

分子生物学

神经传导与肌肉收缩的基本过程

科学出版社

73

5

.1

分子生物学

神经传导与肌肉收缩的基本过程

D. 納赫曼森編

范世藩譯

科学出版社

1965

MOLECULAR BIOLOGY
ELEMENTARY PROCESSES OF
NERVE CONDUCTION AND MUSCLE CONTRACTION
EDITED BY DAVID NACHMANSOHN
Academic Press, 1960

内 容 简 介

本书是1958年9月在美国洛克菲勒研究所举行的一次讨论会的文集，共包括11篇论文，内容主要集中于两个方面：肌肉收缩和神经冲动的传导的基本过程，此外还涉及到生物体的能量利用、结缔组织粘多糖的性质和功用以及蛋白质的结构和功能等方面的问题，适合于高等院校有关专业的师生和生理科学工作者阅读。

分 子 生 物 学

神经传导与肌肉收缩的基本过程

〔美〕D. 纳赫曼森 编
范 世 藩 译

科学出版社出版

北京朝阳门内大街117号
北京市书刊出版业营业许可证书出字第061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

*

1965年8月第一版 开本：850×1168 1/32
1965年8月第一次印刷 印张：4 3/8 插页：11
印数：0001—2,650 字数：133,000

统一书号：13031·2156

本社书号：3284·13—10

定价：[科七] 1.10元

目 录

橫紋肌的結構·····	H. E. 赫胥利 (1)
肌肉的产热·····	A. V. 希尔 (15)
收縮和舒张时的化学反应·····	H. H. 韦柏 (22)
用化学电位来系統地講述生物能量利用的尝试 ·····	
·····	F. 李普曼 (32)
关于蛋白質結構和功能的一些討論·····	B. W. 罗 (41)
結締組織的粘多糖的性質和功能 ·····	K. 梅耶尔 (58)
神經作用的物理化学 ·····	H. 欧林 (65)
細胞膜的分子生物学 ·····	J. D. 罗勃逊 (73)
神經的产热·····	A. V. 希尔 (138)
神經活动的分子基础的一些問題 ·····	I. B. 威尔逊 (147)
从电子結構来看鈉离子和胍离子的生理效应 ·····	
·····	L. 勃罗尼 (154)

橫紋肌的結構

H. E. 赫胥利

肌肉收縮現象曾在经典的生理学和生物化学领域內被仔細地研究过，而且获得了相当的成就。这两门学科之一研究肌肉的宏观性质和行为，另一门則研究在肌肉活动的不同时相內发生的化学反应。根据这两种着眼点所見到的收縮过程的許多方面，現在已經有了一幅相当确定的图画，但是这是一幅有很大缺陷的图画，因为在化学反应和化学反应所引起的收縮之間的因果联系还不知道。这就是說，我們迄今还不知道，在分子水平上，作为在收縮过程中所发生的化学反应的結果或作为化学反应的伴随物而出現的結構变化，确切地說，究竟是什么；而且，对于由这些分子变化綜合而产生的宏观的縮短过程，也只有部分的了解。然而，关于橫紋肌亚显微結構的知識，提供了在这两种不同的探索主題的門徑之間建立明确的关系的可能性，因而，詳細的生理学的观察，將终于能够依据分子水平的事件表达出其所包含的意义，而且特殊的化学事件的生理后果，也将成为可以計算的。讓我們来看看，目前我們能将这种过程引到何种程度。

“滑行細絲”假設的发展

結構的証据看来非常有利于橫紋肌的“細絲互交”或“双陣列”模型(Hanson 和 H. E. Huxley, 1953),而收縮似乎是由每个肌小节中的两列纖維互相滑行这样一个过程所引起的(A. F. Huxley 和 Niedgerke, 1954; H. E. Huxley 和 Hanson, 1954)。我将描述导致这种看法的主要証据，然后很簡短地討論結構知識所帶來的，有关肌肉中不同現象間的一些关系的新見解。

最早的肌肉电子显微镜研究 (Hall 等人, 1946; Draper 和 Hodge, 1949) 曾显示横纹肌的肌原纤维包含直径约为 100 埃的纵向细丝, 它们甚至在肌肉收缩以后仍旧比较直, 而且有良好的取向。它们还清楚地显示, 具有特征性的带的图形, 是由沿着纤维长度的、密度的明确的变化而来。这些细丝在活体内确切的排列方式, 特别是侧向排列, 在当时不容易确定, 因为那时唯一可利用的技术是将整块肌肉用机械方法弄碎, 然后让这样制备得到的分离肌原纤维在电子显微镜的标本栅上干燥。

X-射线观察

潮湿状态的肌肉的小角度 X-射线衍射研究第一次指示横纹肌的收缩物质系由两组细丝所组成, 这些工作既用了处于正常生理条件下的肌肉又用了处于僵直状态的肌肉 (H. E. Huxley, 1952, 1953a)。这样的肌肉给出具有特征性的和明确的 X-射线衍射图; 其赤道反射显示肌肉中存在有间距约为 450 埃、有规则的、由细丝组成的六角阵列, 它们显然相当于在较早的显微照片中所见到的细丝。这样就很清楚, 这些细丝形成或多或少连续的阵列穿过每根肌原纤维, 而不是象曾经被臆测过的那样, 只位于肌原纤维的外围部分。细丝之间的空间当然被肌浆所占据。

在僵直的肌肉中, 六角阵列看来仍存在, 但是 X-射线反射的强度和活的肌肉所给的强度是这样的不同, 因而提示有一种由细丝组成的次级阵列现在已被固定在点阵的三角系点上, 即在三根原来的“初级”细丝之间的对称点上。由于已经知道僵直的发作和三磷酸腺苷(ATP)自肌肉中消失有联系, 又由于 ATP 的不存在将使肌动蛋白和肌球蛋白可以结合起来, 因此便有人建议, 这两种主要的结构蛋白位于两组分开的细丝中; 在含有 ATP 的活肌肉中, 次级细丝相当杂乱地排置在初级细丝的阵列中; 在僵直时, 次级细丝通过形成肌动蛋白-肌球蛋白连接而附着在阵列的特定位置上, 因而给出所看到的 X-射线图形的变化。从已有的证据, 还不能决定哪一组细丝含有哪一种蛋白, 当然, 除了要求它们至少在有

些部位中共同存在以外，也沒有提供关于这些蛋白质位于肌小节特殊部位的证据或征兆。然而，已经发现，活肌肉给出相当于 415 埃轴向周期的一组非常清晰的轴向反射，它在肌肉受牵拉时维持不变，而且，从收缩肌肉所给出的颇为模糊的图形来判断，在缩短时也不改变。

“双阵列”理论的证实

为电子显微镜用的组织超薄切片技术的发展，使结构研究有

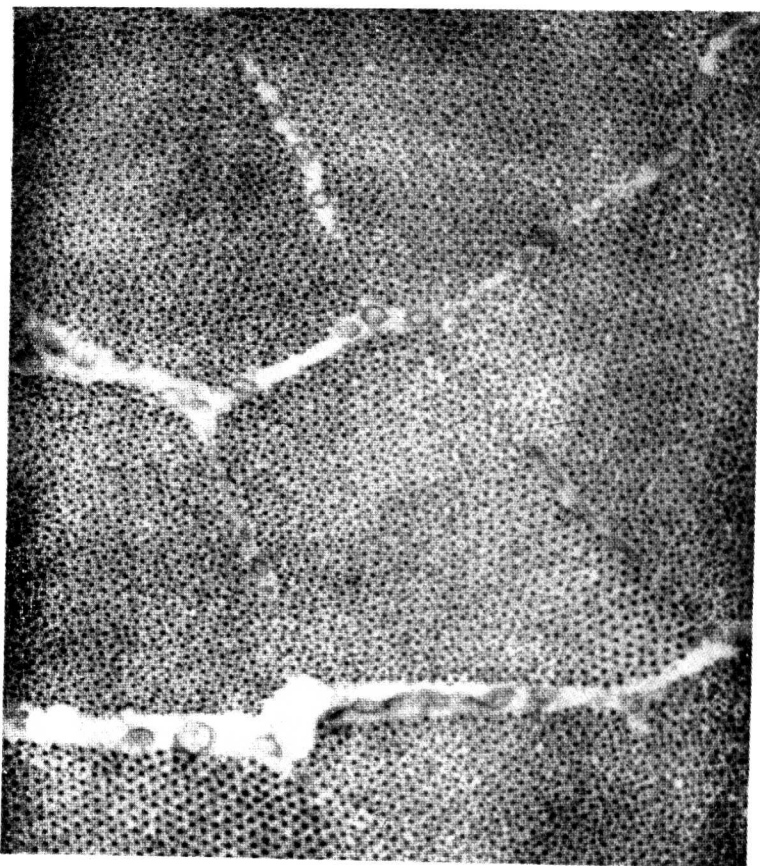


图1 通过兔腰大肌一些原纤维的A带的横切面，显示粗、细两组细丝的六角形阵列，横切。放大倍数： $\times 50,000$ 。

可能向前推进几个阶段。已經証实，肌絲是以六角形形式排列穿过肌原纖維的 (Bennett 和 Porter, 1953; Hodge 等人, 1954), 一些很早的对薄切片的观察也指出了这种結果 (Morgan 等人, 1950), 而細絲双陣列的存在, 已被对通过肌小节不同带的肌肉橫切面更仔細的研究所証实 (H. E. Huxley, 1953b), 这些結果显示, 在 A 带, 有一組很有規律的、按六角形陣列排列的、直径約为 100 埃的、較粗的細絲以及另一組, 对称地位于这一組細絲之間預期的位置上的、直径約为 50 埃的、較細的細絲 (見图 1), 然而在 I 带則沒有看到有这样的双陣列, I 带在当时一般保存得相当差, 它好象只显出了細的細絲。

起初, 这是一个令人不解的結果, 可是当发现 A 带的高光密



图2 经过腰大肌肌原纤维I区的橫切面, 显示由粗的細絲组成的, 简单的六角陣列。

度和双折射在肌肉被已经知道能选择性地溶去肌球蛋白的溶剂(高离子强度的盐溶液加上 ATP 或焦磷酸盐)处理过就都消失以后,原因就变得显然了(Hanson 和 H. E. Huxley, 1953; Hasselbach, 1953)。再者,经过这种处理的肌肉的电子显微镜图中显示较粗的细丝已不存在,只留下细的细丝; A 带和 I 带之间的差别消失了。

因此,自然会提出,在肌肉中肌球蛋白包含在 A 带的较粗的细丝阵列中(每根细丝不间断地从 A 带的一端通到另一端),而 A 带的高密度和双折射是由于这个肌球蛋白细丝阵列的存在而引起的。另一方面,肌动蛋白被认为存在于较细的细丝,从 Z 线开始,穿过 I 带、进入 A 带,位于肌球蛋白细丝之间,一直延伸到 H 区并终止在那里。在 H 区的横切面中(图 2),虽然较粗的细丝仍存在,却看不到细的细丝。在 H 区没有细的细丝足以说明 H 区的密度为什么较低。图 3 表示横纹肌这种细丝互交模型的原理,其中所包含的观念已为以后的实验在很大程度上充实和发展了。

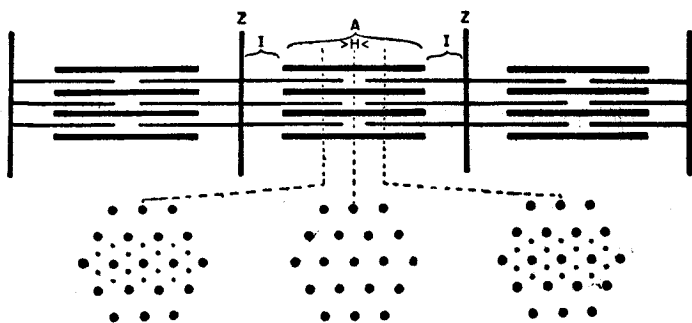


图 3 表示横纹肌细丝互交模型原理的图解。上面一部分显示三个相继的肌小节及贯穿其间的细丝阵列。下面一部分显示肌小节不同部分结构的端面图象。

关于肌动蛋白和肌球蛋白定位的进一步证据

肌球蛋白位于A带，起初只是一个在完全定性的基础上建立起来的假设，后来已被干涉显微镜所作的定量测定所证实。它包括肌小节不同区域的蛋白相对含量的测定和在抽提肌球蛋白过程中所移去的蛋白量的测定(H. E. Huxley 和 Hanson, 1957; Hanson 和 H. E. Huxley, 1957)。这些测定显示，在分离的、经过很好冲洗的肌原纤维的总蛋白中，约有 54.5% 是作为“额外”物质存在于A带的，即作为将A带密度提高到超过I带水平的物质而存在，因而相当于仅仅存在于A带的那种粗的细丝的阵列。当肌球蛋白抽提过程完成以后，所有这些额外物质都被移去，与之同时，还有总原纤维蛋白的约 10% 也被移去，这种蛋白是从肌小节中被较细的细丝所占据的部位中抽提出来的。

对同样的肌原纤维标本所作的生化研究显示抽提出来的肌球蛋白占肌原纤维总蛋白的 50—55%，抽提液也包含其它一种或几种还未鉴定的蛋白，其量约为原来总蛋白量的 10%。这些结果显示，至少有 4/5 的肌球蛋白一定位于A带，它们和那种认为所有的肌球蛋白都位于A带以及与肌球蛋白一道被移去的其他蛋白是来自较细的细丝的意见完全相符。

较近一些时候，Corsi 和 Perry (1958) 指出，某些完全溶去分离的肌原纤维的I带的处理，并不导致在提取液中出现任何肌球蛋白；而且原纤维的全部ATP水解酶活力（肌原纤维ATP水解酶特别和肌球蛋白相联系）仍旧留在剩余的A带中。再者，提取液包含原肌球蛋白和看来是变性形式的肌动蛋白，它们经常以大体上相同的比例存在，暗示这两种蛋白在细的细丝中联合在一起。

肌球蛋白位于A带的粗的细丝中而肌动蛋白则位于既存在于A带又存在于I带的细的细丝中这一结论，看来已经很好地建立起来了。

进一步的电子显微镜观察

新近,关于肌肉内的结构排列,曾经在电子显微镜方面,利用改进了的仪器和样品制备技术,更仔细地进行了研究(H. E. Huxley, 1957)。特别是利用薄得多的切片以避免由于切片厚度内不同结构的重迭而造成的混淆,以及利用溶解在无水酒精中的磷钨酸(PTA)作为提供高反衬的电子染色剂,大大地扩展了获得有用的讯息的范围。同时利用这两种技术,有可能在横纹肌取向适当的纵切面中看到这两种类型的细丝毗邻而居,在图4可以看到这种切片的情况。在这些于切片的厚度(~ 150 埃)内只包含一根细丝的切片中,在相邻的粗的细丝之间可以看见成对的细的细丝;这种效应,从图5可以看出,是由双六角系点阵的几何形式所造成的。

I带和A—I交界处细丝在取向和直线性方面的缺陷,使得人们不可能从H区直到Z线去追踪每一根细的细丝,可是在连续的横切面切片中细丝的计数显示,在某一根原纤维的I带中细丝的数目和在同一根原纤维中相邻的A带中的细的细丝的数目相等。既然在点阵中,粗的细丝的数目只有细的细丝的一半,除掉认为粗的细丝终止在A带的端头(象它们的确常常显出来的那样),而细的细丝则不间断地通到Z线以外,这个观察结果便很难和其他结论相容了。

在纵切面的超薄切片中能够很清楚地看见的另一结构方面的特征性的表现是一个交联小桥系统,它们看来提供在粗、细细丝之间的侧向联系。这些在横切面上也可以看见的小桥,沿着肌肉的长度方向,在相邻的粗、细细丝之间,每间隔约400埃出现一次。由于在每一根粗的细丝的周围有6根细的细丝,沿着粗的细丝,每过400埃便有六个这样的小桥出现,而且就已经能见到的来说,小桥之间的间距是很有规则的——约为60—70埃。从包围某一细的细丝的3根粗的细丝来的连接物也不是连到同一点的,而是每隔130—140埃有一个。在纵切面上看见的,介于毗邻的细丝之间的小

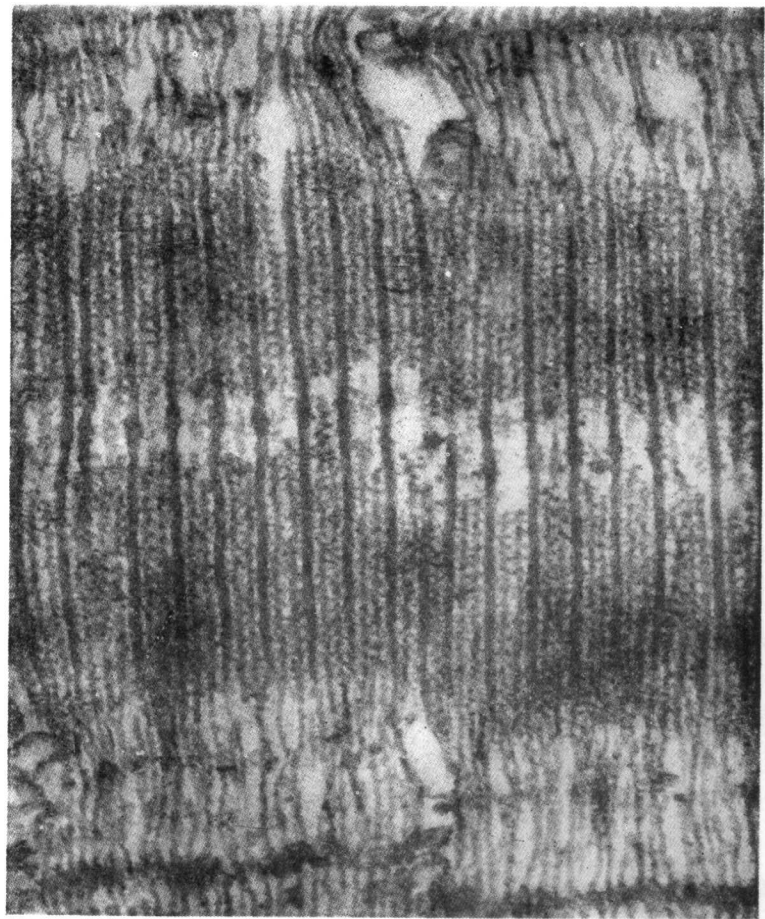


图4 横纹肌非常薄的纵切面切片,显示粗的和细的细丝毗邻而居,并由交联小桥系统联结起来。
注意在H区没有细的细丝,在I带没有粗的细丝,放大倍数: $\times 120,000$ 。

桥乃是桥作物；事实上它们是如同在横切面上所能看到的那样，是通到位于切面上面和切面下面的粗的细丝的小桥。小桥似乎是粗的细丝的一部分，因为在下面我们将谈到的，在细的细丝部分地从粗的细丝的阵列中被拉出的情况下，这种小桥仍旧留在已经沒有细的细丝的A带区域，从粗的细丝向侧面投射出来。

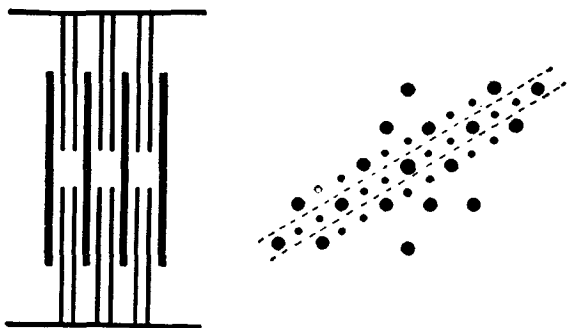


图5 例示双六角系点阵的几何形式如何在超薄(~150埃)的纵切面切片中形成细丝特征性表现的图解。虚线指示包含在纵切面中的剖面。

既然这样，每根粗的细丝便约有210—230个交联小桥从它那里投射出来，而且可以算出，在1克肌肉中约有 5×10^{16} 个这样的小桥。人们可以很有兴趣的注意到，根据目前的生物化学估计，这么多的肌肉大约含有 10×10^{16} 个肌球蛋白分子。从这样不同的观察得来的这两个数字是如此之接近，是颇令人注意的；它使人不禁要提出，每个小桥同一个或两个肌球蛋白分子相联系，而且它也许就是肌球蛋白分子的一部分——H-酶解肌球蛋白(A. G. Szent-Györgyi, 1953)，后者具有和肌动蛋白结合以及裂解ATP的能力。

在收缩和牵拉时的结构变化

我们现在将考虑，当肌肉收缩或被动地受牵拉时，这些细丝的重迭阵列发生什么变化。我们已经看到，横纹肌的带的图形是我们能用光学显微镜观察到的细丝排列方式的直接表现；因此，通过找出这种带的图形如何由于肌肉长度的改变和肌肉活动状态的改变而变化，我们将能知道很多关于细丝本身是如何动作的知识。

在过去 80 年的文献中,对于带的图形的变化的解说是頗不一致的,只有在采用了相衬显微镜和干涉显微镜之后,才有可能得到不包含相当主观成分在内的观察。A. F. Huxley 和 Niedegerke (1954)利用干涉显微镜研究了活的肌肉纤维在生理性收缩时和在受牵拉时的带的图形的变化。本文作者和 Jean Hanson 博士(H. E. Huxley 和 Hanson, 1954)利用相衬显微镜,对在 ATP 溶液中收缩或不同条件下受牵拉的、分离出来的肌原纤维进行了观察。在后一些实验中,在收缩和牵拉的不同阶段,进行了肌球蛋白的抽提工作,从而更清楚地显示出肌动蛋白细丝的位置。

在所有例子中,在牵拉时和在中等程度收缩时,A 带的长度都大致保持不变,肌小节长度的改变完全是由于 I 带长度的改变所致。当缩短到静息长度(R. L.) 60—70% 以下时,I 带完全消失,相邻的 A 带在 Z 线处重叠,恰象粗的细丝在这个部位被揉皱了似的,在这里出现暗带(收缩带)。还发现 H 区(A 带中央较淡的区域)的长度也随着肌小节长度的改变而改变,在受牵拉的肌肉中较长,约在 R. L. 的 85% 以下时消失,并被一条暗线或暗带所代替。直到 H 区消失以前为止,从 Z 线到 H 区边缘的距离大致保持不变。

既然 A 带的长度和粗的(肌球蛋白)细丝的长度相等,又既然从 Z 线到 H 区边缘的距离和细的(肌动蛋白)细丝的长度相等,从这些观察就可以推知这两种类型的细丝的长度,在肌肉长度相当大的一段范围内,必须约略保持恒定,而且肌肉长度的改变,不论是主动的或是被动的,必需是由这两组细丝互相滑行这样一个过程来实现的。

滑行细丝假设的含义

细丝滑行而其长度不改变的观念,为 400 埃的轴向 X-射线间隔的恒定提供了一个直接的解释,因为不管这个间隔是由肌动蛋白细丝或肌球蛋白细丝或两种细丝上的周期而来,它在肌肉长度发生变化以后仍应保持不变。这个观念也为肌肉进入僵直时,它的延伸性的特征性的显著降低提供了简单的解释,这种延伸性的变

化是和 ATP 从肌肉中消失相联系的。早已有人提出过,这种变化将导致在肌动蛋白和肌球蛋白細絲之間形成交叉連接。在这种連接不存在时,如在活的、靜息的、含有未被裂解的 ATP 的肌肉中,这两組細絲應該可以自由地相互滑行;在有永久性的交叉連接存在时,滑行运动将受到抑制,肌肉的延伸性将大大降低。

沿着这条思路,也很自然地会假定,交联小桥和在主动收縮肌肉中产生的滑行运动有着相当直接的关联,在这种肌肉中,ATP (或某些其他高能磷酸化合物)被裂解。它們如何能做到这一点当然是我們必需要解决的最有趣和最重要的問題,而在目前,能够帮助我們的实验証据却是异常地少。可是,关于这个过程,有一两点也許是值得提出来的。

首先,每个交联小桥远端在軸向的运动范围看来是很有限的,而的确,甚至是在长度很不相同的肌肉的电子显微鏡图中,桥的傾斜度和間隔只有很小的变异。即使每个桥在軸向中能移动的距离和所观察到的肌动蛋白細絲上附着点的軸向間隔(~ 130 埃)相等,而且即使它能够将肌动蛋白細絲曳拉同样距离,这样所产生的縮短也不过只有肌肉长度的 1% 左右。要这样一个过程产生有用的縮短,它必須重复进行,那就是,每个交联小桥必須能够改变它在肌动蛋白細絲上的附着点,而且在每次肌肉縮短时,多次重复这种“曳拉”过程。因此,我們可以构成这样一幅图画,当肌肉收縮时,交联小桥都繼續不断地和那些从它們旁边移过的肌动蛋白細絲上的附着点,经历相互作用的循环。

所产生的张力大小則以在任一給定时刻附着于肌动蛋白細絲的交联小桥的数目为轉移。当肌肉縮短的速度高时,观察到的张力小;如果在交联小桥的反应中,有某种步驟限制一个“自由”小桥和从它旁边移过的那个特定的肌动蛋白点之間发生附着的速率,那么这种不是由于內在的粘滯性所引起的效应是容易說明的。关于这类性質的一种詳細的图象曾由 A. F. Huxley (1957)描述过,而且經証明与实验很相符合。

很自然地会推測,交联小桥处张力的产生包含着某种高能磷

酸化化合物的損耗。如果人們假定，每當一個交聯小橋經過它的作用過程的一次循環，便有一個這種分子裂解，釋放 10,000 卡/克分子，又假定每個小橋，每當相鄰的肌動蛋白細絲移動 130 埃時便能產生一次張力，那麼就很容易證明，肌肉產生的最大張力的數量級將為 3—4 仟克/平方厘米。這個數值和觀察到的數值很相符合，因而人們可以說，這樣一種機制，至少在數量上是可行的。

為了說明在典型的橫紋肌所觀察到的能量釋放率，交聯小橋必須以高至 30—100 次/秒的速率作用。這些數字，和其他酶反應的周轉率相比較，並不太高。

橫紋肌的另一個很重要而且很有興趣的特征是，在收縮時它有能力按照所作的外功的量來改變能量的釋放量。在被釋放的能量中，總有一些是以熱的形式出現——其中一部分是以相當恆定的“激活熱”的形式出現的，不論是否讓肌肉縮短，它都出現，而一部分則是以“縮短熱”形式出現的，它的釋放和發生的縮短量成比例，而和肌肉提起的負荷無關 (Hill, 1938, 1949)。剩下來的被釋放的能量，將和肌肉所作外功的量相等，因而將隨着負荷和縮短距離的增加而增加。這樣，如果在肌肉收縮時任其縮短，總的能量釋放，因而也是所發生的化學反應的量，便將增加。在縮短的量相當時，肌肉對抗一個大的負荷而縮短時，其總的能量釋放將比對抗一個小的負荷而縮短時為高。換言之，在每次受刺激後，肌肉並不是僅僅改變能量在熱和功之間的分配而釋放固定量的能量，相反，當外功做得越多時，能量也釋放得越多。

依照我們已經討論過的收縮結構來看，這意味着不僅高能磷酸鹽分子的裂解使得交聯小橋能起“曳拉”作用，而且也意味着除非交聯小橋發揮曳拉作用並做外功，磷酸鹽裂解的發生將慢得多。

有好些方法都可以使上述情況發生，也許最容易想象的一種是一個交聯小橋附到肌動蛋白細絲的動作激活磷酸化合物的酶解，而分離動作則在交聯小橋將肌動蛋白細絲曳拉過適當的程度以後要容易發生得多。分離動作也許和酶的作用點俘獲另一底物

分子相联系。

一些生物化学观察也有力地指出存在着某些这样的过程。曾經发现,在被認為能在肌纖維內部得到的离子条件下,純的肌球蛋白裂解 ATP 是相当慢的;然而,如果肌动蛋白也存在,那么,在同样的离子条件下(在这种条件下,預期肌动蛋白和肌球蛋白將結合起来),裂解率就大大增加(例如 Hasselbach, 1952)。另一方面,在高离子強度,肌动蛋白和肌球蛋白之間的結合大大受阻时,肌球蛋白 ATP 水解酶被肌动蛋白激活的情况就不产生。这样看来,似乎是肌动蛋白和肌球蛋白的結合使得 ATP 能够很快的发生裂解,当然,仅仅根据这一証据,我們还不能断言,是底物的附着、裂解或反应产物的移去中的哪一个步驟被肌动蛋白的出現所加速。

迄今为止,我們为了方便起见把滑行过程看成是这样一种过程,肌动蛋白細絲在其中只起了頗为被动的作用,从机械观点来看,只是由于附着于它們的那些交联小桥的位置有改变而被拖曳。但是有一些事实使得人們亟想知道,肌动蛋白細絲本身的結構变化是否在收縮中不起一点作用。

肌动蛋白似乎以三种不同的形式存在——以单体存在(分子量 70,000),以双体存在,并以长的聚合体(F-肌动蛋白)存在。肌肉中的肌动蛋白細絲大概含有聚合的肌动蛋白。不聚合的肌动蛋白含有結合 ATP,在聚合时,ATP 脫磷酸而成为二磷酸腺甙(ADP)(Straub 和 Feuer, 1950)。其次,当肌动蛋白双体或多聚体和肌球蛋白結合时,有些迹象(曹, 1953)指示它們即刻裂解为单体。这些迹象是由測定来自附着在肌动蛋白上的染料分子的螢光辐射的去极化程度而获得的,这里沒有時間去詳細叙述这些实验(它們揭示了一些很奇怪而令人不解的現象)。但是它們使得人們有必要記得这种可能性:肌动蛋白单位相互間的相互作用,在交联小桥的附着循环中可能出現重要的变化。

因此,作为結論,人們可以說,滑行細絲模型,为应用詳細的分子術語来描述收縮的企图,提供了合理而有希望的基础。它使人們能够将在肌肉內可以观察到的許多現象用分子水平或接近分子