

生物科学参考资料

第 二 集

科学出版社

生物科学参考资料

第 二 集

科 学 出 版 社

1 9 7 3

内 容 提 要

本集翻译了国外杂志上一些有关生物学当前主要研究方向的较新论文。包括理论性的综述,如细胞膜的结构;细胞融合;RNA 指导的 DNA 合成;生物钟;辐射生物物理学;土壤生物化学发展趋势等。也有结合生产实际的研究介绍,如植物的诱发突变;赤霉素等。对国内生物学研究工作者有参考价值,对广大读者了解生物学科的动态和增长知识也有所帮助。

生物科学参考资料

第二集

*

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

*

1973 年 8 月第 一 版 开本:787×1092 1/18

1973 年 8 月第一次印刷 印张:6 2/9

印数:0001—15,100 字数:140,000

统一书号:13031·110

本社书号:221·13—6

定价: 0.68 元

毛主席语录

外国一切好的经验,好的科学技术,我们都要吸收过来,为我们所用。拒绝向外国学习是不对的。当然,迷信外国认为外国的东西都是好的,也是不对的。

C0112764



对于外国文化,排外主义的方针是错误的,应当尽量吸收进步的外国文化,以为发展中国新文化的借镜;盲目搬用的方针也是错误的,应当以中国人民的实际需要为基础,批判地吸收外国文化。

FGP5/34

目 录

细胞膜的结构·····	1
细胞融合现象的新发展·····	10
RNA 指导的 DNA 合成 ·····	20
生命的化学元素·····	33
年生物钟·····	42
肌肉能的来源·····	51
前列腺素·····	59
生物圈中的能流·····	67
植物诱发突变·····	75
赤霉素·····	81
辐射生物物理学——依然是使人感兴趣的论题吗? ·····	91
土壤生物化学的发展趋势·····	95

细胞膜的结构

活细胞的薄而牢固的胞壁是由类脂、磷酸盐和蛋白质组成。蛋白质起守门人和活性载体的作用,能决定什么可以通过细胞膜。

C. Fred Fox

每一个活细胞都被一个膜包围着,这个膜不仅可以使细胞在牢固的胞膜内执行功能,而且可以作为一个有辨别力的入口,它能使营养素和其他基本物质进入,使废物排出。这个膜叫做胞质膜,它还可以把物质从一边“抽到”另一边的“头部”,即它可以从稀溶液的一边把物质抽出,输送到这物质浓度高很多倍的对边。这样,胞质膜有选择性地调节细胞和它环境之间的营养素和离子的流动。

高等有机体的细胞,除胞质膜外,还有很多独立的,将称为细胞器的结构分隔的内膜,这些细胞器能起各种特殊的作用。例如,线粒体氧化食物并为细胞提供进行其他活动的燃料,以及叶绿体进行光合作用。单细胞有机体,如细菌,只有一个胞质膜,但是它的特殊结构足以完成高等细胞的细胞器膜所能承担的部分或全部功能。很显然,任何用来说明膜结构的模型必须能够说明功能的特殊方面。

膜几乎都由两类分子组成:蛋白质和类脂。蛋白质可以作为酶或生物催化剂,并使膜具有其特殊功能的性质。类脂提供膜的总体结构的性质。自然界发现的最简单的类脂,如脂肪和蜡,是不溶于水的。发现膜中的类脂是两性的,意即分子的一端是疏水的或不溶于水,而另一端是亲水的或水溶的。亲水区被看作是极性,因为它能带一个离子(电子)电荷;疏水区是非极性的。

在大多数膜的类脂中,非极性区是由脂肪酸的烃链组成:烃分子的一端有一个羧基(COOH)。在一个典型的膜类脂中,两个脂肪酸分子通过他们的羧基端与甘油的骨架结合。甘油骨架依次连接在一个由磷酸和其他基团组成的极性头部基团上,它经常带一个离子电荷(见图1)。这种类型的含有磷酸盐的类脂称作磷脂。

水中磷脂的悬浮体在适当条件下受到高能声波处理时,磷脂分子群集在一起形成密集的小泡:小囊状结构,称为脂质体。在脂质体和生物膜壁上磷脂的排列最近



图1 典型膜类脂是一个复杂的分子结构,一端是亲水的或水溶性的,另一端是疏水的。这一物质称为两性的。亲水的,或极性区含有磷酸盐和连接在一个甘油单位的其他成分。极性头部基团和水接触时经常带一个电荷。甘油成分形成一个桥,通往形成类脂非极性区的两脂肪酸的烃末端。在这个极简略的图中,曲线表示烃链;每一角被一碳原子和两个连着的氢原子占据。每一链的末端碳和三个氢原子结合。含有磷酸盐的两性类脂被称为磷脂。

曾用X射线衍射推断出来,这种射线可以重复原子基团之间的距离。M. F. Wilkins及其同事在伦敦皇家学院作了X射线衍射分析,指出类脂极性头部基团的两个平行排列之间距离大约为40埃,并且在50或50以上磷脂分子的排列中脂肪酸尾部一个挨一个平行堆积着。

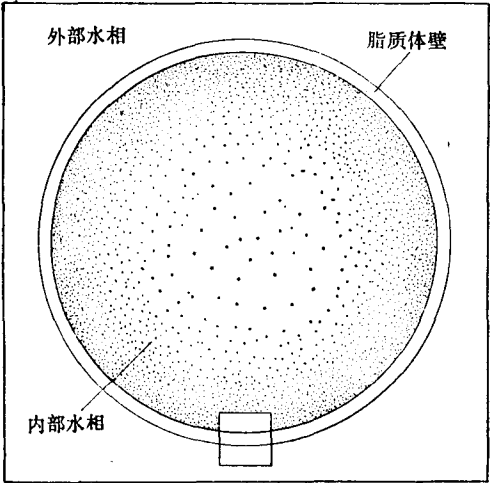


图2 人造膜——被围囊,人们所知道的脂质体,由磷脂的含水悬浮体受到高能声波的处理而产生。X射线衍射表明,脂质体中的磷脂采取顺序排列的方式,和真细胞的膜相似。方块面积放大如下图。

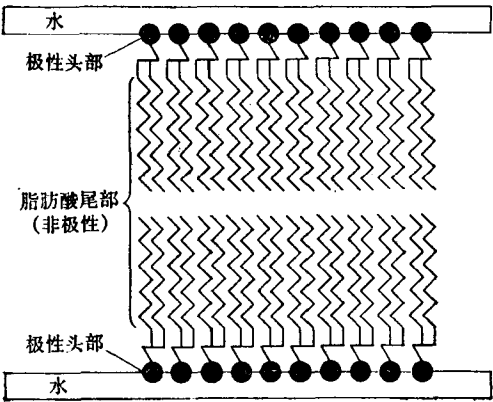


图3 脂质体壁剖面图表明膜是怎样由两层类脂分子组成的。两性类脂的极性头部面向两边的水溶液,同时非极性脂肪酸末端面对面向里。

这X射线的资料提供了脂质体和膜的结构,其中磷脂以两平行层排列(见图2,图3)。极性头部外观上安排在两层表面,而脂肪酸末端伸向里面,与膜表面的水平面垂直。在膜中磷脂结构的模型与J. F. Danielli 和 Hugh Davson 在二十世纪三十年代中期提出的相同,那时还没有可用的精确结构的资料。它也是包括两性分子组成的薄膜的最小能量构型,因为它使极性基团和水的作用增加到最大限度。

和类脂不同,蛋白质在膜中不形成整齐的排列,这样它们的排列不能通过X射线衍射来断定。这种没有次序的现象并不奇怪。每一特有种类的膜与许多种蛋白质分子结合,其分子量和相对数目极不相同。一种膜结合某种类型的蛋白质分子可以比其他类型的多10—100倍。

既然通过一般结构分析,对膜蛋白质排列很少了解,研究者决定转向对膜中一种或几种蛋白质取向的研究。在Danielli-Davson的模型中,假设蛋白质全部在类脂双层的外边,附着在膜的这边或那边。虽然从X射线衍射和高分辨率电子显微镜所得资料证明,这种结构对大多数膜蛋白质来说可能是真的,但是生物化学的研究表明 Danielli-Davson 的

概念过于简单。主要由剑桥医学研究委员会实验室的 Marc Bretscher,以及哈佛医学院的 Theodore L. Steck, G. Franklin 和 Donald F. H. Wallach 提出了交替定位的证明。他们的结论是某种蛋白质可渗入类脂的双层,而其他的则完全伸进去。

Bretscher 用一种具有放射性的物质标记人的红血细胞的胞质膜的一种主要蛋白质,这种放射性物质可以和蛋白质形成化学键,但是它不能渗入膜表面。用两种方法

标记蛋白质(见图4)。第一,将完整的红血细胞暴露给放射性物质标记,以使标记只连着于暴露在膜的外面的蛋白质部分。第二,先将红血细胞碎裂,再加入放射性标记。在这种条件下,标记不仅可以把自己附着于膜的内表面暴露的蛋白质部分,也可以附着于外表面部分。

在两种不同条件下标记的两批膜分别进行蛋白质分离。这两种分离的样品中的提纯蛋白质用蛋白水解酶处理降解到一定的碎片:蛋白水解酶是可以裂解构成蛋白质的氨基酸单位链上的键的一种酶。每一批碎片的样品放在一方块滤纸的一角来进行“指印”分析。在这一技术中,通过色层法碎片在纸上朝一个方向分离,再通过电泳在与前一方向成直角的方向分离。在色层分段过程中,每一种类型的碎片可以与其他分开,因为它在纸上移动时有特定的速度,与溶剂移动的速度有关。在电泳分段中,碎片进一步分离,因为它们在外加电场中具有特定的移动速度。

分离一经完成,把滤纸放在X射线软片上,通过将软片曝光,以使放射性标记的碎片显现出来。把这两批碎片的软片显影,就很清楚看出,当细胞膜的内表面和外表面都暴露给放射性标记时,标记的碎片比只有外表面暴露时的多。这就有力地证明了产生附加标记碎片的蛋白质部分是在膜的内表面。

Steck及其同事制备了两种类型封闭膜的小泡,用红血细胞膜作为起始物质进行了实验,取得了类似的结论。在一种类型的小泡实验中(表面朝外小泡)外膜表面暴露给外水环境。在另一类型实验中(内面朝外小泡)膜内表面暴露给外水环境。当这两类小泡用蛋白水解酶处理,只有暴露在外水环境的蛋白质降解。Steck发现在表面朝外和内面朝外的小泡的一些蛋白质易被消化。表明这些蛋白质是暴露在膜的二面,在表面朝外小泡而不是在内面朝外小泡的其他蛋白质易受蛋白水解酶消化。这些蛋白质显然是只位于膜的一边。这一情况给膜的面概念提供了证据。这种面几年来一直被怀疑,因为人们认为细胞膜的内表面和外表面具有不同的生物学功能。用表面朝外和内面朝外构型来制备小泡的技术的发展对于决定在膜的哪一面存在某一种蛋白质及其功能是非常有用的。

Daniel Branton及其同事在伯克利的加利福尼亚大学发展并使用冰冻-蚀刻电子显微镜检术,研究膜内部解剖。在冰冻-蚀刻电子显微镜检中,水中悬浮膜迅速冻结,用锋利的刀片切片,只要膜表面沿着切口平面平行移动,大部分膜将沿着类脂双层的中间裂开。然后把白金和碳的薄膜汽化到切口的表面上,这就有可能用电子显微镜检术观察切口平面的结构解剖。

切口膜的电子显微镜图象显示出类脂双层的内表面有许多颗粒,直径约为50—85埃。如果膜的样品首先用蛋白水解酶处理,就不可能观察到这些颗粒,从而指出这些颗粒可能由蛋白质组成根据冰冻-蚀刻显示的颗粒数目的定量估计,Branton及其同事指出许多生物膜的内部容量有10—20%是蛋白质。

有时一个细胞中全部蛋白质的大约五分之一或四分之一是与膜物理结合着。其余蛋白质的大部分被溶解在细胞含水的内环境中。为了在水溶剂中溶解膜蛋白质,必须加进去垢剂促使其扩散。也许有人期望膜蛋白质与可溶蛋白质在化学成分上有

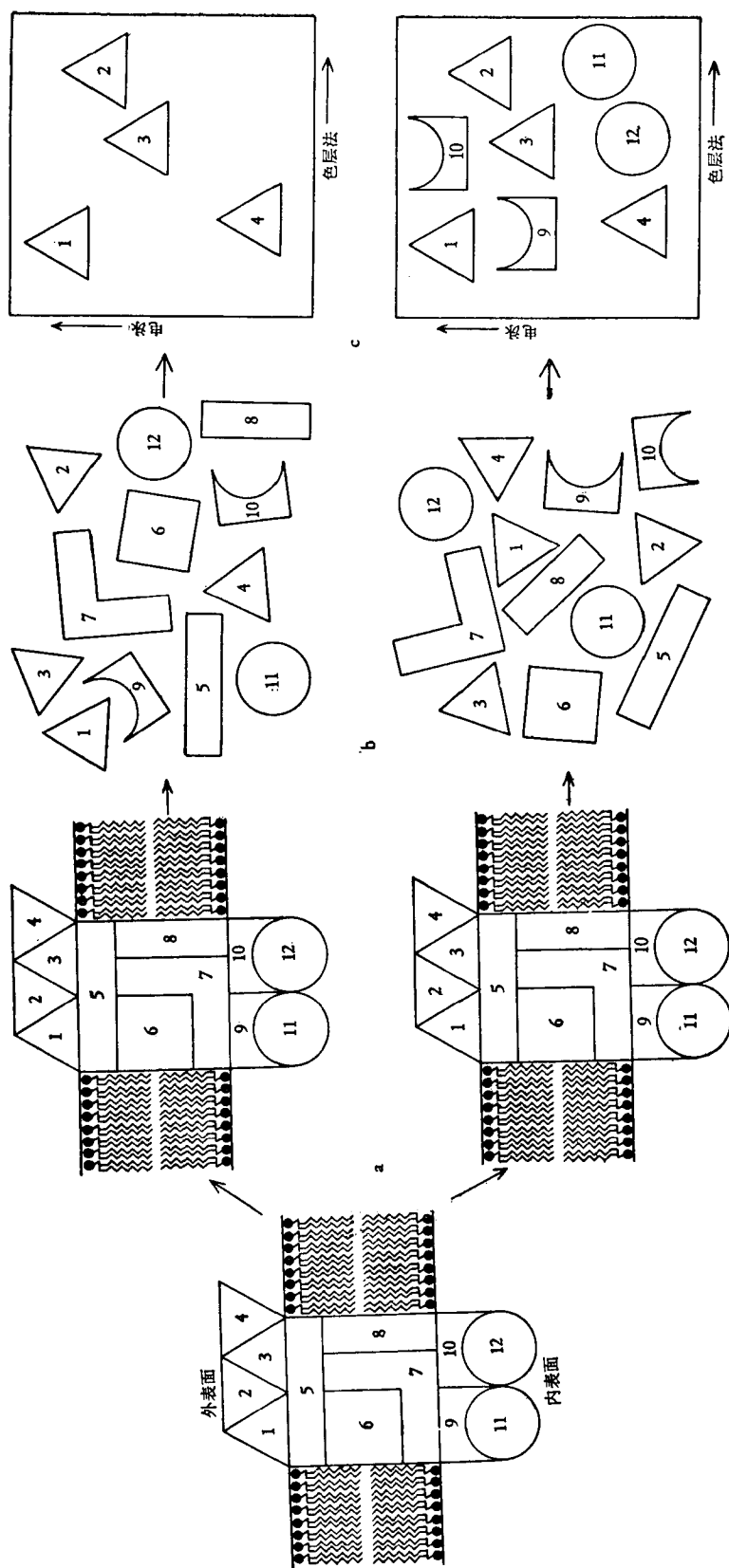


图4 膜中蛋白质的定位可通过放射性标记和蛋白质结合来说明,这些图描述了一个实验,其中红细胞膜中的一种主要蛋白质被标记(a)。当完整的细胞(上面序列)暴露给放射性物质时,只有外壁上的蛋白质部分吸收标记。标记前把细胞弄碎(下面序列),放射性标记可以连到暴露的膜内表面和外表面的蛋白质部分,可以通过分离和提纯在这两种情况下被标记的蛋白质来说明。然后蛋白质被用蛋白酶处理分解成一定的碎片(b)(数字模型)。这两批断裂的部分点在滤纸的一角进行“指印”(c)。这是一种色层法和电泳相结合的技术,单通过色层法,蛋白质的碎片可以以不同速度移动,这主要取决于溶剂系统的可溶性,电泳是沿着滤纸的一角轴建立一个电位梯度。由于各种碎片具有不同的电荷密度,它们进一步分离。于是,一张X射线软片放在每张滤纸的上面。从标记碎片的放射可使软片曝光,并可看到这些碎片停留在什么地方。通过相同的实验所产生的X射线软片的比较证明,当红细胞在标记前被弄碎时,有更多的蛋白质碎片被标记出,并且附加的碎片(9, 10, 11, 12)必定代表伸进膜并渗入到表面的原来蛋白质部分。

很大区别。但是情况并不如此。

组成蛋白质的氨基酸可以分为两种基团:极性的和非极性的。哈佛大学的 S. A. Rosenberg 和 G. Guidotti 分析很多膜的蛋白质氨基酸成分。发现它们含有大致相同比例的极性和非极性氨基酸,正如有人在普通大肠杆菌的可溶性蛋白质中发现的一样。这样,氨基酸成分的差异不能说明膜蛋白质的水不溶性。

康乃狄格大学的 L. Spatz 和 Philipp Strittmatter 把家兔的肝细胞膜经过蛋白水解酶的温和处理。这个处理释放出膜蛋白质的生物学活性部分:细胞色素 b_5 。在分离过程中,他们溶解并纯化这完整的细胞色素 b_5 ,再用蛋白水解酶处理。这一处理也释出水溶性的、生物学上的蛋白质活性部分,同时释出很多不溶于水溶剂的少量降解产物。生物学上的蛋白质活性部分,不管是从膜还是从提纯蛋白质得到的,都富含极性氨基酸。另一方面,不溶于水的蛋白质碎片富含非极性氨基酸。这些观察指出许多膜蛋白质可能是两性的,有一个包埋在含有磷脂的非极性脂肪酸尾部的膜部分的一非极性区和一个暴露在膜表面的极性区。

现在我们要问,物质是怎样通过膜的呢?磷脂双层的非极性脂肪酸尾部从物理上来说与少量水溶物质是不相容的,如金属离子、糖和氨基酸,这样,它们就成为不能自由通过的障碍物。如果有人测量血糖(葡萄糖)通过脂质体磷脂双层壁的速度,那他就会发现这种速度太低,不足以说明葡萄糖渗透生物膜的速度。这方面的报导产生了这样的概念,即在生物膜中必须具有称作载体的实体,以促使金属离子和少量极性分子通过磷脂双层的障碍物。

生物膜的实验指出,假想的载体具有高度的选择性。例如,促使运送葡萄糖通过膜的一个载体在运送氨基酸或其他糖时不起作用。英国剑桥农业研究委员会的 A. D. Bingham、M. M. Standish 和 J. C. Watkins, 以及剑桥大学的 J. B. Chappell 和 A. R. Crofts 作了一个测量选择性的离子运送的有趣的实验系统。他们使用缬氨霉素,一个非极性的含有一个短链氨基酸(实际上 12)的脂溶性抗菌素,作为一个典型的载体;这样的短链称作多肽以区别于大得多的真蛋白质。缬氨霉素与磷脂双层膜结合,并使它们能渗透钾离子而不能渗透钠离子。

渗透性的变化很容易观测,可测量通过含有钾盐的水溶剂的两室之间的磷脂双层时电阻的变化。实验是把磷脂的样品引进两室之间的小孔内。直到一个含有磷脂双层的薄膜把室隔开,类脂就自然变薄。然后把电极放入两室中,测量通过膜的电阻。

在没有缬氨霉素时,通过磷脂双层的电阻比通过典型生物膜的电阻要高几个数量级:与 10 和 10,000 之间相比,它是 10,000,000 欧姆/厘米²。这就指出磷脂双层膜实质上不能渗透小的亲水离子。如果将少量的缬氨霉素(每毫升盐溶液 10^{-7} 克)加入含有钾溶液的室中,电阻下降至 5 个数量级,磷脂双层对钾离子的渗透性以同样的数量上升。实验膜的渗透性现在实质上重复生物膜的渗透性。

如果在室中用氯化钠溶液重复此实验,你就可以发现加入缬氨霉素只引起电阻的微小变化。因此,缬氨霉素作为生物载体有两个最重要的准则:它可以促进渗透,

并且对所运送物质具有高度的选择性。现在出现的问题是：缬氨霉素是怎样工作的？

首先，缬氨霉素是非极性的。这样，物理上它与含有非极性脂肪酸尾部的双层部分是不矛盾的，并且可以溶解在其中。其次缬氨霉素可以很明显地在磷脂双层的两面之间扩散。洛杉矶加利福尼亚大学的 S. Krasne、G. Eisenman 和 G. Szabo 指出，降低温度使双层“冰冻”时，缬氨霉素增加钾离子运送的能力就会中断。第三，缬氨霉素必须用这样的方法和钾离子结合，即把离子电荷和膜的非极性区隔开。最后，缬氨霉素本身必须在钠和其他离子之前，对钾离子有一选择结合的能力。

将缬氨霉素，作为载体中间运送的模型，可假定三个基本步骤：识别离子，离子通过膜的扩散和在另一边的释放，在第一步中，被包埋在膜的缬氨霉素分子的某些部分，当钾离子接近膜的表面时，“识别”并捕获它，在第二步中，含有缬氨霉素和钾离子的络合物通过膜扩散。最后，到连膜的对面时，钾离子从络合物上解离并被释出。

关于这点的争论可用几句话归结。生物膜的基本结构是磷脂双层，磷脂双层是渗透性的障碍物，载体需要突破它。此外，膜障碍物必须经常以一定途径突破。在正常功能细胞中，细胞里上百种小分子的浓度必须比外面高，并且细胞里许多其他小分子的浓度必须比外面低。例如，人细胞里钾离子的浓度比所在血里的高 100 倍。钠离子的浓度几乎正相反。维持这些浓度的差别是绝对必要的，甚至很小的一点变化都可造成死亡。

虽然建立在缬氨霉素基础上的模式系统提供了有关载体的功能和选择性的大量情况，但没有说明一种物质从膜的低浓度一边抽到高浓度的另一边的运送机制。我们对集中运送(或一般称为活性的运送)的理解应归功于下列倡导者的努力，他们是法国巴斯德学院的 Georges Cohen、Howard Rickenberg、Jacques Monod 及其同事们。巴斯德小组研究了奶糖(乳糖)通过大肠杆菌细胞膜的运送。遗传实验指出，乳糖运送载体是一种蛋白质。这种速度的研究说明，运送过程就象酶促反应，进一步支持了载体是一种蛋白质的观点。巴斯德小组同时发现，乳糖运送系统能进行活性运送，所产生的乳糖浓度，细胞里的比外面的大 500 倍。活性的运送过程取决于代谢能量的消耗；阻碍能量代谢的毒物破坏细胞浓集乳糖的能力。

以乳糖系统为代表的说明许多(而不是全部)活性运送系统的性质的模型要求有可以改变形状的载体蛋白质存在。蛋白质可形象化地比喻作膜壁上的一个旋转门(图 5)。这个“门”有一个口，适合运送目标物质。这个口一般朝向细胞的外环境。当目标物质进入口时，蛋白质改变形状，因而使它旋转，以致这个口朝向细胞。当把目标物质放进细胞时，蛋白质仍保持面向里面，直到细胞消耗能量，使蛋白质旋转，于是这个口再次面向外面。

1965 年在哈佛医学院，我与 Eugene P. Kennedy 一起工作，成功地验证了乳糖运送载体。我们发现，正如我们所期待的一样，它是一种具有象酶一样能力的蛋白质和乳糖结合。这样，很多其他运送载体被鉴定出，并证明所有的都是蛋白质。乳糖载体存在于膜中，并且是疏水的。这样，从物理性质来说，它和膜的非极性类脂不矛盾。

1970 年 Ron Koback 及其同事在罗兹分子生物学研究所观察到, 促使乳糖以及大肠杆菌中几十种低分子量物质进行活性运送的能量, 是与代谢中间物, 如 D-乳酸和琥珀酸的生物氧化直接相连的。从 D-乳酸氧化产生的能量如何用来推动活性运送是膜生物学中较有兴趣而尚未解决的问题之一。

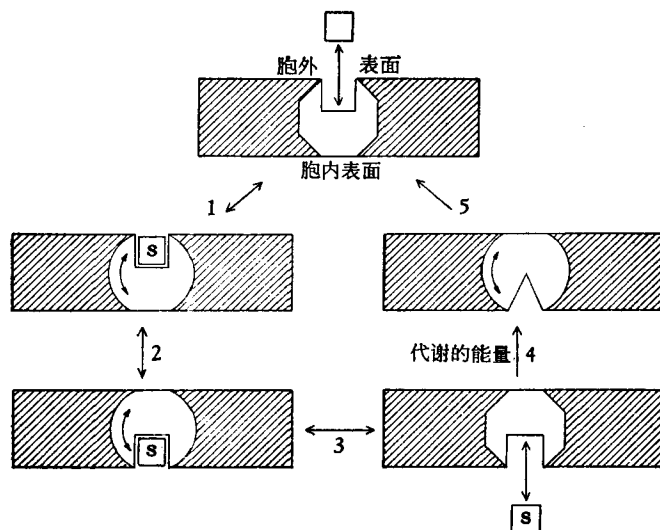


图5 “活性”运送的机制包括一个具有旋转性质的载体蛋白质(空白处)。一个载体蛋白质可捕捉一种物质(S), S 存在于膜外稀溶液中, 并把 S 运送到细胞内面, 细胞内面的 S 浓度比外面的要大得多。当 S 和蛋白质结合时, 蛋白质便改变形状(1), 这样使它旋转(2)。当 S 离开并进入细胞(3)时, 蛋白质回到它不动时的形状。代谢的能量必须消耗(4)以改变蛋白质的形状, 所以它能够转动, 并且再次把结合的位置向细胞外面(5)。其他蛋白质载体具有从细胞内面低浓度向细胞外部较高浓度的溶液运送物质的能力。

由于运送载体在膜内必须是可动的, 以便把物质从一个表面移到另一表面, 也许有人猜想含有脂肪酸尾部的膜区不应有坚固结晶结构。X 射线衍射研究指出, 膜的脂肪酸事实上在生理温度, 即 37°C 左右时具有“液晶”结构。换言之, 脂肪酸没有坚固结晶的晶格排列。电子顺磁共振和核磁共振技术可以用来研究膜的脂肪酸支链的易挠性。有些研究者, 如著名的斯坦福大学的 Harden M. McConnell 及其同事得出结论, 即膜的脂肪酸具有似流体的特性。

膜具有两类脂肪酸: 所有可利用的碳链带有氢原子的饱和分子和缺少二对或二对以上的氢原子的非饱和分子(结果有二对或二对以上的碳原子具有双链)。膜的流体特性大部分是由非饱和脂肪酸的结构和相对比例决定的。在只含有饱和脂肪酸的磷脂中, 脂肪酸尾部在生理温度时以坚固堆积结晶阵列排成。在含有饱和及非饱和脂肪酸的磷脂中, 脂肪酸的排列次序较差, 因此它更具有流体性。非饱和脂肪酸的双键可以使结构变形, 即破坏形成坚固结晶结构所需要的顺序堆积(图 6)。

我和同事在芝加哥大学(后来在洛杉矶的加利福尼亚大学), 以及 Peter Overath

及其同事在科伦大学以改变生物膜的脂肪酸成分来研究脂肪酸结构对运送的作用。当膜类脂含大量的非饱和脂肪酸时,运送的速度可以比膜类脂含少量的非饱和脂肪酸时大到20倍。这些实验表明,正常膜功能取决于脂肪酸的流动性。

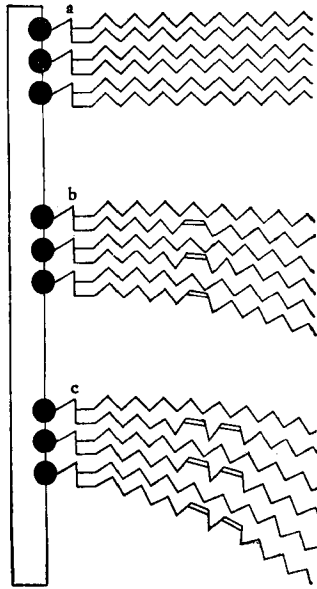


图6 脂肪酸成分的变化可以破坏生物膜中磷脂的有顺序的堆放,在由完全饱和脂肪酸组成的类脂层中(a),脂肪酸链在碳原子之间只含有单键,这样,集中一起形成坚固结构。在具有一个双键的非饱和脂肪酸的类脂层中(b),双键干扰顺序堆放,引起变形,并使脂肪酸区稍有流动。当具有二个双键的脂肪酸出现时(c),变形和继起流动性还要增加。

细胞生存并生长的温度对它们膜的非饱和脂肪酸的含量有显著的影响。生长在低温下的细菌,膜所含非饱和脂肪酸的比例比生长在较高温度时要大。如果膜是在正常的低温下工作,脂肪酸成分的调整是必要的。相似的调整在高等生物也发生。例如,驯鹿的腿有一温度梯度,接近躯体处温度最高,近蹄部温度最低。为了补偿温度梯度,接近蹄部的细胞膜其类脂富含非饱和脂肪酸。

虽然正如我们所看到的,磷脂可以自发地在水中形成双层膜,这一过程只能提供关于为什么膜的主要结构是磷脂双层的这一物理学的理论。导致生物膜组合的过程是相当复杂的。高等生物的细胞含有若干独特的膜结构。它们的类脂成分有很大不同,每一类型的膜具有自己独特的蛋白质补足物。膜内蛋白质成分和蛋白质位置的多样性说明了不同类型膜的功能的多样性。很少有单一种蛋白质存在于几种类型的膜中。

由于所有膜蛋白质在大致相同的细胞位置合成,那末为什么一种类型的蛋白质只结合到胞质膜上,另一种类型只出现在线粒体膜上?对这个问题,目前只能约略依据一点事实凭着推测加以解答。提出了关于膜组合的两种简略的设想。一种可能是通过自我组合

机制互相拚凑组成新膜块,在这一机制中,一块新膜的所有组分都自发地集在一起。这个新块然后被嵌进一个现存的膜。第二种可能性是新制蛋白质非常任意地嵌进先存的膜。

在洛杉矶加利福尼亚大学我的实验室里,在洛克菲勒大学 Philip Siekevitz 和 George E. Palade 实验室中,最近的研究支持第二种设想。那末这很好,但是由什么来决定某一蛋白质只能结合到某一种膜上呢?虽然这必须用推测来回答,但是已经知道许多蛋白质专门与同一膜中其他蛋白质结合。这种蛋白质-蛋白质相互作用是很普通的,膜的许多功能的实体是几种蛋白质的复合体。这样,一个膜的蛋白质提供了一个样板,它可通过新合成的蛋白质识别并可帮助新合成的蛋白质嵌进膜中。用这样的方法,旧膜可以作为组合新膜的样板。这也可能解释了为什么不同的膜结合不同的蛋白质。

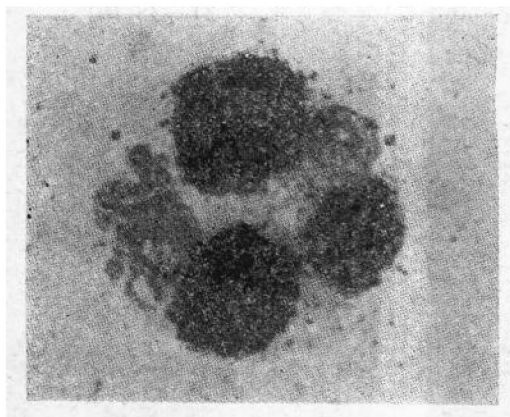
其次,为什么不同的膜具有不同的类脂成分?这个问题的答案更不易得出。一

般,类脂在膜内合成,催化合成的酶是膜的一部分。然而一些类脂由一种膜产生,然后移动到另一没有固有的合成蛋白质能力的膜中。由于各种膜之间类脂的互换,用某一膜对某一类型类脂合成能力的不同来解释不同膜的类脂成分,看来是不行的。至少有两种可能途径说明类脂成分的不同。一种可能性是不同的膜可能以不同的速度破坏不同的类脂;另一种是一种膜的蛋白质有选择性地结合一种类型的类脂,反过来,另一种膜的蛋白质能结合一不同类型的类脂。从这一讨论很清楚地看出,膜的组合这一课题的具体证据还不足,但是问题得到了很好的说明。

[译自《Scientific American》1972年2月号,第31—38页]

细胞融合现象的新发展

岡田 善雄



人类的 KB 细胞和小白鼠的 Ehrlich 癌细胞互相融合的多核细胞。三个黑色核(KB 细胞的核以 H^3 -TdR 标记的)和二个灰色核(Ehrlich 腹水癌细胞的核),而进入一个细胞之中。著者最初找出来的异种融合现象的历史性资料。

(一) 前 言

前几天, P. Meera Khan 博士寄给我一册《与人类 X 染色体图有特殊关系的种间体细胞杂种的酶的研究》(Enzyme studies in the interspecific somatic cell hybrids with special reference to the mapping of the human X-chromosome), 这是我内心非常欣赏的题目。该书列举了研究结果之后, 又预料到今后数年内, 利用体细胞杂种可以迅速增加有关人类遗传基因连锁的知识。回想起来, 当向开辟杂种系统的人们致以谢意。年轻的欧洲研究工作者们充满信心, 强烈地感到通过新的篇章, 期待着这方面的成就。人们能确实地探索着多细胞动物的基因分析方法, 一面扩展了研究方法, 尤其是帮助了人类染色体研究工作, 这是极好的礼物, 正是在我们内心里迸发的希望。

另一方面, 一直到现在为止的过程看起来, 累积了各种研究工作者们的努力和智慧, 已能看到具有向良好途径发展的方向。我们在日本的一个地方郑重地培育出“由于 HVJ 病毒”而来的细胞融合现象”, 过了一段时间, 各方面都利用起来了。它也肩负着研究人类基因的命运。

- 1) 当时由大阪大学微生物病研究所从小白鼠分离出一种病毒, 深井孝之助、铃木敏三等研究这种病毒的各种生物活性, 乃属于粘液瘤病毒, 与流感病毒不同, 是溶血能力很强的新病毒, 他们当时定名为 Z 病毒。与此几乎在同一期间, 有东北大学、预防研究所、名古屋大学也从各个小白鼠身上分离出新的病毒, 后来搞清楚都是同一种类的病毒, 日本病毒学会乃正式命名为 HVJ 病毒 (日本血球凝集病毒——hemagglutinating virus of Japan, 现在一般在外国则称为仙台病毒——Sendai virus), 因为在正式命名之前, 先从仙台东北大学把这种病毒引到美国去的。

(二) 发现细胞融合反应的时候

我是在进入大阪大学微生物病研究所的第三年(1955),碰到了细胞融合现象。回忆这个时候的事迹,由于当时的先进的诸先辈的关系,不久以前成立了日本病毒学会,噬菌体对于宿主所受到的感染的机制与核酸问题,很快地得到阐明。但是动物病毒学家对于组织培养技术还不是太熟练,另一方面,使用细菌适应酶的诱发现象,引起了注意,为了阐明它的机制,正进行着热烈的讨论。

我所属的研究室的主任是深井孝之助,他对于流感疫苗和日本脑炎疫苗的开创,投入了力量,同时,为研究培养流感病毒,使用了孵化的鸡蛋。至于谈到这种病毒的核酸的处理,当时得到该所的柴谷笃弘的指导,提取了核酸,但尚未得到检验其生物活性的方法,接着,根据钝化病毒来干扰流感病毒繁殖的现象,乃使用孵化鸡蛋来分析的。与当时兴旺期的噬菌体比较起来,为了不得不使用孵化鸡蛋,要不断地使实验在没有自由度的情况下进行。

正是那个时候,从名古屋大学的永田育也(现在是名古屋大学医学院教授)那里,知道了以小白鼠的 Ehrlich 癌细胞作为宿主使流感病毒的一种变异菌株(NWS 菌株)得到很好的繁殖,也投到这个系统。这个系统比起噬菌体系统不是十分齐全的,但因宿主细胞在试验管中操作时不是蛋的有利条件,尤其是处理病毒引起细胞感染的初期反应,还是满意的系统。在这里就积累了有关细胞膜与病毒的初期反应的知识。如果在活体内实验,我往往会看错的。

Ehrlich 癌细胞繁殖的小白鼠腹腔中,把前述的流感病毒 NWS 菌株接种进去,第二天,腹腔中的癌细胞死去。如果含有 5 毫升以上腹水的小白鼠,然后,那些白色部分的就死去了。把腹腔剖开一看,肝脏也已白化,因为过量的癌细胞死去的缘故,从那些细胞方面吸收过量的物质,来不及分解,致使个体陷于频死现象。但腹水仅在 1 毫升以下的小白鼠,接种这种病毒之后,却没有以上的症状,癌可以完全消去,个体乃得到治愈。进而在正常小白鼠的腹部接种若干 NWS 菌株,对于该个体并无什么影响。这样的现象已开始引起各种讨论,是否可利用来治疗实际的癌病,同时对近缘的病毒到底是怎样的?已开始着手研究,其中之一就是 HVJ(日本血球凝集病毒)。

那时候,在深井孝之助的研究室里,乃使用了超高速离心机,在一般研究中,使用病毒材料时,几乎已惯于使用离心作用来浓缩精制的。将 HVJ 的浓缩材料注入 Ehrlich 癌病小白鼠的腹腔中,过了一天,腹水之中却发现了从未见过的无数巨大的球型细胞。乃请深井给我买来相差显微镜,在那个基础上,把细胞予以压抑,那种巨大细胞乃是许多核呈车轮状排列的多核细胞。在这里先放置 NWS-Ehrlich 癌系统,由于 HVJ 的关系所引起的有趣的现象,却把我们迷住了。今天被许多研究者所利用的细胞融合现象,作为出发点。正是那个时候,花房秀三郎夫妇参加了微生物病研究所。他现在是研究 RSV 的第一个人,在该所开始以天花病毒为材料进行研究。

(三) 细胞融合的基本特性

首先谈谈 HVJ 的生长, 宿主细胞的细胞膜是这种病毒粒子形成的部位。各种病毒的原料在宿主细胞质合成之后, 它们靠近细胞膜的表面, 细胞膜(含有病毒的原来诱导物质)伸出了芽状那样的东西。其中病毒的 RNA 蛋白质的芯, 象馅子被包围, 芽的根部切断之后, 把病毒粒子向细胞外脱出, 这种现象一般叫做出芽。这样形状的病毒, 在粒子的最外层与细胞膜相类似, 至少在电子显微镜之下观察起来, 与细胞膜延长的同时, 看到了被膜(envelope)的组成, 它们叫做被膜病毒。从 HVJ 开始, 流感病毒、白血病病毒、疱疹病毒等都进入了这个课题(图 1)。

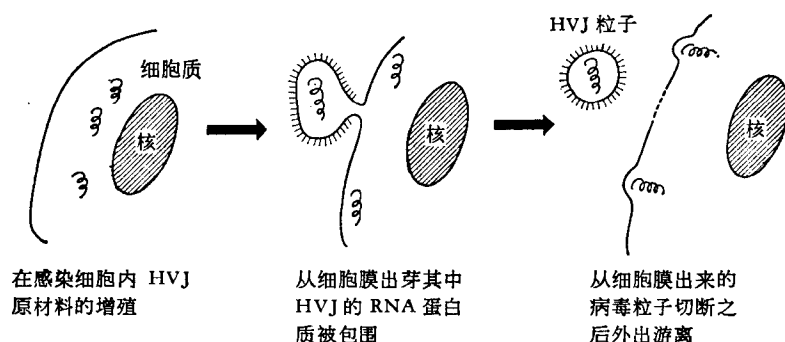


图 1 在感染细胞内 HVJ 粒子成熟过程的模式

现在的问题就是细胞融合现象, 与 HVJ 有关的体细胞分为几部分而互相融合, 甚为简单明了, 细胞膜与这种病毒被膜之间, 直接引起了反应。当然, 这种现象本身是 HVJ 对细胞感染时所引起的各种反应的一部分, 我们特别人为的强调这种现象, 在观察之后, HVJ 对细胞融合反应确有各种很好的特性, 乃存在于被膜的部位。

1. 首先提到这种被膜, 血球凝集素作为许多结构单位被编入。跟着把病毒液添加于血球液, 病毒立即在凝集素部分被分布在血球表面的受体所吸附, 同时过渡到病毒, 那些血球相互凝集。不仅血球有这种受体, 而且广泛地分布于哺乳类、鸟类的细胞中。为了使细胞融合, 至少需要先有二个细胞进行接触, 而 HVJ 充满其中。这些反应对温度的依存性犹不明显, 4°C 或者 37°C 都会发生(图 2, a)。

2. 把这种细胞凝集块移于 37°C 之下, 凝集块中的细胞膜在相互几份之间融合, 然后成为多核的巨大细胞(图 2, b-2)。引起这种反应的病毒方面的特性(细胞融合活性)也存在于被膜, 但不是在上述第 1 项所谈的血球凝集素所产生的东西。流感病毒虽能发生图 2, a 的反应, 碰到 30°C , 凝集块却发生离解, 细胞也被分散开来(图 2, b-1)。HVJ 经过巧妙的热处理, 又以有机溶剂予以处理, 仅具有图 2, a 活性的东西不向 b-2 方向发展, 而改向 b-1 方向发展。

3. 这种第 1 项与第 2 项的特性, 因为都存在于被膜, 虽把粒子芯部 RNA 予以钝化(用紫外线或 β -丙内酯处理), 仍能残留一些活性。进而根据保坂康弘的多年努力,