

- [14] Gangola, P. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **111**, 301, 1983.
 [15] Xu, Y. H. Ph. D. Thesis, University of Ulm, West Germany. 1983.
 [16] Wallace, R. W. et al.: *J. Biol. Chem.*, **257**, 1845, 1982.

- [17] Johnsen, J. D. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **112**, 787, 1983.
 [18] Gietzen, K. et al.: *Biochem. J.*, **207**, 637, 1982.
 [19] Gietzen, K. et al.: *Biochem. J.*, **207**, 541, 1982.

[本文于1983年10月27日收到]

人红细胞膜骨骼蛋白质及其与其它膜蛋白的缔合

范 培 昌

(华东师范大学生物系, 上海)

现已肯定, 人红细胞膜细胞质表面处装饰着一层浓密的、主要由收缩蛋白和肌动蛋白组成的膜骨骼 (Membrane skeleton)^[1]. 它又通过连接蛋白等和膜嵌入蛋白质相连接^[2], 使嵌入蛋白质约以 35nm 的间距均匀地散布于膜中.

重要的是, 膜骨骼决不是人红血球膜所特有. 越来越多的报道已证明其它细胞中膜骨骼的存在. 例如, 脑髓膜的一种蛋白质——Fodrin, 已证明其与收缩蛋白类同, 并建议把 Fodrin 改名为脑收缩蛋白^[4]. 心脏肌细胞膜的两种分子量为 230,000 和 240,000 的肽链现认为是收缩蛋白 α 和 β 亚单位的同系物^[5]. 像连接蛋白的蛋白质也用免疫学方法在除红细胞之外的细胞中检出^[6]. 更直接的证据系来自用三通抽提的肝细胞膜, 电镜下清楚地看到了一种纤维状织物铺盖着整个肝细胞的细胞质表面, 人们认为它即是肝细胞膜骨骼^[7].

根据现有报道, 可把人红细胞膜骨骼的主要功能, 归纳为如下七项: (1) 稳定红细胞双面凹的形状^[1], (2) 使其富有弹性, 能顺利地通过毛细血管^[2], (3) 限制嵌入膜蛋白的横向扩散^[2], (4) 防止细胞间融合^[3], (5) 稳定脂双层结构, 防止非双层结构之形成^[3], (6) 保证类脂和嵌入蛋白质在细胞表面的均匀分布, 防止细胞内含物泄漏^[3], (7) 酶解去骨骼后就能触发 IgG 结合于膜, 促使巨噬细胞识别和吞噬, 从而把衰老红细胞从血液循环中除去^[3].

一、人红细胞膜的蛋白质组分

图 1 综合了各种十二烷基磺酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 系统, 所得人红细胞膜蛋白质区带. 图中谱带的命名系在 Steck 命名法^[8]的基础上由其它学者扩充而来. 已公认, 在各蛋白质尚未正式命名前暂用谱带号称呼. 至于糖蛋白染色谱中的 PAS-1 等 (图 1b), 因已知均是血型糖蛋白 (Glycophorin), 现已命名为血型糖蛋白 A, B 和 C^[9].

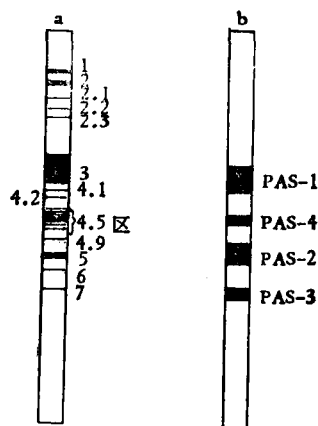


图 1 人红细胞膜蛋白的 SDS-PAGE 模式谱

a. 考马斯亮蓝染色谱.

b. 过碘酸—西夫试剂染色谱.

人红细胞膜蛋白的某些性质和功能综合于表 1. 显然, 表 1 并不完整, 许多膜蛋白组分因不甚了解而未列入. 例如: (1) 近来有人声称,

表 1 人红细胞膜蛋白的某些性质与主要功能

SDS-PAGE 区带号	已 定 名	表观分子量 (道尔顿)	一个细胞的链数 ($\times 10^4$)	在膜中的缔合状态	主 要 功 能	可缔合的其它膜蛋白
1	收缩蛋白 α 亚单位 (Spectrin α Subunit)	240,000	2.2	由 α, β 链缔合成 ($\alpha \cdot \beta$) ₂ 四聚体或寡聚体	膜骨骼主要成员	带 2.1、3 和带 4.2
2	收缩蛋白 β 亚单位 (Spectrin β subunit)	220,000				
2.1	连接蛋白 (Ankyrin)*	210,000	1.1	单体	把膜骨骼和带 3 相连	带 2 和 3
2.2	未定名	183,000				
2.3	未定名	165,000				
3	阴离子运输蛋白 (Anion transport protein)	95,000	12.0	和二聚体相平衡的四聚体	无机阴离子运载系统, 具骨骼蛋白和糖酵解酶类亲水位点	带 1、2.1、4.2、6 及血型糖蛋白 A
4.1a	未定名	80,000	2.3	系 a 和 b 缔合之异质二聚体	把收缩蛋白和肌动蛋白连接起来; 把膜骨骼和血型糖蛋白 c 相连	带 1+2, 5 以及血型糖蛋白 C
4.1b	未定名	78,000				
4.2	未定名	72,000	2.3	四聚体	不清楚	带 3
4.5 区	未定名	59,000—52,000	**	不清楚	可能是单糖、L-乳酸和核苷酸等的运载系统	不清楚
4.9	未定名	48,000	1.0	不清楚	膜骨骼成员	带 2
5	肌动蛋白 (Actin)	43,000	5.1	10 个单体之寡聚体	膜骨骼主要成员	带 4.1, 带 1+2,
6	3-磷酸甘油醛脱氢酶 (3-P-glyceraldehyde dehydrogenase)	35,000	4.1	四聚体	和膜成分相连的糖酵解酶类	带 1+2 和 5 之复合物; 带 3
7	未定名	29,000	1.0	不清楚	不清楚	不清楚
PAS-1	血型糖蛋白 A (Glycophorin A)	29,000	2.0	二聚体	MN 抗原	带 3
?	血型糖蛋白 B (Glycophorin B)	不清楚	0.7	不清楚	不清楚	带 4.1
PAS-2	血型糖蛋白 C (Glycophorin C)***	~25,000	0.35	不清楚	连接膜骨骼蛋白质	带 4.1

* Ankyrin 一词源出于 Ankylosis, 解剖学上有骨关节粘连部之意。加之, 此蛋白功能是以非共价键架桥于带 3 与带 2 之间, 故拟译为粘连蛋白, 但因方深高同志把纤维连接蛋白 (fibronectin) 改为粘连蛋白 (生命的化学, 2(6), 22—25, 1982), 经沈昭文先生审定把 ankyrin 译为连接蛋白, 以免重复。

** 4.5 区极其复杂, 最近 Jones & Nickson 鉴定出至少有六条带, 并命名为 4.5/1, 4.5/2……4.5/6, 每个细胞之链数分别顺次为 1.3, 1.4, 0.7, 1.0, 1.3 和 1.3 (参看: FEBS Lett. 155, 1—8, 1981)。

*** 文献[9]指出, 血型糖蛋白 C 比血型糖蛋白 A 的 131 个氨基酸少 35 个。由此推算其分子量约 25,000。

($\text{Na}^+ + \text{K}^+$)-ATPase 和带 3 蛋白之间不仅空间上紧挨着而且具功能关系^[10], (2) 每个红细胞有 3.5×10^4 链数的醛缩酶, 以四聚体和带 3 蛋白及肌动蛋白缔合着^[11], (3) 最近发现人红细胞膜还存在着两种新的高分子量外附蛋白质聚合物——Cylidrin 和 torin。前者单体分子量约 20,000, 后者具 5 种亚单位, 分子量在 22000—25000 范围内^[12], (4) 人红细胞膜的 ($\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$)-ATPase

使细胞内 Ca^{2+} 浓度保持在 $10^{-7}M$ 左右^[13], (5) 有多种蛋白激酶存在于红细胞膜。其中, 不依赖环腺苷酸 (CAMP) 的酪蛋白激酶能使骨骼的某些组分磷酸化^[14]。除此, 已报道过的人红细胞膜蛋白质组分还有许多, 如乙酰胆碱酯酶、各种受体蛋白等。就图 1 所列 4.5 区而言, 总量仅为全膜蛋白质的 $9.8\% \pm 1.9\%$, 但其区带数量惊人地稠密, 企图对 4.5 区各膜蛋白作出精确的分离鉴定目前还有困难。

二、人红细胞膜骨骼主要 组份与相互作用

其实,早在 1973 年有人就把人红细胞膜骨骼定义为:在用三通 X-100 从完整红细胞或其影泡中抽提去类脂和嵌入蛋白质后,还保留着如影泡原样状蛋白质纤维基质的网络。以后经许多学者对膜骨骼组份进行分离、提纯和重组研究,肯定这种膜骨骼不是矫作物。八十年代开始,人们通过比较天然的和人工重组的膜骨骼得出了如下定义^[15]:人红细胞膜骨骼是由方向平行于膜平面、直径为 8—9nm 的蛋白纤维组成的结构网络。经提纯的膜骨骼中主要含有收缩蛋白、肌动蛋白、连接蛋白、带 2.2、2.3、4.1 和 4.9 等。除带 2.3 和带 4.9 尚有争论外,学者们对其它膜骨骼成员已无异议。

收缩蛋白系由化学上有差异的 α 亚单位和 β 亚单位所组成的异质二聚体。两条肽链平行地互相缠绕在一起,形成长 100nm,宽 2.5nm 的“麻花”(图 2a)。该二聚体含有颇为刚性的螺旋区,螺旋之间又被柔韧的疏水区所隔开^[16]。在天然状态下收缩蛋白至少是四聚体,这是两个收缩蛋白异质二聚体的 α 亚单位以头对头地连接而成(图 2b)。这里所说“至少”,是因为有人在溶液中看到收缩蛋白能形成六聚体,八聚体,直到由十一个二聚体所组成的寡聚体^[17]。

肌动蛋白最可能是由十个单体所组成的寡聚体(即 F 肌动蛋白)^[18]。它如果由 α 螺旋组成,则约长 25—26nm^[3]。寡聚态肌动蛋白的去

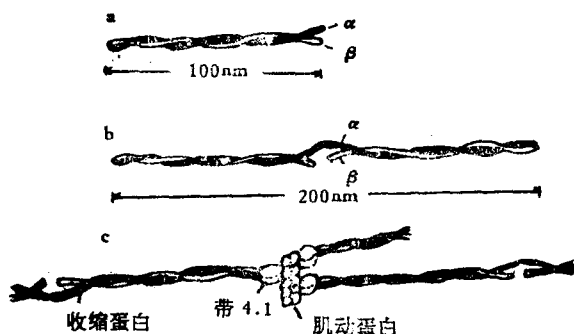


图 2 收缩蛋白二聚体(a)四聚体(b)及其经带 4.1 二聚体结合于肌动蛋白寡聚体(c)

极化端是封闭着的并指向膜,另一端为极化端可继续和其它单体相接。现在倾向于这样的看法,即收缩蛋白是通过带 4.1 和肌动蛋白寡聚体侧面相连(图 2c)。带 4.1 蛋白在天然膜中至少是二聚体,是球状分子,直径约 6nm。

三、骨骼蛋白与嵌入蛋白的连接

红细胞膜中嵌入蛋白质主要是带 3 和血型糖蛋白。带 3 约占全部嵌入蛋白质总量的 50—60%。过去认为,天然膜中带 3 蛋白是以稳定的非共价连接的二聚体存在。近几年来带 3 二聚体模型受到挑战,有人认为天然膜中带 3 主要是四聚体,最可能是一种单体/二聚体/四聚体的均衡态^[19]。带 3 蛋白不仅和血型糖蛋白横向缔合成颗粒,在其细胞质区还具有 3-磷酸甘油醛脱氢酶、醛缩酶、连接蛋白以及带 4.2 等亲和位点(图 3),而连接蛋白即是带 3 和骨骼的“桥接物”。

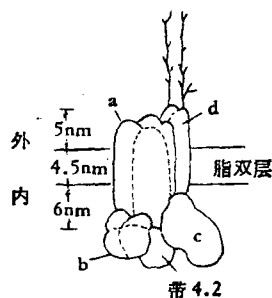


图 3 带 3 蛋白和其他膜蛋白的缔合

a. 带 3 (四聚体), b. 3-磷酸甘油醛脱氢酶(四聚体), c. 连接蛋白(接膜骨骼), d. 血型糖蛋白(二聚体)。

连接蛋白于 1980 年被提纯^[20]。在溶液中它能亲和结合于收缩蛋白 β 亚单位近末端的 20nm 处^[21]。电镜显示,连接蛋白是一种宽约 8nm、长约 10nm 的拉长了的分子。用温和的蛋白酶解条件可得几个片段,其中分子量为 72,000 的片段有收缩蛋白亲和位点,分子量为 90,000 的片段具带 3 蛋白亲和位点。提纯了的连接蛋白能稳定地结合于带 3,解离常数为 $5-8 \times 10^{-8} \text{M} \cdot \text{l}^{-1}$ 。^[22]表 1 表明,天然红血球膜约含带 3 单体链数 1.2×10^6 ,折算成四聚体则为 3×10^5 ,而连接蛋白单体链数为 1.1×10^5 ,故认

为仅有 40% 左右的带 3 四聚体可以经连接蛋白桥接于收缩蛋白。实验证明, 结合于带 3 的带 4.2 和带 6 并不影响连接蛋白和带 3 之结合, 人们认为带 3 四聚体因单体聚合而重新形成一个连接蛋白亲和位点^[22]。

近来又证明, 带 4.1 是血型糖蛋白 C 和收缩蛋白的“桥接物”。有人建议命名为 Glycconnectin (拟译为血型糖蛋白连接蛋白)^[23]。因为用三通抽提去嵌入蛋白质后, 属嵌入蛋白质的血型糖蛋白 C 总被残留下来, 并和膜骨骼结合着。这种残留物再在 pH 11 条件下抽提, 得带 4.1、血型糖蛋白 C 和收缩蛋白^[23]。带 4.1 可被分为两条肽链, 分子量分别为 80,000 和 78,000, 暂命名为带 4.1a 和 4.1b, 二者均为磷蛋白, 均能和收缩蛋白及血型糖蛋白 C 相结合^[24]。由于每个红细胞仅有血型糖蛋白 C 链数 0.35×10^5 , 而带 4.1 二聚体为 1.15×10^{25} , 认为最多用 1/3 的带 4.1 桥接收缩蛋白和血型糖蛋白 C, 其余 2/3 连用接桥接收缩蛋白和肌动蛋白寡聚体^[24]。

除了上述连接蛋白和带 4.1 蛋白已被认为是膜骨骼和膜嵌入蛋白的连接物外, 一些研究也报道了一些膜蛋白和膜骨骼的亲结合。例如: (1) 红细胞膜的氧化处理会引起带 3 经二硫键共价交联于收缩蛋白 α 链。抗带 3 蛋白细胞质区片断的抗体, 抑制收缩蛋白结合于缺失带 2.1 和 4.1 的内侧外翻囊泡。这就说明带 3 蛋白可能直接结合于收缩蛋白。(2) 红细胞膜的一种包括霍乱毒素受体在内的复合物可能结合于膜骨骼^[25]。(3) 麦胚凝集素结合于血型糖蛋白 A 后引起血型糖蛋白 A 和膜骨骼的相互作用^[26]。但有人怀疑, 麦胚凝集素结合的属带 4.5 区的组分, 因为它比血型糖蛋白 A 含有更多的麦胚凝集素的专一性结合糖——N-乙酰葡萄糖胺^[27]。如果此说成立, 那末带 4.5 区也将和膜骨骼发生连系。

综上所述, 可把人红细胞膜骨骼蛋白质及其与其它膜蛋白的缔合归纳为图 4 模型。其要点是: 主要由收缩蛋白四聚体-带 4.1 二聚体-肌动蛋白寡聚体所组成的膜骨骼网络, 通过连接蛋白, 带 4.1 蛋白等架桥, 和主要由带 3 蛋白

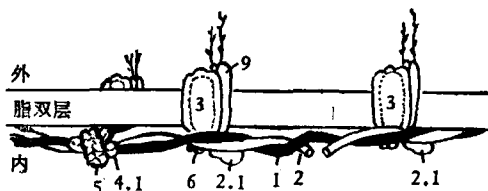


图 4 人红细胞膜骨骼及其它膜蛋白在膜中的模式图

数码为谱带数谱带 9 为血型糖蛋白

一血型糖蛋白所组成的膜内颗粒相连系, 从而发挥人红细胞为维持生命活动所需的整体功能。

参 考 文 献

- [1] Gratzer, W. B.: *Biochem. J.*, **198**, 1—8, 1981.
- [2] Branton, D. et al.: *Cell*, **24**, 24—32, 1981.
- [3] Haest, C. W. M.: *Biochim. Biophys. Acta*, **644**, 331—352, 1982.
- [4] Burns, N. R. et al.: *FEBS Lett.*, **153**, 165—168, 1983.
- [5] Goodman, S. R. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 7570—7574, 1981.
- [6] Bennett, V.: *Nature*, **281**, 597—599, 1979.
- [7] Mesland, D. A. M. et al.: *Exp. Cell Res.*, **132**, 169—184, 1981.
- [8] Steck, T. L.: *J. Cell Biol.*, **62**, 1—19, 1974.
- [9] Furthmayr, H.: *J. Supramol. Struct.*, **9**, 79—95, 1978.
- [10] Fossel, E. T. and Solomon, A. K.: *Biochim. Biophys. Acta*, **649**, 557—571, 1981.
- [11] Yeltman, D. R. and Harris, B. G.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **199**, 186—196, 1980.
- [12] Harris, J. R. and Naeem, I.: *Biochim. Biophys. Acta*, **670**, 285—290, 1981.
- [13] Stieger, J. and Luterbacher, S.: *ibid.*, **641**, 270—275, 1981.
- [14] Boivin, P. et al.: *ibid.*, **647**, 1—6, 1981.
- [15] Lang, R. D. A. et al.: *J. Cell Sci.*, **49**, 383—399, 1981.
- [16] Stokke, B. T. and Elgsaeter, A.: *Biochim. Biophys. Acta*, **640**, 640—645, 1981.
- [17] Morrow, J. S. and Marchesi, V. T.: *J. Cell Biol.*, **88**, 463—468, 1981.
- [18] Brenner, St. L. and Korn, E. D.: *J. Biol. Chem.*, **255**, 1670—1676, 1980.
- [19] Pappert, G. and Schubert, D.: *Biochim. Biophys. Acta*, **730**, 32—40, 1983.
- [20] Bennett, V. and Stenbuck, P. J.: *J. Biol. Chem.*, **255**, 2540—2548, 1980.
- [21] Tyler, J. M. et al.: *ibid.*, **255**, 7034—7039, 1980.
- [22] Hargreaves, W. R. et al.: *J. Biol. Chem.*, **255**, 11965—11972, 1980.
- [23] Owens, J. W. et al., *Arch. Biochem. Biophys.*, **204**, 247—254, 1980.

- [24] Goodman, S. R. et al., *J. Biol. Chem.*, **257**, 4564—4569, 1982.
 [25] Sahyoun, N. et al.: *ibid.*, **102**, 1216—1222, 1981.
 [26] Anderson, R. A. and Lovrien, R. E.: *Nature*, **292**,

- 158—161, 1981.
 [27] Froman, G. et al.: *FEBS Lett.*, **129**, 100—104, 1981.

[本文于1983年11月14日收到]

昆虫视动行为的定量研究

张少吾 孙其坚

(中国科学院生物物理研究所, 北京)

目前研究感觉生理学, 主要采用三种方法, 即对其组织结构进行研究的解剖学、组织学方法; 研究感觉器官和神经细胞电活动电生理方法; 以及通过诱发行为实验对生物系统的功能原理进行定量分析的行为研究方法。

运用第一种方法, 可以了解执行信息加工的神经网络结构, 以便知道哪些加工有可能在网络中被执行。通过电生理方法, 可以追踪信息流, 特别是在神经系统中, 那些结构与功能是按一维或者二维各向同性的子系统, 也就是说神经元之间的相互作用只依赖于它们之间的距离而与它们的位置无关。但这个方法对于那些在结构与功能上各个子系统不是各向同性的情况, 其技术上的困难至今还是难以克服的。行为研究则是从系统的整体和全局的角度出发, 在大范围内观察分析输入、输出关系的功能原理, 以及信息加工各子系统的布局、相互关系, 提供各个子系统功能作用的线索。行为研究本身虽然不能告诉我们神经网络知识的细节, 但它有助于我们制订出微观水平的研究策略。

本文主要介绍采用第三种方法对昆虫视觉系统的定量行为研究。

一、昆虫视动行为的测量方法

昆虫的视动反应是昆虫对视觉刺激产生的诱发反应, 它反映了输入和输出之间的联系。视动反应有很高的重复性, 对它可以进行定量的系统分析, 因此可以通过视动反应来发现和说明昆虫中枢神经系统的某些基本功能原理。

在典型的视动行为反应实验中, 动物放在圆筒的轴上, 筒壁上画着垂直的黑白条纹或者其它的对比度图案。当圆筒旋转时, 动物随之作旋转运动, 使得二者之间的相对速度减小。在六十年代西德马克斯-普朗克生物控制论研究所研制了一种扭力补偿装置, 它能在开环和闭环的条件下测出视动反应的旋转扭力, 见图1。

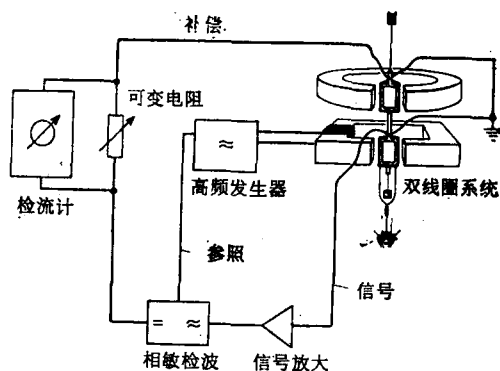


图1 测量视动反应的扭力补偿器框图^[27]

实验时被测蝇用粘在背部的小纸片固定到一个双线圈系统上, 双线圈用一根极细的扭力丝吊在框架上, 使其能在平衡位置左右旋转。双线圈一上一下, 上面的线圈放在一个永久磁铁的两极之间, 下面的线圈放在一个交变磁场中。当双线圈系统位于平衡位置时, 下面的线圈在交变磁场中不产生感应电压。当诱发视动反应后, 被测蝇给双线圈系统施加一扭力, 使其偏离平衡位置, 于是在下面的线圈中产生感应