

机能电镜组织学

帕里斯·康斯坦丁尼德斯 著

科学出版社

机能电镜组织学

帕里斯·康斯坦丁尼德斯 著

陆振山 主译

吴玺印 罗忠荣

吴良芳 欧可群 译

朱玲美

郑钦达 吴珂

科学出版社

1980

内 容 简 介

本书内容主要介绍细胞、组织和器官的超微结构,并在超微结构的基础上,结合生物化学与一些有关组织学的新成就,重点扼要地阐述有关超微结构的功能。本书对光镜下的一般结构未作系统的描述,但在功能讨论中不仅联系了结构,而且进一步说明了一些组织成分的产生。书中也概要地介绍了研究组织学的新技术,并指出今后在技术上的展望。

本书可供医学院校的教学工作者、科研工作者、临床医师、学生及生物学工作者参考。

Paris Constantinides

FUNCTIONAL ELECTRONIC HISTOLOGY

Elsevier Scientific Publishing Company

1974

机 能 电 镜 组 织 学

帕里斯·康斯坦丁尼德斯 著

陆振山 主译

*

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

*

1980年6月第一版 开本:787×1092 1/16

1980年6月第一次印刷 印张:16 1/2

印数:0001—2,960 字数:375,000

统一书号:13031·1245

本社书号:1730·13—10

定价: 2.55 元

目 录

第一章 方法摘要	1
一、透射电子显微镜	1
二、电镜术的组织制备	2
三、扫描电子显微镜	3
四、化学情报技术	3
1. 超微结构的细胞化学 2. X 射线微量分析(电子探针分析) 3. 放射自显影术(ARG)	
五、将来的发展	6
第二章 细胞	7
一、超微结构概况	7
1. 质膜 2. 外衣 3. 细胞连接 4. PM 向外突出的结构 5. PM 向内突出的结构 6. 细胞质内容物 7. 核	
二、质膜	14
1. 组成 2. 结构 (Davson-Danielli 模型、Stein-Danielli 修改 Davson-Danielli 的模型、Lucy-Glauret 球状微粒模型、Sjöstrand 镶嵌模型) 3. 功能	
三、核蛋白体	18
四、线粒体	18
1. 功能 2. 化学组成 3. 在执行功能时离子的转运和膜构型的变化 4. 结构 5. 破坏、自噬和复制	
五、溶酶体和微体	22
六、中心粒、有丝分裂纺锤体和微管	23
七、核	25
1. 基本功能 2. 基因、DNA 和染色体 3. 基因活动的控制 4. 核孔、核——细胞质的交往和内纤维板 5. 染色质 6. 核仁 7. 核和细胞质的复制 8. 细胞融合	
第三章 上皮组织	32
一、概况	32
二、上皮膜(上皮)	32
三、腺	32
第四章 结缔组织	34
一、概况	34
二、蜂窝组织和致密纤维组织	34
1. 概况 2. 胶原蛋白 3. 弹性纤维 4. 无定形基质 (AGS) 5. 成纤维细胞 6. 基膜 7. 巨噬细胞(组织细胞)(结构, 功能) 8. 肥大细胞(结构, 功能)	
三、脂肪组织	41
1. 概况 2. 白色脂肪组织(结构、在消耗脂肪时的功能、在充满脂肪时的功能) 3. 褐色脂肪组织	
四、软骨	43
1. 概况 2. 间质 3. 软骨细胞	

五、骨	45
1.概况 2.骨间质——组成 3.成骨细胞 4.骨细胞 5.破骨细胞	
六、关节	43
1.概况和滑膜 2.滑膜衬里 3.滑膜下组织的毛细血管	
七、造血系统	49
1.概况 2.网状细胞 3.有粒白细胞(概况、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞)	
4.淋巴样细胞(无粒白细胞)(概况、淋巴细胞、浆细胞、单核细胞) 5.红血细胞(红细胞)	
(概况——红细胞生成、红细胞) 6.血小板、巨核细胞和纤维蛋白(概况、血小板、巨核细胞)	
第五章 肌	64
一、概况	64
二、骨骼肌	64
1.结构 2.功能	
三、心肌——普通的	67
1.结构 2.功能	
四、心肌——传导的,结构和功能	69
1.窦房结、房室结(A-V)和总干近段 2.总干远段纤维和 Purkinje 纤维	
五、平滑肌	69
1.结构 2.功能	
第六章 神经组织	72
一、概况	72
二、神经元——结构	72
1.细胞质(核周质) 2.细胞核 3.树突 4.轴突 5.施旺氏细胞与轴索的髓鞘	
三、神经元——功能	76
四、突触——结构和功能	77
1.概况 2.神经-神经元突触,化学的(清亮小泡突触、小核心(粒)小泡突触、大核心(粒)小泡突触)	
3.神经-神经元突触,电的 4.神经元间的机械附着 5.骨骼肌的神经-肌突触	
6.平滑肌的神经-肌突触 7.神经-上皮突触 8.神经-分泌	
五、胶质	82
1.概况 2.星形胶质细胞(结构、功能) 3.少突胶质细胞(结构、功能) 4.小胶质细胞(结构、功能)	
六、室管膜细胞(结构、功能)	85
第七章 循环系统	87
一、概况	87
二、毛细血管	87
1.连续性内皮的毛细血管(有粘连小带的连续性内皮、有闭锁小带的连续性内皮、有混合连接的连续性内皮) 2.非连续性内皮的毛细血管(有隔膜和基膜的穿孔内皮,无隔膜、有基膜的穿孔内皮,无隔膜和无基膜的穿孔内皮)	
三、小动脉和动脉	91
1.中间小动脉 2.终末小动脉 3.固有小动脉 4.肌性动脉 5.弹性动脉,新生儿弹性动脉的结构 6.颈动脉体和主动脉体(球)	
四、小静脉和静脉	93

1.小静脉 2.静脉	
五、淋巴管	95
1.毛细淋巴管 2.大淋巴管	
六、心脏	95
第八章 呼吸系统	96
一、概况	96
二、气管与支气管上皮(“呼吸”上皮)	96
1.结构 2.功能	
三、终细支气管上皮	98
1.结构 2.功能	
四、肺泡隔	98
1.结构 2.功能	
五、胸膜间皮	101
第九章 消化系统	102
一、概况	102
二、牙	102
1.概况(胚原基、釉质和牙本质开始形成、最后结构) 2.成釉细胞和釉质形成 3.成牙本质细胞和牙本质的形成	
三、唾液腺	104
1.概况 2.浆液性唾液腺(分泌部细胞、闰管细胞、纹管细胞) 3.粘液性和混合性唾液腺(分泌部——粘液性腺泡细胞、分泌部——浆液性新月细胞、闰管和纹管)	
四、胃	108
1.概况 2.粘液表面上皮和胃腺的粘液颈细胞 3.酸性(壁)细胞 4.酶原(主)细胞 5.亲银细胞 6.幽门腺细胞	
五、肠	110
1.概况 2.吸收细胞 3.粘液样细胞与杯状细胞 4. Paneth 细胞 5.腹膜间皮	
六、肝	114
1.概况 2.肝细胞(结构、功能) 3.毛细血管(窦状隙)内皮 4.胆管系统(概况、胆总管、Hering 管、前胆小管、胆小管、肝内和肝外的胆管、胆囊上皮)	
七、胰腺的外分泌部	119
1.概况 2.腺泡细胞 3.泡心细胞 4.胰腺的导管系统	
第十章 泌尿系统	122
一、概况	122
二、肾小球	122
1.毛细血管袢和足细胞(结构、功能) 2. Bowman 上皮壁层 3.血管系膜细胞	
三、近球复合体	125
1.输入小动脉 2.输出小动脉 3.远曲小管的致密斑	
四、近曲小管	126
五、Henle 袢	128
六、肾间质	129
1.间质细胞 2.小管间(小管周围)毛细血管 3.细胞外物质	
七、远曲小管上皮	129

八、集合小管	129
九、输尿管和膀胱上皮	131
第十一章 女性生殖系统	132
一、概况	132
二、卵巢	132
1. 概况 2. 生殖上皮 3. 生长卵泡与卵[卵、卵泡上皮(颗粒细胞)、卵泡膜] 4. 黄体(粒 性黄体细胞、膜性黄体细胞)	
三、输卵管	137
1. 概况 2. 分泌细胞 3. 纤毛细胞	
四、子宫——子宫内膜	137
1. 概况 2. 腺上皮——增生期 3. 腺上皮——分泌期 4. 蜕膜改变 5. 产后退化	
五、子宫——肌层	139
六、子宫——子宫腺	139
七、阴道	140
八、胎盘的绒毛(晚期)	140
1. 概况 2. 融合滋养层 3. 细胞滋养层 4. 胎盘绒毛间质	
第十二章 男性生殖系统	143
一、概况	143
二、曲细精管	143
1. 概况 2. 精原细胞 3. 精母细胞 4. 精子细胞 5. 精子 6. Sertoli 细胞	
三、Leydig 细胞	146
四、睾丸网	146
五、输出小管上皮	146
1. 概况 2. 刷状缘细胞 3. 纤毛细胞 4. 基细胞	
六、附睾和输精管上皮	148
1. 概况 2. 不动纤毛细胞 3. 基细胞	
七、精囊上皮	148
1. 概况 2. 分泌细胞 3. 基细胞	
八、前列腺上皮	150
1. 概况 2. 分泌细胞 3. 基细胞	
第十三章 内分泌腺	151
一、概况	151
二、前垂体	151
1. 概况 2. 催乳激素细胞 3. 生长激素细胞 4. 促性腺激素细胞 5. 促皮质激素细胞 6. 促甲状腺激素细胞 7. 小型无颗粒细胞“嫌色细胞” 8. 滤泡细胞 9. 星状细胞 10. 毛细血管(窦状隙)	
三、后垂体	154
1. 概况 2. 丘脑下部-垂体束的神经元的胞体 3. 丘脑下部-垂体束的轴突 4. Herring 体 5. 丘脑下部神经元的轴突终末 6. 垂体细胞	
四、垂体腺的中间部	155
五、松果腺	156
1. 概况 2. 松果腺细胞 3. 间质(胶质)细胞 4. 轴突	

六、甲状腺	157
1.概况 2.滤泡上皮细胞	
七、降钙素 分泌(滤泡旁)细胞	159
八、甲状旁腺	159
1.概况 2.主细胞——静止的 3.主细胞——活动的 4.嗜酸细胞	
九、肾上腺	161
1.概况 2.肾上腺皮质 3.肾上腺髓质	
十、Langerhans 岛	163
1.概况 2. α -细胞 3. β -细胞 4.C-细胞 5. σ -细胞	
十一、胃肠激素	165
第十四章 皮肤	167
一、概况	167
二、表皮	167
1.基层(未分化的基细胞、角蛋白细胞、黑素细胞、Langerhans 细胞) 2.棘层 3.颗粒层(在人、在啮齿类) 4.角质层	
三、毛	170
1.概况 2.基质 3.外根鞘 4.内根鞘 5.毛根(皮质小皮、皮质、髓质) 6.结缔组织乳头	
四、皮脂腺	173
1.概况 2.分泌部的细胞(基细胞、中介细胞、浅层细胞) 3.导管细胞	
五、小“漏出分泌”汗腺	174
1.概况 2.分泌细胞(亮细胞、暗细胞、肌上皮细胞) 3.在真皮内的导管段(浅层细胞、基细胞) 4.表皮内(终末)导管段	
六、大“顶浆分泌”汗腺	178
1.概况 2.分泌细胞 3.肌上皮细胞 4.导管细胞	
七、乳腺	178
1.概况 2.分泌腺泡(活跃分泌细胞、肌上皮细胞) 3.导管细胞	
第十五章 感觉器官	180
一、眼	180
1.概况 2.晶状体 3.角膜 4.泪腺 5.巩膜 6.脉络膜、睫状体和虹膜 7.视网膜(概况,色素上皮细胞、杆细胞、圆锥细胞、Müller 细胞(视网膜胶质细胞)、双极联络神经元和节细胞)	
二、耳——前庭	186
1.概况 2.毛细胞(I 型毛细胞、II 型毛细胞) 3.支持细胞(中央或“亮”细胞、周围或“暗”细胞) 4.内淋巴囊	
三、耳——耳蜗	188
1.概况 2.Corti 器——外毛细胞 3.支持细胞 4.Corti 器——内毛细胞 5.覆膜 6.牙间细胞 7.血管纹 8. Reissner 膜	
四、嗅上皮	191
1.概况 2.嗅觉细胞 3.支持细胞 4.基细胞 5. Bowman 腺	
五、味蕾	192
1.概况 2.味觉感受(暗)细胞 3.支持(亮)细胞	
六、Pacinian 小体(深压感受器)	194

参考文献.....	195
内容索引.....	236

第一章 方法摘要

一、透射电子显微镜

研究超微结构的基本方法是使用透射电子显微镜术,这主要是由一束电子射线透过极薄的被检组织切片的一块小区域,通过射线的向外偏转而产生扩大并投射到荧光屏或照相底片上,产生一个被穿透区组织的放大相。获得的电子相,实际上是所研究的标本的“密度图”(density map),因为结构的低密度部份允许大部份电子束透过,因而呈现为亮(透明)点,而高密度的(包括那些富有大的或重的分子)部份使大部份电子束不能通过,因此投成阴影,呈现为暗点。

上述方法所使用的工具为电子显微镜(E/M),这是一个管状装置,与普通(光子的)光学显微镜(L/M)基本相似,但有下列主要区别:

1. E/M 用电子束代替光子束。电子束由管一端的加热钨丝产生,并在它通过40,000—100,000 电子伏特电流的阳极环时被加速。

2. 用一组强有力的管状电磁铁(“磁透镜”)使电子束偏转而放大标本相,以代替使光折射而放大的一组玻璃透镜。电磁铁产生大量的热,因而操作时必须经常使其冷却。一个 E/M 通常有六个磁透镜:两个位于电子源与标本之间(距聚焦透镜 1 号和 2 号),四个位于标本与观察影屏相之间(物镜、衍射镜、中介镜和投射镜)。两个聚焦透镜将电子束集中到标本上(因而增加相的亮度),物镜聚焦,而衍射-中介-投射系统是将电子束通过标本之后产生的相放大。通过增加或降低供给其线圈的电流,可以增加或降低所有透镜的功能。

3. 为了避免电子与空气分子的碰撞而引起的散射,故须依次使用机械(旋转的)抽吸泵、汞泵和油扩散泵,使 E/M 管内产生高度真空;前两者是在准备时使用的,而后者则是通过倾注沸腾的热油,吸引和捕获空气分子,产生最后的高度真空。

4. 肉眼看不见标本的放大电子相,因此要使放大相变为可见的,这就要投射到观察荧光屏或照相底板上。

5. 普通光学显微镜术是用冰冻组织或浸入像石蜡的物质使组织变硬,然后切成几个 μ 厚的切片,裱在载片上。而 E/M 则采用不同的步骤:用塑料,如环氧树脂(epoxyresins)浸入组织,借树脂聚合作用使组织变得很硬,可以切成“超薄”切片(厚度只有几百 $\text{\AA}$),这种切片对结构细节的分辨率比厚切片的大得多。而且还足以耐受 E/M 内电子的轰击;另外,为了使电子束穿过物质的总厚度减少,将载于金属网上的切片单独悬于电子束的途中,或支持以很薄的碳膜或 parlodion。

6. 现代优良电镜的分辨率可以比普通光镜大 1000 倍,因为前者可以区分距离仅为 $2\text{\AA}$ 的单独存在的结构点,而后者却不能区分距离小于 $2000\text{\AA}$ (0.2μ)的点。

因此 E/M 使一个以前完全看不见的新世界(包括大的有机分子)变为可以看见。它与 L/M 相比,正像过去的 L/M 与肉眼观察相比一样。但这无论如何都不意味 E/M 已

使 L/M 报废了;没有哪一个水平的生活结构没有意义,同样的,没有哪个水平的研究是不需要的;E/M 研究亚细胞结构是怎样装配成为细胞的,L/M 研究细胞是怎样装配成为组织与器官的,而肉眼则研究组织与器官是如何装配成为整个动物的,所有这些都是对理解生活有机体结构(因而功能)的不可缺少的阶梯;假如我们对任何一个水平的结构缺乏研究,我们就不可能理解整体。

二、电镜术的组织制备

为电镜常规观察的组织制备,通常必需固定,也就是照原样长期保存组织的自然结构,使其尽可能少地出现改变。为了达到这一点,现在常将小块的组织标本浸入使其固定的液体,如戊二醛和锇酸溶液。两种固定剂均保存细胞的结构。前者单独使用时还能保存细胞很多酶的活性,而后者则附着并保存细胞的大多数脂质(包括膜的),因而增强了很多亚细胞结构的反差。固定后,使组织:(a)脱水,即通过透入浓度逐步升高的酒精,以便使液态的(不聚合的)、不溶于水的塑料能浸入组织,(b)变硬,即通过加热与(或)化学催化作用使塑料聚合,和(c)用碎块玻璃的超锐利缘或金钢钻切成超薄切片;将切片载于铜网上,用重金属(醋酸铀与枸橼酸铅)染色,这些金属附着于各种亚细胞结构的表面,因而增加它们的致密度。所以,在 E/M 观察时增大了可见性(反差);有时能够间接地看见对染料没有亲和力的细胞透明成份的外形,即使它们周围所有的结构被染上(“负染色法”)。

我们在固定的组织切片上所看见的亚细胞结构是真实的,还是由于我们以上叙述的化学处理所产生的人工假像?

有充分的证据证明,我们见到的大多数结构,特别是较大的结构,是存在于活细胞中并起功能作用的真实结构,它们的形状与出现在荧光屏上的形状是相同的。特别是用超速离心分层法的研究,提供了这样的证据。在固定染色切片中所看见的大多数细胞成分(如线粒体、微体、溶酶体、核蛋白体、小泡等),已从未固定的、弄碎的细胞中单独地分离出来,并发现在切片上的结构和化学特征与超速离心层具有的结构和化学特征是相同的。

虽然如此,固定和酒精脱水无疑对细胞成分的分子结构是有些失真的影响,最显著的如像对细丝这种最小的细胞器。这就是不断地增加使用冻裂、不活泼的脱水、冰冻与冰冻干燥等方法,作为尽量在接近生活现状的情况下,探索细胞亚结构的工具的理由之一,并且还正在开始试验使用新的辐射-固定的可能性。冻裂法(freeze-fracturing)避免固定:通过立即(闪电的)冰冻,使细胞在化学上与结构上都不变动,沿着确定的平面把细胞掰开,以显露其内部结构,使水份从冻裂面蒸发(冰冻蚀刻法 freeze-etching),便露出雕刻状的立体形态,在冻裂面上沉着一薄层铂金-碳膜,就像“死者的假面具”那样,按其轮廓而制模;此膜代表冻裂面的真实复制品,将其下面的组织溶掉以后,可用透射 E/M 进行研究。不活泼脱水(inert dehydration),固定的组织在用乙二醇而不用酒精取代水份之后,再进行切片。冰冻法与冰冻干燥法二者均避免使用化学固定和酒精脱水,而是用冷冻使组织变硬之后再切片(用冰冻切片机)。最后,当前的试验是通过高能与穿透力很强的辐射来固定,它打开了在几十亿分之一秒内固定组织的可能性,并且由于没有使用液体,也就避免了从组织中提取任何化学物质。

与 L/M 比较,目前 E/M 工作的困难之一是人们事实上不能无限制地研究切片。超薄切片:(a)超薄切片在电子束轰击下容易破裂,(b)切片逐渐地被来自油扩散泵及其它来源的大量碳氢颗粒所包埋,此过程叫做“污染”。污染可以通过“抗污染装置”或改进真空系统而大为减缓,但不能全部消除。另外一个讨厌的事实是,它不像 L/M 那样可以使用多年或者几十年而不损坏,复杂与灵敏得多的 E/M (甚至是最贵重的类型),由于永远没有終了的原因而周期性的不能工作。最后,更重要的是, E/M 的工作比 L/M 的工作消耗的时间多得多;用 L/M 只需几小时就可以观察完毕的一套组织,而 E/M 就要费几周的时间。由于所有这些原因,今天的电镜工作者比前代的光镜工作者前辈们心情是不平静的;它们偶尔有收获,但长期是受挫折。

三、扫描电子显微镜

当组织标本被电子束轰击时,有的电子穿过标本(称为“透射”),而另外一些电子则以不同的反射角度从表面反跳回来(称为“反向散射”)。另外,“初级”电子的轰击流激发标本表面的一些原子,并诱导它们发射出“次级”电子。如我们所看见的,透射 E/M 是利用穿过标本的电子,给我们一个标本内部结构的电子相,而扫描 E/M 则是利用那些从表面反跳的电子(以及一些次级电子)给我们一个起伏不平的表面的详细形状的电子相。

扫描 E/M 的操作大体如下:产生一个很微细的直径约 $100\text{ \AA}$ 的电子束,聚焦于一个完整的(未切的)标本上,并借助致偏器使此电子束像一个扫描光点,沿着标本表面每秒数次、成锯齿状的移动。反射的电子数量,特别是决定于扫描束射到表面的斜度,这些反射的电子由检波器收集、放大、转变成电流,而且使其调制另外一个以快速扫描方式投射到电视管的观察荧光屏上的电子束;因此影屏上出现的相是标本表面的一个立体(起伏)相,“高峰”光亮,而“峡谷”黑暗。为使标本不平坦的表面变硬,并为使由表面产生的次级电子与反向散射的初级电子增多,通常要将所观察的组织或细胞固定、干燥,并在真空蒸发器中以重金属薄膜,如金或铬覆盖。这种仪器的分辨率显然是决定于它的电子束的直径(即决定于“光点”的大小),目前各种型的数量级大约为 $100\text{ \AA}$ 。

扫描 E/M——单独或与其它技术并用——似乎对研究细胞表面,以及细胞表面因生理功能和疾病所产生的改变,看来肯定能作出可贵的贡献。目前,它的主要优点是使我们能迅速地概观细胞和组织表面的图象。而且在瞬间给我们的这种资料,如用透射 E/M 只能极缓慢地、艰巨的通过连续切片才能获得。然而,必须明确,扫描 E/M 尽管有很大潜力,而且它显示的图象优美感人,但它主要还是“超微结构表面解剖学”的工具,即它可以告诉我们外表是怎样的。我们必须要继续使用透射 E/M 去寻求细胞内部是怎样的,正是由于这个原因,扫描 E/M 将永远不会代替透射 E/M,仅是它的补充。

四、化学情报技术

这些技术能告诉我们细胞各部份的化学组成,以及各部份在正常功能状态下和在疾病时所出现的变化,还能使我们在超微结构水平上看到不断增长的化学物质进、出细胞的运动。它们显示出给予的化学物质是否正在进入所研究的细胞,是怎样进去的,到什么地

方去,以及它最后的命运如何。目前在这个领域中最有用处的技术是超微结构的细胞化学、X射线微量分析与超微结构放射自显影术。

1. 超微结构的细胞化学

这种方法使我们能看到几种天然就是电子致密的物质或化合物,或者经过特殊处理以后能使它们变为电子致密的。它还能使我们鉴别暴露于特异性的酶,或用特异性的溶剂提取之后即消失的致密物质。

在天然的化学致密物质中有:(a)绝大多数游离的或结合的重金属(例如铁、铁蛋白、血红蛋白),(b)某些无机盐(例如磷酸钙),和(c)几类有机分子,如核酸(DNA和RNA两者)、胺和多肽(如儿茶酚胺、五羟色胺、抗利尿激素)和分泌蛋白(如胃蛋白酶、胰酶、胰高血糖素和胰岛素)。上述的某些物质不仅致密,而且还可以有特殊的形状,通过这些特殊形状可以识别它们。

目前有三种主要方法使细胞内的透明(看不见的)化合物变为致密的,因而使它们在细胞内特异地被识别出来:(a)使它们与另外一种与它们有特异亲和力的化学物质相结合,形成一种致密的(能看见的)沉淀或复合物;例如不能看见的钠离子与焦锑酸盐离子相结合,形成可见的焦锑酸钠,又如透明的糖原能和铅离子相结合,形成致密的铅-糖原复合物。(b)如果它们是酶,就让它们与适当的底物起作用,形成致密的产物,例如使过氧化酶蛋白质氧化联苯胺化合物,并在过氧化氢的存在下,转变成成为能被看见的致密物质;又如让磷酸酶作用于磷酸脂,分离出磷酸盐离子,此离子遇铅离子时转变成能被看见的致密磷酸铅。(c)如果它们是抗原,就用直接对抗它的特异性抗体与之相结合;为了使它们形成的抗原-抗体复合物能被看见,须在抗体与抗原相互作用之前,先使抗体与致密标记物质(如铁蛋白)结合,或与细胞化学能显示出来的酶(如过氧化酶)偶联;这个方法的一个例子就是用铁蛋白标记的抗促性腺激素抗体,显示合胞滋养层内绒毛膜促性腺激素。

在某种情况下,当每一个抗体分子因被一个铁蛋白分子标记而能被辨别时,这种免疫组织化学技术不仅可以测定抗原的存在,而且还可以在标本一定的区域内计数存在的抗原分子。

除了通过细胞成分所具有的致密度和特殊形态,或者通过特殊处理使它们获得的致密度来识别细胞成分以外,一些本来就致密的细胞结构,如用特异性的溶媒或者特异性的酶处理以后,它们消失的话,那么这些结构就能够从化学上被确定,如果这种处理用于组织固定之前常更为有效。所以,例如分别暴露于核糖核酸酶、脱氧核糖核酸酶、胃蛋白酶或哥罗仿-甲醇之后,细胞致密度消失的话,这就分别地表明是RNA、DNA、蛋白质或脂类。

2. X射线微量分析(电子探针分析)

这种技术与扫描E/M合用,使我们能够辨认大多数元素(所有这些元素的原子量均大于10)。这个方法实质上是利用扫描E/M的微细电子束轰击一个标本的小点时所产生的X射线作为那个点的化学组成的情报;这是基于这样的事实,即周期表上的每一种原子类型,当它受到电子轰击时,便发射出一种波长不同的(特征的)X射线——元素越轻发射的波长就越长。在扫描E/M的微量分析器变型中,来自标本“照射点”的不同特征的

X射线,被一个特殊的晶体所拾取,并反射到放大器内,在该处这种射线被转变成成为电的讯号,它们的强度随着特定标本点发射的X射线的强度而变化,因而也就是随着在该点能发射X射线的原子类型的浓度而变化;由于不同波长的X射线以不同的角度离开标本,稍微改变晶体的位置,即将选择到不同的波长反射到放大器内,这样就能使我们在任何指定的时间内监视不同类别的原子。

这个技术对细胞不同部位的大多数化学元素的存在和浓度,正在开始提供极宝贵的数据。由于产生数据的电子束在整个标本表面以锯齿形的方式进行扫描,人们可以对被检查的组织或细胞建立一个“化学组成图”。然而应当强调,X射线微量分析只能报告出元素的部位和数量,而不是化合物(无机的或有机的)。

3. 放射自显影术 (ARG)

这个方法使我们能够在一个组织切片上定位放射活性的(标记的)原子,依据的事实是:假如在切片上涂上一层照象薄膜,从组织的放射活性区域发射出来的辐射线,将会在正对放射区域薄膜上那些点形成还原银粒子。用这个方法最适合观察的标记原子类型是那些具有短轨迹辐射的(几个 μ 数量级的),因此可以在薄膜上获得满意的颗粒的部位,如 ^3H 与 ^{125}I 。

通常使用的方法是把拟研究的细胞所摄取的标记化合物注射于动物或滴加于组织培养物中,然后按通常的方式将需要的组织固定、脱水、包埋并做成超薄切片;以后在暗室内将切片涂上薄层照相乳胶,并按需要的时间在暗室内长期的保存(通常数周或数月),让辐射线从切片上辐射,使在其上面的乳胶膜内产生的还原银颗粒达到有意义的数量。在这样长时间的暴露之后,用照相的显影剂与定影剂处理涂乳胶的切片,使能看见还原的银颗粒,就像很致密的结构附加在组织图像中的放射活性区域。

这个技术使有可能看到细胞对标记化合物的摄取,它们迁移到不同的细胞成分、参与细胞内和细胞外各种新陈代谢活动以及它们从细胞释放出来;例如可以用标记的胸腺嘧啶核苷、亮氨酸或葡萄糖分别地来研究DNA、蛋白质或多糖的合成,而标记的类固醇激素有助于观察它们进入细胞核。放射自显影术的另一个有效的应用是化学上辨认各种未标记的细胞成分,因为这些成分能选择性的结合某些给予的标记化合物;因此,乙酰胆碱酯酶通过它与标记的抑制剂——磷酸二氟结合,能被识别,DNA通过它与标记的放线菌素结合能被鉴定。最后,在某些条件下,还能用放射自显影术在一定的组织区域内对存在的标记分子的数量作出粗略的估计。

放射自显影术主要危险之一是,由于代谢过程,放射性原子有时可能从被它标记的分子上分离出来,或者在活体中它能与来自其它分子的未标记的原子交换;当这种情况发生时,组织内标记原子放射自显影的探查,当然不能用来表明所存在的仍然是原来给予的未更动的标记化合物。为避免这种困难,可以:(a)选择标记化合物,这种化合物通过预先的化学还原研究,确已证明标记原子与分子核之间的键在活体内是稳定的,(b)将组织暴露于特殊的溶剂或特定的酶以溶解或破坏要研究的标记化合物,然后再从切片上显示放射活性的消失。

五、将来的发展

现在正在进行下列的发展,预计其中有些似乎在今后的十年内将要普遍使用: (a) 1,000,000 伏特和 1,000,000 伏特以上的透射 E/M, (b) 高分辨率的扫描 E/M, (c) 通过物理学方法辨认有机化合物, (d) 直接观察小分子与大原子。

1,000,000 伏特和 1,000,000 伏特以上的透射 E/M 将具有高得多的电子加速功率,因此具有比普通 E/M 大得多的穿透力与分辨率。它将允许研究 2—3 μ 厚的切片,在分辨细节方面,比如说同 1,000 Å 厚的切片所得结果同样好。由于厚切片的所有不同平面的结构均被投射到同一个焦点平面上,故为了形成清晰的像,需要立体的摄影术。对这种仪器最大的希望之一是,它将使我们能够在细小的透明室内探查包围在维持生命的液体内的活细胞的超微结构。然而,这个希望在目前看来是不能满足的,因为细胞内高速的电离作用损伤与杀死细胞,而这个高速电离作用是由于上述的电子加速的数量级所引起的。

显然,将通过改进普通的 V 型灯丝以产生更加细微的电子束作为电子源,来提高扫描 E/M 的分辨率,这种电子源称为“场致发射头”(field emission tip),它使扫描 E/M 能够以 5 Å 或更小的点径(和分辨率)进行工作。

几种有机化合物在细胞器内的辨认与定量总有一天将会证明,使用物理方法就像大多数化学元素今天使用 X 射线微量分析法那样是迅速可行的。由于很多有机分子当受到适当的激发时,便发射出特征能量光谱或微粒,或者当暴露于各种辐射时,便产生吸收特征能量光谱带。这就有可能通过扫描 E/M、非-电子源的辐射、透射 E/M 与显微分光光度计的适当配合,利用其中的一些现象,以达到辨认分子的目的。

最后,直接观察小分子与大原子看来已为期不远,因为很多这类微粒的大小是在现代强力透射 E/M 的分辨范围之内。诚然,在少数的实验室内,最近已经可能获得似乎是令人信服的单个重原子(例如钍或铀)与单个芳香族分子(例如呈晶体格子的酚环)的照片。在这方面的进展直到最近以前已缓慢下来,因为常规明视野技术的反差比较低,也因为支持膜虽然厚度很一致,但其致密度却不均匀造成高度的“背景杂波”(background noise);使用反差高得多的暗视野技术和致密度均匀得多的支持膜,如石墨晶体(它可以允许较高的讯号杂波比),可以期望有利于在这个领域内的研究。当然,仍然存在着一个永远避免不了的问题:一些穿过标本切面的电子导向对原子的轰击,并且引起改变,而这些改变能够导致标本分子的分解;换言之,正如物理学的其它方面那样,这个观察方法改变了被观察的物体。然而,由于电子轰击引起的分子改变,不是立即出现,而是随着延长的观察时间逐渐积累的,这就可以期望,在这个退化过程的最初时期,对标本结构进行照相,将会减少结构的失真影响。

(吴良芳译)

第二章 细 胞

一、超微结构概况(图版 1, 图 A)

1. 质膜(图版 1)

细胞由质膜¹(PM)包围,用广泛使用的普通 OsO₄ 固定以后所看到的 PM 平均厚 75 Å(变动范围: 50—90 Å),在高倍放大下,PM 由厚约 25 Å 的三层组成(外、内层致密,中间层发亮)(图版 1, a)。PM 的主要功能是:(a) 将活的原生质和它周围的环境分开,(b) 由细胞外选择某些物质运入细胞内,同时某些物质由细胞内运到细胞外的间隙,(c) 应外部的一定刺激变为“兴奋”,和(d) 通过酶的活动改变它紧邻环境的组成,详情见本章第二节。

2. 外衣(图版 1)

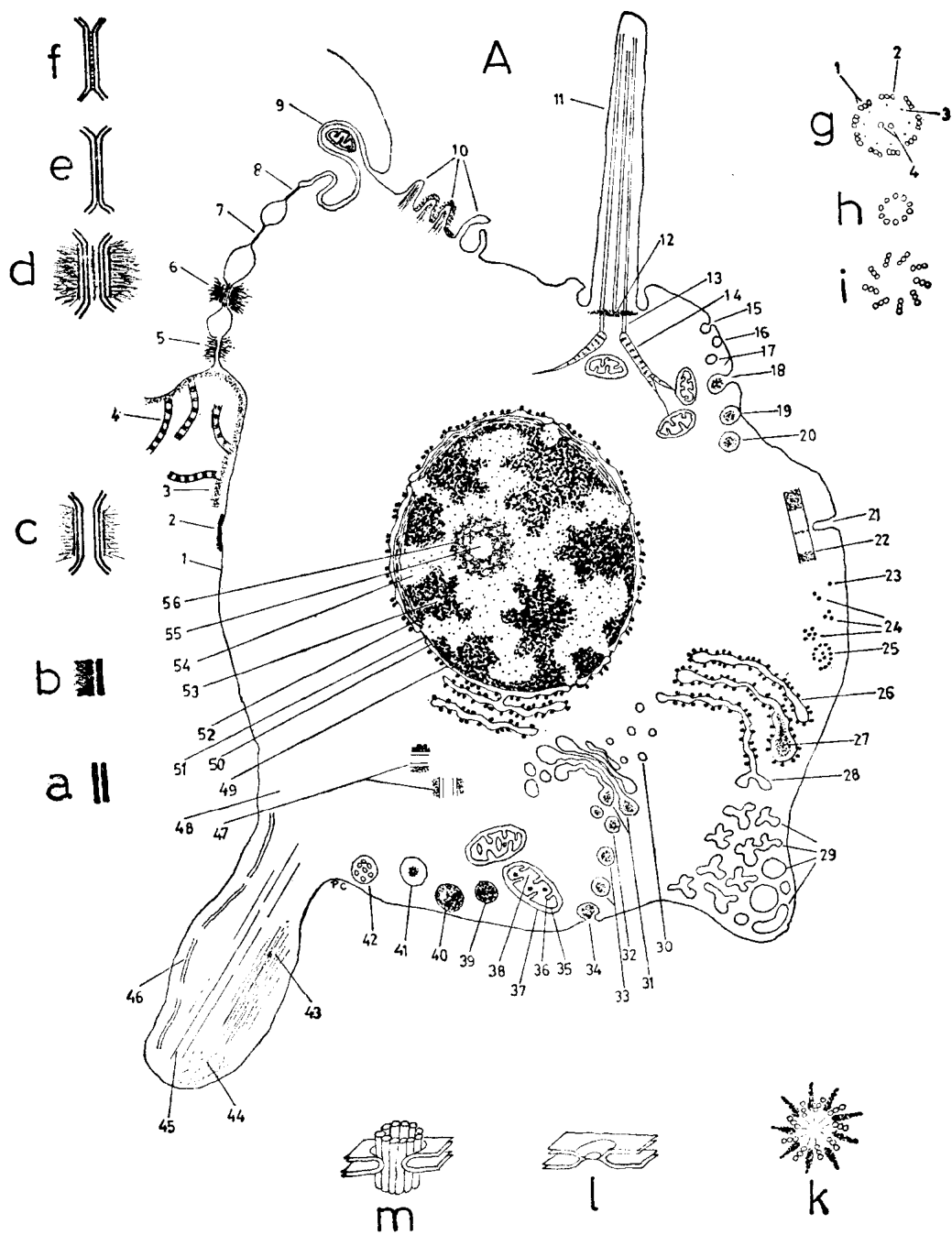
大多数细胞的 PM,部分或全部由以下两种主要类型的外衣覆盖:(a) 糖衣²(glyco-calyx),这是一层比较薄的微毛状物质,总是粘在 PM 上;和(b) 基膜³(BM),这是比较厚的一层,不总是粘在 PM 上。

糖衣²似乎是由 PM 的外层“长”出来的,呈现一种网状的微毛亚结构(图版 1, b)。它由多糖-蛋白质化合物(糖蛋白)组成,这些化合物以硫酸化多糖和涎酸作为其碳水化合物的组成成分;正如用放射自显影追踪其标记的成分如氚标记的醋酸、葡萄糖和硫酸的运动所显示的那样,糖衣似乎产生于细胞之内,“分泌”到细胞的表面,而且周转十分迅速(几小时之内);它可能是酶活性很强的地方,并且也代表细胞表面抗原存在的地方;它带负电荷,并能被电子密的阳离子如钨更充分的显示出来——钨与其阴离子群结合。糖衣中的抗原糖蛋白“受体”被认为是分支的分子,其数量取决于细胞种类和细胞表面的地理部位。

基膜³,如象用胶原酶、多糖染色和标记的抗-BM 抗体的研究所提示的,它似乎代表一种无定形胶原蛋白与各种比率的多糖共同组成的中等密度的混合物。这两种成分的比率在不同的动物和细胞种类之间变动很大,从大部分是碳水化合物到大部分是胶原蛋白。在 BM 内,胶原蛋白的无定形……,而不是有纹-原纤维状态,是由于 BM 内胶原蛋白分子不同的方向所造成。在细胞表面和 BM 之间常常有一个薄的、宽度一致的半透明带;此半透明带可能代表一种富于多糖的物质(或许是糖衣)使 BM 和细胞胶合起来。

BM 像衬衫一样,至少盖于所有细胞的一部分表面,但几乎所有结缔组织细胞和肝细胞例外。有些证据表明 BM 产生于它覆盖的细胞内的粗面内质网,而且某种损伤刺激细胞增加其 BM 的产生;也有可能至少有时血浆成分构成 BM 的物质。它的功能仍未完全

注: 质膜¹,上角阿字数码系图号,下同。



图版 1