

细胞生物学

新 动 态

中国国家自然科学基金委员会生命科学部
中国科学院上海文献情报中心^编

上海科学技术出版社

细胞生物学新动态

中国国家自然科学基金委员会生命科学部 编
中国科学院上海文献情报中心

上海科学技术出版社

主编

翟中和 王永潮
王亚辉 王钦南

细胞生物学新动态

中国国家自然科学基金委员会生命科学部 编
中国科学院上海文献情报中心

上海科学技术出版社出版、发行

(上海瑞金二路 450 号)

上海南洋科技印刷公司印刷

(原上海科技情报研究所印刷厂)

开本 787×1092 1/16 印张 7.75 字数 192000

1994 年 3 月第 1 版 1994 年 3 月第 1 次印刷

印数 1—2500

ISBN7-5323-3535-6/Q·53

定价 11.50 元

(沪)新登字 108 号

目 录

自然科学基金资助细胞生物学的十年·····	王钦南(1)
近两年细胞生物学的进展(1991—1992)·····	王亚辉(5)
细胞内蛋白质的分选和运输 ·····	汤雪明(12)
细胞有丝分裂期调节研究的历史与现状 ·····	张传茂 翟中和(21)
细胞周期调控因子 p34 ^{cdc2} 及 cyclin 的研究新进展 ·····	张四清 王永潮(37)
蛋白激酶 C 家族的研究新进展 ·····	王向阳 柳惠国(51)
细胞通讯研究及其研究方法的现状 ·····	张锦珠(58)
膜结合生长因子和细胞增殖的接触调节 ·····	吴克复(65)
动粒(kinetochore)研究新进展 ·····	张焕相 王永潮(71)
细胞自然凋亡(Apoptosis)(细胞程序化死亡,Programmed Cell Death) ·····	郑德先 刘士廉(81)
核基质蛋白与核基质结合蛋白研究的进展 ·····	王小忠 丁明孝 翟中和(85)
核糖体 RNA 具有肽基转移酶活性 ·····	裴 霁 丁明孝 翟中和(90)
核仁的超微结构与 rRNA 基因的活动 ·····	郝 水(93)
Ras 蛋白与细胞信息传递网络·····	张惟傑(103)

自然科学基金资助细胞生物学的十年

王钦南

(国家自然科学基金委员会生命科学部 北京 100083)

若翻阅一下第四、第五届国际细胞生物学会会议文摘就会发现,近10年来细胞生物学的研究经历着较大变化:纯形态的、描述性的东西减少了;结构与功能统一的内容普遍了;深入到分子水平的研究增加了;由于和神经生物学、发育生物学渗透交织融合在一起,学科界限模糊了。而我国细胞生物学的研究基础薄弱,研究的总趋势基本上是跟踪国外,仍然处在稳定学科、储备力量、奠定基础的阶段。

自1982年设立科学基金以来,细胞生物学获基金资助后有了小的转机,出现了有希望的苗头和好的结果。由于基金工作初期学科分划等尚不系统,仅从1986年以来基金对本学科的资助情况作一梗概介绍。

1 面上项目资助概况

1986年以来,国家自然科学基金委员会生命科学部受理细胞生物学面上项目:自由申请、青年基金、地区基金以及主任基金,计1377项,资助342项,资助额1158万元(人民币)。资助项目复盖了科研单位、大专院校等54个研究机构。受惠者2751人次,其中高级科教人员763,中级964,初级1024人次,参加同行评议和学科评议活动的专家累积480多人次,已形成了学术水平高、运转机制好的专家评议系统。自然科学基金为基础性研究开辟了可靠的经济渠道,稳定了学科的研究力量。

对本学科已到期的173项基金项目调查结果(表1),其中154项,占89.0%的项目按要求上报了总结。根据其总结报告统计,项目在进行期间参与大量科学活动^[1],提供国际学术会议报告151篇,国内228篇;在国际刊物上发表论文75篇,国内刊物415篇,其它杂志和尚未发表的431篇;鉴定成果36项,获国家奖2项,部委级奖25项;培养博士后3名,博士学位77名,硕士学位399名。总之,自然科学基金对稳定和发展学科、发现和培养人才、活跃学术气氛的作用是显而易见的。

表1 1986—1989年细胞生物学自由申请项目基金资助的进展

结 果 年 度	资助项目			学术报告						完成论文、著作				获成果			人才培养		
	项 数	完成		国际会			全国会			国际 刊物	国内核心 刊 物	其 它	专 著	项 数	获奖		博 后	博 士	硕 士
		数	%	特邀	大会	分组	特邀	大会	国家						部委				
1986	44	36	81.8	1	3	26	9	66	17	130	33	4	5	0	11	0	22	81	
1987	43	38	88.4	13	13	21	5	45	20	88	121	3	5	0	5	1	16	112	
1988	43	41	95.3	1	6	13	4	37	16	88	162	4	15	1	3	0	20	127	
1989	43	39	90.7	6	13	35	7	55	22	109	115	4	11	1	6	2	19	79	
小计	173	154	90.0	21	35	95	25	203	75	415	431	15	36	2	25	3	77	399	

然而,应该看到由于“短期效应”的影响、出国热潮的冲击以及科研经费的短缺等原因,基

基础性研究面临着种种挑战。为了从更深层次分析问题,我们纵观五年面上基金项目人员结构的变化,如表 2。从表中看出,1986 年基金项目人员结构,高、中、初级之比为 1.0 : 1.56 : 2.57,而 1990 年则为 1.0 : 0.97 : 0.86。从而提示:研究力量在老化,学科人员结构在萎缩。对此,我们必须特别注重青年力量的培养和选拔。

表 2 “七·五”期间基金项目人员结构及其变化

类别	学科	年度	资助项目	技术职称			学位		高职 : 中* : 初**	合计
				高级	中级	初级	博士	硕士		
自由申请	细胞生物学	1986	44	71	97	117	15	65	1 : 1.56 : 2.57	365
		1987	43	88	74	67	9	50	1 : 0.99 : 1.33	288
		1988	43	93	86	65	8	53	1 : 1.00 : 1.27	305
		1989	43	112	84	64	11	49	1 : 0.85 : 1.00	320
		1990	38	87	79	51	5	24	1 : 0.97 : 0.86	246
		小计	221	451	420	364	48	241		1524

* 中级职称含博士学位
 ** 初级职称含硕士学位

2 重点项目

根据重点项目应针对我国科学发展与布局中的关键科学问题和学科领域新生长点开展系统、深入研究的原则,从 1991 年开始,出资 295 万元先后资助:核骨架、细胞交通、细胞分化和细胞因子等六项重点项目:

- ① 植物细胞骨架结构与功能的细胞生物学,目前获超国际文献的进展:从 100g 玉米花粉中得纯化 19mg 肌动蛋白,还得凝溶胶蛋白(gelsolin),证明与猪血中的相同^[2];从 corylus 花粉和粘菌中得驱动蛋白(kinesin);从丝瓜花粉中得分子量 100KD,有 GTP 酶活性,与牛脑中新发现的动力蛋白(dynein)的相似物^[3];
- ② 植物细胞间通道调控及大分子信息传递的细胞生物学研究;
- ③ 红细胞分化的核物质变化规律与红细胞分化因子(EDF)对基因表达调控的研究;
- ④ 胎肝造血干细胞的发育和癌变的调控;
- ⑤ 溶酶体结构功能的细胞生物学研究;
- ⑥ 早期胚胎发育的分子生物学。

参加重点项目的有:北京农业大学生物学院、中国医学科学院基础医学研究所、军事医学科学院放射医学研究所、中国科学院上海细胞生物学研究所、上海第二医科大学基础医学院等 10 个单位,包括高级科技人员 33 人、中级 32、初级 16、博士后 6、博士生 14、硕士 11、辅助人员 12 人。研究在紧张进行着。对此我们寄予厚望。

3 重大项目

国家自然科学基金重大项目要服从于我国社会主义建设总目标,面对经济、科技、社会发展的重大科学问题,组织多学科、跨部门、跨单位的联合研究。按上述原则,从 1988 年到 1992 年出资 419 万元,先后资助了四个重大项目(含按重大项目管理的学部主任基金 2 项,148 万元)。

“七·五”期间组织资助的是:

- ① “双信使和 cAMP 系统相互作用及其对细胞增殖和细胞恶性转化影响的研究”已完

成。在进行期间,参加国际性学术会议 15 人次,全国性会议 22 人次;国际刊物发表论文 8 篇,国内核心刊物 93 篇,专著 2 部;获部委级奖 1 项;培养博士后 1 名,博士学位 17 名,硕士学位 54 名。cAMP 和双信使系统在细胞转化中的相互关系;磷脂-细胞骨架重组, Ca^{2+} -CaM, cdc 基因, cytokines 对细胞增殖的调节;癌基因活性与细胞恶性转化等方面有所深入^[4,5],且为肿瘤治疗提供了新的途径。

② “核骨架-核纤层(Lamina)与中间纤维体系的研究”,研究(1)首次证明染色体端粒 DNA 与 Lamin B 及某些核骨架蛋白特异亲和性,为说明核骨架与 Lamina 在染色体(质)的空间结构布局与染色体的行为提供了首创性的实验依据^[6]; (2)成功地对植物中间纤维进行了体外重组装,并首次说明植物中间纤维至少含有 64KD, 58KD, 52KD 三种碱性角蛋白与一种 50KD 的酸性角蛋白^[7]; (3)证实植物存在核纤层,含有两种 Lamin 多肽,四膜虫细胞存在核纤层,可能含有一种 66KD 的 Lamin 多肽^[8]; (4)证明 Sindbis 病毒非结构蛋白(nsp2)能进入核内,并与核骨架结合,为解释病毒非结构蛋白抑制宿主细胞基因表达机制提供了依据^[9]。

上述成果有创新,还建立了电镜分子定位杂交,电镜能量损失谱(ESI)成象技术,核酸-蛋白质吸附杂交等实验手段,为工作的深入奠定了基础。

③ 正常细胞、癌变细胞和侵袭性癌细胞内质网膜系统研究。制作出精细的内质网电镜图片,分子生物学方面的研究正在加强和深入^[10]。

“八·五”期间组织资助的是:

“植物性细胞的发育生物学研究与操作系统的创建”。通过多学科的研究手段,对植物生殖生物学中具有我国特色与优势的国际前沿的课题,如性细胞分化,离体操作及其识别等从不同角度研究,以期作出国际领先水平的研究成果,促进植物性细胞发育生物学的发展,为开拓植物受精工程奠定理论基础和技术储备。

参加重大项目的有:北京师范大学生物系、北京大学生物系、中国医科大学、武汉大学生物系等 12 个单位,参加者包括高级科技人员 49 人,中级 26,初级 22,博士 20,硕士 49,辅助人员 17 人。

上述情况可见,自然科学基金的资助能力还比较弱,细胞生物学中很多前沿课题、新的生长点在国内尚缺少研究力量,发育生物学始终没有形成能跟上国际水平的研究。从而也说明研究学科发展战略的必要性,找准了战略目标,就可以把有限的经费用得更恰当合理,因此衷心希望有关同仁对学科发展提出更多更好的建议和项目。

参 考 文 献

- [1] Wang Qinnian. Improving science foundation based on recent five years practices of support to science programs. Proceedings of the International Symposium on the Improvement and Development of Science Funding Systems, 1992, 315~319
- [2] 刘雄, 阎隆飞. 玉米花粉肌动蛋白的研究. 生物化学生物物理学报, 1993, 25(4): 447~451
- [3] Yan Longfei, Liu Xiong. Purification of actin from pollen. Plant Physiology, 1992, 99: 1151~1155
- [4] Chen Wei-Feng, Sun Qi-Ling, Tao Ja-Ping. Selective support of a mouse thymus epithelial cell line (MTEC1) to the viability and proliferation of $\text{CD4}^+\text{CD8}^-$, $\text{CD4}^-\text{CD8}^-$, and $\text{CD4}^+\text{CD8}^+$ thymocytes in vitro. Cell Research, 1992, 2(2): 189
- [5] Linda J. Nicholson, Xu Fang Pei, Fiona M. Watt. Expression of E-cadherin, P-cadherin and involucrin by normal and neoplastic keratinocytes in culture. Carcinogenesis, 1991, 12(7): 1345~1349
- [6] 杨澄, 邢力, 翟中和. 植物的中间纤维及其在体外重装配. 中国科学(B), 1992, 22: 1052~1057
- [7] Yang C, Xing L, Zhai Z H. Intermediate filaments in higher plant cells and their assembly in a cell-free

.system. Protoplasma, 1992, 171: 44~45

- [8] Jiao R J, YU W D, Ding, M X, Zhai Z H. Localization of Adenovirus DNA by in situ hybridization electron microscopy. MRT, 1992. 21: 23~31
- [9] 张传茂, 张博, 翟中和. 非细胞体系重建核染色质组装、结构和 DNA 复制. 中国科学, 1992. 23: 714~722
- [10] 宋今丹, 刘冬杰, 朱亚琴, 李旦等. 正常细胞与癌细胞的内质网膜系统研究. 1993, 第二届全国高等医药院校医学细胞生物学教学与科研研讨会(摘要)

近两年细胞生物学的进展(1991—1992)

王亚辉

(中国科学院上海细胞生物学研究所 200031)

从 80 年代末期以来,生物大分子结构和功能的研究又取得很大的进展。一批重要的生物大分子(如受体、离子通道、间隙连接、光合作用中心 I 和固氮酶铁钼蛋白等)的三维结构,陆续得到解决。这些成就使细胞的结构和功能活动在分子水平得到更为圆满的解释。另一方面,用各种分子遗传学和基因工程方法(重组 DNA 技术、PCR、同源重组和转基因动、植物等)对高等生物的细胞分化、发育和遗传的分析取得了惊人的进展。尤其是近几年发展起来的“反向发生遗传学”(Reversed developmental genetics)方法的应用,使有可能在高等脊椎动物上直接研究没有发生突变的基因(野生型基因)在发育中的作用。经典遗传学的研究途径是从表型到基因,反向发生遗传学则是从基因到表型。例如利用与已知果蝇的发育调节基因(如 Homeobox)的同源性,从脊椎动物(爪蟾、小鼠等)分离出发育调节基因,加以改造、重组,并通过转基因动物分析这些基因对发育的调控功能。由于这些方法学上的进步,对高等动物发育过程,从卵子发生、成熟、图式形成到形态发生等方面在基因水平上的分析正全面展开,已取得不少重大成果。正如过去对各种生命现象(生长、分化、发育、遗传和癌变等)的奥秘都要从细胞的结构和功能中寻求解答一样,目前对细胞的结构和功能活动又要从基因组的结构及其功能活动中寻求解答。真核细胞基因组的结构及其表达的调控是未来细胞研究的中心问题。另一个重要的方面是基因产物如何构建成细胞结构,以及如何调节和行使细胞功能。这两方面的研究将构成 90 年代细胞研究——分子细胞生物学(Molecular Cell Biology)的主要内容。

过去两年(1991—1992),细胞生物学最引人瞩目的进展有以下几个方面。

1 真核细胞基因组结构

自从美国《人类基因组的作图和测序》计划在 1989 年正式实施以来,取得了意想不到的迅速进展。美国 MIT Whitehead 研究所 Page 研究组在 1992 年发表了人 y 染色体的高密度物理图^[1]。由于 y 染色体在减数分裂时不参加连锁和交换,只能利用天然出现的缺失,制作了有 43 间隔的遗传缺失图。以超数 y 染色体男人(x, y, y, y, y)的 DNA 为材料,制备大片段(~650Kb)酵母人造染色体库(YAC)。利用能被 PCR 识别的 200 个 STS(Sequence tagged sites)界标,将 YAC 克隆在遗传缺失图上排序,得出 y 染色体的高密度物理图^[2]。法国人类多态性研究中心(CEPH)Daniel Cohen 研究组利用大片段酵母人工染色体(Mega YAC),得到了覆盖人 21 号染色体(21q)的排序克隆库^[3]。这条染色体上有许多与遗传病有关的基因(包括 Down 综合症, Alzheimer 病及其他神经系统疾病)。

x 染色体是另一个研究的重点。1992 年已构建了包括 x 染色体 DNA 全长(160 百万碱基对)的近 40% 的 YAC 排序克隆库^[4]。此外,同年还发表了由 100 多位工作者共同完成的人基因组(23 条染色体)的全套遗传连锁图^[5]。

欧洲共同体《生物技术执行计划》所属 35 个实验室,1992 年 5 月在《自然》杂志上发表了酵母(*S. cerevisiae*) III 号染色体 DNA 的全序列。这是真核生物中,第一个染色体 DNA 全长度

序列分析的结果。在 315Kb 的全长中,发现有 182 个可译框(ORFs);其中 37 个相当于已知的基因,29 个以上与基因数据库已知序列有相似之处^[6]。这一结果说明,即使像酵母这样在遗传上研究得最透彻的真核生物,其基因组的大多数基因还是不清楚的。

2 染色体(质)的结构和基因调控

基因的转录只能在特定的染色质结构形式(活性染色质)上进行。染色质不同水平的结构(核小体、30nm 纤维及环区等)均与转录活动有密切关系。对基因表达调控的顺式和反式元件的深入研究发现转录的激活需要转录因子竞争与基因的启动子结合的染色质结构成分,从而改变染色质的结构^[7]。Felsenfeld 认为随基因所在部位的染色质结构(顺式调控序列与核小体的空间关系)的不同,染色质激活的机制也有不同:

(1)动态竞争(dynamic competition) 某些基因的顺式调控序列位于核小体表面,或其它易于接近的地方;或者在另外的反式作用因子结合引起核小体不稳定或移位,造成组蛋白的滑脱或核小体的解体,产生无核小体的区域,都能使转录因子在空间上接近基因的启动子区域,形成转录复合物,激活转录活动。已有证据表明,酵母调控因子 GAL4 与核小体核心结合,可形成一个亚稳定的转录因子——核小体复合物,在有竞争物存在时,核小体易于解体^[8]。

(2)预空竞争(Preemptive competition) 另一些基因在静止细胞内染色体上所处的位置,使反式调控蛋白不能接近基因的调控序列;只有在 DNA 复制时,在复制叉部位裸露出的没有核小体区域,反式调控蛋白才能接近。当此染色质区域上无核小体区域的转录复合物形成后,就能在静止细胞内维持下去。这也许可以部分地解释细胞终末分化时出现的“量子有丝分裂”(Quantum mitosis)现象,即增生的干细胞需经历一定次数的分裂后才能开始终末分化。

染色质上存在座位控制区(Local control region,LCR),即能使活化染色质稳定的一种顺式调控元件。LCR 能与结合区相互作用,保持启动子(或加强子)区域没有核小体构造,即使复制叉上的转录复合物保持稳定。因此,LCR 能使相邻的基因或基因群不依赖其在染色体上的位置而独立地表达。与 LCR 重组的基因(如人 β -珠蛋白基因及其调控序列)转移到小鼠后,能自主地表达而不受整合在染色体上的位置的影响。

70 年代就有人推测染色质上的非组蛋白(HMG,high mobility group proteins)可能与基因调控有关。目前知道 HMG1 分子构造分三段,羧基端 1/3 段由酸性氨基酸组成,其余 2/3 为两个重复区域(~80 氨基酸),称为 HMG 框。许多转录因子、性别决定因子(SRY)或酵母控制交配型蛋白均含有 HMG 框。有人推测 HMG1 框在染色质上的作用是在与 DNA 结合时,形成环,提供基因表达所需的构象^[9]。很有趣的是,中国科学院上海原子核所和细胞所合作,用扫描隧道显微镜(STM)观察到人 β -珠蛋白基因之 5'端负调控区与反式调控因子 HMG(1,2)相互作用时,DNA 能形成环结构^[10],证实了这种理论推测。

染色体的异染色质化是大范围基因失活的一种机制。哺乳动物雌性,早期发育中体细胞的两条 X 染色体中一条因异染色质化而失活,从而保持基因剂量平衡。对重组的 X 染色体的比较分析,发现一个只在失活的 X 染色体上专一表达的标志基因 XIST^[11]。进一步研究表明,XIST 基因的产物为 15 Kb RNA,只存在于 x 染色体失活的细胞核内,不能在胞质内翻译。这提示 XIST RNA 可能与 X 染色体失活有关。XIST RNA 在成年雌体的所有体细胞内存在,提示可能与维持 X 染色体失活状态有关^[12]。

3 核骨架对核酸代谢的调控

核结构的发现经历了漫长的历史。70 年代中期,R. Berezney 开始注意到核骨架的存在,并提出核基质的概念。80 年代 Penman 发展了选择性分级抽提技术,得到清晰的核骨架的电

镜图像,并证实核骨架可能参与 DNA 复制。

1991 年美国细胞生物学会在波士顿举行的年会上,马萨秋塞大学医学中心的 J. Lawrence 提出细胞核内的基因活动(包括基因转录、转录后剪接、加工等)是在核的三维结构上按一定的时空秩序进行的^[13a, 13b],改变了目前的核酸代谢调控的概念。Lawrence 发现分裂间期核内,用荧光探针原位杂交来标记染色质上特定基因的方法,也可以用来显示活性基因的转录部位,并发现基因的转录活动——新 mRNA 合成,限于核内一定的小区,称为“转录区”(transcriptional domain)。新合成的 mRNA 从“转录区”到核的边沿保留着长的轨迹。用能区分基因的外显子和内显子的探针可显示出外显子在整个 mRNA 轨迹上均存在,而内含子只在一部分上存在,说明从一定地方起发生了剪接。进一步用剪接聚合因子(SC35 蛋白)的单抗显示剪接子(spliceosome)的位置,清楚地看到基因转录活动和剪接活动在空间上重合,都与核骨架相连接。新合成和加工过的 RNA 分子沿核骨架输送到核膜,再进入到细胞质。可以设想对于某些基因,数量上极少的转录因子在一定的发育时期附着到核骨架上,可能对该基因的表达是重要的^[13, 14, 15]。有初步报道,癌细胞和正常细胞核骨架蛋白图谱存在明显的差异^[16]。

中国细胞生物学会 1992 年在杭州召开的第五次学术会议上,北京大学生物系翟中和等报道,HeLa 细胞的染色体端粒 DNA 能与核骨架特异的结合,因而推测核骨架很可能参与染色体的空间排布,并影响染色体的行为^[17]。

4 发育的基因控制的层次网络

个体发育中,基因表达的程序、时间、位置和数量是受不同层次的调控机制控制的。对发育来说,最重要的不是个别基因的表达,而是这些表达之间在时、空上的联系和配合,即发育的遗传程序。对于形态发育和进化,最关键的是调节基因。理论上,调节基因可以从三方面来控制发育:(1)发育途径的选择;(2)发育事件的时、空次序性;(3)对多个相关的结构基因的整合作用,协同表达以形成分化的组织、器官。目前关于发育的基因控制的知识主要是从对果蝇的研究得到的。

果蝇发育的分子遗传学研究表明,胚胎形体(体轴和分节)发育是受几个基因群形成的相互作用的多层次网络控制的^[18]。这些基因群至少有三个层次:

①母体基因(maternal gene)最初决定体轴的是母体基因(例如 bicoid),它们在卵子发生过程中起作用。这些基因的产物(蛋白质和 mRNA)在卵质内按一定的时、空图式分布,从而使位于卵质不同位置的细胞核内的基因被选择地激活;

②分节基因(segmentation gene)如 fushi tarazu 基因,对体轴和分节发育进一步起作用,奠定分节的大格局;

③同源异形基因(Homeotic gene)如 BX-C 基因,进一步决定各体节形态特征(头、胸或腹)的发育。同源异形基因的突变导致体节附肢从一个发育途径向另一发育途径的转变,因此又称为选择基因(selector gene)。它们的表达又受分节基因以及其它同源异形基因相互作用的影响。

对几种同源异形基因 DNA 序列的比较研究发现存在进化上保守的“同源异形框”(Homeobox),相当于 60 个氨基酸残基长度,从其编码的多肽构造推测,可能是一个转录调控因子。用果蝇的同源异形框探针,在脊椎动物(从斑马鱼、爪蟾、小鼠到人)都发现含同源异形框的基因群存在。它们在发育过程中沿胚胎前后轴依顺序地表达,控制中央神经系统和中轴器官沿前后轴的区域分化。各种动物含同源异形框基因群的命名很复杂,它们之间的对应关系可参看 M. P. Scott(1992)^[19]的统一命名。

同源异形框基因是目前发现的少数几个调节发育途径的主基因的代表。据估计果蝇全部基因组(~5,000—10,000 基因)中,最多约有 200 个调节基因,共同形成调节发育的层次网络的主干。因此,发现这些调节基因是未来 10 年的任务。

哺乳类肝细胞的分化及其分化状态的维持也是受转录调控层次网络控制的^[20]。这种转录调控层次包括 HNF-4(homeoprotein nuclear factor-4)→HNF-1 α →依赖 HNF-1 α 的靶基因(白蛋白, β -血纤蛋白原);而 HNF-4 还受更高层次的基因调控。当后者缺失或突变时,肝细胞就失去正常的分化表型。

5 “组织者”(organizer)专一基因的探索

自 1924 年 Spemann 发现“组织者”以来,经过半个多世纪的研究,初级胚胎诱导作用的分子机制仍未解决,直到最近才出现转机。Nieuwkoop 在 70 年代发现“组织者”本身是囊胚期动物半球外胚层受植物半球内胚层的诱导产生的。这可以说是观念上的一个大转变,使“组织者”研究的重点转到中胚层的诱导及其“背方化”(dorsalization)方面。

近年来发现一些多肽生长因子(FGF, TGF- β_2 及 activin 等)有很强的中胚层诱导能力,并且还发现定位在爪蟾卵植物极的 mRNA 编码与 TGF- β 同源的蛋白质。不过它们是否就是胚胎内源的中胚层诱导物质还难以断定。最近有人将经过截短的 activin 受体的基因注射到爪蟾卵内,结果发现在胚胎细胞中表达的这种突变的受体分子能阻遏中胚层的形成^[21]。这一实验表明 activin 不仅能模拟内源中胚层物质的作用,而且可能是中胚层诱导中,信号传递途径的一个组成环节。

1991 年洛杉矶加州大学 E·M·Robertis 实验室从爪蟾背唇 cDNA 库中发现背唇专一的同源框基因(“Organizer”specific homeobox gene),其 DNA 序列与果蝇的两个早期发育的调节基因,gooseberry 和 bicoid(决定前后轴)基因有很高的同源性,因此称为“goosoid”基因。把 goosoid 基因的 mRNA 注射到早期原肠胚腹面,能产生次级胚胎,说明在功能上也同“组织者”的作用相似^[22]。此外,Smith 和 Harland(1992)克隆了最先在原肠胚背唇,后来在脊索特异表达的 noggin 基因;其表达质粒能补救受紫外线照射过的早期胚胎,形成中轴器官。此外,noggin 编码的蛋白质能诱导腹边缘区中胚层(VMZ)形成肌肉,而 activin 及其他中胚层诱导物质则不能^[23,24]。总之,从现有证据看来,FGF, TGF- β (包括 activin)等生长因子都可能参加中胚层诱导,而 goosoid, noggin 等基因的特异表达可能与“组织者”的决定有关。但是胚胎内源诱导物质究竟是什么,以及如何导致胚胎形体建造的复杂过程仍不清楚。

6 活细胞内新生肽的折叠

C. B. Anfinsen 在 30 年前曾提出蛋白质的一级结构决定其三级结构,即蛋白质的氨基酸序列包含肽链折叠的必需的信息。虽然一些蛋白质在离体变性后,仍可自发地恢复其天然构象,但在细胞内新合成的肽链的折叠和装配却需要几类在进化上非常保守的蛋白质——陪伴分子(chaperones)参加。这些陪伴分子能促使细胞内新合成肽链正确的折叠、装配和解聚,以及错折叠的肽链的降解。

生物界,从细菌到高等生物,普遍存在三类陪伴分子:Hsp60(chaperonin 60, 60K), Hsp70(stress70, 70K), Hsp90(stress-90, 90K);最初由于生物对热激(heat shock)反应时,它们在细胞内大量产生而发现的。实际上,它们在正常时也存在,并对细胞的生长和生命活动都很重要。真核细胞内,不同类别的陪伴分子分布在细胞的不同的区室或细胞器,起不同的作用^[25]。细胞内这几类蛋白在新生肽折叠过程中陆续地起作用。胞质溶胶内的 DnaK(Hsp-70)能识别和结合核糖体上新合成的伸展的肽链,并同 DnaJ(Hsp-60)一道维持肽链在一个稳定的过渡构象。

依赖 GrpE 和 ATP 水解,肽链被转移到 Gro EL(Hsp-60)上,再折叠成天然的构象^[26]。从胞质溶胶输送到线粒体的肽链,以伸展形式通过线粒体膜,与基质中 Hsp-70 结合,然后转移到 Hsp-60 上再完成折叠。值得注意的是,同一肽链(VSV-C)与不同的陪伴分子(DnaK 或 GroEL)结合时,折叠产物的构象不同。与 DnaK 结合时,肽链呈伸展构象;而与 GroEL 结合时呈螺旋构象^[27]。对鸡溶菌酶折叠过程的分析还表明蛋白质折叠不是一个简单的连续的装配过程,而是包括一些平行的,形成稳定的中间结构的部分过程,其中 α -螺旋区的折叠速度要比 β -折叠区快^[28]。

活细胞内陪伴分子介导的蛋白质折叠是目前分子细胞生物学研究的一个热点^[29,30]。

7 细胞的编程死亡

动物的大多数细胞在一定的发育时期出现正常的死亡,称为细胞编程死亡(Programmed cell death 或 apoptosis)。细胞正常死亡——编程死亡和细胞的病理死亡——坏死有明显的区别。细胞坏死时,细胞肿胀,解体,释放出内容物,引起炎症反应;而细胞正常死亡时,细胞核和细胞质收缩,染色质常断裂,易被巨噬细胞吞食。细胞的存活或死亡是受动物整体控制的。细胞的编程死亡受来自其他细胞的信号所激活或抑制。机体通过这些特异信号来清除迁移过程中迷途的细胞,调节器官或组织的细胞数量以及发育过程中新旧器官的更替。成体各器官的大小实际上是细胞增生和细胞编程死亡两过程之间的平衡的结果;这两过程各有其不同的调控机制^[31]。

细胞编程死亡的调控机制最先是从小鼠研究上突破的。线虫(*Caenorhabditis elegans*)是细胞定数动物。在发育过程中形成的,成体的 1,090 个体细胞中,有 131 个注定要编程死亡。遗传分析表明细胞的编程死亡是受两个基因,Ced-3 和 Ced-4 控制的;而它们又是受另一个基因,Ced-9 负调控的。当 Ced-9 基因激活时,Ced-3 和 Ced-4 被抑制,细胞存活;当 Ced-9 基因不活动时,Ced-3 和 Ced-4 激活,导致细胞的编程死亡,甚至造成许多正常存活细胞的提早死亡(图 1)。如果 Ced-9 和 Ced-3 基因同时失活时,正常的和逾数的细胞的死亡都不能发生^[32]。

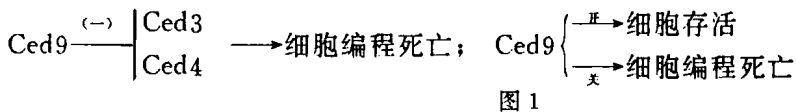


图 1

这些结果提示在动物体内,细胞需要从其他细胞不断地得到信号,才能免于死亡。或者说,细胞的生和死是处于动物整体的社会控制(Social control)下的^[31]。

动物体内一些细胞的编程死亡是受其他细胞的信号激发的。如蝌蚪尾部细胞,在变态时受甲状腺素作用而诱发死亡;胸腺的淋巴细胞则被肾上腺皮质激素诱发死亡。另一些细胞的存活则需要组织专一的存活信号的连续刺激。生长中的神经纤维依赖靶细胞产生的营养因子(如 NGF 等)存活。它们通过对稀少的营养因子的竞争而自动调节存活的神元数目。迁移中的原始生殖细胞的存活依赖途中存在的“铁灰”基因的产物,迷途的细胞因而自动死亡。细胞存活对专一的存活信号的依赖有利于器官发育过程的正常进行和器官正常大小(组成器官的细胞数目的稳态)的维持。

哺乳动物中,癌基因和抑癌基因也可能参与细胞编程死亡的调控。c-myc 原癌基因的过度表达可以导致细胞的编程死亡^[33];而 bcl-2 原癌基因的过量表达却可以阻止 c-myc 诱导的细胞死亡^[34,35]。将人 bcl-2 基因转移到 *C. elegans* 可以阻遏细胞编程死亡,这提示 bcl-2(相当于

线虫的 Ced-9)在人细胞可能有相同的作用机制^[36]。

抑癌基因 p^{53} 在诱发细胞编程死亡中起重要作用。淋巴细胞经辐射或化疗引起 DNA 损伤时, p^{53} 蛋白大量增加, 同时出现细胞编程死亡。进一步分析还发现, DNA 损伤引起的细胞编程死亡绝对需要 p^{53} 基因产物的存在; 而糖皮质激素, Ca^{++} 离子载体和衰老引起的编程死亡则无需 p^{53} 蛋白的存在^[37,38]。 p^{53} 基因编码一个转录激活蛋白, 其靶基因负责监管基因组的完整性, DNA 损伤的修复和细胞周期的运行。 p^{53} 基因产物诱发细胞编程死亡可提供一种防御机制, 使 DNA 损伤的突变细胞不能存活下去, 演变成癌细胞。当 p^{53} 基因失活或 p^{53} 蛋白被其他癌基因产物抑制时(如 MDM2 癌蛋白能掩盖 p^{53} 蛋白的活化结构域而使其失活^[39]), 突变细胞便得到继续存活的机会, 并发展成癌细胞^[40](图 2)。

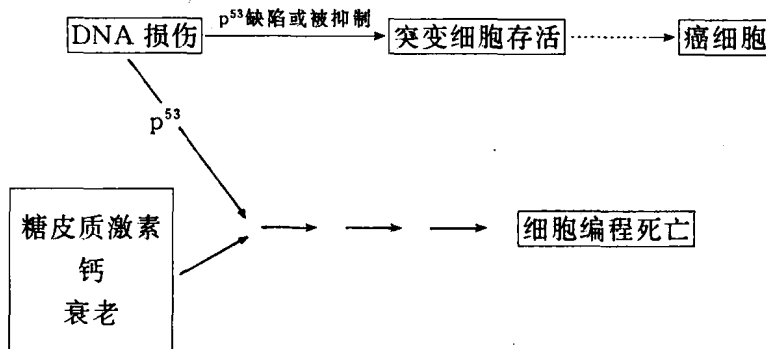


图 2

细胞编程死亡与细胞癌变的关系已引起广泛的重视。

8 信号跨膜转导的机制

通过对不同动物(线虫、果蝇到哺乳动物), 用不同的方法(分子生物学和遗传学)进行综合研究, 终于弄清楚了从膜受体(酪氨酸激酶)经一系列蛋白-蛋白相互作用到开动 Ras 的途径。

Grb2 接合分子(相当于线虫的 Sem5, 果蝇的 drk)在这一连串分子间相互作用中处于中心位置。Grb2 分子一端的 SH2 功能区与活化的受体(自身磷酸化)结合, 而分子另一端的 SH3 功能区则与 SOS 蛋白(Son of Sevenless, 果蝇的一种 Ras-GRF 蛋白)结合; 与受体连接的 SOS, 引起 Ras 分子的 GDP—GTP 交换, 从而触发一连串的丝氨酸—苏氨酸激酶的链锁反应, 把信号传递到细胞核内的转录机构, 发动特异的基因转录活动, 导致细胞的生长和分化^[41,42]。其他细胞类型的受体, 也可以类似的机制, 通过组织专一的 GRFs, 如脑细胞的 P^{140} Ras-GRF 和造血细胞的 VAV, 导致 Ras 的激活^[43]。

从膜受体到细胞核, 信号转导途径中蛋白-蛋白间相互作用的阐明, 提供了新一代小分子药物设计的理论根据^[44]。

除上述几方面外, 真核细胞内物质的传输和分泌的分子机制, 蛋白质抗原的加工和呈递, 细胞间亲合分子与细胞的社会行为等领域也有重要的进展。

总之, 同分子生物学合流的细胞生物学在过去两年多时间里, 以基因研究为中心, 对细胞结构和基本生命活动取得了许多重大的发现和观念上的突破。目前这种发展趋势正方兴未艾, 完全可以期待在进入新世纪前剩下的几年里将取得更为惊人的发现和进展。

参 考 文 献

- [1] Vollrath D, et al. Science, 1992, 258: 52~59

- [2] Foote S, et al. *Science*, 1992, 258: 60~66
- [3] Chumakov I, et al. *Nature*, 1992, 359: 380~387
- [4] Mandel J. -L, et al. *Science*, 1992, 258: 103~109
- [5] NIH/CEPH Collaboration Mapping Group. *Science*, 1992, 258: 67~102
- [6] Oliver S G, et al. *Nature*, 1992, 357: 38~46
- [7] Felsenfeld G. *Nature*, 1992, 255: 219~224
- [8] Workman J L, et al. *Science*, 1992, 258: 1780~1784
- [9] Lilley D M J. *Nature*, 1992, 357: 282~283
- [10] 李民乾, 钱若兰等. *科学通报*, 1992, 18: 1710
- [11] Brown C J, et al. *Nature*, 1991, 349: 82~84
- [12] Brockdorff N, et al. *Cell*, 1992, 71: 515~526
- [13a] Hoffman M. *Science*, 1992, 255: 34~35
- [13b] Hoffman M. *Science*, 1993, 259: 1257~1259
- [14] Travis J. *Science*, 1993, 259: 1258
- [15] Xing Y, et al. *Science*, 1993, 259: 1326~1330
- [16] Carter K C, et al. *Science*, 1993, 259: 1330~1335
- [17] 汪国顺等. 《中国细胞生物学学会第五次学术会议论文摘要汇编》, 1992, 86 页
- [18] Nüsslein-Volhard C. *Development (Supplement 1)*, 1991, 1~10
- [19] Scott M P. *Cell*, 1992, 71: 551~553
- [20] Kuo C J, et al. *Nature*, 1992, 355: 458~461
- [21] Hemmati-Brivanlou A, Melton D A. *Nature*, 1992, 359: 609~614
- [22] Blumberg B, et al. *Science*, 1991, 253: 194~196
- [23] Smith W C, Harland R M. *Cell*, 1992, 70: 829~840
- [24] Smith W C, et al. *Nature*, 1993, 361: 547~549
- [25] Gething M J, Sambrook J. *Nature*, 1992, 355: 33~45
- [26] Langer T, et al. *Nature*, 1992, 356: 683~689
- [27] Landry S J, et al. *Nature*, 1992, 355: 455~457
- [28] Radford S E, et al. *Nature*, 1992, 358: 302~307
- [29] Craig E A. *Science*, 1993, 260: 1902~1903
- [30] Agard D A. *Science*, 1992, 260: 1903~1904
- [31] Raff M C. *Nature*, 1992, 356: 397~400
- [32] Hengartner M O, et al. *Nature*, 1992, 356: 494~499
- [33] Smeyne R J, et al. *Nature*, 1993, 363: 166~169
- [34] Bissonette R P, et al. *Nature*, 1992, 359: 552~554
- [35] Finidi A, et al. *Nature*, 1992, 359: 554
- [36] Vaux D L, et al. *Science*, 1992, 258: 1955~1957
- [37] Lowe S W, et al. *Nature*, 1993, 362: 847~849
- [38] Clarke A R, et al. *Nature*, 1993, 362: 849~852
- [39] Oliner J D, et al. *Nature*, 1993, 362: 857~860
- [40] Lane D P. *Nature*, 1993, 362: 786~787
- [41] McCormick F. *Nature*, 1993, 363: 15~16
- [42] Egan S E, et al. *Nature*, 1993, 363: 45~51
- [43] Feig L A. *Science*, 1993, 260: 767~768
- [44] Brugge J S, et al. *Science*, 1993, 260: 918~919

细胞内蛋白质的分选和运输

汤雪明

(上海第二医科大学细胞生物学实验室 200025)

一个哺乳动物细胞含有近一万种蛋白质分子,这些蛋白质分子一般在胞质溶胶中开始合成,然后被选择性地送到细胞的不同部位。把每一种新合成的蛋白质准确无误地送到有关膜结构和细胞器,即蛋白质的分选(protein sorting),是细胞生物学的一个重要问题,因为细胞内的膜结构和细胞器都是依靠各种蛋白质来实现其特有功能的。

细胞内的蛋白质是如何分选和运输的?近年来围绕这一问题开展了大量的研究工作,积累了丰富的资料,但问题还远远没有解决,至今仍是值得探讨的一个领域。

1 蛋白质的分选信号

一般认为,蛋白质能准确无误地被送到相应膜结构和细胞器,是由于新合成的多肽上存在着分选信号,而相应的靶膜或靶细胞器上存在着分选信号的受体。目前已对蛋白质的分选信号有了一定的了解,但对它们相应的受体则知道很少。

蛋白质的分选信号有信号肽(signal peptide)和信号斑块(signal patch)两种类型(图1)。信号肽是位于多肽链上的一段连续的氨基酸序列,一般有15—60个氨基酸残基,具有分选信号的功能。在引导蛋白质到达目的地、完成其分选信号功能后,信号肽常常从蛋白质上被切除。信号斑块是位于多肽链不同部位的氨基酸序列在多肽链折叠后形成的一个斑块区,具有分选信号的功能。因此,信号斑块是一种三维结构,当多肽链伸展时,组成信号斑块的不同氨基酸序列可在多肽链上相距甚远。

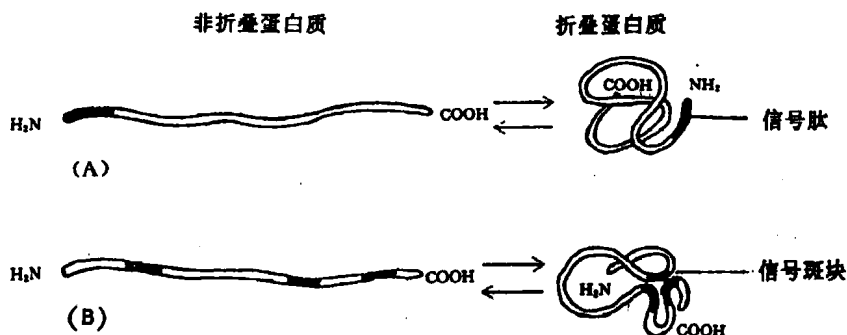


图1 蛋白质的分选信号:信号肽(A)和信号斑块(B)

信号肽通常引导蛋白质从胞质溶胶进入内质网、线粒体和细胞核,同时也引导某些蛋白质保留在内质网内;信号斑块则引导一些其他分选过程,如高尔基体中某些溶酶体酶蛋白上有信

号斑块, 可被相应的分选酶所识别。

表 1 几种典型的信号肽序列

信号肽功能	信号肽序列
输入到内质网	H ₃ N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser- <u>Leu-Leu-Leu-Val</u> ⊕ <u>Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala</u> -Thr-Glu-Ala-Glu- Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln- ⊕ ⊕ ⊕
保留在内质网	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO ⁻ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕
输入到线粒体	H ₃ N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe- ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser- ⊕ ⊕ Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu ⊕
输入到细胞核	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val- ⊕ ⊕ ⊕ ⊕ ⊕
与脂肪酸共价结合 后结合到膜结构上	H ₃ N-Gly-Ser-Ser-Lys-Ser-Lys-Pro-Lys- ⊕ ⊕ ⊕ ⊕

表1列举了一些信号肽的氨基酸序列,不同类型的信号肽引导蛋白质到达各自特定的目的地。注定要运送到内质网的蛋白质具有一个氨基末端的信号肽,其中间部分有一段5—10个疏水氨基酸序列,带有这种信号肽的蛋白质,大多数将经内质网进一步运送到高尔基体;注定要保留在内质网的蛋白质,在其羧基末端有四个特定氨基酸组成的信号肽;要运送到线粒体的蛋白质,其信号肽中阳电荷氨基酸和疏水氨基酸交替排列;而许多注定要运送到细胞核的蛋白质,其信号肽中有一串阳电荷氨基酸,信号肽可位于蛋白质的任何部位。还有一些蛋白质带有一种特别的信号肽,其作用是使脂肪酸与其共价结合,然后引导这些蛋白质结合在膜结构上,但并不插入膜内。

用遗传工程技术可实验证明信号肽对引导蛋白质运输的重要性。例如,把引导蛋白质进入内质网的氨基末端信号肽装到胞质溶胶蛋白质上,就会引导这些蛋白质进入内质网。实验还证明,具有同样目的地的各种信号肽是可以互换的,尽管它们的氨基酸序列有很大的不同,接在任何蛋白质上都可引导它们到达目的地。在信号肽的识别过程中,物理特性(如疏水性)往往比氨基酸序列更重要。

目前对信号斑块结构的了解还很少,因为实验分析信号斑块比分析信号肽困难得多,信号斑块是多肽链折叠后的三维结构,不能把它们从一个蛋白质转接到另一个蛋白质上,而且各种实验性改变很容易破坏信号斑块的三维结构。

2 蛋白质的运输途径

蛋白质在胞质溶胶的核糖体上合成后,在细胞内有两条主要的运输途径(图2)。
第一条途径是蛋白质在核糖体上合成后释放到胞质溶胶中。其中有些蛋白质带有分选信号,随后从胞质溶胶分别运送到细胞核、线粒体和过氧化物酶体,而另一些蛋白质没有分选信号,则被留在胞质溶胶中。