

细胞骨架结构及其功能(续)

报告人: T. G. Clark 博士

(二) 肌动蛋白纤维的相互作用

Kane 于 1975 年发现将在低温下制备的海胆卵抽提物加温至正常生理温度时, 会在体外形成一种结实的凝胶。此后发现从许多种细胞(例如变形虫、组织培养细胞、巨噬细胞和卵母细胞等)里得到的抽提物加温后都能形成凝胶。现已知道细胞抽提物的凝胶化过程涉及肌动蛋白纤维间相互作用或交联而形成刚性的网架。此外, 温度的变化会使凝胶状的抽提物在凝胶和溶胶间进行可逆转化。在某些情况下, Ca^{2+} 离子能调节这种转化。细胞抽提物在体外进行的凝胶和溶胶化生动地模拟了体内细胞质的结构和收缩特性。因此体外进行的凝胶化试验可能代表一种对研究细胞质结构很有价值的模式。用离心法能从凝胶状的抽提物中分离到细胞质凝胶。现已知道有一些特殊的蛋白质将肌动蛋白交联成凝胶。例如, 海胆卵凝胶状的抽提物里含有成束的肌动蛋白纤维, 它们交联成网。从溶液中能分离出这种网状凝胶, 并可用 SDS 凝胶电泳进行分析。结果表明, 凝胶状物质由肌动蛋白(分子量 43,000)、另一种分子量为 220,000 的高分子成分以及一种分子量为 58,000 的多肽组成。若将 58,000 道尔顿的蛋白质加到纯化的肌动蛋白纤维中, 将会形成纤维束, 但不会在溶液中形成凝胶。在有分子量为 220,000 道尔顿的多肽存在时, 这些纤维束才会交联起来形成凝胶。

除海胆卵里有这种多肽外, 能与 F-肌动蛋白起作用, 形成凝胶或纤维束的其它许多多肽也已在细胞质抽提液里找到。其中研究得最多的是两种分子量为 250,000 的高分子量多肽。其中之一是从兔子肺泡巨噬细胞抽提物中分离出来的, 称做巨噬细胞肌动蛋白结合蛋

白, 除能交联肌动蛋白纤维外, 也具有诱发肌动蛋白聚合的能力。从平滑肌里分离到另一种高分子量多肽能使纯化的肌动蛋白形成凝胶, 称为丝蛋白(filamin)。

最近从小肠上皮细胞微绒毛中分离到一种分子量为 95,000 的多肽, 叫做绒毛蛋白(villin), 能诱发纯化的 F-肌动蛋白形成纤维束。这种肌动蛋白束的形成是对 Ca^{2+} 高度敏感的。当有毫克分子水平 Ca^{2+} 存在时, 绒毛蛋白使 F-肌动蛋白消失。这是一种可逆的过程, 表明细胞内 Ca^{2+} 的水平对控制细胞内肌动蛋白的结构是非常重要的。

从兔子巨噬细胞中也分离到一种 91,000 道尔顿的多肽, 叫做凝胶溶胶素(gelsolin), 与绒毛蛋白非常相似, 当有 Ca^{2+} 存在时能先切开肌动蛋白之间的交联, 然后将凝胶切断, 或将凝胶溶胶化。

与绒毛蛋白、凝胶溶胶素相似, 最近从粘菌中分离到一种分子量为 43,000 的多肽。将这种蛋白质加到纯化的 F-肌动蛋白中能使肌动蛋白纤维变成非常短的碎片, 因而叫做碎片蛋白(fragmin)。现已发现许多依赖 Ca^{2+} 离子的调节因子能影响肌动蛋白纤维的聚合方式(即凝胶化和形成纤维束)以及聚合速度。这种对 Ca^{2+} 敏感的调节因子的分离可能证实许多科学家长期以来所持有的观点: 在控制细胞质的结构方面, Ca^{2+} 起着主要作用。

(三) 肌球蛋白相互作用及其与细胞运动的关系

与肌肉细胞相似, 许多依赖于微丝的运动过程包含着肌动蛋白和能产生能量的 ATP 酶肌球蛋白之间的相互作用。这种依赖肌球蛋白的运动现象也许包括胞质分裂时细胞的收

缩、变形运动里的胞质流动,以及有丝分裂时染色体移动等过程。

肌动球蛋白引起这些运动的证据有:1)在许多种非肌肉细胞里,除具有肌动蛋白、肌球蛋白、原肌球蛋白和 α -辅肌动蛋白外,还含有一些与肌肉细胞里相似的其它收缩蛋白;2)这些蛋白质具有许多物理性质与肌肉细胞里所含有的相应成分的性质相同。可以在体外将从肌肉和非肌肉细胞里纯化的某些组分,按能起作用的方式组成杂交体;3)在体外已经建立起来的能运动的模式系统依赖于肌动球蛋白。能收缩的凝胶状细胞质抽提物就是这种模式的一个例子;4)荧光抗体的定位研究已经证明在发生积极运动的区域,例如正在分裂的卵细胞的卵裂沟,含有肌动蛋白和肌球蛋白;5)显微注射抗肌球蛋白抗体能抑制卵裂沟的形成。

ATP的水解直接参与肌动蛋白与肌球蛋白之间的相互作用。肌动球蛋白复合体利用ATP水解所产生的能量,使肌动蛋白纤维在肌球蛋白间滑行。在这一复杂过程中,ATP起着燃料的作用,既是推动反应的能源,也能使肌动蛋白从肌球蛋白上脱开,从而开始相互作用的新周期。整个周期包括:1)肌球蛋白引起ATP的水解;2)肌动蛋白与肌球蛋白相结合后引起ATP水解产物的降解;3)肌动蛋白与肌球蛋白间相互滑行以及4)ATP重新与肌球蛋白结合而使肌动蛋白从肌球蛋白上脱开。

肌球蛋白与肌动蛋白之间的相互作用由肌肉细胞细胞质里的游离 Ca^{2+} 浓度来调节。在高 Ca^{2+} 浓度时肌动蛋白与肌球蛋白相互作用,从而引起肌肉收缩。在低 Ca^{2+} 浓度时,这种相互作用受到抑制,肌肉就松弛。在非肌肉细胞的运动中依赖于肌动球蛋白的运动是如何发生的,可以用以下两个模式来说明。有人认为,在整体肠上皮刷状缘的微绒毛进行着前后摆动的运动。在离体实验用去垢剂处理除去微绒毛膜之后的刷状缘,在有 Ca^{2+} 和ATP存在时能

猛烈地收缩。我们可以将每根微绒毛想象为在功能上相当于半个肌节,通过微绒毛末端的肌球蛋白分子将邻近的两个微绒毛联系起来,相当于整个肌节。通过相似的模式,肌动球蛋白能在细胞分裂时产生分裂沟。收缩环的确切位置依赖于质膜上受到的某种局部刺激,例如质膜上纤维形成或肌球蛋白ATP酶的激活。

肌球蛋白已从许多不同的非肌肉细胞中分离到,并对这些纯化的(或部分纯化的)肌球蛋白进行了研究。非肌肉细胞的肌球蛋白与肌肉细胞的肌球蛋白,尤其是平滑肌的肌球蛋白非常相似,通常是由六条多肽链组成,两条分子量约为200,000的重链以及两条分子量在17,000—25,000之间的轻链。

肌肉中肌动球蛋白相互作用能产生运动。目前大致有三种说法来解释如何调节这种相互作用。

1. 脊椎动物横纹肌中,肌动球蛋白的相互作用是由两种蛋白质——原肌球蛋白和肌钙蛋白(troponin)对细丝进行调节。原肌球蛋白是一种伸展分子,由一对长为40毫微米的 α -螺旋组成。原肌球蛋白分子位于肌动蛋白双螺旋的槽里。每一个原肌球蛋白分子大约与7个肌动蛋白单体相接触,同时又与一分子肌钙蛋白相结合。在低 Ca^{2+} 浓度时(低于 $10^{-7}M$),肌钙蛋白使原肌球蛋白保持在与肌动蛋白相脱开的位置,因而阻碍了肌球蛋白与肌动蛋白细丝间的相互作用。松弛的肌肉可能就处在这种状态。当存在一定阈值的 Ca^{2+} 时,肌钙蛋白构型发生变化,使原肌球蛋白靠近肌动蛋白纤维,使它能与肌球蛋白头部相互起作用。肌肉细胞内 Ca^{2+} 的浓度是由称作肌浆网的膜层系统控制。当肌肉受到刺激后, Ca^{2+} 就从肌浆网释放出来,从而增加细胞内的 Ca^{2+} ,并引起收缩;当肌肉放松时, Ca^{2+} 就被肌浆网吸收。

2. 在软体动物肌肉以及某些无脊椎动物的肌肉中的调节机制略有不同。虽与脊椎动物横纹肌相似,肌动球蛋白的相互作用是对 Ca^{2+} 敏感的,然而调节作用与细丝无关,不包括肌

钙蛋白—原肌球蛋白复合物。软体动物含有对 Ca^{2+} 敏感的肌球蛋白轻链, 调节作用被认为与肌球蛋白有关。在这一类肌肉中, 当 Ca^{2+} 浓度低时, 肌动球蛋白的相互作用受阻, 只有在 Ca^{2+} 浓度高时才能发生作用。

3. 平滑肌和非肌肉细胞有另一种由 Ca^{2+} 来调节肌动球蛋白相互作用的机制。平滑肌肌球蛋白上 Mg^{2+} -ATP 酶的激活依赖于 20,000 道尔顿肌球蛋白轻链的磷酸化。这条轻链的磷酸化由一种对 Ca^{2+} 敏感的特殊酶——肌球蛋白轻链激酶催化。轻链的磷酸化以及由此引起的肌球蛋白激酶只发生在有 Ca^{2+} 的情况下, 没有钙就不发生。肌球蛋白轻链能被磷酸酯酶脱磷酸, 这种酶不需要 Ca^{2+} 。因此平滑肌肌球蛋白轻链中既具有依赖于 Ca^{2+} 的磷酸化, 也含有不依赖于 Ca^{2+} 的脱磷酸化, 以此可逆地调节着肌动球蛋白的相互作用。当有 Ca^{2+} 存在时, 肌球蛋白被磷酸化后激活肌动蛋白; 缺 Ca^{2+} 时, 脱磷酸后肌动蛋白的激活就消失。在非肌肉细胞中肌动球蛋白相互作用的调节方式与此相同。当然我们并不排除在非肌肉细胞中也可能包括肌钙蛋白—原肌球蛋白体系。因为已经从许多不同种非肌肉细胞中(小牛胰腺、小鼠成纤维细胞、鸡脑、人成纤维细胞等)分离到原肌球蛋白。也有证据表明肌钙蛋白也可能存在于非肌肉细胞中。

细胞内颗粒的运动

现已知道, 在许多情况下细胞内的颗粒能在细胞质里被长距离运输。例如: 1) 海胆卵受精之后含有色素的颗粒就立即移向细胞皮质; 2) 在外排作用中, 分泌颗粒移动到细胞表面; 3) 由膜包裹的颗粒沿着神经轴突传送到突触端; 4) 在一种藻类 (*Characean Algae*) 的结间细胞中, 颗粒的运动与内质的流动相联系; 5) 低等脊椎动物的色素细胞里也有色素颗粒运动。这类运动具有两个特点: 一个是运动呈跳跃性(即双方向的), 短暂运动后可停止, 然后向任何一个方向再开始运动; 另一个特点

为运动似乎是沿着一条轨道进行的, 形态学的研究表明这条轨道必然是微管束。

有关细胞内颗粒运动的机制目前了解得不多。我们知道有两种能够产生能量和运动的系统, 即肌肉的依赖于肌动球蛋白系统和微管—二联臂相互作用系统。在许多能进行双向颗粒运动的系统中, 微管能按产生运动所需能量的方向定向排列。例如在神经轴突中, 大量的微管沿着它们的长轴, 按与轴突长轴平行的方向排列着。*Allogromia* 里颗粒的运动以及克鲤鱼的黑色素细胞里色素颗粒的运动都表明细胞内颗粒的运动与微管相联系。用抗微管蛋白抗体进行的微管定位试验也清楚地表明微管至少起着定向结构作用, 色素颗粒可以沿着微管移动。因此在有颗粒运动的体系中, 微管的定位及定向至少表明微管可能参与这些运动。抗有丝分裂药物, 例如秋水仙素, 也能在许多这样的体系中抑制颗粒运动。例如, 在许多色素细胞中秋水仙素能使微管解聚, 同时完全阻止色素颗粒的聚集。

因此, 问题就变成微管怎样产生这些运动所需的能量。目前有关微管可能推动颗粒运动的机制有三种观点:

1. 纤毛和鞭毛上的二联臂可能与纤毛和鞭毛的摆动有关。二联臂是一种复合分子, 具有 ATP 酶活性。它是由纤毛和鞭毛的外周微管二聚体中的 A-亚纤维上长出的臂所形成, 能与相邻微管二聚体中的 B-亚纤维形成交链, 定向地产生能量, 使微管彼此相互滑动, 从而使纤毛和鞭毛产生弯曲或鞭打。可以想象细胞质里的微管壁上也可能长出二联臂, 后者也能与细胞内颗粒形成交联。我们常可看到从细胞质微管壁上有侧臂伸出来, 这些臂可能就是二联臂, 或其它二联臂样的 ATP 酶, 它们能使颗粒运动。事实上有证据表明, 真核细胞的细胞质里依赖微管的运动确实包括二联臂。因为将从海胆精子里分离到的抗二联臂抗体注射到海胆受精卵之后, 会阻止有丝分裂末期染色体的移动。因此在某些细胞内的运动中, 二

联臂可能起着一定作用。但这假说的主要缺陷在于不能解释颗粒的双向运动。

2. 用通过微管的履带式运动现象来解释微管传递细胞内颗粒。沿着肌动蛋白纤维有肌动蛋白亚单位的流动, 这是由于肌动蛋白纤维两端的聚合速度不同所引起的。纤维的一端长得快, 另一端长得慢。当纤维没有净的增长时, 必然在肌动蛋白纤维的一端产生聚合, 而同时在另一端解聚。微管的情况也是这样, 假如沿着微管有分子变动的话, 我们可以想象从微管壁上长出的侧臂是由与微管相联结的蛋白组成, 这些蛋白能与细胞内颗粒形成交联, 并由于蛋白质亚单位在微管上进行履带式运动而将颗粒带动。这一假说与颗粒的双向运动不相符合。

3. 微管能产生能量传递颗粒的第三种解释是基于微管的聚合和解聚。假如微管在体内处在高度活跃的聚合和解聚状态下, 当发生解聚时附着在微管末端的颗粒能向一个方向移动, 而当微管聚合时则向相反方向运动。这一假说可用来解释有丝分裂过程中染色体的运动。现已有很好的证据表明微管的聚合和解聚能引起染色体的运动。

综上所述, 微管可能由上面所说的某一种机制将颗粒向一个方向运送, 但不能解释颗粒的双向运动。因此可能还有其它产生能量的系统使颗粒向两个方向运动。

前已提及肌动球蛋白能产生能量, 而且现已有某些证据表明肌动球蛋白在颗粒的运动过程中起着一定作用。例如在一种藻类 (*Characean Algae*) 的结间细胞中发现, 内质颗粒沿着皮质下的肌动蛋白束运动。这种运动依赖于 ATP, 也对细胞松弛素 B 敏感, 表明在这些颗粒表面可能有肌球蛋白样的分子存在。它们可能与在外质中定向排列着的肌动蛋白纤维相互作用而产生运动。

我们实验室正在用一种温和的去垢剂 BRIJ-58 处理黑色素细胞, 使细胞膜部分溶解, 然后以这种处理过的细胞作为模式来研究色素颗粒的运动。假如能在这种细胞模式系统中激发色素颗粒的运动, 就可以观察各种抑制微管或肌动球蛋白产能系统活性的药物对色素颗粒运动的影响, 从而可对这种运动的机制有所了解。

(卫林祥摘译 续完)

细胞培养生产人抗体研究的一些进展

卞小庄

(辽宁师范学院生物系)

细胞培养生产抗体的技术, 已广泛地应用在基础研究和实际应用的许多方面^[1,2]。但这些抗体大多来自动物细胞而缺乏临床治疗价值。近年开始出现了一些细胞培养产生特异性人抗体的报道。本文简介这方面的一些进展。

一 产生人抗体的细胞株

已建立的产生人抗体的细胞株包括两类: 淋巴瘤细胞样 B 细胞株和杂交骨髓瘤细胞

株。

1. 淋巴瘤细胞样 B 细胞株

人 B 淋巴细胞表面具有 EB 病毒受体, 人外周血、脾脏和骨髓中的 B 细胞都可由 EB 病毒诱导在体外建株。EB 病毒相关肿瘤细胞或血清呈 EB 病毒抗体阳性的健康人 B 细胞, 也可在体外直接建株。已有上千株这样的细胞株, 其中有的能分泌大量的抗体^[2,3]。早期建成的细胞株大多只分泌非特异性抗体。人们曾