

# 红细胞膜骨骼蛋白\*

范培昌

(华东师范大学生物学系,上海 200062)

## 提 要

哺乳动物红细胞质膜内侧紧贴着一层至少由8种蛋白质所组成、具有五或六边形网格的网状结构-膜骨骼。它使红细胞既经受住主动脉和心脏中的高切力,又有可塑性而畅通于直径比它小1/3的微脉管与脾小孔。它还可能是细胞内、外信息连通的“导线”。在应用方面:可由带4.1蛋白b型转化为a型来判别红细胞老化;已知遗传性球形和椭圆形红细胞增多症分别起因于患者部分缺失收缩蛋白 $\alpha$ -亚单位和带4.1蛋白。后者已有用外源性带4.1蛋白重组技术使病人康复的实例。

**关键词** 膜骨骼,膜蛋白,红细胞膜

生命科学中重要的问题之一,在于阐明细胞是怎样应答其所处的周围微环境,怎样把它们转化为信息,指令细胞活化、生长或不生长、分化、恶性转化等等。显然,使细胞内、外有别的质膜是关键,因此有人把它比拟为“传感器”<sup>[1]</sup>;质膜组分之一的糖脂,以及质膜中的嵌入膜蛋白(尤其是糖蛋白类)露于质膜外的部分,被比拟为“接收天线”;当信号传入胞内时,细胞骨骼又比拟为连接各“电子元件(大如细胞器;小如生化代谢物)”的“导线”。虽说这种比拟形象生动,但忽视了生命活动中最关键的“动”字。例如,现代认为,跨膜信号的发出以及影响由受体调控的胞吞作用,常取决于受体蛋白的群集(clustering)等<sup>[2]</sup>。现在认为这类运动的原因之一,在于嵌入膜蛋白和膜骨骼组分相互作用而发生跨膜连锁(transmembrane linkage)的结果<sup>[3]</sup>。本文即试图阐述组成这类“能动导线”的膜骨骼之分子基础,及其在连接细胞

内、外信息中的作用。

## 一、红细胞膜骨骼的近代概念

首先要说明的是,细胞骨骼(cytoskeleton)<sup>[1]</sup>和膜骨骼(membrane skeleton)<sup>[4,5]</sup>是两个既不同义又有联系的术语。所指细胞骨骼,其定义为:“分布于细胞质内具有纤丝状网格结构物”<sup>[1]</sup>。现已确认,细胞骨骼至少由三类分子组成:由寡聚态肌动蛋白组成的微丝(microfilament);由 $\alpha$ -和 $\beta$ -微管蛋白异质二聚体组成的微管(microtubule),以及在不同细胞中由不同蛋白质组成的中间丝(intermediate filament)。如象间质细胞的中间丝由vimentin组成;肌原细胞中由desmin组成;上皮细胞中由细胞角蛋白类组成等等。所指膜

\* 本文中有关作者的研究得到国家自然科学基金资助。本文系作者在第四届全国生物膜学术讨论会作中心发言的整理稿。

16 Pantoliano M W *et al. Biochemistry*, 1989; 28: 7205  
17 Sternberg M J E *et al. Nature*, 1987; 330: 86  
18 Rao S N *et al. Nature*, 1987; 328: 551  
19 Winter G P. *Phil Trans R Soc Lond*, 1989; B324: 537

20 Richardson J S, Richardson D C. *TIBS*, 1989; 14(7): 304

[本文于1990年7月16日收到,12月24日修回]

骨骼,其定义为:“红细胞质膜细胞质侧装配着一层具有五或六边形网格的网状结构”<sup>[5]</sup>。它紧贴于质膜内侧,由肌动蛋白寡聚体、收缩蛋白、带4.1蛋白、带4.9蛋白、连接蛋白、加合素、肌球蛋白原,以及肌球蛋白原结合蛋白等蛋白质所组成<sup>[1,2,4,5]</sup>。就哺乳动物红细胞而言,它不具细胞骨骼组分中的微管和中间丝,但有相当于微丝的肌动蛋白寡聚体。又因这种“微丝”掺

(a spider-like ultrastructure)<sup>[6]</sup>”。生化分析表明,“蜘蛛”的身躯是由10—17个肌动蛋白(actin)组成的F-肌动蛋白寡聚体,长约30—70nm,宽7—8nm(图1)。其两端结合着5—6条由收缩蛋白 $\alpha$ -和 $\beta$ -亚单位构成的异质二聚体,由它组成了“蜘蛛的腿”,每条“腿”长约100nm。大多数“腿”和“身躯”间桥接有4.1蛋白。现已确认,带4.1蛋白是接在收缩蛋白 $\beta$ -亚单位的近C-端。当这种主要由肌动蛋白-带4.1蛋白-收缩蛋白三元复合物组成的膜骨骼基本单位中的收缩蛋白二聚体与相邻单位中同种二聚体结合成四聚体时,就形成了具有五或六边形网格的成片网络(图2),这就是膜骨骼。

近年有关膜骨骼的进展之一是又发现了几种膜骨骼组分(见图1):

1. 肌球蛋白原(tropomyosin; 简称TM):这是一种由表观分子量(Mr)为29000和27000道尔顿两亚单位组成的异质二聚体。每个红细胞约含7—8万分子。等电点为pH4.5。具有热稳定性。其肽谱和兔肌中的TM相同,但它不能象兔肌TM那样形成寡聚体,这是因为二者肽链的N端不同。现认为, TM在稳定和决定肌动蛋白寡聚体微丝的强度和长度上起作用。尤其是,当红细胞通过主动脉和心脏高切力环境时,它使肌动蛋白去聚合<sup>[7]</sup>。

2. 肌球蛋白原结合蛋白(tropomyosin-binding protein):这是1987年被鉴定与提纯的红细胞膜骨骼蛋白质<sup>[8]</sup>。它呈球状单体,直径约3.8nm。其分子量为43000,沉降系数为2.8S。现认为它具有稳定并调节TM结合于肌动蛋白的功能。又认为,它很可能就是心肌中肌钙蛋白T的同系物。

3. 加合素(adducin):这是1986年在研究红细胞钙调蛋白时被鉴定出的膜骨骼组分<sup>[9]</sup>。加合素是由Mr为103000( $\alpha$ )和97000( $\beta$ )两亚单位组成的异质二聚体。电镜中呈现不平整的盘状,高5.4nm,直径12.4nm。其 $\beta$ -亚单位上有钙调蛋白结合位点。现认为加合素是经钙调蛋白来调控收缩蛋白和肌动蛋白之结合。

4. 带4.9蛋白:很早就知它是膜骨骼组分

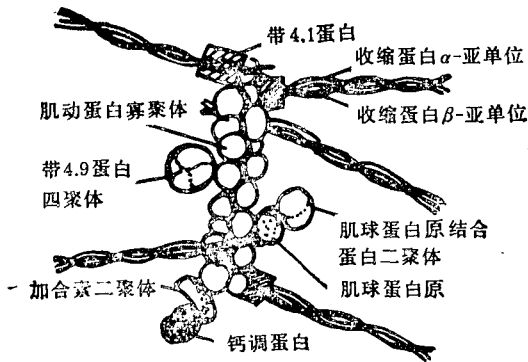


图1 组成膜骨骼的基本单位及其与其它蛋白质的结合

入了多种其它蛋白质,且紧贴于质膜内侧,故可把红细胞的膜骨骼看成是细胞骨骼部分特化之产物。就非红细胞而言,迄今已在脑髓膜、心肌膜、肝细胞膜、小肠刷状边缘膜、神经胶质细胞膜、淋巴瘤细胞膜、Hela细胞膜中发现了如红细胞质膜膜骨骼组分的类似物<sup>[1]</sup>,但这些细胞内又同时具有细胞骨骼组分。因此有关非红细胞膜骨骼是否和细胞骨骼作为两种概念存在,目前尚无定论。

近代,高分辨率电镜进一步显示,红细胞膜骨骼的基本单位是一种“像蜘蛛样的超结构

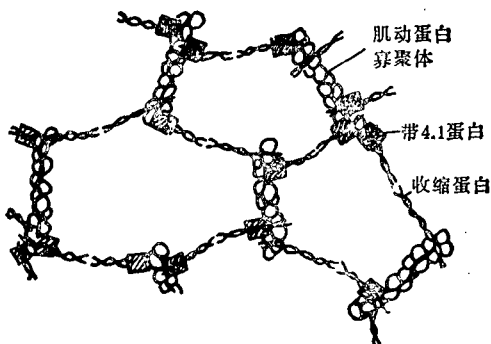


图2 具五或六边形网格的膜骨骼网络示意图

之一<sup>[4]</sup>。现在了解到它也结合在肌动蛋白微丝表面。在天然态，它以二硫键交联成均质四聚体，分子量为 145000。其功能仍不清楚，因其具磷酸化位点，认为它很可能通过磷酸化作用调节肌动蛋白和其它蛋白质的结合<sup>[4]</sup>。

## 二、膜骨骼与质膜组分的连接

现已肯定，红细胞膜骨骼中至少有两种成员能和质膜组分相连接，它们是带 4.1 蛋白和连接蛋白 (ankyrin)<sup>[4]</sup>。迄今已报道过可和带 4.1 结合的质膜组分有血型糖蛋白 A、带 3 蛋白、血型糖蛋白 A-多磷酸肌醇磷脂复合物及糖连接蛋白 (glycoconnectin; 原名血型糖蛋白 C)。也有人提出，带 4.1 也和质膜双层中磷脂酰丝氨酸相连<sup>[10]</sup>。其中，最引人注目的成果是确定带 4.1 连接的是血型糖蛋白 C 而不是 A 和 B。又因这三种血型糖蛋白的一级序列均已测知，证明 A 和 B 相似，而 C 相差甚远<sup>[11]</sup>。据此认为血型糖蛋白 C 应按其通过带 4.1 连接于膜骨骼的功能改名为糖连接蛋白<sup>[9]</sup>。此外，又发现多磷酸肌醇磷脂也经带 4.1 和膜骨骼相连，这对调节质膜的机械性能具有一定意义<sup>[12]</sup>。

早就知道连接蛋白是桥接膜骨骼于带 3 蛋白的重要蛋白质<sup>[4]</sup>。它在电镜中呈现一种拉长了的类球体，长约 10nm，宽 8nm，分子量为 21 万<sup>[13]</sup>。在膜骨骼中连接蛋白以其一端接于收缩

蛋白  $\beta$ -亚单位上，结合位点在离该肽链的 N 端约 20nm 处(其 C 端与肌动蛋白相连)<sup>[13]</sup>。每个红细胞约有  $10^5$  分子连接蛋白，此值与红细胞所含收缩蛋白四聚体的链数相当，认为每一收缩蛋白四聚体即连有一分子连接蛋白。连接蛋白的另一端和属于红细胞膜最主要的嵌入膜蛋白-带 3 蛋白<sup>[14,15]</sup>相连。由于人、鼠、鸡红细胞带 3 蛋白的一级序列已从各自的 cDNA 推演测得<sup>[16]</sup>，故知连接蛋白和带 3 蛋白的结合位点约在第 110 位残基附近。即在带 3 蛋白 N 端细胞质区的中段<sup>[13]</sup>(图 3)。由于红细胞膜中具有  $10^6$  分子带 3，此值比连接蛋白的分子链大 10 倍，故认为只有部分带 3 和膜骨骼相连成结合态，余为“游离态”。

综上所述，可把红细胞膜骨骼和质膜组分的连接示意于图 4。

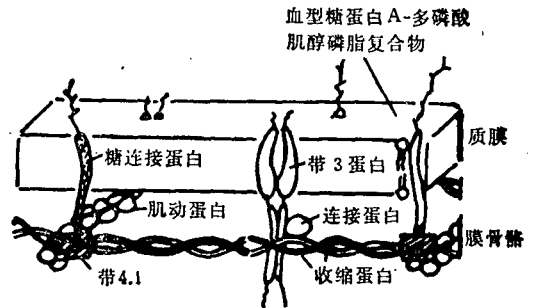


图 4 膜骨骼与质膜组分连接示意图

## 三、调节膜骨骼的可能机理

众所周知，红细胞在血液循环中，每循环一次都要经受一次在主动脉与心脏中那种高切应力；又要使自身变小，以便通过直径比它小 1/3 的脾小孔和微脉管系统。由此可以设想，红细胞所以只有 120 天的寿命必和其要应付如此严峻的环境有关。为了抗高切应力，原有的细胞骨骼进化成一层紧贴于质膜并具很强韧性和挠性的膜骨骼。这样一来，既增强了质膜的机械性能以抗高切力；又柔软可变，以便畅行于小孔。显然，前者比较容易理解；后者还有许多疑问。例如，膜骨骼会收缩吗？穿小孔时膜骨骼破解吗？若破解又如何重排？机理何在？

本实验组调节钙浓度可使红细胞“发

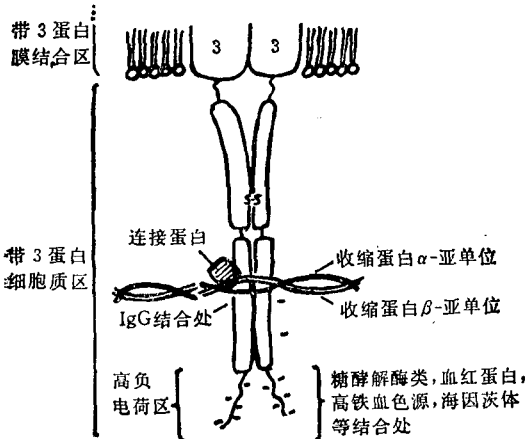


图 3 带 3 蛋白(示二聚体)细胞质区经连接蛋白与膜骨骼之结合示意图

同时示该区与其它细胞质中代谢物之结合

芽”<sup>[17]</sup>，最后形成无膜骨骼囊泡并和母体脱离<sup>[18]</sup>。我们认为，钙引起了膜骨骼的收缩，多出来的脂双层即以囊泡形式释放出来<sup>[17,18]</sup>。这一结果和他人在电镜中看到红细胞穿过脾小孔时释放出一串囊泡使自身变小的情景相似。我们又发现，因“发芽”变小了的红细胞之间极易融合成大型细胞<sup>[17]</sup>。由此联想，当红细胞欲通过脾小孔时，会获得某种信号使膜骨骼收缩，多余的质膜即以囊泡形式放掉；穿过小孔后，随着膜骨骼的恢复，发生了和囊泡融合而复原为原有大小和形状的红细胞。我们曾指出，在正常人全血中至少含有 0.1% 的这种囊泡<sup>[17]</sup>，它们很可能就是未遇融合机缘而走散的那些囊泡。除此，从几何学观点分析，膜骨骼具有的五或六边形网格也有利它变化成种种拓扑形而使其变小。

迄今，有关  $Ca^{2+}$ /钙调蛋白系统调节膜骨骼组分，尤其是在肌动蛋白和收缩蛋白的结合中起重要作用的报道已有许多<sup>[6,19]</sup>，前已提及，加合素和钙调蛋白具有高亲和力，并因此有人建议把加合素改称为钙调蛋白结合蛋白。除此，在活体外，钙调蛋白也能和带 4.1、收缩蛋白、带 4.9、肌球蛋白原相结合。总之，钙调蛋白在调节收缩蛋白-肌动蛋白-带 4.1，以及加合素-收缩蛋白-肌动蛋白这两套三元复合物的相互作用中起作用是有根据的，但还需进一步论证<sup>[6,19]</sup>。

此外，还可能存在磷酸化调节系统； $Mg^{2+}$  和 2, 3-二磷酸甘油酸调节系统。现已知道，带 4.1、带 4.9、加合素和收缩蛋白都是蛋白激酶的底物，可使它们结合 1—3 个磷酸。例如，带 4.1 可被依赖或不依赖 cAMP 的蛋白激酶，以及蛋白激酶 C 使之磷酸化，从而使带 4.1 和收缩蛋白结合的亲和力下降 5 倍，促使收缩蛋白去亲和结合肌动蛋白<sup>[5]</sup>。 $Mg^{2+}$  是肌球蛋白原亲和结合肌动蛋白所必需的。游离的 2, 3-二磷酸甘油酸会抑制收缩蛋白-肌动蛋白-带 4.1 蛋白的相互作用，从而降低红细胞之变形性和稳定性<sup>[5]</sup>。现在虽还难以确定膜骨骼的变形是上述诸调节系统综合作用，抑或是某一系统起

主导作用，但膜骨骼至少能作变形运动似是无疑的。

#### 四、研究膜骨骼已带来的实际应用

近年来在膜骨骼研究取得一系列进展的同时，某些成果已付诸于应用。例如，带 4.1 蛋白在连接胞内、外信息中是重要环节，这是当代有关研究所取得的重大进展之一。带 4.1 的一级序列已从其 cDNA 推出<sup>[20]</sup>，并发现带 4.1 在经典的红细胞膜凝胶电泳谱上所显现的 4.1a 和 4.1b 两条区带，它们的一级结构完全相同。进一步的研究表明，带 4.1 蛋白并非由 a 和 b 二亚单位组成的异质二聚体，而是年青红细胞只含 b 型；老化红细胞则含 a 型。当全血中同时含有年轻和老化的两种红细胞时，由此制备的膜制剂的电泳谱上自然会显现 a 和 b 型两种带 4.1 区带。换句话说，年轻红细胞只含 b 型，当其老化时带 4.1 蛋白发生了某种修饰作用，使其分子量增加了 2000 道尔顿而形成了 a 型带 4.1 蛋白。据此，在实际应用中已用带 4.1b 转化为带 4.1a 来判别红细胞的老化。这一成果也为研究细胞衰老机理提供了又一线索。

现已证实，轻度的显性可遗传椭圆形红细胞增多症是患者部分缺失带 4.1 的缘故。现已有人用外源性带 4.1 蛋白重组技术使病人康复<sup>[21]</sup>。具有完全缺带 4.1 的家庭，经 DNA 印渍术 (DNA blotting)<sup>[22]</sup> 分析，发现带 4.1 蛋白的基因在其起始位的 5' 端有一突变。又发现凡缺带 4.1 的病人中有 70% 也同时缺糖连接蛋白，这充分说明了上述带 4.1 和糖连接蛋白密切相关的论断。缺失带 4.1 蛋白的病人表现出溶血性贫血和膜稳定性下降的症状，这也说明膜骨骼在红细胞活动中的重要性。也已证实，大多数遗传性球形红细胞增多症是和病人部分缺失收缩蛋白  $\alpha$ -亚单位有关。病人缺失该蛋白的量 and 疾病的严重程度呈正相关<sup>[23]</sup>。

已发现从血库条件下贮存的红细胞和从镰形红细胞贫血患者红细胞分离得到的带 4.1 蛋白制剂中，常含有少量的游离半胱氨酸、甲硫氨酸和酪氨酸<sup>[5]</sup>。这是由氧化作用造成的后天性

# 生物无机化学的新动向

黄仲贤

(复旦大学化学系,上海 200433)

## 提 要

介绍了近几年生物无机化学发展的新动向,特别是各种与DNA, RNA相结合的金屬调节蛋白,在核酸基因表达及调控中的作用。金属蛋白与金属酶的研究,由于基因工程、金属络合物探针和肽链的人工合成等各种新思想、新方法的引入,并且把各种金属蛋白反应作为生物体中的一类反应进行研究(例如:生物体的电子传递反应,金属离子在生物分子间的转移反应,小分子加合反应等等),使研究进入一个新的台阶。

**关键词** 生物无机化学,无机生物化学,金属离子与生物分子的相互作用,无机药物

作为生命化学的重要组成部分,无机化学的前沿领域,生物无机化学近年来迅猛地发展,新的研究领域和研究方法层出不穷,正进入它蓬勃发展的时期。这可以从1989年7月23日—28日在美国波士顿的麻省理工学院召开的第四届国际生物无机化学会议上,得到很好的反映。与会者有来自世界各国的六百多位科

学家,包括生物化学、光谱学、结晶学、分子生物学、临床医学和化学等各个领域的科学工作者。会议有四百多篇论文,包括了生物无机化学的各个方面。由于各种新思想、新方法和新技术的应用,将生物无机化学的研究推向了一个新的台阶。下面我们就生物无机化学近期的一些新发展和新动向作一简单介绍和评论。

损伤。从血库贮藏不同时间的红细胞中分离出的收缩蛋白也显示出其结合肌动蛋白的能力呈梯度下降。收缩蛋白的氧化也会使红细胞产生囊泡,即膜表面积部分丧失。对此,已有人用添加二硫苏糖醇使之还原而恢复正常。

- 8 Fowler V M. *J Biol Chem*, 1987; 262: 12792
- 9 Gardner K Bennett V. *J Biol Chem*, 1986; 261: 1339
- 10 Shiffer K et al. *Biochim Biophys Acta*, 1988; 937: 269
- 11 Blanchard D et al. *J Biol Chem*, 1987; 262: 5808
- 12 Anderson R A, Marchesi V T. *Nature*, 1985; 318: 295
- 13 Low P S. *Biochim Biophys Acta*, 1986; 145: 167
- 14 范培昌等. 生物化学杂志, 1985; 1(1): 37
- 15 范培昌等. 生物化学与生物物理学报, 1987; 19(6): 493
- 16 Tanner M J A et al. *Biochem J*, 1988; 256: 703
- 17 范培昌等. 实验生物学报, 1987; 20(2): 225
- 18 范培昌等. 生物化学与生物物理学报, 1986; 18(4): 349
- 19 Stromgwist M et al. *Biochemistry*, 1988; 27: 1104
- 20 Conboy J et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986; 83: 9512
- 21 Takakuwa Y et al. *J Clin Invest*, 1986; 78: 80
- 22 范培昌编著. 生物大分子印渍技术与应用. 上海: 上海科技文献出版社, 1989; 1—286
- 23 Chilcote R et al. *Blood*, 1987; 69: 156

## 参 考 文 献

- 1 Carraway K L, Carraway C A C. *Biochim Biophys Acta*, 1989; 988: 147
- 2 Goldstein J L et al. *Annu Rev Cell Biol*, 1985; 1: 1
- 3 Claque M J et al. *Biochim Biophys Acta*, 1989; 981: 43
- 4 范培昌. 生物化学与生物物理进展, 1985; (2): 23
- 5 Bennett V. *Biochim Biophys Acta*, 1989; 988: 107
- 6 Shen B W et al. *J Cell Biol*, 1986; 102: 997
- 7 Mlak A et al. *Biochim Biophys Acta*, 1987; 912: 157

[本文于1990年6月12日收到,9月17日修回]