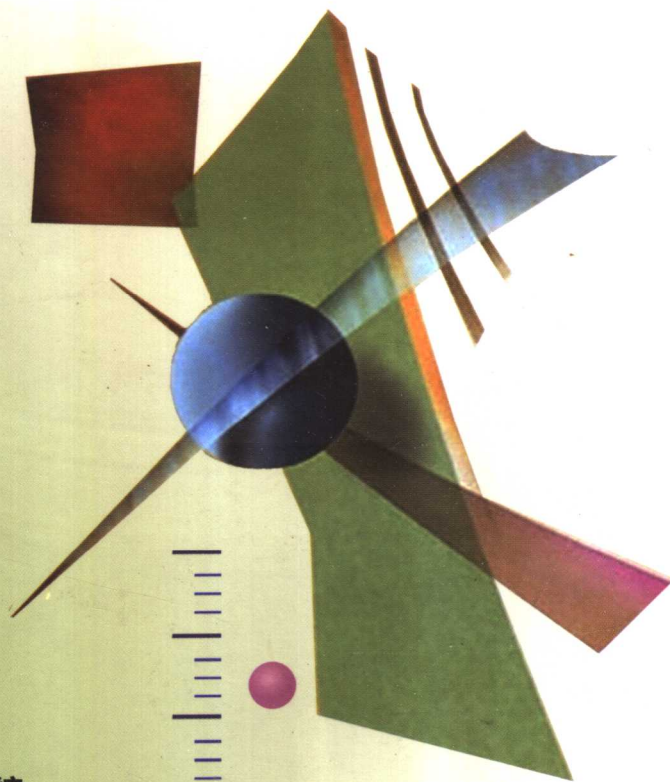


YIXUE XIBAO SHENGWUXUE DAOLUN

医学细胞生物学导论

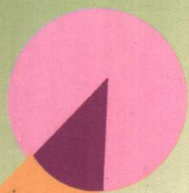
CELL



冯利 张帆 主编

YIXUE XIBAO
SHENGWUXUE DAOLUN

甘肃科学技术出版社



图书在版编目 (C I P) 数据

医学细胞生物学导论/冯利, 张帆主编. —兰州: 甘肃科学技术出版社, 2003
ISBN 7-5424-0909-3

I. 医... II. ①冯...②张... III. 人体细胞学: 细胞生物学 IV. R329.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2003) 第 123176 号

出版 甘肃科学技术出版社(兰州市南滨河东路 520 号)
发行 甘肃科学技术出版社
印刷 甘肃天河印刷有限责任公司(兰州市城关区雁滩工业城南 2 区 16 号)
开本 787mm×1092mm 1/16
印张 13.5
字数 312 000
版次 2004 年 3 月第 1 版 2004 年 3 月第 1 次印刷
印数 1~1000
定价 21.00 元

前 言

医学细胞生物学是以生命体基本结构和功能单位(即细胞)为研究对象,近年来细胞生物学发展迅速,已形成具有基本理论、基本知识和基本技能的一门新的独立学科。国际上把细胞生物学列为前沿学科之一,而医学细胞生物学的研究主要侧重于人体的生命活动规律,疾病发生与发展的规律以及与疾病有关的诊断、治疗、预防的理论与技术,已成为医学基础的支柱学科,在生命过程中越来越显示其重要性。为此,我们跟上时代发展步伐,编写了《医学细胞生物学导论》一书作为教学辅助教材。书中取材于我国著名学者有关细胞生物学的最新论著、国外细胞分子生物学的名著及结合我们的教学实践经验编写而成,本书从细胞整体层次、亚显微结构层次、分子层次内容结合起来论述。

本书在编写中既介绍医学细胞生物学的基本内容,又反映当前细胞生物学的进展;既注意形态、结构与功能的结合,又联系到细胞的整体和功能的生命活动现象。

由于编者水平、经验及时间所限,书中不当或错误之处在所难免,希广大读者及同道不吝赐教。

编 者
2003 年 7 月

目 录

第一篇 概述.....	(1)
第一章 绪论.....	(1)
第一节 细胞生物学的建立及其研究内容.....	(1)
第二节 细胞生物学发展简史.....	(3)
第三节 细胞生物学与医学的关系.....	(6)
第二章 细胞生物学研究方法.....	(9)
第一节 细胞形态结构的观察方法.....	(9)
第二节 细胞组分的分析方法.....	(11)
第三节 细胞工程技术.....	(15)
第三章 细胞的分子组成与结构.....	(19)
第一节 细胞的分子组成.....	(19)
第二节 细胞的基本结构.....	(29)
第二篇 细胞表面与细胞膜.....	(32)
第四章 细胞膜.....	(32)
第一节 细胞膜的化学组成.....	(32)
第二节 细胞膜的分子结构模型.....	(34)
第三节 细胞膜的特性.....	(36)
第四节 物质的跨膜运输.....	(39)
第五节 信号传递.....	(46)
第五章 细胞表面.....	(56)
第一节 细胞表面与细胞识别.....	(56)
第二节 细胞外基质.....	(59)
第三节 细胞表面抗原与免疫.....	(63)
第四节 细胞膜与医学.....	(65)
第三篇 细胞质与细胞器.....	(69)
第六章 细胞质基质.....	(69)
第一节 细胞质基质的涵义.....	(69)
第二节 细胞质基质的功能.....	(69)
第七章 内膜系统.....	(71)
第一节 内质网.....	(71)
第二节 高尔基复合体.....	(75)
第三节 溶酶体.....	(78)

第四节 过氧化物酶体	(82)
第八章 线粒体	(85)
第一节 线粒体的形态结构	(85)
第二节 线粒体的化学组成	(88)
第三节 线粒体的功能	(89)
第四节 线粒体的半自主性	(91)
第五节 线粒体的发生	(93)
第六节 线粒体与疾病	(94)
第九章 核糖体	(96)
第一节 核糖体的形态结构	(96)
第二节 核糖体的功能	(98)
第三节 核糖体的异常变化与疾病	(99)
第十章 细胞骨架	(100)
第一节 微管	(100)
第二节 微丝	(104)
第三节 中间纤维	(109)
第四节 细胞核骨架	(112)
第五节 染色体支架	(113)
第六节 细胞骨架与医学	(113)
第四篇 细胞核	(115)
第十一章 核膜	(116)
第一节 核膜的结构	(116)
第二节 核膜的主要功能	(118)
第十二章 染色质与染色体	(121)
第一节 染色质与染色体的化学组成	(121)
第二节 染色质的超微结构与组装	(122)
第三节 常染色质和异染色质	(124)
第四节 染色体	(125)
第十三章 核仁	(136)
第一节 核仁的超微结构	(136)
第二节 核仁周期	(137)
第三节 核仁的功能	(137)
第十四章 核基质	(141)
第十五章 细胞核与遗传信息流向	(142)
第一节 真核细胞的基因	(142)
第二节 遗传信息的传递	(144)
第五篇 细胞的增殖与分化	(151)
第十六章 细胞分裂	(151)

第一节	细胞增殖.....	(151)
第二节	细胞分裂.....	(152)
第十七章	细胞周期及其调控.....	(159)
第一节	细胞周期及其主要事件.....	(159)
第二节	细胞周期的调控.....	(163)
第三节	细胞周期的失控.....	(174)
第十八章	细胞分化.....	(176)
第一节	细胞分化的一般概念.....	(176)
第二节	细胞分化的可逆性和细胞全能性.....	(180)
第三节	细胞分化的实质.....	(184)
第四节	影响细胞分化的一些因素.....	(187)
第五节	真核细胞基因表达的调控.....	(192)
第六节	细胞分化与癌变.....	(197)
第十九章	细胞衰老与凋亡.....	(201)
第一节	细胞的衰老.....	(201)
第二节	细胞凋亡.....	(203)
参考文献		(208)

第一篇 概 述

第一章 绪 论

第一节 细胞生物学的建立及其研究内容

一、细胞生物学的建立

细胞(cell)是生物体的形态结构与生命活动的基本单位,了解生命活动的规律是从细胞的形态、结构和功能、分裂和分化、遗传和变异、衰老及细胞凋亡方面进行研究,形成了细胞学(cytology)。在细胞形态学方面的研究是通过显微镜技术的不断发展产生了细胞超微结构(ultrastructure),开拓了对细胞内部结构的认识,随着生物化学与细胞化学的相互渗透与结合,人们对细胞的认知发生了变化,认识到细胞知识是生物学科的共同基础知识,运用近代物理化学技术和分子生物学技术来研究细胞的各种组成部分的结构、功能及其相互关系,形成了细胞生物学(cell biology),从分子层次分析细胞的结构与功能,如染色体、内质网、核糖体、线粒体和细胞膜以及核酸和蛋白质等大分子结构及其结构之间的分子作用,以及遗传性状的表现和控制,形成分子细胞生物学(molecular cell biology)。目前科学家们将分子生物学的概念与技术引进细胞学中,以细胞为一切有机体进行生命活动的基本单位为出发点,在各个层次上其中也包括分子水平来研究生命活动的基本规律而成为细胞生物学发展方向的细胞生物学。因此,现代细胞生物学是分子生物学与细胞生物学的结合,是新世纪自然科学中的重点学科之一。

二、细胞生物学研究的内容

1. 细胞核、染色体及其基因表达的研究

细胞核是遗传物质 DNA 的贮存与遗传信息转录的场所,染色质及染色体是遗传物质的载体,核仁是转录 rRNA 及装配核糖体亚单位的驻地,核膜、核孔是物质交换及信息交流的结构,其中以染色体结构的动态变化与基因表达及其调控之间的关系的研究最为重

要。

2. 生物膜与细胞器的研究

生物膜是进行细胞内外物质与信息交换及对细胞内外因子的识别,现在集中膜物质的跨膜运输机理的研究,而磷脂双分子层与膜蛋白的相互关系、膜识别和受体效应、蛋白质分子跨膜运动已取得较大进展,对细胞器内线粒体与换能机理,内质网、高尔基体与溶酶体功能的研究,核糖体 RNA 催化肽链的合成,已成为生命起源与进化中的重要位置。

3. 细胞表面及其特化的研究

以质膜为主体的质膜外的细胞外被(cell coat)和质膜内侧的胞质溶胶(cytosol)构成的细胞表面(cell surface)是一个复合结构体系和多功能体系,包括细胞连接和其特化结构(微绒毛、内褶、纤毛、鞭毛等),它对细胞的支持、保护及细胞行为、相互识别、生长、分化、衰老、病理过程有密切关系,是近年来研究的新课题。

4. 细胞骨架及核骨架的研究

细胞骨架(cytoskeleton)包括微管(microtubule)、微丝(microfilament)和中间丝(intermediate filament),对维持细胞形态、保持细胞内部结构有序性起重要作用,与细胞运动、物质运输、能量转换、信息传递、细胞分裂、基因表达、细胞分化等有密切关系。核骨架(nucleoskeleton)是一种非组蛋白为主的纤维网架结构,它与核孔复合体、核纤层、核仁、染色质、细胞骨架有关,对基因的调控、DNA 复制、RNA 转录及剪切、修饰和转运过程有重要作用,同时也与细胞分裂、分化及细胞癌变有关。细胞骨架及核骨架的研究是当前细胞生物学中最活跃的领域之一。

5. 细胞增殖、分化与调控的研究

研究细胞增殖(cell proliferation)的基本规律及调控是控制生物生长、发育的基础,是研究癌变及其逆转的重要途径,特别是探索控制细胞增殖的关键基因,而细胞癌变基因与抑癌基因及其表达产物都与细胞增殖有关。细胞分化(cell differentiation)是发育生物学的基础,近年来研究认识到控制细胞分化,可能把已分化的细胞去分化,并使其分裂,再分化,通过启动分化基因的表达,抑制癌基因表达,目前认为细胞分化的本质是细胞内基因选择性表达特异功能蛋白质的过程,特别是对编码特异蛋白质基因的选择性表达规律及其调控方面取得了新进展,为人们所重视。

6. 细胞衰老与凋亡

用细胞的体外培养方法研究细胞衰老(cellular aging)过程的规律,认为是遗传上的程序化过程,是生理功能的启动和关闭的按时发生,也有认为基因中存在衰老基因,但至今尚无定论。从实验说明动物二倍体的细胞在体外分裂与传代的次数是有限的,因之推测体内细胞的寿命是受到分裂次数的限制,细胞衰老是必然的规律。细胞凋亡(cell apoptosis)是由基因控制而产生的,并受到复杂的信号调控的细胞自然死亡;细胞发育中的凋亡是生理发育,维持生理性平衡,又称为细胞程序性死亡(programmed cell death)。任何细胞都经生长、发育、衰老和死亡的不同阶段,但细胞分化程度和细胞衰老与死亡的迟早有一定关系,探索细胞衰老与死亡的规律是为了延缓细胞衰老和死亡的过程,以达到延年益寿的目的。

7. 细胞工程技术的研究

细胞工程(cell engineering)是细胞生物学和遗传学的汇集点,是对细胞生命活动规律认识的新技术,以不同基因或基因组的重组到杂交细胞中,或者使基因与基因组由一种细胞转移到另一种细胞中,并使越过种的障碍的基因转移,以探索人工创造新的遗传型细胞。细胞工程的主要技术有:组织培养、细胞融合、细胞拆合、染色体或染色体组转移、基因转换等技术。目前通过体细胞的杂交获得单克隆抗体技术,最为人瞩目,已进入产业化生产阶段,为各种特异性强的单克隆抗体可以作为有力的研究工具和免疫诊断试剂,可以作为载体,运载抗癌药物,已用于临床治疗,显示出良好效果。

第二节 细胞生物学发展简史

一、细胞学历史

细胞生物学是生命科学中最年轻的学科,在 20 世纪后期被认为是独立学科,最早的历史追溯到 1590 年,荷兰眼镜商 L.Janssen 兄弟制成一台复式显微镜,1665 年英国发明酒精水准仪的科学家胡克(R. Hooke)用自制显微镜观察软木的组织结构,见到许多小室,并首次用拉丁字母 *celler*,后来用英文 *cell*、德文 *zell*、希腊文 *kyto*、中文译为细胞,实际上后来认为是植物死亡的细胞壁,于 1665 年他发表了《显微图谱》一书,确定为细胞,是为细胞的发现。此后 Grew 和 Malpighi 用不同的植物进行重复观察,提出认为是细胞壁的腔隙(*utricle*s 或 *vesicles*),在 1677 年荷兰微生物学家 A. Van Leeuwenhoek 用自制较好的显微镜观察池塘中游离的活细胞与原生动物,他反对 Hooke 和 Grew 的细胞壁的观察结果,他观察到细胞中一些结构,特别是鲑鱼红细胞及核,1683 年在人口腔唾液中发现了细菌,以后被人们所证实。

二、细胞学说的建立与形成

细胞学说的建立对细胞生物学有许多直接关系,是所有生物学最广泛和最基础的概括,它的出现与形成对所有生物的存在——动物、植物或原生动物,都是细胞的组成和细胞产物,细胞学说是 19 世纪许多学者开始研究的结果,如 Mirbel 1802、Oken 1805、Lamarch 1809、Dutrochet 1824、Turpin 1826,最后由德国植物学家施莱登(M. J. Schleiden)于 1838 年和动物学家施旺(M. J. Schwann)于 1839 年建立了定型的细胞学说。

细胞学说的建立,促进了生物学研究范围和广泛的影响,建立了细胞是由另外细胞分化而成的,所有细胞的代谢活动及化学组成基本相似,全部机体的功能认为是活动和细胞单位的相互作用的总和,为以后发育生物学的胚胎诱导奠定了科学基础。细胞学说首先于 1856 年为德国病理学家魏尔肖(R. Virchow)在他的著作《Die Cellular-Pathologie》一书中所引用,提出 *Omnis cellulae e cellula*(细胞生自细胞)的有名的细胞来源学说,认为生命活动现象为能量、物质、形态三代谢之综合现象,表现此现象是由核及胞质所形成的生活细胞,意即以细胞为基础而表现出三现象的综合,疾病的发生是组织的成形单位细胞发生变化,这对细胞病理学的以后发展具有重要意义,因此有人提议细胞学说的基础是在 1856 年才最后完成。以后 1875 年 Hertwig 又提出 *Omnis nueleus e nucleo*(核来自核),Beneden 等

在细胞分裂时见到中心体, Kölliker 通过胚胎发育证明机体是来自两个细胞(精子和卵子)的融合,以后 Brown 的研究建立了核是细胞的基本的和恒定的组成部分。其他学者如 Dujardin、Schutze、Purkinje、Von Mohl 等人集中描述细胞的内含物,并称之为原生质(proto-plasm)。

从细胞的原始概念转入到细胞膜和细胞核之间的间隙的原生质体的较高级的概念,围绕核的原生质称为胞浆(cytoplasm)以与核原生质——核浆(karyoplasm)相区分。许多人注意到每个细胞分裂的核产生惊人的改变,如无丝分裂(amitosis)或直接分裂,其后, Flemming 在动物细胞和 Strasburger 在植物细胞中发现有间接分裂,1882 年 Flemming 把直接分裂称为无丝分裂,把间接分裂称为有丝分裂,并证实有丝分裂是核内丝状物或称染色体的形成及其向两个子细胞的平均分配。1883 年 Van Beneden 和 Boveri 发现了胞浆中的中心体, Altmann 发现了线粒体, Golgi 发现了高尔基体。1892 年 Hertwig 出版《Die Zelle und das Gewebe》(细胞和组织)专著提出生物学的基础在于细胞的特性、结构和功能的特点,综合生物一般现象,他建立了细胞学作为生物学的一个分支学科。

细胞生物学的迅速发展,很明显是细胞学的知识的进展,其中有两个主要原因:①分析手段增加了解决问题的能力,主要是电镜和 X 线衍射技术的发展;②细胞学与生物学的研究相结合,特别是遗传学、生理学和生物化学相结合的形成,为细胞生物学的研究开拓了新途径。

三、细胞遗传学的兴起

细胞与遗传的研究在 19 世纪中期提出细胞分裂是机体繁殖的重要表现, Virchow 的著名格言“细胞只能来自细胞”,从此,开始集中进行细胞与遗传及进化的研究。1883 年 Van Beneden 及 Astraburger 对胚细胞进行观察,支持 Wissman 提出遗传物质有序的排列在性染色体上的学说,而不是体细胞(somatic cells); Roux 认为染色质(chromatin)、核物质组成线状染色体(chromosomes),在此理论的基础上,德国 Boveri 和美国 Sutton 提出遗传的染色体学说。1865 年孟德尔(G. Mendel)发现遗传基本法则,但是对性细胞产生的变化,特别是对遗传性的独立等位基因出现分离现象的解释,尚认识不足,因此,很少重视孟德尔的观点。直到 1901 年植物学家 Correns、Tschermak 和 De Vries 单独的又重新发现孟德尔定律,对孟德尔的遗传单位、分配机理在细胞学上有充分的理解和解释,已知体细胞是二倍体(diploid),遗传的构成是由生殖细胞(reproductive cells)或配子(gametes)单独构成或由单倍体构成。细胞学家已观察到生殖细胞的染色体与有丝分裂的周期与遗传有关。1901~1902 年 McClung 提出性决定(sex determination)与特殊染色体有关的学说,以后,于 1905 年为 Stevens 和 Wilson 所证实,最后这种遗传染色体学说在 1910 年摩尔根(Morgan)及其协作者 Sturtevent、Bridges 确定为基因(genes)或称遗传单位,且直线排列在染色体上,建立了基因学说。

从研究开始,遗传学就与细胞学维持密切联系,细胞学与遗传学结合形成细胞遗传学。

四、细胞生理学的研究

最早细胞知识只限于组织细胞的固定及染色方法进行细胞学的观察,1899年 Fischer 和 Hardy 转向生活细胞的研究,用胶体模型固定细胞,在胶状模型上进行复制,观察胞质环流(cyclosis)的各种运动,如阿米巴、纤毛及鞭毛的运动和肌细胞的收缩。19世纪中期, Du Bois - Raymond 提出细胞应激性和神经功能的基本概念。到19世纪末期 Overton 进一步认为细胞膜是类脂薄膜学说, Michaelis 制成膜模型,研究细胞物质通过,并且首先进行线粒体的活体染色。

生理学技术的发展有利于促进细胞研究的发展,他测定了细胞动作电位和神经动作电位(nerve currents)。1909年 Harriott 在体外进行胚胎神经细胞的生长和分化的活细胞研究,这对组织培养技术和对细胞学的发展具有重大影响。另外是对活细胞的物理化学特性的研究——显微外科手术(microsurgery), Schouton 和 Barber 用微量吸管(micropipets)分离和培养单个细菌, Levi, Peterfi, Chambers 等人用精确的细胞内手术,得到了细胞黏滞性(viscosity)、氢离子浓度和其他物理化学性质的资料。

细胞生理学的重要现象是细胞膜的性质和横跨细胞膜的主动运输,细胞对环境改变的反应,细胞的应激性和收缩性,细胞的营养、生长、分泌和细胞活性的其他表现,特别是物质跨膜运输与分选,信号跨膜转导和细胞内信号传递等已成为目前细胞生物学的重点研究课题。

五、细胞化学的研究

1869年 Miescher 和 1891年 Kossel 对细胞生物学的早期研究,他们分析脓细胞、精子细胞和鸟的溶血红细胞,得出核酸是遗传的基本物质。Ostwald 认为催化活性和酶是细胞用来维持生命活动所需的各型转化能量的分子实体的概念。1902年 Fischer 和 Hofmister 独立认识到蛋白质是由氨基酸被肽键连结的著名生物化学的研究,1903年 Wieland 和 1908年 Warburg 发现了细胞氧化酶,但在1934年 Keilin 才发现酶的作用机理。

细胞学家强调细胞学的重点是细胞形态学,忽视了生物化学途径的重要性,同时,生物化学家强调有机化学,侧重分离出化学成分及基本酶反应,忽略了细胞结构,自1934年 Bensley 和 Hoerr 用化学和物理化学的方法自细胞中分离出线粒体,随后才有细胞学和生物化学的结合,继而, Claude、Hogeboom 确定线粒体是细胞氧化中心的结论。

六、细胞超微结构与分子生物学的兴起

20世纪30年代, M. Knoll 和 E. Ruck 发明了电子显微镜及超薄切片相结合,产生了细胞超微结构学这一新兴领域,与分子生物学相结合,形成了一支新型学科,细胞学中合并有生物化学、生理化学和大分子化学的融入,使细胞的超微结构在细胞分子结构中和超分子水平上发生了功能和生理化学的转变。当细胞生物学发现蛋白分子存在氨基酸的精确的序列以及多肽键的三个长度排列与一定的生物性质有直接关系,以及各种酶活性的研究启示下,于1953年 Watson 和 Crick 根据 Wilkins 和 Franklin 的 X 射线衍射的研究结果,提出 DNA 分子双螺旋模型,以及大分子立体化学(stereochemistry)的知识,揭示了分子遗传、

生物化学、病理学上的分子遗传病。1965 年生物界证明 RNA 的合成是以 DNA 为模板, 称合成过程为“转录”, 称 RNA 指导的蛋白质的合成成为“翻译”, 遗传信息中统一的遗传密码的发现, 20 世纪 70 年代反转录酶、限制性内切核酸酶和连接酶的发现与应用, 更为基因工程提供必要条件。21 世纪初, 由美、英、日、法、德和中国科学家经过 13 年努力共同绘制完成了人类基因组序列图, 在人类揭示生命奥秘、认识自我的漫漫长路上又迈出了重要一步。我国已将人类基因组的后续研究与开发工作列入国家重大科技专项之一的“功能基因组与生物芯片”, 主要开展重大疾病、重要生理功能、相关功能基因、单核苷酸多态性的开发应用, 进一步完善我国生物技术创新体系。

七、细胞生物学的形成与发展

由于细胞超微结构学与细胞生物化学的发展, 人们对细胞的概念也发生极大变化, 认识到细胞知识是生物学科的共同基础知识; 也由于近年来科学家将分子生物学的概念与技术引进细胞学中, 使细胞生物学增加了新内容, 逐渐形成了新概念、新理论, 揭示了细胞本身的多层次的复杂结构体系, 形成细胞生物学, 以细胞遗传与发育为结合点, 在各个层次上研究、探索生命活动规律的学科, 是生命科学的基础。细胞生物学的主要发展方向是细胞分子生物学, 把细胞作为一个独立的生命单位, 是结构、信息与功能相互作用的综合体, 在分子水平上深入探索生命活动过程有序而被自动调控的规律是细胞生物学进一步发展的特点。

第三节 细胞生物学与医学的关系

有机体都由细胞组成, 细胞是有机体的形态和结构的基本单位。因此, 了解有机体的生命活动规律就涉及整个人体的结构与功能、正常与异常(疾病), 很多疾病的初发和最终都在于细胞形态、代谢及功能的异常, 细胞生物学已成为医学很重要的基础理论之一。许多疾病的诊断、治疗、预防的进展及机理的研究, 均有赖于细胞生物学和其他学科的不断深入。

一、癌的防治

癌是危害人类健康的最大疾病, 使人们有“谈癌色变”之虞, 癌细胞非正常的恶性生长和无限的分裂, 其性质又类似于未分化的原始细胞, 失去专一的功能, 成为去分化(dedifferentiation), 癌细胞不仅失去了原有的细胞正常功能, 也脱离了细胞间接触抑制的控制, 向周围浸润扩散, 掠夺机体营养, 释放毒素, 破坏其他正常组织, 致使机体枯竭而亡。如能对正常细胞的分化和对癌细胞去分化机理有所认识, 使癌细胞逆转, 变为正常分化的细胞, 是当前细胞生物学研究的重大课题。经过前人的不懈努力, 现已提出癌基因的理论基础, 已证明, 人类恶性肿瘤的形成与癌基因表达增强有关。癌细胞的逆转, 癌细胞在特定条件诱导下, 可使癌细胞变为正常基因型及表型, 如细胞杂交技术, 已获得两栖动物外观及功能正常的动物, 如能发现癌细胞的逆转机理并应用于临床, 实为人类福音。

二、遗传病的诊断

现已知单基因病用克隆基因片段标以放射性核素,借助于同源 DNA 片段的互补特性,寻找缺陷基因,进行诊断;病因不明的遗传病,在其 DNA 序列的某些突变点上用切割 DNA 的限制性内切酶进行检测,如果 DNA 片段因突变而失去或获得一个能被某种限制酶识别的位点,即可根据限制性片段长度多态性的大小差异而检测出来。

三、细胞程序性死亡

Kerr 发现结扎大鼠门脉左侧支数小时后,肝细胞左叶开始出现片状坏死,形态学上不同于坏死细胞,而命名为细胞凋亡(apoptosis),而且形象地说明了在生物个体发育过程中所起的作用,已为大多数学者所接受。在此之前,胚胎学家曾观察到动物发育过程中存在着细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)的现象,一般认为凋亡和 PCD 两个概念可交互使用。从生物学意义来讲,在胚胎发育过程中通过 PCD 可清除对机体无用的细胞,保证个体正常发育平衡;在成人机体中,通过凋亡,消除衰老细胞代之以新生细胞,维持生理性平衡;通过凋亡,可以消除癌前病变细胞,防止癌变;此外,凋亡还参与构成机体的防御机理,当机体受到病毒感染时,可能通过诱导感染细胞凋亡,消除病毒。

四、新的细胞学实验技术在医学上的应用

细胞融合(cell fusion)又称细胞杂交(cell hybridization),用病毒将动物的正常细胞和癌细胞融合一起,或用癌细胞的细胞核植到去核的卵细胞内,使之发育,以减毒,然后制成疫苗,注入到患有癌症的动物体内,发现有抑癌作用,为临床治疗提供新思路;利用转基因技术检测癌基因在不同环境中的活动,了解癌基因发生的机理,为癌症的防治提供依据;利用体细胞杂交技术制备产生单克隆抗体,是细胞生物学与免疫学中一项重大突破,采用单克隆抗体技术,可为传染病、免疫病及非免疫病的诊断、预防、治疗提供有效的标准制剂,并为研究免疫机理,调节免疫应答提供新手段。

五、人工细胞

人工细胞是为了防止生物的排他性而设计达到细胞功能的一种结构。如利用微囊封装的过氧化氢酶,可以替补小鼠的遗传性过氧化氢酶缺乏症;用微囊封入大鼠胰岛细胞,移植入大鼠腹腔后可以治疗大鼠的糖尿病;用含有吸附剂和解毒剂的人工细胞,作为血液解毒剂而形成的人工肝,可以解除肝昏迷等。此外,还可采用易被生物降解的合成聚合物,如聚乳酸微囊封入激素、疫苗、抗癌药等,以起到缓慢释放的作用。

六、细胞生物学在中医学上的应用

微观辨证学是在传统中医理论指导下,运用现代多学科方法和技术,从微观领域探讨中医诊法和辨证原理,阐明证的现代科学实质及其病理变化规律,并为中医临床诊断与治疗提供客观化、微观化、定量化依据的一门中医现代新兴学科,其主要任务是解决中医诊法和辨证的客观化、微观化和定量化问题。应用细胞化学和细胞分光光度技术对虚证、实

证病人舌苔细胞化学成分及亚细胞分子水平的研究,以探讨纲领性证候的客观、微观的指标。

Nelson Goldberg 提出生物控制的阴阳学说, cAMP 与 cGMP 是对立统一的调节系统,是阴阳理论的物质基础,为探讨中医理论的物质基础提供线索,如果 cAMP、cGMP 发生比例失调,则引起机体功能失调而患病。

总之,细胞生物学对医学科学的发展极为重要,研究现代医学必须具备细胞生物学的基本理论、基本知识和基本技能。

思 考 题

1. 细胞生物学的主要分支学科有哪些?
2. 举例说明细胞生物学与医学的密切关系。
3. 从细胞学发展简史谈谈如何认识细胞学说的重要性,它推动了哪些学科的发展?
4. 细胞生物学的研究内容有哪些?
5. 细胞生物学的形成与发展经历了哪几个阶段?
6. 目前细胞生物学研究的热点有哪些?

第二章 细胞生物学研究方法

第一节 细胞形态结构的观察方法

细胞生物学的发展有赖于研究技术的进步,近年来新技术和新方法的出现与应用,给细胞生物学的研究、深入与发展开辟了广阔的前景。显微镜的出现为细胞学说建立了基础,而电子显微镜的问世及应用与分子生物学技术相结合,为细胞生物学的发展起决定性作用。

一、光学显微镜技术

1. 光学显微镜(light microscopy)

主要由三部分组成:①光学放大系统,目镜和物镜;②照明系统,光源、折光和聚光镜,另加滤光片以调节光的波长范围;③机械和支架系统。

2. 相差显微镜技术

观察活细胞的微细结构的变化,应使用相差显微镜(phase contrast microscope),其原理是利用光的衍射和干涉特性,在物镜后装有一块相差板及聚光镜下增加环状光栅,把透过的不同区域的光波光程差,转变成振幅差或明暗差,从而提高细胞内各结构之间的对比度,故不需染色,可观察活细胞内的各种结构。

3. 微分干涉显微镜技术

微分干涉显微镜(differential - interference microscope)是用平面偏振光,经棱镜折射后分成两束,在不同时间经过样品的相邻部,再经另一棱镜将两束光汇合,从而在样品中厚度上的微小区别就会转化成明暗区别,增加了样品反差,且有立体感。可用于研究活细胞内的大细胞器,如与录像机相接,可观察细胞中颗粒及细胞器的运动。

4. 荧光显微镜技术

荧光显微镜(fluorescence microscope)以紫外线作光源,可激发组织、细胞内的荧光物质发出荧光,因而可显示出普通光镜不能检出的物质。组织中有些物质本身可产生荧光,有的物质虽不能自发荧光,但对荧光染料有一定的亲和力,如荧光染料吖啶橙(acridine orange, AO)与 DNA 结合在荧光显微镜下呈黄色或黄绿色荧光,与 RNA 结合则呈橘黄色或橘红色荧光。在免疫组织化学中,如用荧光染料异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记抗体,标记的抗体与抗原特异性结合,在荧光显微镜下切片中发射 FITC 荧光部位,即为抗原所在部位,如结合使用荧光光度计,可测出它们的含量,进而进行定量和动态的研究。

5. 激光扫描共聚焦显微镜技术

激光扫描共聚焦显微镜(confocal laser scanning microscope, CLSM)技术是减少焦平面以外的光干扰,它在一瞬间只用很小的一部分光照明,这一束光通过检测器前的小孔后成像,保证只有来自焦平面的光成像,而来自焦平面以外的散射光被小孔遮住,因此成像清晰,其分辨率比普通荧光显微镜分辨率提高1.4倍~1.7倍,具有灵敏度高、扫描速度快、范围大,可进行光切片的观察,被形象的称为“细胞CT”,用于定量荧光分析。

二、电子显微镜技术

(一)透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)

主要用于观察和研究细胞内部细微结构,它由四部分组成:①电子束照明系统:包括电子枪、聚光镜。由高频电流加热钨丝发出电子,经高电压使电子加速,经过聚光镜汇聚成电子束。②成像系统:包括物镜、中间镜与投影镜等。③真空系统:用两级真空泵抽气,保持电子枪、镜筒及记录系统的真空。④记录系统:电子成像须通过荧光屏显示用于观察或用感光胶片记录。

(二)电子显微镜的成像原理

是经过加速和聚焦的电子束以较高的速度投射到非薄的样品上并与其中的原子碰撞而改变方向,产生立体角散射。散射角的大小与样品的密度、厚度有关,密度、厚度大者散射角亦大,通过的电子减少,像的亮度较暗;反之,则像的亮度较亮。因此形成明暗不同的影像。

(三)电镜制样技术

1. 超薄切片(ultramicrotomy)技术 是透射电镜中最常用的样品制备技术,由于电子束的穿透能力有限,为获得较高分辨率,切片厚度一般仅为40~50nm,即一个直径为20 μ m的细胞可切成几百片。为此,样品需要包埋在特殊的介质中,才能使样品达到有一定刚性和韧性。但包埋过程会破坏样品的结构,所以超薄切片制样的主要步骤有:

(1)固定:要求保持样品的形态结构不发生改变,使细胞内部结构和成分保持原位、原来的性质。根据需要选择适当固定剂,如锇酸、戊二醛、高锰酸钾等。通常在低温下固定,以防止酶的自溶,造成破坏,固定样品不宜大,以便固定剂迅速渗透。

(2)包埋:包埋的目的是为了细胞的内部结构得到均匀、良好的支撑,在切片时能保持连续完整,且有足够的强度,耐受干燥及观察时的电子撞击,样品在高倍放大时不显示其包埋剂的结构;在聚合时不发生明显的收缩及细胞结构的损坏和移位,目前常用的包埋剂为环氧树脂,在固定前,样品应进行脱水处理。

(4)染色:样品中不同成分对各种染料有不同的亲和力,如锇酸易染脂肪、铅盐易染蛋白质、醋酸铀易染核酸等。电镜样品仅用重金属盐进行染色以形成明暗反差,只能通过电子束振幅的改变观察到黑白图像。

2. 超薄切片技术 除显示的典型动物细胞的超微结构外,还可以与放射性同位素自显影、细胞化学、免疫电镜和电镜原位杂交等技术结合,用于不同目的的研究。

3. 负染色技术 负染色(negative staining)技术是观察某些微小的生物材料如病毒、细菌、细胞器等微细结构,负染色是用重金属盐如磷钨酸或醋酸双氧铀,对铺展在载网上的样品进行染色,吸去多余染料,样品经自然干燥后,则载网上也铺上一薄层重金属盐,从

而增加背景对电子的散射,样品相对地透过较多的电子,反差得以增强,显示出样品的精细结构。

4. 冷冻蚀刻复型技术 冷冻蚀刻复型(freeze etch replica method)技术是在透射电镜下研究样品剖断面的各种结构的形貌印在复型膜上的一种技术,样品经过骤冷、断裂、蚀刻、镀铂、复型、腐蚀等步骤,将复型膜打捞在铜网上,进行电镜观察。通过对复型膜的观察,可得到细胞断面结构的立体浮雕图像,适于研究生物膜结构的较好方法。

(四)扫描电镜技术

扫描电镜(scanning electron microscope, SEM)技术其电子枪发射出的电子束,经过磁透镜汇聚成极细的电子束(电子探针),在样品表面进行扫描,电子束可激发样品表面放出二次电子,二次电子产生的多少与样品表面形貌的投射角有关,与样品表面的起伏形态有关,二次电子被收集变成光信号,再放大,样品发放电子多的地方,在荧光屏上呈亮点,反之则暗,产生明暗区别,最后在荧光上显示出样品的表面形貌的立体图像。

(五)扫描隧道显微镜技术

扫描隧道显微镜(Scanning tunneling microscope, STM)技术其工作原理是量子力学中的隧道效应,通过一个尖端为原子尺度的针尖,在压电陶瓷的驱动下沿样品表面扫描来获得样品的高分辨图像,其主要特点是:①具有原子尺度的高分辨本领;②可在真空、大气、液体等条件下工作;③它能接近生物体保持正常形态及功能的自然环境下工作;④它可供生物样品有 DNA 分子、tRNA 分子、生物膜、细菌细胞壁的研究。

第二节 细胞组分的分析方法

一、细胞组分的分级分离术

细胞形态学观察与细胞成分分析相结合是细胞生物学研究常用的实验方法,利用超速离心技术分离细胞器与生物大分子及其复合物,根据细胞内各种结构的比重和大小等都不相同,在同一离心场内的沉降速度也不相同,常用不同介质和不同转速的离心机,将细胞内各组分分级分离出来,是为细胞分级分离(cell fractionation)术,此法是通过组织细胞匀浆、分级分离和分析三步骤完成。

用低渗匀浆,在超声或研磨方法使细胞膜破损,形成细胞核、线粒体、内质网、高尔基体、溶酶体等细胞器和细胞组分的混合匀浆,再通过差速离心(differential centrifugation),产生不同离心力,将各种亚细胞组分和各种颗粒分开,沉降到离心管底部,再分部收集,所得到的亚细胞组分,用细胞化学等方法进行形态的功能分析。

常用的分级分离法有两种:

(1)差速离心是指由低速逐级沉降分离。当离心力低、离心时间短时,较大的颗粒如细胞核先沉降到管底;再加大离心力,可分离出较小的颗粒如线粒体、溶酶体;用较高的离心力时,可分离出微粒体如破碎的内质网和核糖体等(图 2-1)。

(2)密度梯度离心(density gradient centrifugation)是一种带状分离法,是使离心溶液形成密度梯度维持重力的稳定抑制对流。将要分离的细胞组分铺在含有密度逐渐增加的、