

- [34] Szabados, L. et al., 1981, *Planta* 151, 141—145.
- [35] 中国科学院北京植物所细胞杂交组、细胞生化组, 1978, 中国科学(6) 602—605.
- [36] Lu, C-Y. et al., 1981, *Z. Pflanzenphysiol.* 104, 311—318.

- [37] Xu, Z-H. et al., 1981, *Z. Pflanzenphysiol.* 104, 289—298.
- [38] Larkin, P. J. & W. R. Scowcroft, 1981, *TAG* 60, 197—214.
- [39] Shepard, J. F. et al., 1980, *Science*, N. Y. 208, 17—24.

细胞骨架结构及其功能(上)*

报告人: T.G.Clark 博士

细胞质具有许多凝胶的理化性质。早在四十年代后期, Wyssling 就提出细胞质含有细丝组成的网架。细丝数目及细丝间相互作用的强弱决定细胞质的结构状态。细丝数目愈多, 细丝间相互作用愈强, 细胞就愈呈凝胶状。细胞质的这种网状结构, 就是现在人们所谓的细胞骨架。正是这种网架结构, 使细胞具有一定结构和形状, 并能产生运动。

细胞骨架研究概况

(一) 细胞骨架的基本结构

对一些培养细胞所进行的透射和扫描电镜研究揭示整个细胞质里含有错综复杂的纤维网结构。根据纤维的大小和形态学特点, 大致可分成三类。

1. 微丝 直径为6—8毫微米。在微绒毛、褶皱膜和微嵴等细胞的伸展部分尤为显著。它们能形成杂乱的网状结构或像微绒毛和培养细胞里的应力纤维那样有规则地成束排列。肌肉纤维的主要成分——肌动蛋白也是构成非肌肉细胞微丝的主要蛋白质。肌动蛋白的分子量为43,000, 具有形成长纤维的能力。肌动蛋白能以未聚合的球状(G-肌动蛋白)和聚合的纤维状(F-肌动蛋白)两种状态出现。在后者中, 肌动蛋白形成双螺旋。

2. 微管 直径约25毫微米。典型的微管是由13根原纤维形成的一个空管, 常延伸到像纤毛、鞭毛或某些原生动物的轴伪足这样一

些长细胞突起中, 形成有规则构型的复合物。在许多细胞中, 它们常以单根微管形式出现。在正在分裂的细胞中, 微管也是纺锤体的主要成分。微管通常由一些称做结构中心的特殊部位——中心粒、基体以及其他一些不太固定的细胞质致密区产生, 主要由微管蛋白二聚体组成。微管蛋白单体分子量为55,000, 可在体外进行装配或解装配, 因而可以分离微管并进行研究。还可对与微管紧密结合的其他蛋白质进行鉴定, 其中包括几种分子量为300,000, 称做微管结合蛋白(MAP)的高分子多肽、分子量为60,000的装饰蛋白(Tau)以及与HeLa细胞微管相结合的分子量为210,000和125,000的多肽。这些结合蛋白的确切功能还不清楚, 然而在体外能促进微管的装配, 因而在细胞内也可能在微管的装配上起着某种作用。

3. 中等纤维 除微丝和微管外, 在高等生物细胞中通常还能观察到第三类纤维——中等纤维。其直径界于微丝和微管之间, 约为8—12毫微米。多种细胞中都具有这类纤维, 名称各不相同, 例如张力原纤维、神经原纤维和前角蛋白纤维等。虽然它们具有相似的基本

* 本文为美国耶鲁大学生物系 Clark 博士1981年8月在中国科学院上海细胞生物研究所演讲的摘译稿。为便于阅读, 由译者添加文内标题。

结构, 然而其多肽成分彼此各不相同。根据 X-衍射分析以及蛋白酶有限酶解试验表明, 中等纤维蛋白质亚单位是一种伸展分子, 由三股排列成行的多肽链重叠成 α -螺旋片段, 有非螺旋区域将其隔开。

来自间充质细胞的中等纤维是由分子量约为 57,000 的多肽组成, 称做波形纤维蛋白(Vimentin)(或称 10 毫微米纤维(decamin))。上皮细胞里的中等纤维叫做角质蛋白型纤维, 由非常混杂的亚单位组成。例如牛表皮细胞里的中等纤维至少有十种不同的亚单位组成。由于所取表皮细胞的部位的不同, 亚单位的确切数目以及相对量也各不相同。肌肉细胞典型的中等纤维由分子量约为 55,000 的亚单位组成, 称做结蛋白(desmin)或酪蛋白(Skeletin)。在神经元中情况又不同。哺乳类神经原纤维是由分子量分别为 200,000—220,000、140,000—160,000 以及 68,000 的多肽链组成。研究过两种无脊椎动物——Myxicola 和 Squid 神经细胞的中等纤维, Squid 的大轴突里所含的中等纤维是由分子量分别为 220,000、100,000、74,000 和 60,000 的亚单位组成, 其中 60,000 最丰富。然而在 Myxicola 中, 中等纤维蛋白质亚单位的分子量为 160,000 和 152,000。有证据表明一种细胞里可能含有一种以上中等纤维。例如 BHK-21 株成纤维细胞既含有间充质来源细胞所特有的分子量为 57,000 的波形纤维蛋白, 也含有肌肉细胞特征性的分子量为 55,000 的结蛋白亚单位。与此相似, 融合前的肌肉母细胞既含有波形纤维蛋白也具有结蛋白。

(二) 细胞骨架是一种动态结构

细胞骨架并非是静止的网架结构, 其组成成分处在高度的动态之中, 结构状态也可以发生变化。这可从以下一些例子中得到证实。

1. 精子顶体突起的形成 当棘皮动物海星或海胆的精子与卵子周围的胶膜相接触时, 在 10 秒钟内像爆炸似地从精子的头部迅速长出顶体突起。精子利用这一突起穿过卵子的胶

层, 并与卵子质膜相融合。Tilney 指出, 这种新形成的突起是由大量的肌动蛋白微丝组成。用重酶解肌球蛋白修饰法(HMM 法)证实, 这些细丝是 F-肌动蛋白。顶体突起的形成包含肌动蛋白非常迅速的聚合过程, 在精子与卵胶相互作用之前, 这些肌动蛋白是以非聚合态形式存在于精子的头部。这是细胞里肌动蛋白处在动态之中的一个例子。

2. 受精卵表面微绒毛的出现 受精之后卵表面出现含有肌动蛋白的微绒毛的伸展过程, 是肌动蛋白处在动态之中的另一个例子。用扫描电镜观察受精前海胆卵时, 可见卵表面被短的微绒毛所覆盖。受精后不久, 微绒毛比未受精卵约长了两倍。到第一次卵裂中期时, 微绒毛的生长出现第二次“爆炸”, 其长度约为受精前的十倍(即由 0.2 微米长成 2 微米)。微绒毛含有成束的肌动蛋白细丝, 由细胞的皮质层伸向微绒毛的端部。

3. 分裂沟的形成 有丝分裂末期, 在卵的表面出现一条分裂沟。随着分裂沟的伸展和加深, 逐步形成两个细胞。在分裂沟下面与分裂面平行处, 有微丝组成的收缩环排列着。所有后生动物细胞分裂末期都形成收缩环, 约 10 微米宽, 0.1—0.2 微米厚。HMM 修饰法证明构成收缩环的微丝是肌动蛋白细丝。

4. 细胞周期中星体的变化 细胞周期中也伴随有微管结构的变化。Harris 采用抗微管蛋白间接免疫荧光定位法观察海胆受精卵里微管结构的变化。开始时, 靠近精子进入卵子的表面处, 微管蛋白呈一亮点。这标志着精子星体生长的开始。星体生长很迅速, 在精子进入后 25 分钟单星体就完全形成。此时原核融合已经开始。在融合核的每一边出现两个比较亮的点。这似乎是微管生长的结构中心, 可能就是中心粒。30 分钟时单星体微管仍然在细胞的皮质部。这些周围微管最终消失, 接着出现微管迅速再生长。第一次分裂周期进行到大约 75 分钟时, 间期星体完全长成, 整个细胞被微管布满。在 75—100 分钟之间出现微管从

中央开始逐步向外的第二次消失。然而这一时期末仍然保留着几根非常直的微管, 120 分钟时这些微管也消失了。稍稍停顿之后, 接着逐步依次出现有丝分裂星体的生长、纺锤体形成、染色体分开以及最终出现胞质分裂。因此, 这清楚地表明微管也是一种动态结构, 在细胞周期中微管广泛地进行重组。

现已证明, 免疫荧光术对细胞骨架蛋白质的定位研究以及对观察它们结构的变化是一种非常有用的技术。这一技术也成功地应用于铺展得很好的培养细胞、免疫荧光术可对整个细胞进行观察, 也可对许多细胞同时进行研究, 操作迅速, 观察简便。现利用这一技术对培养细胞中的微丝, 微管以及中等纤维的结构和功能、在正常生理周期中的变化, 以及某些药物(如长春花碱和秋水仙素等)对它们的影响进行了系统的研究。

此外, Heuser 和 Ris 利用一种新的超显微技术对细胞骨架进行研究。先将样品用液态氮迅速冷冻, 然后用铂旋转复型后用透射电镜观察, 可看到细胞骨架的三维结构。这一方法可以观察细胞骨架中的单根纤维, 也可仅仅根据表面结构就能区别肌动蛋白微丝、微管和中等纤维。Schliwa 等将观察的样品放在可倾斜的载物台上, 并从二种不同角度拍摄样品。把照片并排放在一起后用立体眼镜进行观察, 也能明显地看到三维图形。若用这种方法观察细胞骨架时, 我们将会对不同纤维类型间相互作用的程度感到大吃一惊。在肌动蛋白纤维、微管和中等纤维之间常能看到有 2—3 毫微米的纤维相联结着。这些细纤维似乎也与细胞骨架的其他成分相联结, 它们可能代表一类新的很重要的结构纤维。组成这些纤维的分子成分目前还不清楚。

非肌肉细胞中肌动蛋白和肌球蛋白 装配及其相互作用的生物化学

肌动蛋白广泛存在于各种真核生物细胞中, 能以未聚合的单体或 6—8 毫微米的微丝

形式出现。

(一) 肌动蛋白的聚合和解聚

正因为肌动蛋白在细胞中能以各种结构状态出现, 细胞肯定能在特定的时间和空间对肌动蛋白细丝的聚合以及这些细丝间的相互作用起着某种调节作用。肌动蛋白结构状态的变化为细胞形状的各种变化以及细胞运动提供确实的依据。为了了解这些现象是怎样发生的, 首先要了解是什么东西起着调节细胞质内肌动蛋白的结构状态。

肌肉和非肌肉细胞里所有肌动蛋白在适当的离子强度下(例如 2mM MgCl_2 或 0.1MK^+) 能在体外形成 6—8 毫微米粗的细丝。肌动蛋白单体含有一克分子结合的 ATP, 在聚合过程中后者转化成 ADP。肌动蛋白的聚合反应包括核心形成和延伸两步。第一步就是核心形成过程, 它限制着聚合的速度, 并依赖于肌动蛋白的浓度。观察肌动蛋白聚合的动力学时, 发现聚合速度在开始时有一段滞留期, 反映了溶液中肌动蛋白核心缓慢的形成过程。假如将肌动蛋白细丝小片段(这可通过将 F-肌动蛋白用超声波处理而得到)加到 G-肌动蛋白溶液中去, 装配的起始速度会显著增加, 因为这些小片段能有效地起到种子或核心的作用, 再从这些核心上进行延伸。只有当溶液里的肌动蛋白超过一定浓度即临界浓度时, 才发生核心形成作用。在这一特征性的临界浓度, 即在(肌动蛋白) $_n \rightleftharpoons (\text{肌动蛋白})_{n-1} + \text{肌动蛋白}$ 平衡式的平衡常数下, F-肌动蛋白(聚合体)总是与 G-肌动蛋白(单体)处在平衡之中。虽然在肌肉和非肌肉细胞中有某些量的差别, 但所有纯化肌动蛋白的聚合反应在性质上都相似。也就是说每一种肌动蛋白都有一个临界浓度, 在这浓度之上才能通过形成核心和延伸作用而形成聚合的 F-肌动蛋白。

从各种不同细胞抽提的肌动蛋白粗制品里, 均含有一种能与肌动蛋白相互作用, 从而抑制它聚合的物质。从血小板、脾脏和一种变形虫里已经分离到一种分子量为 16,000, 称

做 profilin 的多肽。它能与肌动蛋白形成 1:1 的复合物,从而抑制它的聚合。细胞质抽提液里以非聚合态存在的肌动蛋白与 profilin 结合着。DNA 酶 I 是另一种能与 G-肌动蛋白紧密结合形成复合物的蛋白质。肌动蛋白强烈地抑制 DNA 酶 I 活力,相反 DNA 酶 I 抑制肌动蛋白的聚合反应。DNA 酶 I 和肌动蛋白相互作用的生物学意义目前还不清楚,然而这种作用导致发现 profilin。

海胆精子与卵胶接触形成顶体突起之前,精子头部的肌动蛋白处在无定形的非聚合态。经 SDS 凝胶电泳检定证明,在这些无定形物质中有两条带代表分子量为 250,000 和 230,000 的高分子量多肽,以及一条与 profilin 相似的低分子量成分。也许正是这种小分子物质与肌动蛋白之间的相互作用,阻碍了它的聚合,使它保持在非聚合态。Tilney 发现,在 pH8.0 的海水中将精子用一种能促进阳离子穿过脂双分子层的脂溶性抗生素——离子载体 (ionophores) 处理时,能使 H^+ 从细胞中流出,并使精子头部的肌动蛋白迅速聚合,顶体突起随着出现。然而假如 pH 维持在 6.5,即所假定的细胞内 pH 时,则看不出有什么影响。若在 pH8.0 时将卵胶加到精子里去,从细胞里也释放出 H^+ ,从而形成顶体突起。根据这一观察,似乎当细胞内的 pH 值增加时,肌动蛋白便从它所结合的蛋白质上解离下来,使它能进行聚合。因此细胞内 pH 值的局部变化可能会影响像 profilin 这样一些蛋白质与肌动蛋白之间的结合,从而控制它的聚合状态。

细胞内 pH 的变化可以影响肌动蛋白聚合状态这一可能性也被用分离的海胆皮质进行的研究所证实。Eppel 和 Steinhardt 的工作表明,

海胆卵的受精伴有卵内 pH 的增高,从 6.7 变为 7.3。非常有趣的是在未受精卵的 pH 条件下(即 pH6.5—6.7)从未受精海胆卵里分离到的皮质不含有细丝状的肌动蛋白;然而在受精卵的 pH 条件下(即 pH7.3—7.5)分离到的皮质则有大量微绒毛,它们含有成束的肌动蛋白细丝。将在 pH6.5 分离得到的皮质转移到 pH 7.5 的分离解质缓冲液里去,也能得到肌动蛋白纤维,虽然纤维并不成束,也不形成微绒毛。因此这些结果也支持细胞质 pH 值的提高能诱发肌动蛋白的聚合的观点。

profilin 或类 profilin 分子对肌动蛋白聚合反应的抑制作用,是由于在肌动蛋白聚合过程中抑制了核心的形成而引起的。假如 profilin 和肌动蛋白结合后再加入肌动蛋白核心,则聚合作用仍然能进行。若有经超声波处理 F-肌动蛋白后所得到的肌动蛋白细丝短片段存在,肌动蛋白加 profilin 后也会聚合;然而只有肌动蛋白加 profilin 则不能聚合。因此 profilin 会影响核心的形成,但不影响肌动蛋白纤维的延长。

肌动蛋白纤维的形成也可能受纤维延伸这一步的影响。最近发现两种似乎能影响延伸的蛋白质。一种来自血小板,另一种来自变形虫。它们具有相似性质,能与肌动蛋白纤维上迅速生长的一端相结合,从而抑制肌动蛋白聚合的总速度。这些蛋白质与细胞松弛素非常相似。后者能瓦解细胞质里的微丝,并引起细胞形状的显著变化。在体外实验中,细胞松弛素能与肌动蛋白纤维上迅速生长的一端相结合,从而抑制它的聚合。

(卫林祥摘译 待续)