNA 复制也失去控制,于是细胞不断分裂增多。肿瘤细胞由于表面调节装置的功能受到肿瘤基因产物的干扰,当它与相邻细胞接触时,不能抑制赋活物质的活性,也即不能引起接触抑制。赋活物质是什么,细胞表面调节装置怎样调节赋活物质的活性,还都没有说明。

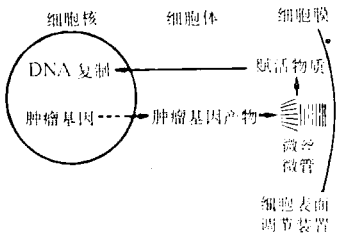


图 3 细胞表面调节装置对细胞分裂控制的机转及其在向肿瘤转化时的变化

六、肌动蛋白微丝与 LETS 蛋白

成纤维细胞、平滑肌细胞、脂肪细胞、巨食细胞等的细胞膜外表有一种分子量 440,000—450,000 的蛋白质。细胞向肿瘤转化时,这种蛋白质很敏感地减少乃至消失。这种蛋白质称作 LETS 蛋白。LETS 蛋白是一种糖蛋白。其糖

链中含有唾液酸、己糖、己糖胺等。LETS 蛋白由两个亚单位 α 链与 β 链构成。两亚单位由 S—S 相连接。在培养的正常成纤维细胞, LETS 蛋白在细胞表面呈细网状分布。细胞分布比较松散时, LETS 蛋白主要在细胞接触培养器底的一面。细胞分布紧密时, LETS 蛋白除主要在细胞的接触培养器底的一面外, 还多量在细胞互相接触的部位。相邻细胞表面的 LETS 蛋白可架桥似地连结跨在两细胞之间。M 期时细胞表面 LETS 蛋白减少, 分裂间期则 LETS 蛋白较多。细胞在培养液中悬浮时表面的 LETS 蛋白减少, 它附着在固态的培养器底时又增多。因此认为, LETS 蛋白的功能可能与细胞的附着于固态物体及细胞间相互作用有关。

向肿瘤转化的成纤维细胞, 细胞膜上的 LETS 蛋白绝大部分消失, 只在细胞间相互接触处, 偶见散在的极少量的 LETS 蛋白。肿瘤化细胞表面的 LETS 蛋白愈少, 细胞的恶性度愈高, 它的转移能力愈强。

培养的正常成纤维细胞, 肌动蛋白微丝成束伸展在细胞内, 细胞呈棱形, 同时细胞表面有 LETS 蛋白。细胞向肿瘤转化时, 肌动蛋白微丝减少或消失, 细胞略呈球形, 细胞表面的 LETS 蛋白也减少或消失。向肿瘤转化的成纤维细胞, 若从外边把 LETS 蛋白加在细胞膜外表上, 则细胞内重新出现肌动蛋白微丝束, 细胞形态也恢复棱形, 并能附着在培养器底上。成纤维细胞表面的 LETS 蛋白与细胞内肌动蛋白微丝的存在, 二者呈正相关。关于相关关系的实质, 目前尚不明确。

七、细胞的主动移动

巨食细胞、中性粒细胞等吞食细胞可向它要吞食的物质运动。身体有创伤时, 它周围的结缔组织细胞、上皮细胞可移向创伤处。胚胎期, 许多细胞进行主动的位置移动。细胞究竟通过什么样的机转进行主动移动的? 有人认为: 是由细胞表面的细胞膜物质的流动引起的。有一种学说认为和履带式拖拉机的移动一样, 细胞膜相当于履带, 当细胞膜物质向后流动时, 细

胞便向前移动。流到细胞后端的细胞膜物质进入细胞体, 溶解在细胞浆内, 而后在细胞内扩散流向细胞前端, 再构成细胞膜, 继而又向后流动。另一种学说是把细胞的主动移动机转和细胞膜帽形成的机转, 统一解释为细胞膜某种蛋白质向一端流动时, 其他成分则相反地向另一端移动。帽形成时, 某种受体配体结合物的流动, 是向细胞出现帽的那一端移动。细胞主动移动时, 某种膜蛋白质附着在固态的基地上, 当这种膜蛋白质流动时, 其他细胞膜成分逆向地流动, 这样, 整个细胞的位置便移动了。这两种学说, 都没有说明细胞膜物质怎么会流动的, 也没有说明细胞怎么会向一定的方向移动。

细胞内能将化学能量转变为机械能量的是肌动蛋白、肌球蛋白等。用细胞松软素破坏肌动蛋白微丝, 细胞就不能移动。因此细胞的主动移动是和肌动蛋白、肌球蛋白相关的。肌动蛋白微丝在一定条件下和细胞膜的有些蛋白质相连接。因此有人认为, 上述那两种用细胞膜物质流动解释细胞的主动移动, 和用车(细胞膜物质)拉马(肌动蛋白微丝), 而非马拉车, 来解释马车的主动移动一样。

有人用电镜观察中性粒细胞进行趋化作用移动时的结构变化。用大肠杆菌内毒素活化血清作为化学吸收剂。在中性粒细胞与放有化学吸收剂的小槽之间, 隔着有微孔的薄隔。中性粒细胞移动伸出的伪足能伸入微孔内, 但细胞全体通不过微孔。化学吸收剂通过微孔向中性粒细胞所在的小槽扩散。化学吸收剂的浓度形成一梯度, 离孔愈远, 浓度愈低。中性粒细胞受梯度的化学吸收剂作用, 向着微孔方向(浓度高的方向)伸出伪足。在伪足的细胞膜内面, 微丝显著增多, 伪足的后方有中心粒, 中心粒四周有成放射状排列的微管。再后方是细胞核。这时倘若把化学吸引剂改放在与上述相反的方向, 化学吸引剂形成一相反的梯度, 则细胞伸出伪足的方向, 中心粒、细胞核的位置, 也都随之倒过来。用细胞松软素破坏微丝, 细胞停止运动, 但细胞内部结构仍有与化学吸引剂梯度相关的方向性。若用秋水仙硷破坏微管, 则细胞内部

结构便失去和化学吸引剂梯度相关的方向性，并且不能形成伪足，细胞变成球形。因此认为，细胞主动移动时，微管与移动的方向有关，细胞

膜内面的微丝则与细胞移动的运动有关。
[本文于 1978 年 12 月 25 日收到]

真核细胞 mRNA 5'-末端和 3'-末端的结构与功能

林 万 禄
(中国科学院生物物理研究所)

迄今所知，极大多数真核细胞 mRNA 的 5'-末端含有“帽子”，即 7-甲基鸟苷-5'-三磷酸-2'-甲基核苷-3'-磷酸， $m^7G(5')pppNmp$ 。3'-末端含有多聚腺苷酸 poly(A)。具有这种修饰的末端序列是真核细胞 mRNA 结构的显著特征。此外，真核细胞 mRNA 所含的核苷酸数目远比它实际为蛋白质编码所需要的核苷酸多。这些“额外”的核苷酸均位于编码区的两端，称为 5'-非编码区和 3'-非编码区（见图 1）。本文略述真核细胞 mRNA 5'-末端的“帽子”和 3'-末端的 poly(A) 及 5'-非编码区和 3'-非编码区的结构与功能。

一、5'-末端的“帽子”

1. “帽子”的结构

真核细胞 mRNA 的 5'-末端含有 7-甲基鸟苷-5'-三磷酸-2'-甲基核苷-3'-磷酸， $m^7G(5')pppNmp$ ，称为“帽子”。如图 2 所示，通过 m^7G 的 5'-碳上的三个磷酸同下一个 2'-甲基核苷的 5'-碳相连。2'-甲基化核苷中的核苷部分可为四种核苷(A、G、C、U)中的任何一种。有时在同一核苷上出现双甲基化，如 N^6 -甲基-2'-O-甲基腺苷。

帽子结构分两种类型：

- $m^7G(5')pppNmpNp\cdots\cdots$
(类型 I);
- $m^7G(5')pppNmpNmp\cdots$
(类型 II)。

另外，在植物病毒 mRNA 和酵母 mRNA 的 5'-末端“帽子”结构中无 2'-甲基化核苷。

哺乳动物细胞 mRNA 有着多种不同修饰的 5'-末端序列，如小鼠骨髓瘤细胞 mRNA 的 5'-末端就有二十七种(见表 1)。mRNA 5'-末端的不同修饰序列，可能意味着功能上的差异，如对核糖体的结合作用或对 mRNA 本身的代谢速度等有所不同。

5'-末端“帽子”在真核细胞 mRNA 中是普遍存在的。就

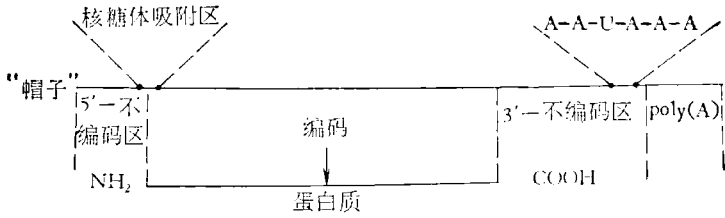


图 1 真核细胞 mRNA 一般结构示意图

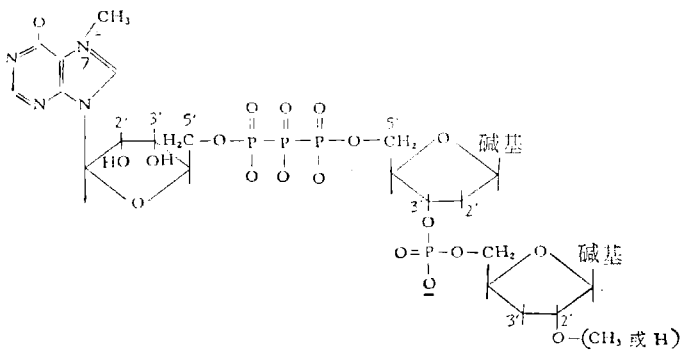


图 2 真核细胞 mRNA 5'-末端“帽子”结构