

生物学研究概说

细胞骨架

(英) A. 富尔顿 著



科学出版社

· 生物学研究概说 ·

细 胞 骨 架

〔英〕A. 富尔顿 著

袁 莉 等 译

章静波 等 校

科 学 出 版 社

1 9 9 1

(京)新登字 092 号

内 容 简 介

本书为《生物研究概说》丛书之一，是一本论述细胞骨架的基础理论读物。近 10 余年来，随着生物技术方法的不断完善，人们已能采用各种电镜、免疫荧光技术和生化方法对各种细胞(包括肿瘤细胞)的细胞骨架成分及其分布与功能进行深入的观察和研究，本书对这些研究作了深入浅出的介绍。

可供从事细胞生物学、分子生物学以及肿瘤学的科研工作者、研究生、大学生参考。

A. Fulton

Outline Studies in Biology

The Cytoskeleton:

Cellular Architecture and Choreography

Chapman and Hall, 1984

· 生物研究概说 ·

细 胞 骨 架

[英] A. 富尔顿 著

袁 菊 等 译 章 静 波 等 校

责任编辑 吴瑰琦

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码：100707

中 国 科 学 院 印 刷 厂 印 刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

1991 年 12 月 第 一 版 开本：787×1092 1/32

1991 年 12 月 第 一 次 印 刷 印 张：3 1/8

印 数：0 001—1 550 字 数：68 000

ISBN 7-03-002593-8/Q·352

定 价：2.90 元

目 录

第一章	引言	1
第二章	蛋白质化学	4
2.1	肌动蛋白及肌动蛋白结合蛋白	5
2.2	微管蛋白和微管的聚合作用	12
2.3	中间丝蛋白	16
2.4	与几种纤丝系统相关的蛋白质	19
2.5	潜在的微梁蛋白	21
2.6	细胞骨架蛋白的共价修饰	22
第三章	细胞骨架的构筑	24
3.1	红细胞	24
3.2	血小板	27
3.3	成纤维细胞	30
3.4	肌肉	35
3.5	上皮和内皮细胞	42
3.6	转化的细胞	50
3.7	原生生物	51
3.8	植物	54
第四章	细胞骨架的行为图	57
4.1	细胞骨架药物和具有继发细胞骨架作用的药物	57
4.2	细胞运动和形状的控制	61
4.3	细胞骨架与质膜和细胞外基质的相互作用	68
4.4	细胞内运动和穿胞作用	71

4.5 有丝分裂和装配	74
4.6 细胞骨架和基因表达	79
4.7 转化作用	82
参考文献	87

第一章 引 言

在真核细胞中,布朗运动 (Brownian motion) 是死亡的征兆。在活细胞中,细胞器和亚细胞颗粒做定向运动,因此,未处于静止状态的每一种细胞组分都在代谢驱动下进行着有目标的运动。另外,运动的模式和细胞的形态也都具有特异性,每一种细胞都有其特定的构型 (configuration)。这种永不停止的普遍性活动是通过细胞骨架 (cytoskeleton) 来介导的。细胞骨架按其功能性可下这样的定义,即它们是负责细胞空间组织的结构。

细胞骨架是什么呢? 对于某些细胞来说,它仅仅是中间丝 (intermediate filaments) 或微丝 (microfilaments) 或微管 (microtubules) 的网络 (network), 对于另一些细胞,则是这些纤丝系统中的两三种及其相关蛋白的联合结构。然而,这些纤丝系统的任何一种不可能是细胞骨架的唯一成分,因为这三种纤丝系统是广泛地相互作用着的。

上述细胞骨架的定义仍带有一定的臆断性。以细胞形状和部位的结构为基础的一种实用方法是将细胞骨架的构架组织 (framework) 看作经非离子去污剂提取后仍保留的那些有功能性的结构。当进行适当的提取时,细胞骨架的构架组织便包括了前面提到的纤丝系统。然而,就此得到的结构是复杂的,并且与不包括在上述狭义定义中的核基质以及细胞膜保持着许多联系。然而有关负责空间组织结构的更广泛的一个名词是胞质基质 (cytoplasmic matrix), 它们可在完整

细胞固定时观察到。它可能包括一些蛋白质,较严格地说,这些蛋白质与细胞骨架的构架组织连接,比细胞骨架纤丝要简单得多。胞质基质包括许多小异质成分,叫做微小梁 (microtrabeculae), 它们将细胞骨架、细胞骨架的构架组织和亚细胞器的各种成分相互连接起来。

这些定义之间的界限不很明确,过分严格的话会造成一些困难,例如会把外周膜蛋白排除膜本身之外。从这些讨论中我们应当明瞭的是细胞骨架的等级性质。细胞赖以组成空间结构的机制正在于细胞骨架蛋白的化学性质。这些蛋白质以组织特异性和细胞特异性方式整合成为复杂的动力学的网络与结构,它们之间互相作用。这些结构又对细胞的协调性空间行为负责。最后,细胞空间行为的完善解释却又须在负责这些行为的分子中寻找。同样地,只有在我们能够解释如此丰富而复杂的行为图之后才能对细胞骨架有完善的了解。

(袁 菊 译 章 静 波 校)

补充读物

- Borgers, M. and De Brabander, M. (1975), *Microsubules and Microtubule Inhibitors*, North-Holland Publishing Co., Amsterdam.
- Cappuccinelli, P. and Morris, N.R. (1982), *Microsubules in Microorganisms*, Marcel Dekker, Inc., New York and Basel.
- Ciba Foundation Symposium (1973), *Locomotion of Tissue Cells*, Associated Scientific Publishers, Amsterdam.
- Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, XLVI (1982), *Organization of the Cytoplasm*, Cold Spring Harbor Labs.
- Curtis, A.S.G. and Pitts, J.D. (1980), *Cell Adhesion and Motility*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Dowben, R.M. and Shay, J.W. (1981), *Cell and Muscle Motility*, Plenum Press, New York.
- Dustin, P. (1978), *Microsubules*, Springer-Verlag, New York.

- Frederiksen, D.W. and Cunningham, L.W. (1982), *Methods in Enzymology, Structural and Contractile Proteins; Part B, The Contractile Apparatus and the Cytoskeleton*, Academic Press, New York.
- Goldman, R., Pollard, T., Rosenbaum, J. (1976), *Cell Motility*. Cold Spring Harbor.
- Pearson, M.L. and Epstein, H.F.(1982), *Muscle Development: Molecular and Cellular Control*. Cold Spring Harbor.
- Roberts, K. and Hyams, J. S. (1979), *Microtubules*, Academic Press, London.
- Tanenbaum, S.W. (1978), *Cytochalasins: Biochemical and Cell Biological Aspects*, North-Holland Publishing Co., Amsterdam.

第二章 蛋白质化学

迄今已分离出构成三种主要细胞骨架网络的纤丝蛋白，对它们在体外的表现也有了很好的了解。肌动蛋白 (actin)、微管蛋白 (tubulin) 和中间丝蛋白 (intermediate filament protein) 现在都能在体外解离和重装配，使得人们能够对它们的化学性质进行分析。现已揭示出反映这些系统功能性强制作用与它们之间相互作用的几种常见特点。所有这三种蛋白质形成了纤丝，这是一种经济的结构成分。这些纤丝具有极性，它们的头和尾部在化学上是不同的。此外，这些纤丝呈螺旋形，螺旋形结构具有多等价结合部位 (multiple equivalent binding site)。因此，在噬菌体装配期间，它们通过可能的相互作用而非此后所决定的途径形成了结构的多样性^[1]。这些蛋白质皆以多种形式存在。因此，肌动蛋白和微管蛋白都有数种组织特异性的异构体。然而它们在进化上是高度保守的^[2]，就中间丝蛋白来说，组织特异性变异较为显著，进化的保守性不太明显^[3,4]。现已有识别果蝇 (*Drosophila*) 和哺乳类动物中间丝的抗体。在所有这三种纤丝系统的控制和功能中，钙都起有一定的作用，并且以多种高特异性和调节性的方式参与细胞骨架的行为，因此几乎可以把钙看作为将可溶性信号转变为实体细胞骨架型的细胞变换器 (cell's transformer)。所有这三种纤丝形成蛋白都可以以纤丝或其它形式与其它蛋白质相联结。本章将详细地讨论这些特异的相关性。在这些相互作用中，磷酸化起着许多作用，它们或者是通过相

关蛋白的或是通过纤丝形成蛋白本身的磷酸化作用。最后，细胞骨架纤丝蛋白的酸性是十分显著的。一般说来，肌动蛋白的氨基末端，微管蛋白和中间纤丝蛋白的羧基末端都呈高度的酸性，但对这种酸性的作用至今仍未能揭示出来。

2.1 肌动蛋白及肌动蛋白结合蛋白

2.1.1 肌动蛋白聚合作用

肌动蛋白单体（G 肌动蛋白，42 kD）是一种具有双价阳离子和核苷酸结合部位的球状蛋白质。在生理条件下，这些结合部位由镁和 ATP 占据。肌动蛋白聚合作用是一个多步骤的过程。只有牢牢记住本过程的极度复杂性，才能理解肌动蛋白结合蛋白的作用^[5]。图 2.1 对这种聚合作用及纤丝（F 肌动蛋白）的产生进行了图解说明。

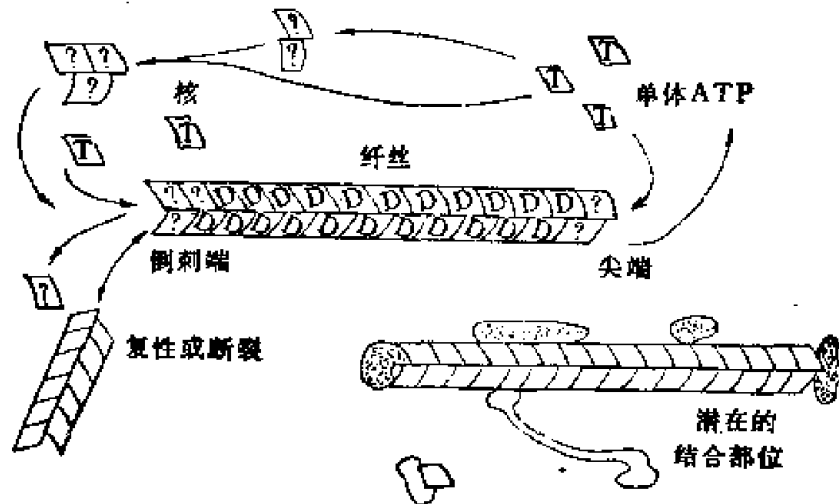


图 2.1

肌动蛋白单体可以互相结合而形成二聚体和三聚体，但是只有三聚体很稳定，并可进一步集结而发生多聚作用。一旦成核(可能为三聚体性质的)，便可迅速地延长。延长可由

核沿纤丝两端进行,但在大多数条件下延长率是不相等的。纤丝的极性可以用重酶解肌球蛋白 (heavy meromyosin) “装饰”来显示,重酶解肌球蛋白在纤丝上产生一个带箭头的类型。经肌球蛋白“装饰”后,纤丝的倒刺端也是快速装配端,并且在 ATP 存在下也是临界浓度较低的纤丝端。尖端是缓慢生长端,具有较高的临界浓度。聚合作用与 ATP 水解作用有关,但是也并不一定需要水解作用,因为在非水解性同类物的存在下也一样可有效地进行聚合作用^[5]。最后,随着纤丝延长,热激活 (thermal agitation) 可导致它断裂,纤丝可与其它纤丝退火。

因此,在肌动蛋白聚合作用中有几个概念不同的过程:成核作用 (nucleation), 在任一端添加,从任一端解离,纤丝断裂与退火。不幸的是,在诱发聚合化的肌动蛋白溶液中,这些过程大部分都会同时发生。此外,每次纤丝断裂时,它们都产生起着如核一般作用的新游离端。因此,不同过程的详细分析需要某种形式的干预,以区别聚合作用的各个方面。

测定聚合作用的方法也局限于解聚作用的某个可察觉的方面。例如,粘滞性对于纤丝长度是敏感的,但是对于亚单位交换是不敏感的。荧光猝灭测定对于纤丝长度是不敏感的,因此,能很好地测定对纤丝的分段参入,但它们对于亚单位交换的存在是敏感的^[5]。除短纤丝外,在电子显微镜下直接测定纤丝长度会遇到纤丝断裂的难题。因此,通常需要有数种不同的测定方法来确定肌动蛋白结合蛋白的肌动蛋白多聚作用的动力学及平衡性质的全部特点。

2.1.2 肌动蛋白结合蛋白

从上述讨论可很清楚地看出,肌动蛋白结合蛋白可在 5

• • •

个主要部位显示它们的作用。它们可能与单体、纤丝之尖端或缓装配端、纤丝的倒刺或快装配端，以及纤丝的侧面结合；或者在两根纤丝之间结合以作为交联体（crosslinker）（图 2.1）。除了这 5 种相互作用方式之外，这些蛋白质对钙可能敏感，也可能不敏感。由于相互作用多种多样，因此迄今已描述有多种肌动蛋白结合蛋白，其中一些有几种相互作用的方式。

单体结合蛋白质借减少单体间的相互作用而抑制成核作用。它们是否减缓延长率，取决于与肌动蛋白结合蛋白单体是否与纤丝相连接。profilin 和 fragmin 是两种钙敏感的单体结合蛋白^[6]，两者与肌动蛋白单体的结合都需要钙。然而，profilin-单体复合体可聚合到现存的纤丝上，但 fragmin-肌动蛋白复合体却不能如此。因此，profilin 主要是抑制成核作用，而 fragmin 既抑制成核作用，又抑制延伸率。在 3 种钙敏感的单体结合蛋白中，DNaseI^[7] 和维生素 D 结合的蛋白质^[8]皆是细胞外的，对于它们与肌动蛋白结合能力的意义目前仍不清楚。然而，在脑中有一种肌动蛋白解聚合蛋白质（actin-depolymerizing protein），它借与单体结合而降低肌动蛋白的有效浓度使纤丝解聚^[9]。

用成帽蛋白（capping protein）或药物细胞松弛素（cytochalasin）B 或 D 可阻断肌动蛋白纤丝的倒刺或快装配端。成帽蛋白可借助于阻断快装配端而促进成核作用，但抑制延长和退火。它们或通过产生较多的核来竞争游离的单体，或防止退火使得其主要作用常为缩短纤丝。现已知在钙的存在下至少有 4 种蛋白具有这些作用。Gelsolin^[10] 从血小板中提取的 90 kD 的蛋白质绒毛蛋白（villin）和 fragmin^[11] 于纯单体成核期间都能消除滞后情况，在钙的存在下也能使现存

的纤丝缩短。钙不敏感的成分蛋白也是存在的。Acanthameba 31 kD 和 28 kD 蛋白以及一种 65 kD 血小板蛋白^[6]不论有无钙的存在都具有相似的作用。

纤丝锐端或慢装配端是蛋白质相互作用的另一个潜在部位。于此结合的蛋白质能够装配成核和防止退火。作为肌动蛋白浓度的一种功能,它能影响肌动蛋白的延长率;在慢装配端和快装配的临界浓度之间,与慢端结合的蛋白质由于防止单体从锐端丢失而使延长增加。然而,超过较高的临界浓度时,与慢端结合的蛋白质的净作用是借阻断两个额外部位中的一个而减缓总延长率。这三种特性(成核作用增加、退火与延长作用降低)的净作用是增加纤丝的数目和缩短其长度。这些作用和那些与倒刺端结合的蛋白质的作用相似。因此,要区分这两类作用,或者需要确定一种蛋白质在和已知与快端结合的蛋白质竞争中的作用,或者需要选择装配试验(selected assembly assay)^[5,6]来确定蛋白质所影响的那一端。迄今只知道一种蛋白质肯定与肌动蛋白纤丝的锐端或慢装配端结合,这就是 acumentin。这种蛋白质在巨噬细胞中很丰富^[7]。另一种可能的蛋白质为 brevin^[6],这是一种血清蛋白,它通过缩短纤丝而不增加游离单体浓度使得 F 肌动蛋白溶液的粘滞性很快降低。brevin 和 acumentin 对于钙浓度皆不敏感。

第四个潜在结合部位是沿着肌动蛋白丝的侧面,没有进一步与其它纤丝相互作用。在纤丝侧面结合的蛋白质或可使纤丝稳定,或可使它失稳定。原肌球蛋白(tropomyosin)以钙不敏感的方式结合,使得 F 肌动蛋白纤丝稳定^[5],而 severin 和绒毛蛋白与 F 肌动蛋白纤丝结合,在有钙的存在下将它们切断^[5,8]。

可能最引人注意的肌动蛋白结合蛋白是那些与肌动蛋白

纤维交联而形成凝胶的蛋白质。借与F肌动蛋白形式的结合，这种蛋白质通常使肌动蛋白成核并凝胶化。在没有钙的情况下，至少4种交联蛋白可引起F肌动蛋白凝胶化。血小板 α 辅肌动蛋白(α -actinin)^[5]、绒毛蛋白^[6]、fimbrin^[7]以及巨噬细胞 actinogelin^[8]皆可将F肌动蛋白溶液交联成为不使金属球通过的硬胶。加入钙可使这种胶溶解。所有这四种蛋白质都是单体性的。在绒毛蛋白的情况里，蛋白质可以被切断成为分隔的结构区(domain)。结构区是一个钙敏感的核心，它可以与肌动蛋白结合，使之成帽；也是在无钙的情况下与纤维交联所需要的一种头区(head region)。此外，还有许多钙不敏感的二聚体交联蛋白。其中两种最早在巨噬细胞中发现的是丝蛋白(filamin)和肌动蛋白结合蛋白^[9]，它们皆具有长而柔软的蛋白质均二聚体(homodimer)的性质。来源于肌肉的 α 辅肌动蛋白也是一种钙不敏感的二聚体交联蛋白^[10]。vinculin和一种来源于BHK细胞的高分子量蛋白质也无须加入另外的蛋白质就能发生交联。然而，来源于海胆的fascin只能本身产生肌动蛋白针，要产生凝胶还需要220 kD蛋白质的协同作用^[11]。

蛋白质的膜收缩蛋白族*(spectrin family)是一种极令人感兴趣的交联蛋白，它不受钙的直接影响。膜收缩蛋白是一种($\alpha\beta$)₂四聚体，最早是在红细胞的膜骨架中发现的。 $\alpha\beta$ 二聚体是尾与尾相连接的，使得分子的头部能自由的与肌动蛋白寡聚体反应。此外，每个二聚体的 α 亚单位可与钙调蛋白(calmodulin)反应。钙调蛋白是一种钙结合蛋白，它参与许多钙调节的活动。迄今尚不清楚钙调蛋白结合对于膜收缩

* 膜收缩蛋白最早称为血影蛋白，但以前一译名更确切。——译者注

蛋白的活性起什么作用。现已在许多细胞类型中发现膜收缩蛋白样分子 (spectrin-like molecule)^[10-12], 因此称它们为膜收缩蛋白族更为合适。红细胞膜收缩蛋白的 α 亚单位为 240 kD。另外, 在受检的大多数细胞类型中已发现一种 240 kD 免疫交叉反应蛋白。然而, 红细胞膜收缩蛋白的 β 亚单位是 220 kD。此外, 显示出能与 α 膜收缩蛋白抗体反应的 240 kD 蛋白的细胞也可能有 260 kD 亚单位 (在终膜中发现的) 或 235 kD 亚单位 (在神经细胞和别的细胞中发现的)。这些交叉反应种类最早被描述为不同的族, 称之为 TW 260/240 和 fodrin。然而, 由于膜收缩蛋白见之于许多细胞骨架蛋白, 所以是一种组织特异性族。最近发现所有这些蛋白都含有钙调蛋白结合结构区 (calmodulin-binding domain), 对于它们活动的意义尚有待于阐明。

肌球蛋白是唯一能产生机械力并与肌动蛋白连接的蛋白质。这种由 ATP 驱动的机械功是肌肉收缩的基础, 据信由此而使得成纤维细胞和其它细胞与细胞外基质接触产生了张力。肌球蛋白和肌动蛋白的相互作用是颇为复杂的, 正因为此, 本丛书其它分册还要对它进行讨论。肌球蛋白借与肌动蛋白的循环相互作用而做功, 肌球蛋白-ADP 能与肌动蛋白丝结合。发生构象的改变会伴有 ADP 的释放。如果溶液中没有肌球蛋白释放的 ADP 而有 ATP, 这将引起肌动蛋白丝的释放; ATP 水解作用使第二周期启动, 钙可在数个部位的任一个上调节这种相互作用。在某些肌细胞中, 钙与肌钙蛋白 (troponin) 相互作用而控制原肌球蛋白与肌动蛋白的结合, 这些细胞被认为是在细丝上受到调节的。在其它肌肉中, 钙作用于肌球蛋白分子, 它或起直接作用, 或者通过激活使肌球蛋白分子轻链的磷酸化酶起作用。在某些非肌细胞中,

钙在肌球蛋白纤丝聚集水平上调节着收缩作用。

就 Florey 提出的凝胶假说而论,这些不同种类的肌动蛋白结合蛋白间的关系引起人们的关注。凝胶理论预示,当多聚体与本系统中的其它多聚体连接的机率比平均数更高时,可产生一种三维连接网络。这预示从溶液到凝胶的突然转变[称之为凝胶点 (gel point)]与其它转变,例如溶解、蒸发等有某些数学相似性。当超过凝胶点时,进一步的交联仅仅可导致刚度不同。因此,交联蛋白可将 F 肌动蛋白的粘性溶液转变成固相凝胶。纤丝-断裂蛋白 (filament-breaking protein) 或是增加纤维数目的蛋白质均可借降低多聚体的平均长度、不增加交联数目而能溶解凝胶。当交联的必需密度下降至所需的凝胶点之下,肌动蛋白胶将会溶解。肌球蛋白可与凝胶反应并使之收缩。凝胶理论有助于将不同种类的肌动蛋白结合蛋白的各种性质结合起来,此外也证明它对于建立各种不同的功能测试是有价值的。然而须记住的是,凝胶理论所讨论的是各向同性的结构 (isotropic structure),而并未考虑准确的拓扑连接 (topological connection)。读者以后将会明白这些拓扑性质是细胞骨架的极为重要的性质,不能以凝胶理论来预示。

要想以一种有意义的方式来解释蛋白质的化学,需要有从细胞中得到的详细知识。这包括所有有关蛋白质的正确化学计量学和测定其它的控制条件(诸如 pH、pCa、核苷酸浓度)以及可能还要有其它的变量,如毗邻膜的磷脂组成等。当蛋白质在 1:500 的化学计量下,在促进表现为协同和骤然转变的现象中有效时,定量预示将显然是一个令人感兴趣的任務。

2.2 微管蛋白和微管的聚合作用

和微丝一样,微管也是线性多聚体,由微管蛋白亚单位所形成。然而,微管蛋白亚单位是一个 $\alpha\beta$ 二聚体:无论 α 或 β 微管蛋白,大约都为 55 kD,都可与 GTP 或 GDP 结合。然而,在二聚体中,只有与 β 微管蛋白结合的核苷酸能与溶液中的 GTP 交换。微管蛋白也如肌动蛋白一样,有一高度保守的蛋白质序列。 α 和 β 肽在真核细胞进化早期分开,以后的改变便不再那样广泛了^[43]。

微管蛋白聚合作用与肌动蛋白聚合作用有许多共同的特征。其亚单位必然连接而形成核,由此有偏向性的双相生长,并有关联三磷酸核苷酸的水解^[43]。其结果是,微管的两端有不同的临界浓度,当游离的亚单位浓度介于两端的临界浓度时,有可能通过微管使亚单位反复地起作用^[44]。另外,就肌动蛋白纤丝说,微管的断裂和退火能改变微管末端的数量密度,而不改变在多聚体中的亚单位数目。

微管聚合作用受双价阳离子浓度和温度的影响,也就是它受钙、EDTA 和冷却的抑制。GTP 的水解并非聚合作用所需,因为非水解性的同类物以正常的速率维持聚合作用。这样形成的微管对钙是稳定的。

然而,微管聚合作用比肌动蛋白聚合作用有更多的可能途径。依据聚合作用的条件,迄今已观察到数种体外多形体^[45]。这些多形体启发人们努力寻找那些甚至在非生理条件下能够促进多聚作用的因子。在原则上,我们可将微管蛋白结合蛋白像肌动蛋白结合蛋白一样进行分类,也就是按照与亚单位的结合,有快装配或慢装配端或纤丝的侧面而分。然