

生物科学参考资料

第十六集

科学出版社

内 容 简 介

本集一共选译了 23 篇论文,其内容基本上是有关生物膜的文章,其中如“细胞膜的装配”、“生物膜的结构和功能”、“生物膜的研究方法”和“从原核生物到真核生物——膜进化学说”等文均有独到之处,是值得阅读的。为了便于参考起见,还可以阅读已出版的《生物科学参考资料》第 13 集(生物膜专号)。这本第 16 集除了选入 13 篇有关生物膜的文章以外,其他 10 篇均为细胞学方面的材料,其中如“活细胞间的连接”、“细胞是如何制造三磷酸腺苷(ATP)的”和“细胞工程学研究最新进展”等文,也是深为读者所注意的问题。

本书可作为生物科学工作者的参考资料。

生 物 科 学 参 考 资 料

第 十 六 集

责任编辑 黄宗甄

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街 137 号

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

*

1982 年 10 月 第 一 版 开本:787×1092 1/16

1982 年 10 月 第一次印刷 印张:17 1/2

印数:0001—3,900 字数:409,000

统一书号:13031·2000

本社书号:2728·13—10

定 价: 2.70 元

目 录

细胞膜的装配	1
生物膜的结构和功能	23
生物膜的研究方法	33
从原核生物到真核生物——膜进化学说	45
决定癌表现型的膜分子	57
神经细胞膜的离子通道	74
膜-结合核糖体的立体模型	85
从脂质双分子层内标记的膜血型糖蛋白	93
叶绿体膜上光合作用酶的组成	96
叶绿素-蛋白质: 植物中和膜结合的受光器复合体	108
以胰蛋白酶作为类囊体膜的结构选择修饰剂	125
细胞识别和细胞生长中的表面调制——关于细胞表面受体的表型改变和穿越膜控制 的一些新假设	133
脂质体的研究和应用	147
转移核糖核酸的三维结构	151
活细胞间的连接	167
细胞是如何制造 ATP 的	181
DNA 结构: 从电子显微镜得到的证据	203
真核细胞的 DNA 聚合酶	207
细胞分化和核糖体	221
非肌肉细胞中的细胞游动性和肌动蛋白及肌球蛋白的组成	231
重组 DNA 的研究有危险吗?	236
细胞工程学研究的最新进展	248
生物所产生的有毒物质的结构与作用	269

新 书 简 讯

《植物生理生化进展》第一集

怀念罗宗洛教授.....	黄宗甄
生物固氮作用.....	陈华癸 李阜棣
植物呼吸代谢对生长发育的调制控制.....	阎隆飞
植物光敏素.....	傅家瑞
满江红的光合、固氮、放氢和共生.....	施定基 汤佩松
景天植物酸代谢研究进展.....	张维经
光周期与植物开花.....	任锡畴
细胞膜与离子吸收.....	赵微平
植物体内硝酸盐和硫酸盐代谢.....	赵素娥
植物的微量营养.....	吴兆明

《植物生理生化进展》第二集

高等植物生长发育中细胞间的连接与交通.....	姜成后 张伟成
叶片的衰老及其调节控制.....	陆定志
光合作用的放氧过程.....	梅镇安
用胰蛋白酶作为探针来探讨光合膜蛋白在能量保持中的作用.....	周佩珍
叶绿体膜的动态结构性质.....	姜世庆 张其德 赵福洪 匡廷云
低温诱导植物开花的机理.....	谭克辉
植物水分亏缺和半干旱地区农业生产中的植物水分问题.....	山 嵛
植物抗旱的生理机理.....	王韶唐
评介《植物生理知识》和《作物栽培的生理基础》两本书.....	黄宗甄
怀念洛师.....	倪晋山
怀念罗老.....	罗士韦
悼念洛师.....	汤玉玮
回忆罗宗洛教授.....	何天相
追忆罗宗洛老师.....	柳大绰
怀念宗洛师.....	施教耐
春风化雨念罗老.....	夏镇澳
沉痛悼念洛师.....	丁 静
一个未了的心愿.....	余叔文
牢记罗师教导为实现科学现代化而献身.....	顾瑞琦

以上第一集即将出版,第二集在排印中,均由科学出版社出版,新华书店经售,预订方法请注意参阅新华书店发行的《科技新书目》。

细胞膜的装配

H. F. Lodish J. E. Rothman

生物膜的两面,结构和功能都是不同的。利用动物病毒和细菌进行的研究,揭露出这一不对称性在膜生长时是如何保持的。

围绕活细胞的膜,远非一个简单的容器(或者分界层);它不仅划定细胞的范围,而且维持着细胞内、外之间的差别。例如,某些离子可以由膜上的大分子抽提到细胞里去,而另一些离子又可以抽排出细胞之外。营养物可以由细胞吸取,并由膜的另一些组分在细胞内浓缩。

一层膜要保持这样的浓度梯度,它必须成为密闭的容器,否则,通过膜抽吸进去的物质会立即渗漏出来。所有已知的生物膜都是形成密闭的室。细胞膜的另一重要性质,是它的边侧性:膜的内表面和膜的外表面在功能上是不同的。如果不这样,离子或分子在细胞膜的一点抽吸进去,会在另一点抽排出来,并在每一方向耗费一些能量。边侧性也表现在膜的另一些性质上。例如,动物细胞上激素或其他化学信号的接受器,是联在膜上的,这些接受器是一个细胞与其相邻细胞相区别的标志。细胞间通讯的这些辅助物应当是在膜的外表面,它们在内表面是无用的。

在过去几年里已经确定,细胞膜功能上的不对称性,反映了结构上的不对称性。膜的蛋白质分子或附在膜上的蛋白质分子有固定的方向性,有的分子只暴露在内表面,有的只暴露在外表面。有的穿过整个膜,但这些分子也能有固定的不对称性。同一类型的蛋白质有相同的方向性。较小的磷脂分子,组成膜结构的基质,它们也有不对称的分布,虽然这种不对称只是部分的,而非完整的。

生物学家的一个重大课题,是了解细胞如何复制与分裂,这个问题中的一个重要部分是细胞如何形成膜。在细胞分裂时,必须合成新的膜的组分,然后合理的装配。新膜必须精确的装建,新的组分必须与老的组分有同样的拓扑学排列,才能保证新膜正确执行功能。

在过去几年里,用于解决这些问题的细胞形成过程大致得到阐明,当然许多生化细节仍然未弄清楚。进展的获得是由于研究一些高度特异化的膜,这些膜只有少数分子组份,适于进行研究。本文所讨论的,就是这样的研究。

最简单的细胞,细菌细胞,只有一层膜,一层包围着细胞的质膜。这样的生物叫原核生物,细胞没有形成好的核。高等动植物由真核细胞组成,细胞有核。除开质膜以外,真核生物还有许多特异性的内膜,这些膜围绕着称作细胞器的亚细胞结构。细胞核本身就是由一层膜系包围着。线粒体有两种膜,里面的膜在制造腺苷三磷酸(ATP)中有重要作用,ATP在细胞中是到处都要耗用的。绿色植物细胞的叶绿体也有两种膜,以同样的方

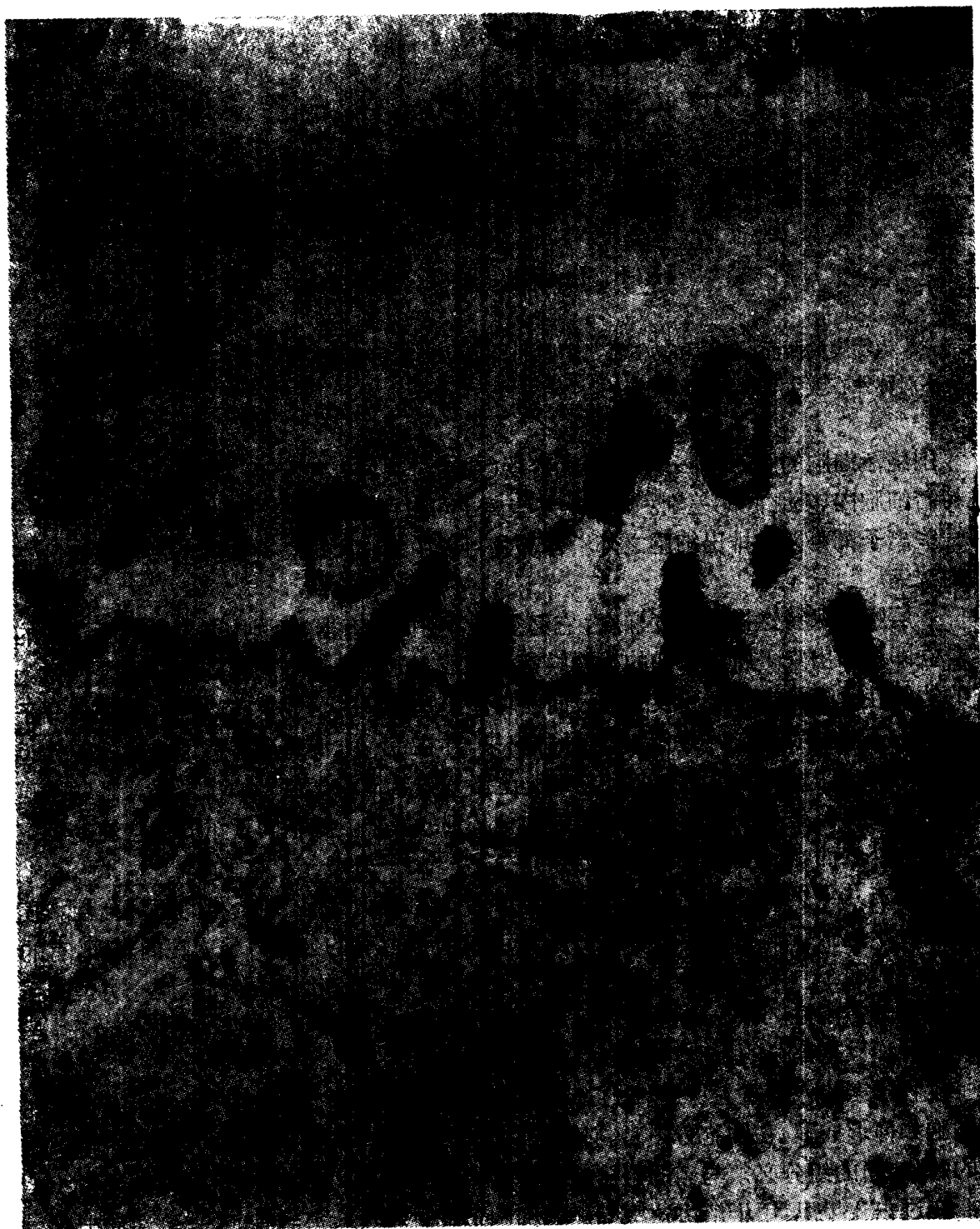


图1 当病毒从被感染的细胞芽生出来时,细胞膜包围病毒颗粒。只有一种简单的蛋白质掺入病毒所占有的膜,这就使得病毒外被膜成为一方便的实验体系,可用以研究膜是如何装配的。表面蛋白质每一分子在膜上的方向,使之在病毒表面上形成一钉状物。细胞用泡囊口炎病毒(VSV)使之感染。VSV在家畜体内引起类似流行性热病的疾病。病毒颗粒是小的、深色、呈雪茄烟状的物体,在细胞顶部突出到细胞间的空隙。可见少数病毒颗粒直立,有的在细胞周围。大的、不规则的囊泡,是细胞的物质,从细胞切断分离出来

式发生作用。在研究膜时特别重要的另一种细胞器是内质网,内质网用于建造分泌蛋白质和新的膜物质。

在我们的工作中,主要集中研究质膜(注意不要把质膜与细胞壁混起来,细胞壁在植物和细菌细胞中位于质膜的外边,它不是膜,而是有孔的、起骨架作用的细胞器)。一切细

胞都有质膜，在动物中它是把细胞与其周围环境分开的唯一屏障。在质膜与真核细胞各种内膜之间，有隐约的不同，但一切生物膜在它们的基本结构特点方面是显著相似的。

如果把膜打碎成分子组分，会发现它由三种物质组成：脂质、蛋白质和糖类。脂质分子远为丰富，最多，然而蛋白质分子大得多，因而这两种组分在重量上大致相等。在一种膜上，仅有几种脂质，但每种脂质分子数量很多。另一方面，蛋白质种类很多，但是有的蛋白质在一种膜上只有少数几个分子。糖类组分较少(从重量上说)，主要连接在质膜上，而不是在内膜上。膜上的糖类常常在化学上是与其它膜组分结合，与脂质结合形成糖脂，与蛋白质结合形成糖蛋白质。

对膜的结构完整起重要作用的是脂质。每一脂质分子都是两性的，就是说它有一部分是疏水的，另一部分是亲水的。如果把疏水部分与分子的其余部分分开来，它就不溶于

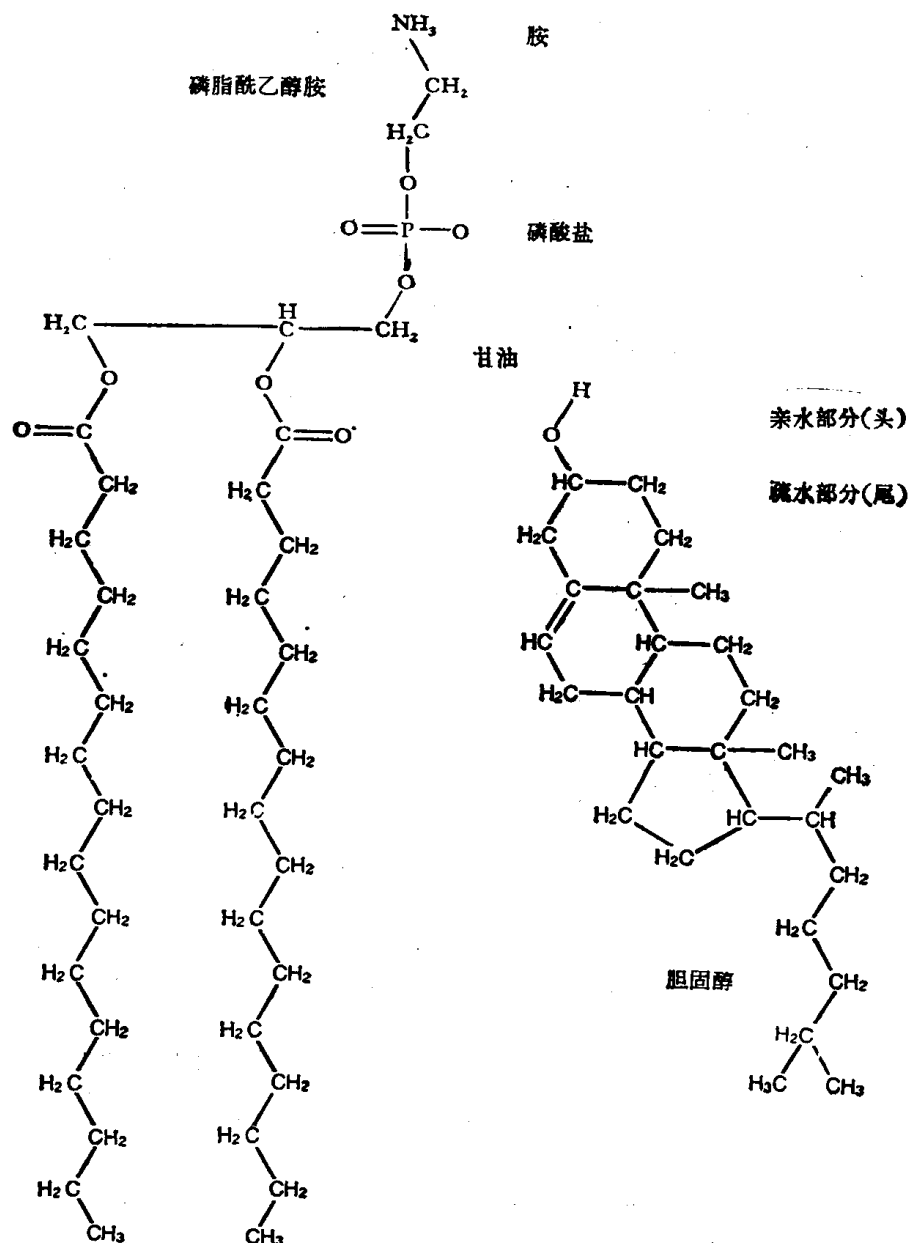


图2 细胞膜的脂质分子，包括磷脂与胆固醇。两种脂质都是两性的：分子的一端，称作头，是极性的，亲水的，如果把它分离出来，能溶于水；另外一端是尾，是非极性的，疏水，不溶于水。胆固醇主要发现于哺乳动物细胞外面的质膜上，各类磷脂是各种生物膜的组分

水,正如吃的油那样。如果把亲水部分分离出来,它就溶于水,而不溶于油(图2)。

在膜上有两类脂质: 胆固醇和磷质。胆固醇几乎只在哺乳动物细胞的质膜上发现,而在细菌中完全没有。胆固醇的亲水头是羟基(OH)。磷脂在一切膜上都具有, 亲水区包括一个带负电的磷酸根(PO_4^-), 在许多磷脂中, 一个抵偿的正电荷负载在其它的化学基上,例如氨基(NH_3^+)。

由于膜脂质的两部分有不相容的可溶性, 分子自发地组织, 形成双层(或双分子层)(图3)。这样, 每一分子的疏水部分就能把水隔开, 而亲水头则浸在水里。这样的双分子层对于悬浮脂质来说, 是需能最少的构型。非极性的尾与水相互作用的唯一处所是在层的边缘, 甚至不利的接触能得到消除: 增长的双层简单地折叠, 形成密闭的囊, 而囊没有边缘。

一切膜的脂质有相同的组织, 具有两个亲水表面, 中间隔以疏水核心。就是这个脂质的双分子层决定膜的整个形态, 决定它形成一片大薄片或一个囊泡。双分子层结构, 也提供膜一个重要功能: 大多数溶于水的分子不能透过, 因为这些分子在油质核心区是不可溶的。

双分子层绝不是静态的, 与此相反, 每一单层都是二维液体。脂质分子自由地向侧方扩散, 象在一薄层液体中的分子一样。位置经常更换, 达到每秒钟一百万次。然而在第三维中, 脂质的可动性受到严格的限制。脂质分子从一个单层跳到另一单层, 称作触发转移(flip-flop)(图3), 转移分子的极性头必须跨越膜的疏水核心, 而在这里极性头是不溶的。

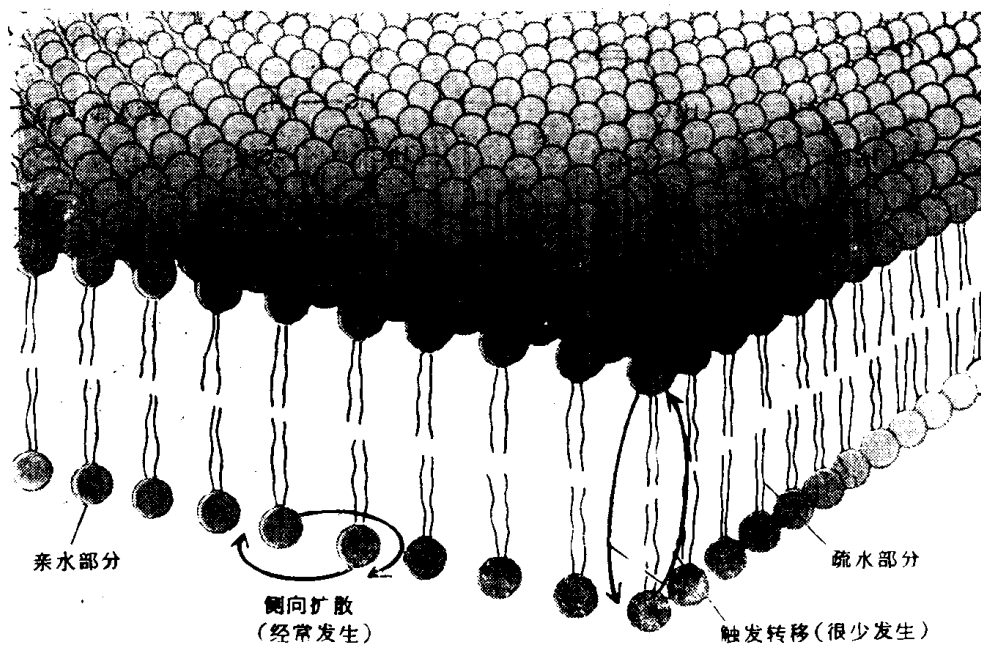


图3 磷脂双分子层, 形成膜结构的衬质。脂质尾对尾的排列, 以致只有亲水头显露在膜两边的水介质里。这是脂质悬浮在水里含能最少的构型。每一单层是二维的液体: 脂质分子能侧向扩散, 但很少发生从一层到另一层的“触发转移”

最近的测量表明, 触发转移率很低, 一个脂质分子平均一个月不会到一次。

因为脂质双层分子是二维的液体, 包埋在其中的任何蛋白质分子也能侧向扩散。流动性简化了膜装配的任务, 因为脂质分子和蛋白质分子插在单层的任何地方, 最后都能达到另一点。同时, 低的触发转移率使得两个相对的单层保持不同的脂质与蛋白质组成。事

实上,脂质双层,在现在业已检查的每一分子膜中,其组成都是不对称的。这种不对称的作用,尚未弄清楚。

亲水化学基团与疏水化学基团的相互作用,在蛋白质中与在脂质中同样的重要。蛋白质是多聚物(多肽),由氨基酸组成,氨基酸按线状顺序串联在一起。由遗传密码决定的20个氨基酸中,6个是强疏水的,还有几个是弱疏水的,其余的是亲水的。如果认为蛋白质仅仅是一根氨基酸直链,则疏水单位和亲水单位的顺序可以不注意。然而,蛋白质分子的自然构型不是一根直链,而是紧密折叠的。在这种形式中,细胞质的可溶性蛋白质一般在分子表面有多余的亲水单位,而在分子内部有多余的疏水单位。

细胞膜蛋白质分两类。一为内禀膜蛋白,其分子有一部分包埋在脂质双分子层中(图4)。所有细致研究过的内禀蛋白质,都是穿越双分子层的整个宽度,所以在膜的两面都有

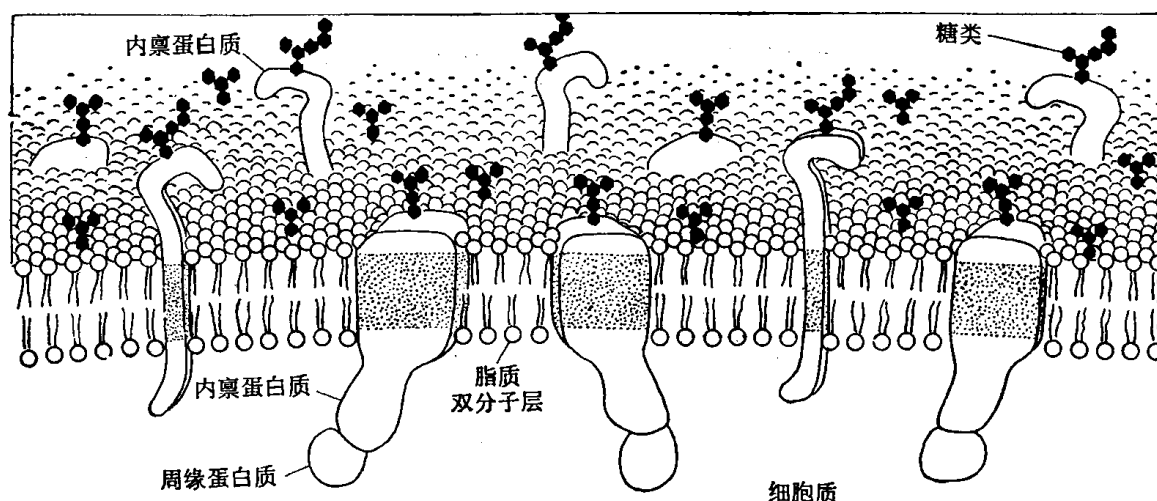


图4 质膜的模型,包括蛋白质、糖类(碳水化合物)和脂质。内禀蛋白质埋在脂质双分子层中,周缘蛋白质只是连在膜的表面。糖类包括许多单糖,单糖连接成链,接到蛋白质上(形成糖蛋白质)或脂质上(形成糖脂)。膜的不对称性通过几方面来表现。糖类总是在外表面,周缘蛋白质几乎总是在细胞质一面。两脂质单层包含的各类脂质分子,有不同的比例。最重要的是每一种内禀蛋白质有一定的方向性。同种内禀蛋白质的每一分子都有相同的方向

露出的部分。另一类为周缘膜蛋白,它不插入双分子层,而留在膜的一面。每一周缘蛋白质分子都被束缚在一内禀蛋白质之上。

在周缘蛋白质中,亲水与疏水氨基酸的平衡,与细胞质蛋白质中的相似。周缘蛋白质可以自膜移出,处理不致破坏脂质双分子层的完整性;移出后可以完全溶于水。与此相反,内禀蛋白质一般不溶于水,因为它们有些重要的部分,其大多数露出的氨基酸是疏水的。就是这些部分,包埋在膜的疏水核心中。如果不破坏脂质双分子层,内禀蛋白质难以移出。

内禀蛋白质伸到细胞外或细胞质中的部分,有可溶蛋白质的亲水特性。这些亲水部分为膜蛋白排除触发转移起了重要作用。如果脂质分子小的极性头很少能压过双分子层的核心,那蛋白质分子的大得多的亲水部分压过的可能性就完全排除。

业已证明,红血细胞对于研究膜的结构图形(虽然不是对于研究膜的装配)是有用的。红血细胞的质膜仅有两种主要内禀蛋白和几种周缘蛋白,它们的方向容易测量。从红血

细胞的研究中,已经探索了膜构成的几条原则。所有的内禀蛋白质都是不对称地插入的,所以同种蛋白质的每一分子在脂质双分子层中都有相同的方向。脂质双分子层本身是不对称的。糖类(碳水化合物)或者接到蛋白质上,或者接到脂质上,但是,不论哪种情况,都是在膜的外表面,而不是在细胞质一面。周缘蛋白质时常发现在细胞质一面。

如果浮悬脂质能自发地形成密闭的囊泡,那就有理由推测:一个完整的、有功能的生物膜能以同样的方式装配。某些病毒、肌纤维和核糖体自发地自行装配,但是这些结构是很有规律的,在某些情况下,甚至成为晶状的,而细胞膜则不然。

自行装配的假说是容易进行检验的。膜能分散成单个的蛋白质分子和脂质分子,只要用高浓度的去垢剂把脂质双分子层予以破坏。去垢剂是一种合成的脂质,它不形成双层,而形成称作胶束(或称胶束)的小滴。膜的脂质和蛋白质不再须要停积在一起来避开水,在去垢剂的胶束内它们能获得同样的东西。用足够浓的去垢剂,膜的组分能完全分开,在每一去垢剂胶束内,膜蛋白不会多于一个(图5)。

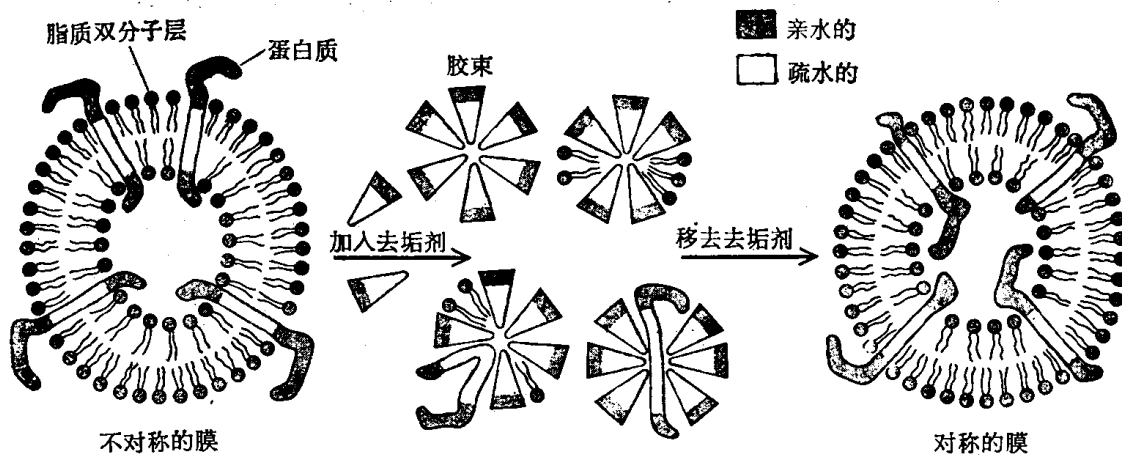


图5 膜的自行装配,能保持它的基本结构,但不能保持其不对称性。高浓度去垢剂能把膜打碎。去垢剂是两性分子,能形成称作胶束的小滴。去垢剂溶解膜的组分,胶束包围脂质与蛋白质的疏水部分,防止其与水接触。如果移去去垢剂,脂质自行形成新双分子层,内禀蛋白质掺入其中。然而,蛋白质的方向一般是随意的。这样的实验表明,细胞的膜不能自行装配,内禀蛋白质所插的膜,必须是业已存在的,并有一定的边侧性

如果用一种处理将去垢剂移去,膜囊泡会自发地重新形成,编入脂质与蛋白质。单个蛋白质分子还时常是能行使功能的,例如使离子跨越通透障碍。在这种重新组合的膜中,却有一个缺陷:它们几乎总是对称的。蛋白质包埋在脂质双分子层中,但不是同种蛋白质所有的分子,都有相同的方向。有一些例外情况,是富有意义的,但在大多数情况下,原来膜的绝对不对称性,却已失去了。

在这一实验中,为什么不对称性不随同膜结构的其他方面重新恢复呢?在膜的自行装配中,脂质双分子层的形成和膜蛋白的插入是同时进行的。因为在装配时不存在通透的障碍,蛋白质可以从两边插入,结果就产生一个接近对称的结构。

另一种自行装配假说认为,内禀膜蛋白在插入时有它们的方向。这一机理要求蛋白质总是从同一面插入。为了有一定的边侧性,并每次都能保持,膜必须总是形成密闭的囊。从这一想法出发,可以作出以下基本结论:膜的增长,只能通过扩展,通过把新的物质插入到一个业已成为密闭囊的膜。

这样的机理也有一个困难。如果蛋白质(或脂质)是从膜的一面插入,那末在许多情况下,亲水区必须通过双分子层的核心。这些区跨越膜是很困难的,膜保持蛋白质的不对称性,只要蛋白质一旦插入就如此。我们的实验有助于了解这一细胞内奥秘手段是如何进行工作的。

要在典型的真核细胞中,甚至在原核细胞中研究膜蛋白的合成,是一件艰难的工作。蛋白质的种类是很多的,而每一种的量又极少。我和我的同事们因而转向去研究较简单的膜系——病毒的膜。病毒外被一层磷脂膜,此膜取自被感染的动物细胞的质膜。一片膜有许多内禀膜蛋白分子,但它们都是同一种蛋白,由病毒基因组所决定的。

我们用的病毒是泡囊口炎病毒 (vesicular stomatitis virus, VSV) (图 1)。这种病毒主要感染农畜,其临床症状与流行性热病的相似。当 VSV 颗粒进入宿主细胞,它便中止宿主细胞蛋白质的正常合成,指挥宿主的酶和其他合成器的组分,来为它的目的服务。在以后的时期里,就只装配出病毒蛋白来。同时病毒的基因组(一条 RNA 链)复制多次(通过病毒基因组所决定的酶),并进入病毒颗粒中。当复制出来的 RNA 与病毒蛋白质分子在质膜上会合到一起时,生活周期就完成了。每一条 RNA 链与一组蛋白质同包裹在一块膜里,从细胞芽生出来,形成病毒粒子或病毒颗粒新一代。病毒膜有宿主细胞膜的脂质组分,但它并入了由病毒所特化了的蛋白质(图 6)。

VSV 基因组只产生出五种多肽,这些多肽都能在成熟的病毒颗粒中发现。三种是与基因组 RNA 密切相关的,称作核蛋白,与真核细胞核中的某些蛋白质相似。三种核蛋白中两种是酶,与病毒基因组的复制与转录有关。第三种核蛋白,以 N 表示,可能有结构方面的功能,三种核蛋白中它含量最为丰富。第四种蛋白以 M(代表衬质)标志,它合成出来时是可溶性的细胞质蛋白,但是以后作为周缘蛋白,并到病毒粒子里面,在质膜内表面上。最后一种蛋白,以 G 标志,代表糖蛋白,是我们研究的重点。G 是一种膜蛋白,穿过脂质的双分子层,在电子显微镜图像中,它象一根钉子,附在病毒粒子表面上。在芽生时,它也能在宿主细胞质膜上探测出来。G 的氨基酸顺序和立体结构还没有研究清楚,但是现已知道这个蛋白大约包含 550 氨基酸,还有两个糖侧链附在上面。G 在双分子层上,无疑是不对称的。大多数多肽和糖类是暴露在膜的外边,只有一个约含 30 个氨基酸的蒂子,突出于细胞质的一面。

病毒粒子芽生的步骤,现在还不能肯定,但已可以提出大致的顺序。显然基因组 RNA 和核蛋白在细胞质里会合到一起,形成一种称作壳包核酸 (nucleocapsid) 的结构。同时, G 出现在质膜上。只有膜的糖蛋白是由宿主细胞合成的,合成出的量很多,所以至少膜的某些部分获得一层糖蛋白。衬质蛋白质 M,被认为是把壳包核酸与 G 的细胞质一面的蒂子相连的桥梁。如果果真是这样,则合乎情理的芽生机理不难构思出来。当壳包核酸碰巧接近膜, M 蛋白质在核蛋白与 G 的细胞质一面的蒂子之间第一个接触点,形成一个交叉连接。由于组分之间的相互吸引,有更多的膜卷包壳包核酸,并由衬质蛋白在适当的地方予以缝合。邻近的宿主细胞的任何膜蛋白,则被挤在一旁。最后,整个壳包核酸被包裹,病毒粒子自宿主细胞拧下来。壳包核酸不是被推到膜里,而是衬质蛋白的交叉连接把它拉进膜里。

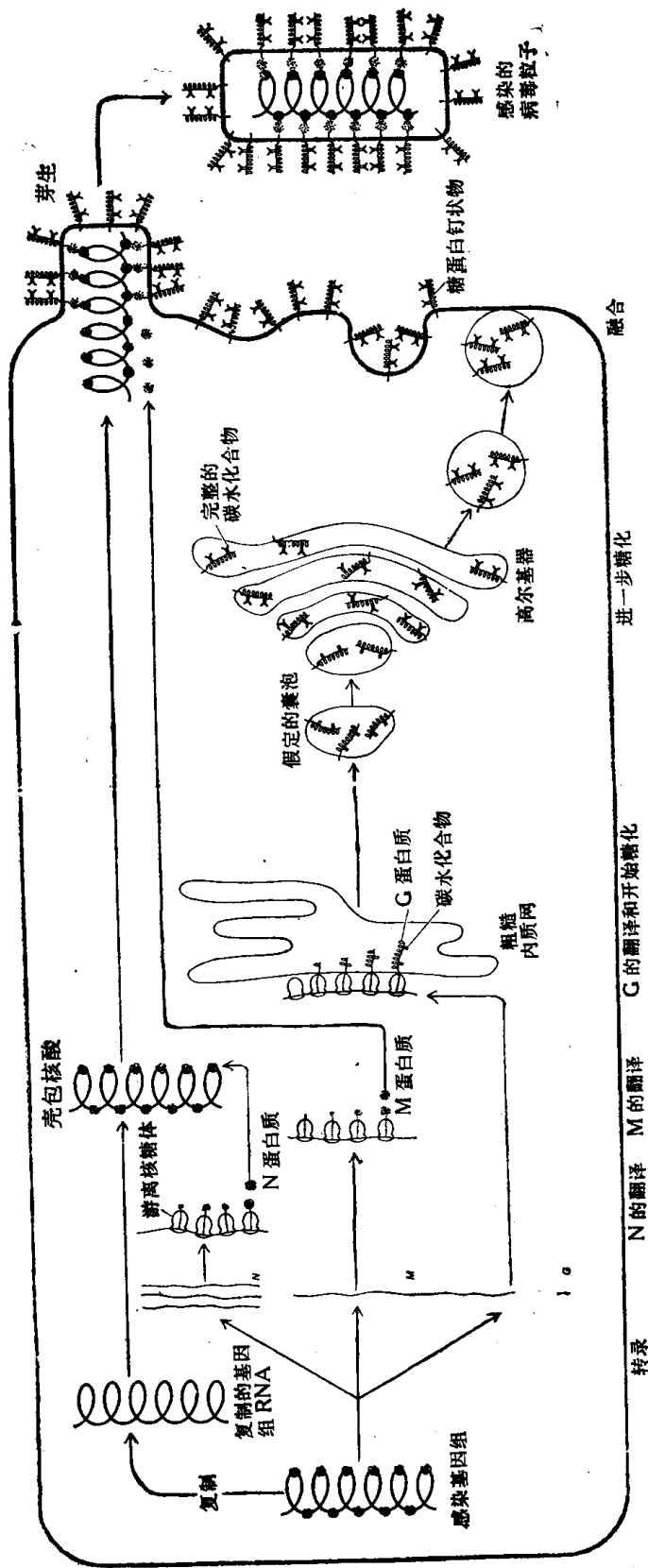


图6 病毒蛋白是通过细胞的遗传机构制造的，但它们的结构为病毒基因组所特化。当病毒把它们的遗传物质 RNA 链插入细胞，囊泡炎病毒 (VSV) 便开始它的感染周期。RNA 基因组由两种病毒酶转录成五种信使 RNA 分子。以后基因组 RNA 通过同样的病毒酶进行复制。每一条信使 RNA 链被称作核糖体的细胞器翻译成许多相同的蛋白质分子；既然有五种信使 RNA 分子，病毒基因组为五种蛋白质编码。三种是核蛋白，包括转录和复制所需的两种酶，第三种蛋白，以 N 标志的，其主要作用可能在结构方面。三种核蛋白接到基因组 RNA 上，形成一种称作壳包核酸的复合体。第四种蛋白以 M (matrix, 衬质) 标志，开始是细胞质的可溶性组分。所有这四种蛋白质都是在核糖体上合成的，核糖体游离于细胞质中。最后一种蛋白，以 G 标志，因为它它是糖蛋白，一种具有糖侧链(它的结构不是由病毒基因组决定的)的蛋白质。G 是由与粗内质网膜相连的核糖体来装配的，从蛋白质一开始出现，它就接到内质网的膜上。核心单糖加到粗内质网中增长着的 G 分子上，在 20—30 分钟后，糖侧链在高尔基器内补充齐全。在细胞器之间转运的机理，尚不了解，但它依靠囊泡，囊泡从一张膜芽生出来，并与另一膜融合。糖蛋白质能达到质膜，在细胞表面形成钉状物。当壳包核酸卷上一层负载有 G 蛋白质的质膜，病毒产生的周期就完成。这一新装配的病毒从细胞芽生出来。芽生可能由衬质蛋白质来调节，衬质蛋白质能把突出在细胞质内的 G 蛋白质的蒂子与核蛋白粘在一起

病毒蛋白质与正常宿主细胞蛋白质有同样的制造过程。决定五种病毒蛋白质氨基酸顺序的密码,每种都是负载在一条长的信使 RNA 上,信使 RNA 是病毒基因组 RNA 一段的复制品。信使 RNA 被称作核糖体的亚细胞结构翻译成多肽。核糖体由几十个蛋白质和三或更多种 RNA 组成,形成一个大亚单元和一个小亚单元。信使 RNA 穿过核糖体,在大亚单元上装配出多肽。加到多肽上的每一个氨基酸,都是由一个转移 RNA 携送来的。转移 RNA 能识别信使 RNA 上三核苷酸的特殊顺序。翻译从氨基端开始,进行到蛋白质的羧基端。氨基酸与增长链连接的点是深深地包埋在大亚单元里。在翻译进行当中,大约有 40 个氨基酸单位埋在核糖体内。当链增长时,这些单位被后面增加的新单位接二连三地推挤出来。多肽制完成,就释放出整个蛋白质分子。在一般情况下,一个信使 RNA 分子可以同时由许多核糖体来翻译,每一核糖体产生一条多肽链。

时常有人提出,在真核细胞内有两类核糖体:有些在细胞质内是游离的,另一些则附着在内质网的膜上。现在了解到,两类核糖体在结构上是相同的,实际上能互相转变。附着在膜上的核糖体能释放到溶液里,以后又附着到膜的另一个地方。然而两类核糖体的功能不同。游离核糖体主要合成可溶性蛋白,而附着在膜上的核糖体制造内禀膜蛋白以及细胞分泌的蛋白质。

VSV 衬质蛋白质在游离核糖体上进行装配。这是不足为奇的,因为蛋白质刚合成后,游离于细胞质中,只有在芽生开始时,它才结合到细胞膜上(在细胞质的一面)。其他周缘蛋白质也表明开始是可溶性蛋白质,似乎接触细胞质表面而又不包埋于其中的所有蛋白质,都是以同样的方式合成的。

糖蛋白 G 经历的是更加复杂的途径。它在内质网的核糖体上合成,然后转到质膜上去,在进行中至少有一次停顿。内质网是膜的网状组织,位于细胞核附近,时常包围核的一部分。膜排列成层,在电子显微图像中,每层看去是一扁长的囊,象细胞内的小泡泡。

VSV 糖蛋白在细胞中首先出现时,是当作粗内质网的组分。称为“粗”,是因为在它上面散布着核糖体。G 是包埋在网囊泡的膜上,具有大的钉状物部分,其上又有两个糖链,突出于囊泡的内腔。蛋白质羧基末端的短蒂子对着细胞质。在 20—30 分钟后,可以在高尔基器内发现 G 蛋白。高尔基器是由许多堆积的膜囊泡组成的另一种细胞器。高尔基器时常被称作光滑膜细胞器,因为它上面没有附核糖体。蛋白质只有通过高尔基器,才能达到质膜。

这些细胞器间的转运方法尚不清楚。似乎最有可能的是,小的囊泡从一个密闭的膜芽生出来,以后又并合到另一膜中去,囊泡携带着蛋白质,并总是保持其方向。在整个进程中保持蛋白质的方向,是很重要的。首先,似乎在传递中的某一点,方向发生反转。在内质网中,蛋白质钉状物端朝内,在囊泡的内腔,但在质膜中,蛋白质钉状物端朝外,在细胞的外面。实际上,这并不是反转,而是保持同样的方向。注意蛋白质的同一部分(蒂子)总是露在细胞质一面,另一部分(钉状物)总是在细胞质的外面。其实,象内质网或高尔基器这样的细胞器,其内腔相当于细胞的外面。这一点已首先由耶鲁大学医学院的 G. E. Palade 指出。从拓扑学来分析,蛋白质的钉状物端从其进入内质网时起,就业已在细胞的外面(图 7)。

糖蛋白的糖类侧链在其达到质膜前就已经附着好。在病毒粒子中,蛋白质负荷两个相同的糖类结构,每一结构由十几个单糖单位连接而成。在 VSV 糖蛋白上的糖侧链,其

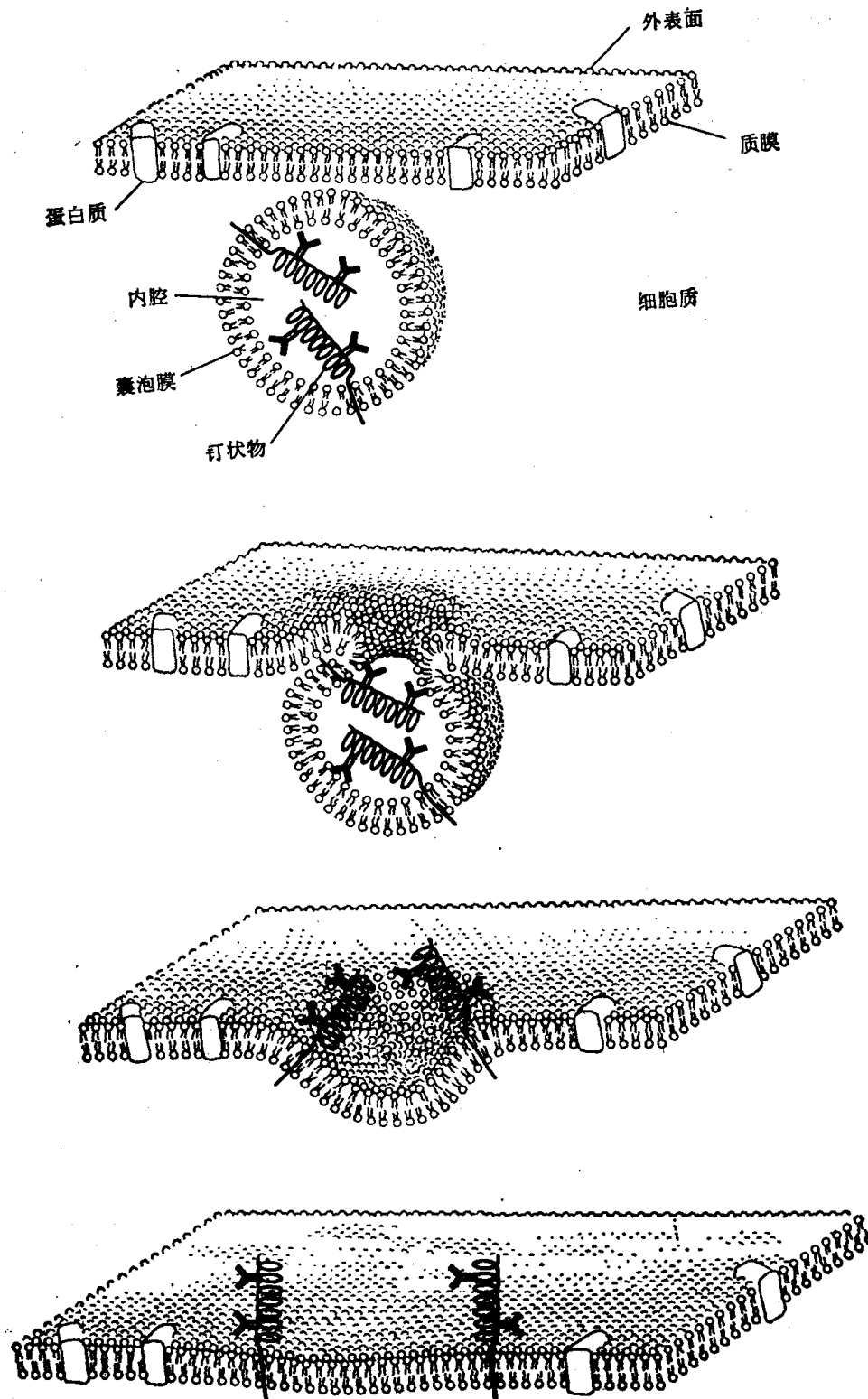


图7 囊泡与质膜的融合,使得埋在囊泡双分子层的内裹蛋白质保持一定的方向。开头,G蛋白质的大的钉状物在囊泡的内腔。在融合以后,钉状物便在质膜的外表面。蛋白质的方向并没有反转,因为分子的另一端,小的蒂子,总是浸在细胞质里。囊泡的内腔与细胞的外边是拓扑学等积的

功能尚不了解,但在结构上它们与血清中许多正常糖蛋白的糖类相似。

犹他大学的 D. F. Summers 和他的同事测定了糖链中单糖的顺序,并表明每一条链可以认为有两部分。靠近蛋白质和直接接触蛋白质的区域,他们称作核心部分,这部分只

包含单糖的甘露糖和 *N*-乙酰葡萄糖胺。糖类(碳水化合物)结构的靠外面的部分构成末端区,它由三类单糖建成: *N*-乙酰葡萄糖胺、半乳糖和唾液酸。如我们以后所解释的,核心部分在蛋白质还在粗内质网上时便接到蛋白质上。在高尔基器内,少数核心单糖被移去,几种新末端单糖增加上去。在糖蛋白离开高尔基器时,它已完整形成。

我们在一种非细胞体系中,研究了 G 蛋白质的合成、糖化与插入(图 8),这种无细胞体系为一液体介质,内含核糖体、转移 RNA、氨基酸、合成蛋白质所需的各种酶以及其他

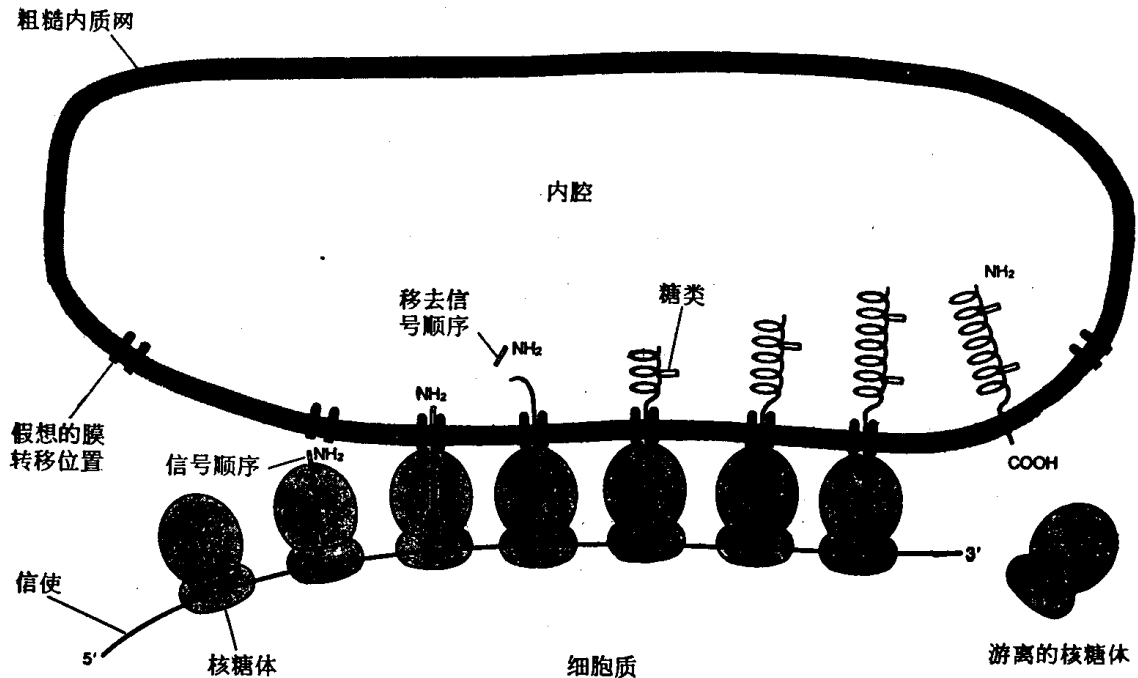


图 8 G 蛋白质的合成、插入和糖化是密切相联系的。蛋白质或多肽是由联接成线状顺序的氨基酸组成的,氨基酸顺序由信使 RNA 决定。合成自多肽的氨基端(NH_2)开始,在这个末端之后一个一个地加氨基酸。G 的头 30 个氨基酸单位是“信号顺序”,它决定蛋白质插入粗内质网的膜。因为埋在核糖体内的氨基酸约有 40 个,所以直到多肽的长度达到 70 个左右的氨基酸,信号顺序才出现。在这个时候,信号顺序为内质网膜上某种分子(假定是一种蛋白质)所识别。这种假想的蛋白质被认为能够帮助多肽通过脂质双分子层。一旦进入内质网内腔,信号顺序就被移去。蛋白质继续增长,一边生长,一边通过膜出来,并在内腔内折叠。当蛋白质进入内腔时,两个相同的糖类侧链附于其上。细胞分泌的蛋白质也以这种方式通过膜,但是由于某些尚未完全了解的理由,G 蛋白质在翻译完成时变成附着的,约有 30 个氨基酸留在细胞质里。这样,完整的糖蛋白质在内质网内腔内有其氨基末端、分子的大部分以及全部糖类,而一个短的蒂子,包括羧基末端(COOH)留在细胞质一边。一旦蛋白质进行了折叠,它就不能从膜里拖出来,也不能进行触发转移,它以不对称的方向固定下来。图内细胞的组分没有表示出大小的比例,核糖体比 G 蛋白质约大 50 倍

成分。为了研究蛋白质的插入与糖化,还需要内质网的膜,膜上的内源核糖体是被剥除了的。在这样的体系中合成蛋白质,只要简单地加以 G 蛋白质的纯信使 RNA 即可以开始。而信使 RNA 只要从被感染的细胞中便可获得。为了在以后能辨别出新合成的多肽,介质中的一种氨基酸(蛋氨酸)含一个硫放射性同位素的原子。

这些实验是在马萨诸塞理工学院中进行的。许多工作是与洛克菲勒大学的 V. Lingappa、G. Blobel 以及 F. N. Katz 共同进行的。麦克马斯特 (McMaster) 大学的 H. Ghosh 和 F. Toneguzzo 独立地进行了同样的实验。我们首先叙述从我们的发现中导致的结论,然后讨论他们的实验。

我们模型的中心论点是: 内禀膜蛋白插入脂质双分子层,是在蛋白质合成出来但还

没有折叠成最后构型的时候。这一机理可以解释两个重要观察。第一，它帮助解释蛋白质是如何跨越膜的疏水核心的：在多肽折叠使插入发生困难之前，蛋白质就跨越过去。第二，模型说明蛋白质方向的不对称性：蛋白质只能从一个方向(多肽加长的方向)、只能从膜的一边(细胞质一边，那里有核糖体)插入。

G蛋白质的翻译，如同所有的蛋白质一样，开始是信使RNA接到核糖体小亚单元上，然后加上大亚单元。在这个时期，核糖体不是连接在膜上，而是游离于细胞质里。在多肽链开始从核糖体大亚单元出现之前，必须装配出40个左右的氨基酸单位；在分子的氨基末端有40个单位。在另外的30个氨基酸加到增长的链上之后，头30个单位显露出来。在多肽链这一部分的一组氨基酸，称作信号顺序。它对把膜蛋白以及分泌蛋白，与可溶性蛋白区别开来，是很重要的。信号顺序显然能被内质网膜的某些组分(大概是膜蛋白质)所识别。内质网膜把位置连接物递给初生多肽，并帮助多肽开始跨越双分子层。

英国剑桥医学研究会分子生物学实验的C. Milstein和G. G. Brownlee以及他们的同事，根据他们对抗体蛋白质合成的研究，首先提出信号顺序的存在。Blobel等的实验对信号顺序提供了许多补充证据，他们主要是检查细胞要分泌的蛋白质。似乎控制膜蛋白质与分泌蛋白质的细胞机理在许多方面都是相似的。两者都是进到内质网里，主要不同之点是：分泌蛋白质跨越各个部分，释放到囊泡内腔之中，而膜蛋白在多肽合成完毕前，埋进磷脂双分子层。当具有这样一些蛋白质的囊泡与细胞膜融合时，分泌蛋白质释放到细胞外面，而内禀蛋白保留在膜上。在分泌蛋白质方面，一旦信号顺序引导多肽跨越脂质双分子层，它就被内质网上的酶拧下来。最近发现，G蛋白质的信号顺序，由16个氨基酸组成，也是被移去的。各种分泌蛋白质的信号顺序，与G蛋白质的信号顺序不相同，但有某些共同的特点，特别是它们都有较多的疏水氨基酸。

只有当信号顺序把多肽拉到内质网上时，核糖体才与膜连接。开始，核糖体本身可能不直接接到内质网的膜上，只是由多肽链牵缚着。以后，在核糖体与膜之间可能形成弱的静电吸引。

可能蛋白质不是直接穿过脂质双分子层，而是借助于业已在膜上的某些另外内禀蛋白质，不过这些内禀蛋白在插入完成以后扩散到别的地方去了。当链的更多部分进入内质网内腔，多肽链自行折叠，如同可溶性蛋白那样，形成在液态环境内含能最少的构型。蛋白质一旦处于这种状态，就不能通过双分子层再滑回去，好象铆钉那样固定下来。还待要解释的是：为什么多肽链羧基端的蒂子不滑到内腔那边，象分泌蛋白质那样滑过去呢？也还不能确定，除开在蛋白质合成中正常耗费的能外，是否新生蛋白质还需要另外的能量才能跨越过膜？

在非细胞体系中，包含的膜只有内质网膜，则不能形成完整的糖蛋白，因为糖类部分的改变只有在高尔基器内才能完成。然而在实验室产生的G蛋白获得两根核心糖链，并且它们似乎与完整细胞中形成的相同(图9)。

两个糖类结构每一个都接到一根氨基酸天门冬酰胺侧链上。一个天门冬酰胺单位离蛋白质氨基末端约150个氨基酸单位，另一天门冬酰胺单位则离同一末端约400单位。核心糖类可能在它们一出现在内腔，就很快接到天门冬酰胺单位。它们不是一个单糖一个单糖地接到蛋白质上，而是一下立即加上。即核心糖在膜脂质上预先装配好，然后作为

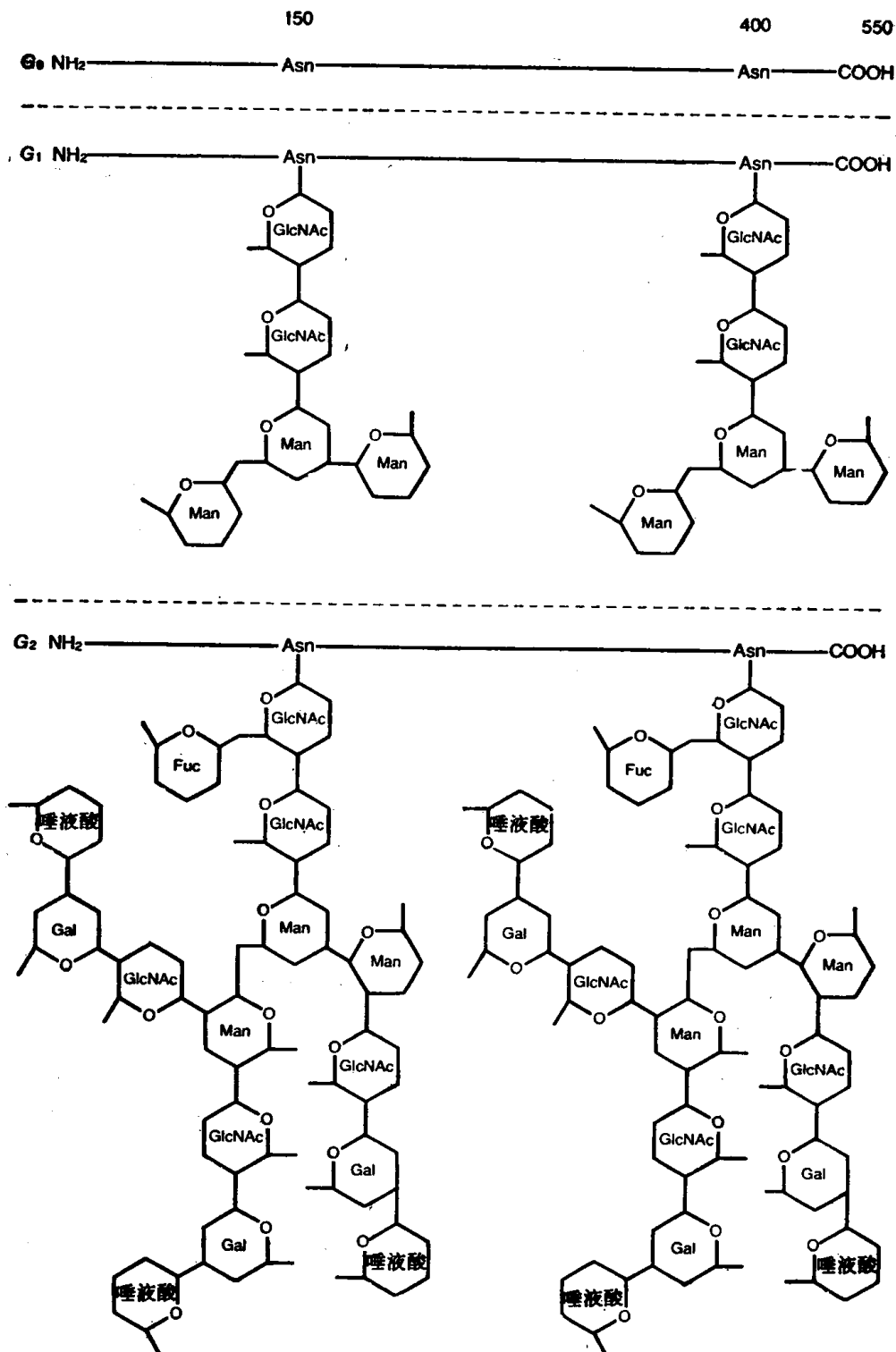


图9 糖侧链在G蛋白质上分两步建成。在粗内质网上，生长着的蛋白质接受两个糖链的核心区。核心区仅由单糖甘露糖(Man)与N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)组成。在高尔基器内1核心区得到修整(被移去的附加核心甘露糖单位在图内没有表示出来)，并接上末端糖单位：其中包括附加的N-乙酰葡萄糖胺，以及单糖半乳糖(Gal)和唾液酸。岩藻糖(Fuc)也加上了。完整的糖蛋白质有两根相同的糖链，每一根链通过氨基酸天门冬酰胺(Asn)接到多肽上。两个天门冬酰胺单位被认为离多肽的氨基末端约150与400氨基酸单位。有证据证明，核心糖是在糖脂膜上装配的，装成一个单元再接到蛋白质上去

一个单元转移到G蛋白质上去。因为在这些实验中使用的内质网膜是取自未受VSV感染的细胞，所以糖链是正常细胞的组分，而不是为病毒装配的结构。

由这一系列步骤产生的糖蛋白有其氨基末端及在内质网膜内腔一面的大部分氨基酸