

动物受精生物学的近代概念

(一) 精子运动的结构基础

冯北元

(中国科学院动物研究所内分泌研究室)

大多数动物精子的尾巴是一根鞭毛，借助它的摆动进行游泳活动。虽然早在上个世纪就已经在普通的光学显微镜下发现精子的鞭毛运动，但对其运动形式及结构基础的认识却进展很慢，主要由于精子鞭毛摆动的频率很高，达到每秒钟 60 次，难以目测。另外，精子的鞭毛轴，即轴丝 (axoneme) 很纤细，其内部基本组成如微管 (microtubule) 的直径仅为 25 毫微米，远远超出光学显微镜的分辨范围，直至本世纪中叶引用帕尔杜斯 (Parducz) 的连续固定法，詹姆斯·格雷 (James Gray) 的暗视野显微镜联同频闪光照的技术并且随着高分辨率电子显微镜技术的应用及发展以及各种精密、微量生物化学分离及鉴定技术的创建，使对精子鞭毛运动形式及结构基础的研究取得突破性进展，至今，已有千余种动物精子得到详细的研究，本文就有关精子运动结构基础认识的进展概况作一简单的介绍。

一、鞭毛轴丝的微细结构

精子的尾部鞭毛是其运动器官。鞭毛是由鞭毛膜包围着的轴丝 (见图 1)。

图 1 表示典型 9 + 2 微管排列组成的轴丝结构，外周为 9 个名为二联体 (doublet) 的微管，由 A 管与 B 管组成。A 管是由 13 根原丝 (protofilament) 组装成的完整微管，而 B 管只含 10 根原丝，是不完整的微管。原丝是由 α 微管蛋白 (tubulin) 与 β 微管蛋白的异二体亚基组成。A 管附有两个臂伸向邻近二联体 B 管，名为外臂 (outer arm) 及内臂 (inner arm)，外臂呈钩状，内臂末端至邻近二联体 B 管间有细丝相连，名

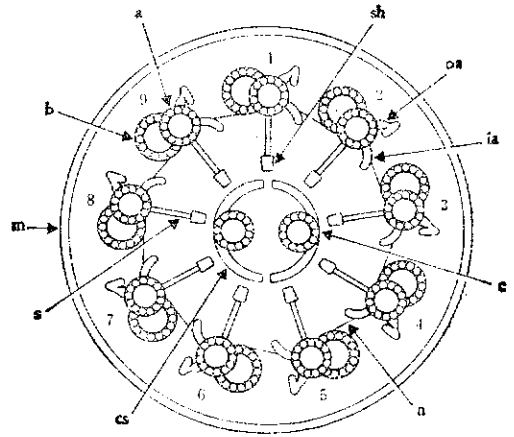


图 1 精子鞭毛结构

(m)——膜；(a) 和 (b) 二联体的 A 和 B 管；(oa) 和 (ia) 外和内臂；(n) 连丝；(s) 辐条；(sh) 辐条小头；(cs) 中央管鞘；(c) 中央管

为外周连丝 (peripheral link) A 管向中央伸出辐条 (radial spoke) 辐条末端呈结节状，称为辐条小头 (spoke head) 轴丝中心有一对中央管 (central pairs)，两侧有中央管鞘 (projections)。

二、鞭毛运动的滑动微管假说

滑动微管假说 (sliding microtubule hypothesis) 是萨特 (Satir) 等提出的理论，被普遍应用于解释鞭毛运动的机制^[23,24,25,27]。他们推论鞭毛运动是由微管侧臂沿邻近微管滑动而产生的，由 ATP^D 提供能量 (见图 2)。这种假说建立在大量实验材料的基础上。鞭毛摆动频率的减

1) ATP 为三磷酸腺苷 (adenosinetri phosphate) 的缩写。

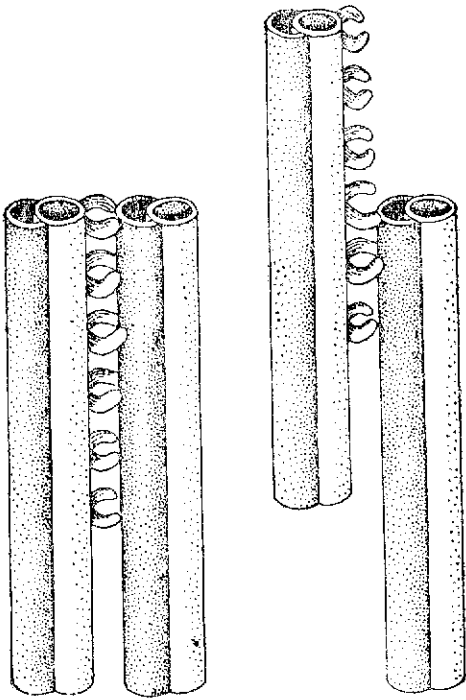


图2 滑动微管假说示意图
(左)加 ATP 前;(右)加 ATP 后;轴丝中微管的侧臂,由 ATP 水解提供能量,沿邻近二联体微管滑动

少与去掉臂的数目成比例,指出臂与滑动速度的密切相关性。利用暗视野显微镜观察,加不同量 ATP 对轴丝的影响,发现二联体微管滑动的速度与 ATP 的浓度有关,说明 ATP 是鞭毛运动的能量来源^[6-9]。

三、侧臂的生物化学性质

前已叙及轴丝中二联体侧臂是参与鞭毛运动的关键结构,对其生物化学特征最先给予阐明的是吉本斯 (Gibbons) 等的工作,他们采用含 EDTA¹⁾ 的低离子强度溶液透析的方法,从四膜虫 (*Tetrahymena*) 的纤毛轴丝(纤毛与鞭毛轴丝结构相似)抽提臂,并明确其蛋白质性质,命名为力蛋白 (dynein)^[2,4] 通过抽提及重组实验并配合电子显微镜技术,又证实力蛋白确为臂的主要成分^[3]。采用高浓度盐溶液亦能从海胆精子鞭毛轴丝抽出力蛋白^[5]。目前已从多种动物材料,如瓣鳃纲 Lamellibranch 鳃的纤毛^[14,15],海星 (*Starfish*) 精子鞭毛^[18],衣藻 (*Ch-*

lamydomonas) 鞭毛^[16,11]等抽出力蛋白。

力蛋白是具有高分子量并含 ATP 酶活力的蛋白质,在 SDS²⁾ 聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱中展现出所含肽的亚基数目很多,以海胆精子鞭毛的力蛋白-1 (dynein-1) 为例,含有两个重链成分(分子量: 330,000; 320,000), 3 个居间链(分子量: 122,000; 96,000 和 76,000)和至少 4 个轻链(分子量: 25,000—15,000)^[1]。各种动物来源的力蛋白性质存在着种间及种内差异,采用高浓度盐溶液处理海胆精子鞭毛,只能抽提出外臂,但在同样条件下可以抽提出衣藻鞭毛的外臂及内臂^[21]。力蛋白的沉降系数以及力蛋白高分子量多肽亚基区域所含带的数目也因动物品种而异。

力蛋白具有镁离子激活 ATP 酶的性质,能够水解 ATP 提供微管滑动需要的能量,具有臂的结构及酶促作用双重功能,是轴丝的机械化学能量转换器^[5,19,20]。新制备的力蛋白-1 具有比较低的 ATP 酶活力,称为潜伏力蛋白-1 (latent dynein-1 缩写 LAD-1), 经过微热 (40°C), 非离子去污剂 (Triton)X-100 或巯基试剂处理,可使 LAD-1 的酶活力提高 5—10 倍。力蛋白 ATP 酶的专一性底物是 ATP, 需要

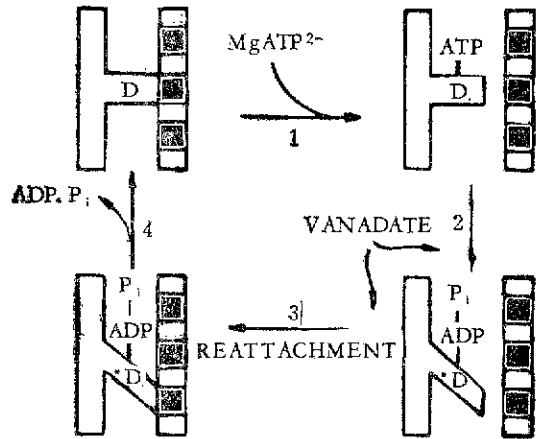


图3 力蛋白交桥周期中 ATP 酶活力动力学与臂结构变化图解

- 1) EDTA 为乙二胺四乙酸 (Ethylenediamine tetracetic acid)
- 2) SDS 为十二烷基硫酸钠 (Sodium dodecyl sulfate) 的缩写。

镁离子激活。钒酸盐是酶的专一性抑制剂^[10,13]。力蛋白催化反应所需要的最适条件与鞭毛运动的要求十分相似,说明它与运动的密切关系^[26]。

萨里(Sale)和吉本斯(Gibbons)^[22]利用图解将力蛋白 ATP 酶的动力学连同臂可能发生的结构变化形象地描述(见图 3)。第一步是 Mg-ATP²⁻ 结合到力蛋白(D)启动臂从邻近微管脱开;第二步是力蛋白产生构象变化(*D)同时偶联 ATP 水解;第三步是臂与邻近微管下一个部位的再附着;第四步是释放产物 ADP 与无机磷酸(Pi)连同臂的有力打击。这四步是一个机械化学周期,每结合及分解一个 ATP 分子,臂和微管进行一次脱开及再附着。这种推论还有许多微妙的相关性需要通过实验来证实。近期约翰逊(Johnson)和波特(Porter)采用停留光散射法(stopped-flow light scattering)和化学猝灭流动法(chemical quench flow)研究四膜虫力蛋白的动力学,他发现臂脱开微管是在与 ATP 结合之后,但在 ATP 水解之前^[12]。这种解释与莱姆(Lymm)和泰勒(Taylor)对肌球蛋白(actomyosin)作用机制所提出的观点很相似^[17]。

肌球蛋白—肌动蛋白与力蛋白—微管蛋白是两类参与真核细胞运动的生物大分子系统,它们虽然功能相似,性质绝然不同,前者作用机制的研究比较明确,后者仍有许多问题需要澄清,主要由于许多成分是晚近才提取出的蛋白质,其中有的得率又很低,力蛋白在纯化过程又易发生聚集现象,这些给研究工作带来复杂性。因此目前对非肌肉细胞运动,包括精子运动机制的阐明还需作出巨大的努力。

参 考 文 献

[1] Bell, C. W., et al. 1979 *J. Supramol. Struct.* **11**: 311—317.
 [2] Gibbons, I. R. 1963 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*

50: 1002—1010.
 [3] Gibbons, I. R. 1965 *Arch. Biol.* **76**: 317—352.
 [4] Gibbons, I. R. and A. J. Rowe 1965 *Science* **149**: 424—426.
 [5] Gibbons, I. R. and E. Fronk 1972 *J. Cell Biol.* **54**: 365—381.
 [6] Gibbons, B. H. and I. R. Gibbons 1973 *J. Cell Sci.* **13**: 337—357.
 [7] Gibbons, I. R. 1974 In “The functional anatomy of the spermatozoon” (B. A. Afzelius ed.), 127—140. Pergamon press, Oxford.
 [8] Gibbons, B. H. and I. R. Gibbons 1974 *J. Cell Biol.* **63**: 970—985.
 [9] Gibbons, I. R. 1975 In “Molecules and cell movement” (S. Inoue and R. C. Stephens ed.) 207 Roven press, New York.
 [10] Gibbons, I. R., et al. 1978 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **75**: 2220—2224.
 [11] Huang, B., et al. 1979 *J. Biol. Chem.* **254**: 3091—3099.
 [12] Johnson, K. A. and M. E. Porter 1982 *Biophys. J.* **37**: 345a.
 [13] Kobayashi, T., et al. 1978 *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **81**: 1313—1318.
 [14] Linck, R. W. 1973a *J. Cell Sci.* **12**: 345—367.
 [15] Linck, R. W. 1973b *J. Cell Sci.* **12**: 951—981.
 [16] Luck, D. J. L., et al. 1977 *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **74**: 3456—3460.
 [17] Lymm, R. W., and E. W. Taylor 1971 *Biochemistry* **10**: 4617—4624.
 [18] Mabuchi, I., et al. 1976 *Arch. Biochem. Biophys.* **176**: 564—576.
 [19] Ogawa, K. and H. Mohri 1972 *Biochim. Biophys. Acta* **256**: 142—155.
 [20] Ogawa, K., et al. 1980 *Arch. Biochem. Biophys.* **203**: 196—203.
 [21] Piperno, G. and D. J. L. Luck 1979 *J. Biol. Chem.* **254**: 3084—3090.
 [22] Sale, W. S. and I. R. Gibbons 1979 *J. Cell Biol.* **82**: 291—298.
 [23] Satir, P. 1968 *J. Cell Biol.* **39**: 73.
 [24] Summers, K. E. and I. R. Gibbons 1971 *Proc. Natl. Acad. Sci.* **68**: 3092.
 [25] Summers, K. E. and I. R. Gibbons 1973 *J. Cell Biol.* **58**: 618.
 [26] Takahashi, M. and Y. Tonomura 1979 *J. Biochem. (Tokyo)* **86**: 413—423.
 [27] Warner, F. D. and P. Satir 1974 *J. Cell Biol.* **63**: 35.

注: *D 表示产生构象变化的力蛋白