

· 高等学校专业教材 ·

细胞生物学

· 王运吉 张苓花 主编 ·



中国轻工业出版社

Q2-43

W39

S11

高等学校专业教材

细胞生物学

王运吉 张苓花 主编



A0925842



中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

细胞生物学/王运吉, 张苓花主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2000. 6

高等学校专业教材

ISBN 7-5019-2622-0

I. 细… II. ①王… ②张… III. 细胞学-高等学校-教材
IV. Q2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2000) 第 18037 号

责任编辑: 李 菁 唐是雯 责任终审: 唐是雯 封面设计: 崔 云
版式设计: 智苏亚 责任校对: 燕 杰 责任监印: 胡 兵

*

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

联系电话: 010-65241695

印 刷: 三河市宏达印刷厂

经 销: 各地新华书店

版 次: 2000 年 6 月第 1 版 2000 年 6 月第 1 次印刷

开 本: 787×1092 1/6 印张: 15.25

字 数: 352 千字 印数: 1—3000

书 号: ISBN 7-5019-2622-0/Q·008 定价: 32.00 元

·如发现图书残缺请直接与我社发行部联系调换·

前 言

普通高等院校轻工、食品类专业教学指导委员会“生物工程”专业教学指导小组第二次会议（于1997年在郑州召开）决定编写《细胞生物学》，作为轻工食品类本科基础必修课教材。又于1998年7月的大连会议上决定按共同讨论的编写大纲由大连轻工业学院、无锡轻工大学、北京轻工业学院、湖北工学院、西北轻工业学院和山东轻工业学院联合编写，王运吉、张苓花负责主编，由陈海昌担任主审。

本书第一章由王运吉编写，第二章由包永明编写，第三章由张苓花编写，第四、十一章由许正宏编写，第五、六章由顾天成编写，第七、八章由方尚玲编写，第九章由吕嘉桢编写，第十章由王平编写，第十二章由祖国仁编写。其中第四、十一章由陶文沂校审。

为了使本书的内容保持一定的系统性和完整性，编写时难免与普通生物学、生物化学、遗传学等有关部分重复，因此，讲授时可删繁就简。鉴于各院校的实际情况不同，第十二章的实验部分仅供参考选用。

1998年7月在大连参加讨论编写大纲的院校有大连轻工业学院、无锡轻工大学、北京轻工业学院、天津轻工业学院、西北轻工业学院、湖北工学院、山东轻工业学院、华南理工大学、郑州轻工业学院、河北科技大学和中国轻工业出版社。编者对以上各单位和参加讨论的同志表示衷心感谢。

书中凡成分的含量（浓度等）以%表示的，一般均指质量分数。

由于编写水平有限，如有不当之处，盼请读者批评指正。

编者

1999年6月

第一章 绪 论

一、细胞生物学的研究对象、目的和任务

细胞 (cell) 是生物体的形态结构和生命活动的基本单位, 因而要了解生物体的生命活动规律就必须从了解细胞开始。细胞学 (cytology) 的研究对象就是细胞, 是研究细胞的结构、功能和生活史的科学。

但是, 现代细胞学的研究范围已远远超出了传统的细胞学, 主要表现在以下几个方面: 随着分子生物学的发展, 新技术、新方法的不断涌现, 在细胞形态学方面已经超出了光学显微镜下可见结构的简单描述范围, 在功能方面, 也已经超出了对于生理变化的纯粹描述; 从研究水平上看, 已从细胞整体和亚细胞水平深入到分子水平, 并将细胞的整体活动水平、亚细胞水平和分子水平三方面的研究有机地结合起来; 在研究方法上, 则以动态的观点来考查细胞和细胞器的结构及功能, 不再是简单的描述, 而且不仅仅是孤立地研究各个细胞器、生物大分子、小分子及单个生命活动现象, 而是研究它们的发展变化过程, 它们之间及其与环境之间的关系。由此可见, 现代细胞学已经把细胞的整体水平、亚细胞水平和分子水平的研究结合起来, 以动态的观点来考查细胞和细胞器的结构和功能, 探索细胞的基本生命活动, 大大地扩展了传统细胞学的研究范围, 发展为细胞水平的生物学。因此, 现代细胞学更名为细胞生物学 (cell biology)。

细胞生物学是研究细胞的结构、功能、生活史以及各种生命活动的科学, 是生物科学的主要分支之一, 也是生命科学和分子生物学研究的基础。

细胞生物学以细胞为对象, 研究并揭示了生物科学的许多基本问题, 诸如: 结构与功能、基本生命活动、生长、发育、分化、代谢、繁殖、运动和联络, 如衰老与死亡、遗传变异及进化等基本规律。研究的目的在于阐明各种生命活动的现象和本质, 而且还要对这些现象和规律加以控制和利用。

细胞生物学的研究任务就是采取分析与综合相结合的方法, 在细胞整体、亚细胞和分子结构三个不同层次上把结构与功能统一起来进行研究, 不仅研究理论问题, 也要解决实际问题。具体说来就是运用现代新工具、新技术、新方法去揭示细胞内的显微结构和分子结构, 以及这些结构的动态变化。比如, 借助电子显微镜能直接观察到细胞内各种超微结构的形态和它们在活细胞内所处的空间关系, 发现了许多以往在光学显微镜下未能见到的结构, 使人们进一步认识了某些结构的真面目, 对细胞有了更深入的了解。在细胞功能方面, 研究细胞各部分的化学组成和新陈代谢的动态关系及相互作用, 从而以这些结构与功能及其相互关系来揭示生物有机体的生长、分化、分裂、运动、遗传、变异和进化等生命活动的规律。随着动植物细胞工程的形成, 细胞生物学除用固定的材料研究结构与功能外, 还利用细胞培养技术进行活体材料的研究。用分子细胞学技术按人们的设想改变细胞的遗传性, 深入研究细胞在生活状态下的生命活动, 为遗传育种提供新技术、新方法, 有目的地培育出新的品种甚至新物种。另外, 通过对正常细胞基因生长调节控制机理的阐明, 加速了对包括癌细胞在内的细胞本质的揭露, 从而可能对癌症提供根本性的防御措施。可见, 细胞生物学的任务和其他

学科一样，只要根据理论与实践的需要，正确地揭示自然规律，并且不断地提出任务，寻找解决途径，就会逐步揭开细胞内部的奥秘，为解决人类面临的实际问题作出贡献。

二、细胞生物学发展简史

细胞生物学的发展大致可以划分为以下几个阶段：

第一时期：细胞学的创立时期（1665—1875）；第二时期：细胞学的经典时期（1875—1900）；第三时期：实验细胞学时期（1887—1953）；第四时期：分子细胞学时期（1953年至今）。

1. 细胞的发现

技术的进步必然推动科学的发展和深化，可以说没有显微镜就不可能有细胞学的出现。荷兰眼镜商詹森（Janssen）兄弟 1590 年首次试制成功第一台复式显微镜，随后，英国人胡克（Robert Hooke）用自制的显微镜观察了软木（栎木皮）及其他植物组织，于 1665 年发表了一篇短文，叙述了软木组织在显微镜下的形态，并用“细胞”（cell）这一术语来描述镜下组织形态，还指出细胞内有空气和液汁。实际上胡克当时所看到的只是死细胞的细胞壁。其后，有学者用显微镜观察到了不同生物组织的细胞，但均未注意到细胞的内含物，直到 19 世纪 30 年代，布朗（R. Brown, 1831）才在兰科植物叶片表皮细胞中发现了细胞核。迪雅尔丹（E. Bwjardin, 1835）在低等生物根足虫和多孔虫的细胞内发现了内含物，称之为“肉样质”（sarcode）。

2. 细胞学说与细胞学的经典时期

19 世纪之前，许多学者都致力于细胞的显微结构研究，从事形态的描述，对于各种生物体中出现细胞的意义均未作出理论分析。德国植物学家施莱登（Schleiden, 1838）和动物学家施旺（Schwann, 1839）对此作出了最后概括。施莱登指出所用植物体均是细胞的组合，这个见解被施旺在动物体中得到证实，并首次提出“细胞学说”（cell theory），指出：“细胞是有机体，整个动物和植物乃是细胞的集合体。它们依照一定的规律排列在动植物体内。”他们明确指出了一切动物和植物皆由细胞组成，细胞学说从此被公认。由于这个学说的创立，揭示了动植物在细胞水平上的统一性，因此细胞学为生物学各种学说的创立奠定了基础。很显然，没有细胞学说，达尔文主义便很难完成。只有在细胞学说创立之后，人们才能明确提出：细胞是生物有机体的结构单位和生命活动的单位，又是生物个体发育与系统发育的基础。细胞学说确实在生物学发展史上占有特别重要的地位。恩格斯认为，细胞学的创立是 19 世纪科学上的三大发现之一。

细胞学说创立之后，研究者们将注意力转移到了对细胞内含物的研究上。普金耶（Pukinje, 1840）和冯莫尔（Von Mohl, 1846）分别在动物细胞和植物细胞中，如迪雅尔丹在原生动物中所看到的一样，也观察到了“肉样质”的东西，冯莫尔将这个“肉样质”称为“原生质”（protoplasm）。舒而策（Max Schultze）于 1861 年指出，动物细胞中的“肉样质”和植物细胞内的“原生质”具有同样意义，他提出了原生质理论。该理论认为：有机体的组织单位是一小团原生质，这种物种在一般有机体中是相似的。至此，细胞的含义与最初发现细胞时不同了，于是汉斯顿（Hanstein, 1880）提出了一个新的名词即“原生质体”（protoplast），其含义比“细胞”更加确切，但由于“细胞”一词沿用已久，因此一般仍称为细胞。

在随后进行的细胞分裂方面的研究，雷马克（Remak, 1841）发现了鸡胚血细胞的直接

分裂。之后，微尔和（1855）提出了“一切细胞来自细胞”的著名论断。随后，弗勒明（Flemming）和施特拉斯布格（Strasburger）分别在动物和植物中发现了间接分裂。施莱歇（Schleicher, 1878）称这种分裂为核分裂（karyokinesis）。弗勒明（1882）又将其称之为无丝分裂（amitosis），把间接分裂或核分裂称为有丝分裂（mitosis）。赫特维希（O. Hertwig, 1875）发现动物卵细胞受精后两个亲本核的合并，施特拉斯布格在植物中也发现了同样的现象。纳互兴（Nawaschin）和吉格纳特（Guignard）分别于 1898 年和 1899 年先后发现了被子植物的“双受精作用”。霍夫迈斯特（Hofmeister）早在 1848 年紫鸭跖草花粉母细胞中就看到了核的消失和球状小体的出现，但他未给予命名。直到 1888 年才由沃尔德耶（Waldeyer）把这些染色小体命名为“染色体”（chromosome）。范·贝内登（Van Beneden）和施特拉斯布格先后于 1883 年和 1886 年分别在动物和植物细胞中发现了减数分裂现象。贝内登和博弗里（Boveri）发现了中心体，阿尔特曼（Altman, 1894）、本达（Benda, 1897）发现了线粒体，高尔基（Golgi, 1898）发现了高尔基体。人们一般认为 19 世纪的最后 25 年为细胞学的经典时期。

3. 实验细胞学时期

细胞生物学由经典时期进入实验细胞学时期是从赫瑞维希兄弟（O. Heriwing 和 R. Heriwing, 1887）的工作开始的。他们用实验的方法研究细胞卵的受精作用，实验细胞学就此很快发展起来。实验细胞学的发展可分为三个阶段：

第一阶段（1887—1990）是细胞学和实验胚胎学紧密联系的时期。在该阶段中，赫瑞维希等以海胆、蛔虫的卵为材料，研究刚受精的卵其雌雄原核在外界条件影响下是否能合并，去掉细胞核后卵细胞能否继续发育等问题。他们用纯化学和物理的方法刺激未受精卵，使之发育成为人工的孤雌生殖。

第二阶段（1900—1926）是细胞遗传学（cytogenetics）创立的时期，从孟德尔（Mendel）的遗传法则再发现（1900）开始，到摩尔根（Morgan）的《基因论》一书出版（1926）为止。自从孟德尔的遗传法则再发现以后，博弗里（T. Boveri）和萨顿（S. W. Sutton）于 1902 年提出“染色体遗传理论”。摩尔根（1910）以果蝇为材料，研究遗传变异，从而为遗传学的发展奠定了基础。在这个时期里，细胞学的研究着重研究细胞核，特别是染色体，导致了所谓“染色体”学的出现，而细胞学的其他方面的研究进展缓慢，如原生质学到 1920 年后才得以发展。

第三阶段（1926—1953）是细胞学全面发展时期。这一时期以生命科学中的各分支学科相互交叉为显著特点之一，即细胞学不再是少数细胞学家的工作，而成为所用实验生物学研究者，包括胚胎学、遗传学、生物化学、生物物理学、微生物学、病理学研究者的共同任务，大大推进了细胞学的发展。这个时期的另一个显著特点是新工具、新技术的不断涌现，细胞学的研究充分利用了物理学和化学的一些最新成就，使细胞形态学、细胞化学、生化细胞学及细胞生理学等均获显著进展，同时也纠正了一些以往提出的不正确观点与概念。

在原生质研究方面，利用了组织培养和显微操作器来研究在生活状态下原生质的物理化学特性，建立了原生质是一个胶体系统的概念，纠正了过去用固定材料所提出的错误观念。但值得注意的是不能认为固定制片中的细胞结构都是假象，实际上，细胞学中的大部分知识，都来自固定材料。

在细胞化学与生化细胞学方面也发展很快。孚尔根等（Feulgen 和 Rossenbeck）首创了孚尔根核染色反应（1924），此后，该方法专门用于测定脱氧核糖核酸。布勒歇（Bracher,

1940) 用昂纳 (Unna) 染色液测定细胞中的核糖核酸。卡斯帕尔森 (Caspersson, 1936, 1940) 用紫外光显微分光光度法测定细胞中的 DNA 含量。由于放射性自显影技术和超微量分析等方法的应用, 极大地促进了细胞内核酸与蛋白质代谢作用的研究。

在细胞生理学方面, 本斯莱特等 (Bensley 和 Hoerr, 1834) 和克劳德 (Clande, 1943) 用高速离心机将线粒体从细胞内分离出来, 此后, 对线粒体等细胞器的化学组成和生理功能的研究取得了很大的进展。

4. 分子细胞学的兴起和发展

随着生物化学、微生物学和遗传学的相互渗透和密切结合, 自 20 世纪 40 年代起, 分子生物学开始萌芽。比德尔 (Beadle) 和塔特姆 (Tatum) 于 1941 年提出 “一个基因一个酶” 的理论。艾弗里 (Avery) 等通过微生物的转化实验证实 DNA 是遗传物质, 博伊文等 (Boivin) 于 1948 年提出了生殖细胞和各种体细胞中 DNA 恒定理论。“分子生物学” 这个名词到 20 世纪 50 年代时已经提出来。沃森 (Watson) 和克里克 (Crick) 于 1953 年提出了 DNA 的双螺旋的分子结构模式, 奠定了分子生物学的基础。科恩伯格 (Kornberg, 1956) 从大肠杆菌提取液中提取了 DNA 聚合酶, 并用该菌的 DNA 单链片段为引物 (primer), 在体外首次合成了 DNA 片段的互补链。梅塞尔森等 (Meselson 和 Stanl, 1958) 用放射性同位素与密度梯度离心法证明了 DNA 的复制为 “半保留复制”。尼伦伯格和马泰 (Nirenberg 和 Matthaei, 1961) 等确定了每种氨基酸的遗传密码。同年, 雅格布和莫诺德 (Jacob 和 Monod, 1961) 提出了操纵子学说。由于上述新概念、新技术渗入到生物科学中的各个领域, 很快促进了分子细胞生物学的发展。

三、细胞生物学与其他学科的关系

细胞生物学是生物学的分支学科, 这个分支学科是生命科学层次分化的结果。生命科学的层次有生态的、种群的、个体的、细胞的及分子的不同层次。细胞生物学是细胞层次的生物学, 是生物学科的等位分工, 属于总论性质的学科。同时, 细胞生物学又是一门综合的学科, 因为细胞生物学已经覆盖按生物类型分出的个论性质的分支, 如植物、动物、微生物的细胞学。细胞生物学与生物科学的许多分支密切联系, 如形态学、解剖学、生理学、组织学、胚胎学、遗传学、免疫学和分子生物学等, 也是这些学科的基础。细胞生物学的发展推动了诸如细胞分类学、细胞遗传学、细胞免疫学、细胞生物化学等交叉学科的发展, 各学科间的界限也越来越模糊, 出现了诸多的交叉学科。因此, 在学习细胞生物学的时候, 必须把握它的层次性、综合性、基础性和交叉性, 充分认识细胞生物学在生命科学中的重要性。

此外, 细胞生物学本身必须以其他现代科学分支为基础, 诸如生物化学、生物物理学、生物数学等, 他们都是细胞生物学研究的基础。当前, 由于分子细胞学的发展, 已经能比较清楚地以分子水平及现代物理与化学规律来说明生命现象, 而现代细胞学的最新成就, 也都是应用物理、化学、数学的理论和新技术、新方法研究出来的。因此, 学习细胞生物学还需具备现代物理、化学和数学等方面的基础知识。

主要参考文献

[1] 郑国锷. 细胞生物学. 第二版. 北京: 高等教育出版社, 1996

- [2] 陈诗书, 汤雷明. 医学细胞与分子生物学. 上海: 上海医科大学出版社, 1995
- [3] 翟中和. 细胞生物学. 北京: 高等教育出版社, 1995
- [4] 敖光明, 刘瑞凝. 细胞生物学. 北京: 中国农业大学出版社, 1987

第二章 细胞与细胞生物学技术

第一节 细胞的基本概念

细胞是生命活动的基本单位，一切有机体均由细胞构成，病毒只是具有生命活动的生物大分子，只有寄生在宿主细胞中才能表现出生命活动。单细胞生物的机体仅由一个细胞构成；多细胞生物的机体一般由数以万亿计的细胞组成，一些极低等的多细胞生物体，如蓝藻仅由4个、8个或几十个基本上分化的相同细胞组成，高等动植物机体却由无数功能与形态结构不同的细胞构成。细胞不仅是有机体的基本形态结构单位，而且是有机体的基本功能单位，有机体的生长、发育、遗传、变异、繁殖、进化都是以细胞为基础。细胞内所含有的生活物质称为原生质（protoplasm），即除细胞膜以外的物质，包括细胞核（nucleus）和围在核四周的细胞质（cytoplasm），而核内所含的原生质则称核质（nucleoplasm），最近则认为是核内无结构的基质。

一、细胞的形态与大小

1. 细胞的形态

一个细胞与其他细胞分离而单独存在时，称为游离细胞（free cell），常呈球形或近于球形，但由于细胞内在结构和自身表面张力以及外部的机械压力，许多细胞又构成组织，称组织细胞，其形状与功能密切相关，因而各种细胞总是保持一定的形态。

2. 细胞的大小

不同种类细胞大小差别悬殊，一般细胞的直径都在 $10\sim 100\mu\text{m}$ 之间，常需借助显微镜观察，计量单位都用 μm 。同一种类细胞及不同生理状态的同一细胞，体积大小也有变化。

二、细胞的一般结构

我们能看到的细胞分为两大类，即原核细胞和真核细胞。前者结构简单，后者结构复杂，但两者的一般结构则是由细胞膜、细胞质和细胞核（或拟核）所组成。这部分内容将在下一节详细介绍。

三、细胞的化学组成

细胞具有极其复杂的化学组成，表2-1是细胞原生质物质的基本分类和各种成分的相对百分比（质量分数），虽然各有机体原生质成分的相对百分比差别很小，但组成细胞的基本元素则是C、H、O、N，约占生物体组成元素的90%以上，活细胞的主要组成是水，营养物质绝大部分是以溶解状态进入细胞，一切生命的重要化学反应都是在水溶液中进行，去水后的干物质，约有90%是由蛋白质、核酸、糖类和脂类等四大类大分子组成，其余部分仅占很小一部分，如K、Na、Ca、Mg、Cl、P、S等，但也是生命活动所必需的。细胞内含物质大致分类如下：

原生质（生活物质）——细胞质（质膜、内质网、高尔基体、中心体、线粒体等）、细

胞核（核质）

后成质（细胞质衍生物）——纤毛与鞭毛

异 质（特化的原生质）——角质、木质、木栓质、纤维素等

副 质（新陈代谢产物，存在于细胞质或胞液中）

——贮藏物质（淀粉、糖原、蛋白质、脂肪球）

——分泌物（油滴、乳液、矿物质结晶）

表 2-1 原生质的化学组成

物质	百分比/质量分数 %	种类
水	85~90	游离的和结合的
蛋白质	7~10	清蛋白、球蛋白、组蛋白、核蛋白
脂类	1~2	
核酸	1	DNA、RNA
其他有机物	0.5	糖类
无机物质	1~1.5	Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 PO_4^{3-}

第二节 原核细胞与真核细胞

一、原 核 细 胞

原核细胞基础理论的研究是现代细胞生物学的重要组成部分。原核细胞（procaryotic cell）的结构如图 2-1、图 2-2 所示，外部由质膜所包围，质膜外有一层坚固的细胞壁保护，其组成是胞壁质（murein），为原核细胞所特有，少数原核细胞的胞壁质还含有多糖和脂类，如蓝藻外层的胶质层，有的细胞表面带有附属物，如鞭毛、纤毛、荚膜。细胞内含有 DNA 的区域，没有被一层膜包围，称为拟核（nucleoid），其中只有一条 DNA。细胞质中没有内质网、高尔基体、线粒体和质体等，但含有核糖核蛋白体（ribosome）、间体（mesosome）或称质膜体、粒状物（chondroid）和内囊体（thylakoid）、蓝色体等；内含物有气泡（gas vacuole）、多磷酸颗粒（polyphosphate granule）、糖原粒（glycogen granule）、脂肪滴（lipid droplet）、蛋白粒（protein）等。典型的原核生物是细菌和蓝藻，最小和最简单的是支原体，它无细胞壁，可通过细菌滤器，能独立生活，能以二分裂的方式繁殖，易于在培养基上生长。

二、真 核 细 胞

与原核细胞相比，其核细胞结构相对复杂，是以生物膜的进一步分化为基础，使细胞内部分隔形成许多更为精细的具有专门功能的结构单位。真核细胞的结构基本相似，但动物细胞与植物细胞稍有不同，其模式图见图 2-3、图 2-4。

动物细胞的表面也有质膜包围，质膜控制着细胞内外物质的运输，同时与内部的膜系统、内质网、高尔基体和核膜等相连。相邻细胞通过脂膜的连结或突出丝状物构成的桥粒进行信息传递。植物细胞外面有细胞壁，而细胞之间则通过胶状物构成中胶层或胞间层，原生

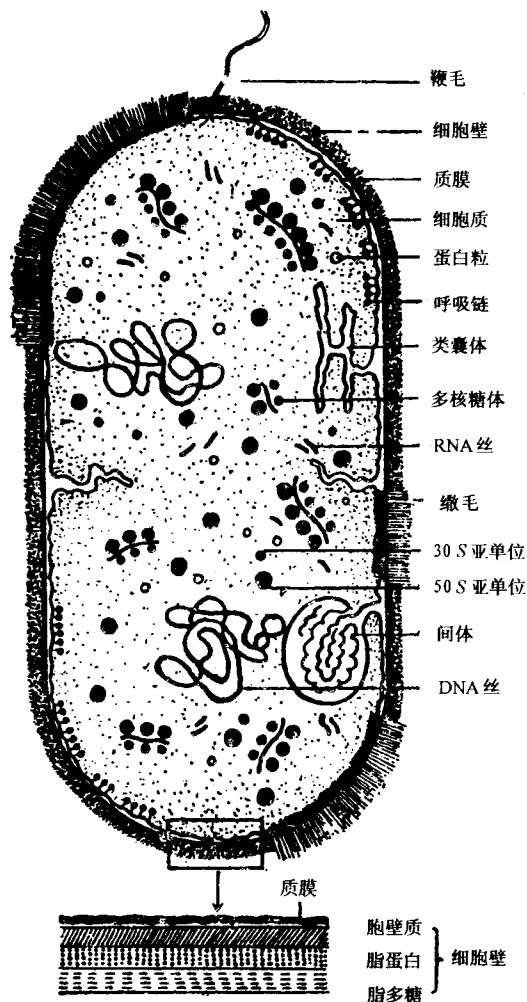


图 2-1 细菌细胞模式图

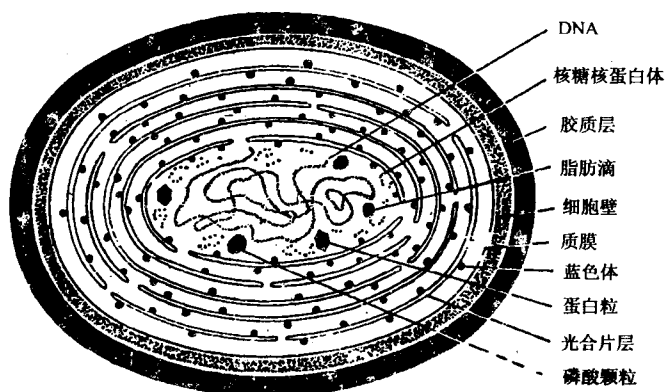


图 2-2 蓝藻细胞模式图 (引自 Ebert 等 Biology, 1973)

质丝构成胞间连丝粘合连接在一起，以便细胞间互相流通。细胞内部，分为细胞质和细胞核两部分。核由核膜包围，与细胞质分隔，其中含有染色质和核仁。细胞质内有核糖核蛋白体，是蛋白质合成场所；内质网和高尔基体是细胞质中的内膜系统，具有合成、包装和运输

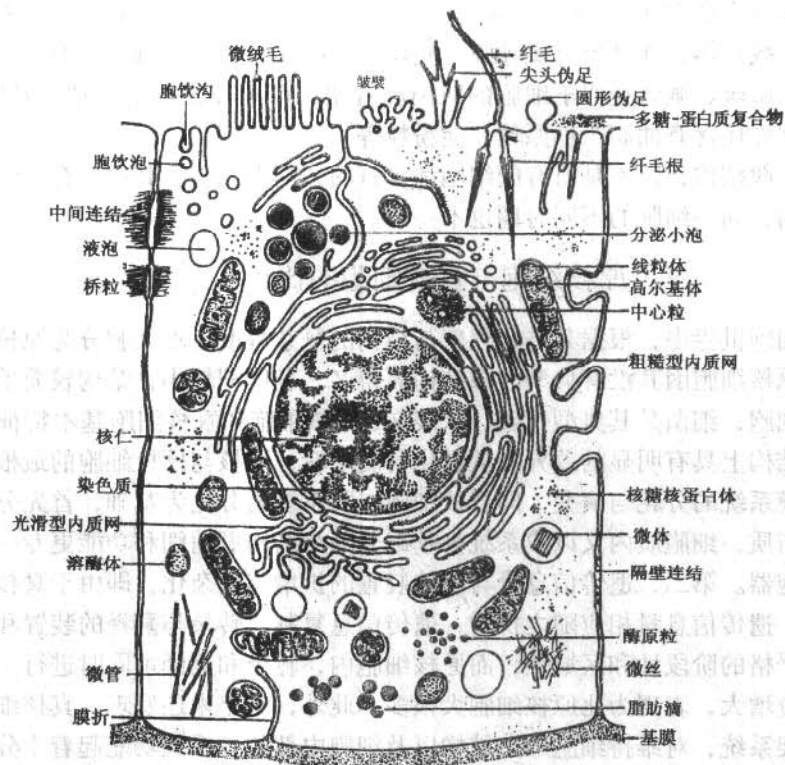


图 2-3 动物细胞模式图

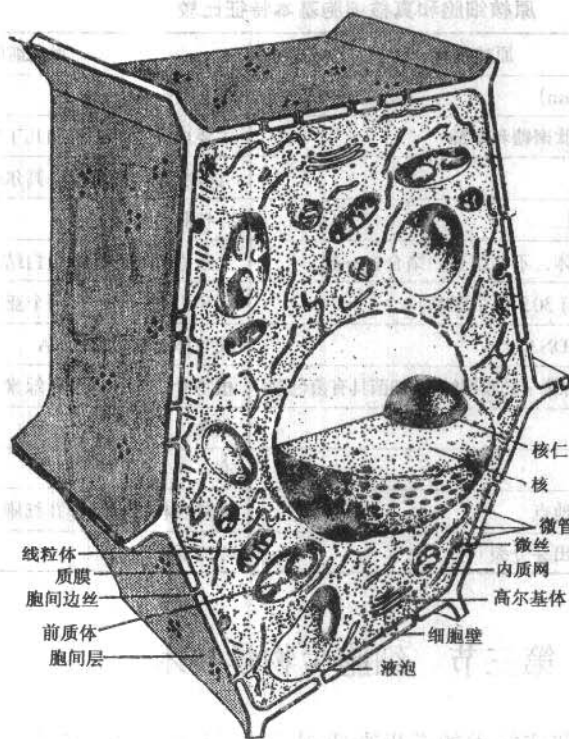


图 2-4 植物细胞模式图

物质的功能；溶酶体含有各种消化酶，分解蛋白质、脂类和糖类；液泡在动植物细胞都具有，主要成分是水；线粒体，能进行有氧呼吸；质体、叶绿体为植物细胞所特有，能进行光合作用合成有机物；微丝、微管类似于细胞的肌肉和骨架，可单独或与中心粒、基粒一起，与细胞运动有关，此外还含有油滴、糖原粒、淀粉粒等。

以上是细胞的一般结构，但不是所有的细胞都含有的，同类细胞，其中含有的细胞器形状和数目也各不相同，同一细胞的不同时期也不一样。

三、原核细胞与真核细胞的比较

在种类繁多的细胞世界中，根据其进化程度与结构的复杂程度，把细胞分为原核细胞和真核细胞两大类。原核细胞因其没有典型的核结构而得名，是体积较小，结构较简单，进化地位较原始的一类细胞，细菌是其典型代表。从表 2-2 原核细胞和真核细胞基本特征比较可以看出两者在形态结构上具有明显的差异。从进化角度来看，真核与原核细胞的最根本区别在于：第一，细胞膜系统的分化与演变，即真核细胞以膜系统的分化为基础，首先分化为两个独立部分——核与质，细胞质内又以膜系统为基础分隔为结构更精细和功能更专一的单位——各种重要的细胞器。第二，遗传信息量与遗传装置的扩增与复杂化，即由于真核细胞结构与功能的复杂化，遗传信息量相应随之扩增，遗传信息复制、转录与翻译的装置和程序也相应复杂化，具有严格的阶段性和区域性，而原核细胞内，转录和翻译可同时进行。同时真核细胞的体积也相应增大，表现为比原核细胞大很多。此外，近年来还发现，真核细胞内有一个比较复杂的骨架系统，对维持细胞形态结构以及细胞内部的一系列功能起着十分重要的作用，而原核细胞至今没有发现明显的骨架系统。

表 2-2 原核细胞和真核细胞基本特征比较

特征	原核细胞	真核细胞
细胞大小	较小（~15μm）	较大（~100μm）
细胞壁	主要成分是肽聚糖和垣酸	主要成分是纤维素和几丁质
细胞器	无	有线粒体、内质网、高尔基体和溶酶体
细胞核	无核膜、核仁	有核膜、核仁
染色体	一条染色质体，不与组蛋白结合在一起	几条染色体，与组蛋白结合在一起
核蛋白体	70S（50S 与 30S 两个亚基）	80S（60S 与 30S 两个亚基）
核外 DNA	裸露的质粒 DNA	线粒体、叶绿体 DNA
光合作用结构	蓝藻含有叶绿素 a 的膜层结构,细菌具有菌色素	植物叶绿体，具有叶绿素 a 和 b
内膜系统	简单	复杂
细胞骨架	无	有
转录与转译	同一时间、地点	转录在核内，转译在细胞质内
细胞增殖	直接分裂和出芽分裂	以有丝分裂为主

第三节 细胞生物学技术

细胞生物学的发展是与研究技术的进步密切相关的，细胞生物学的每一个重大进展都是由于引入了新的研究技术的结果。细胞生物学研究技术很多，本节介绍几种主要的技术。

- (1) 形态学观察技术 包括各种光学显微镜和电子显微镜技术。
- (2) 细胞化学技术 包括酶细胞化学技术、免疫细胞化学技术、放射自显影技术和细胞结构成分的离心分离技术。
- (3) 分析细胞学技术 包括流式细胞光度术、显微分光光度术和图像分析技术。
- (4) 细胞培养和细胞融合技术。
- (5) 分子生物学技术。

一、显微镜技术

人们认识自然的过程总是由浅入深，由表及里；人类对生物体的认识也是从宏观到微观，再进入超微观，逐步深入的。17 世纪，光学显微镜的发明，开阔了人们的眼界，使人类发现了机体的基本组成单位——细胞以及许多微生物，观察到了它们的微细结构，开创了组织细胞学的微观世界研究。20 世纪 30 年代，德国 Ruska 首先发明了电子显微镜，采用短波长的电子束作光源，克服了光镜分辨率低（小于 $0.2\mu\text{m}$ ）的局限，使人们对细胞结构认识逐步深入到超微观的世界。

（一）光学显微镜技术

根据光学原理不同，目前光学显微镜已发展成多种类型，生物领域中常见的有以下几种。

1. 普通光学显微镜 (light microscope)

主要由聚光镜、物镜和目镜三部分组成，采用日光或电光作光源，结构简单，观察方便，最大分辨率为 $0.2\mu\text{m}$ ，最大放大倍数为 1600 倍，是最常用的显微镜，其他显微镜是在此基础上发展起来的。

光学显微镜的分辨率与光波波长、物镜数值孔径有关，可用 Abbe 公式表示：

$d = 0.61\lambda / (n \sin \theta)$ ，式中 d 为分辨率， λ 为波长， n 为物镜与物体间介质折射率， θ 为光束进入物镜的半角。因此， λ 越短，分辨率越高； n 和 θ 越大，分辨率也越高。 $n \sin \theta$ 简称 N. A (Numerical Aperture)，即数值孔径，N. A 越大，分辨率越高。

光学显微镜中， λ 最短，为紫光，波长为 400nm ； n 最大，是油浸系，如香柏油 $n = 1.52$ ； θ 角取决于物镜质量，最大不超过 90° ；在最佳条件下，光学显微镜的分辨率为 $d = 0.61 \times 400\text{nm} / (1.52 \times \sin 90^\circ) \approx 160\text{nm}$ ，即光学显微镜的分辨率极限为不能分辨小于 160nm 的物体。实际上，由于光波具有衍射现象，当物体小于光波波长一半时，光波能绕过物体前进，就像没有遇到物体一样，所以光学显微镜下看不清小于波长一半的物体，即物体小于 200nm 就分辨不清。

2. 荧光显微镜 (fluorescence microscope)

利用一个高发光效率的点光源（高压汞灯），以最小表面释放出最大数量的紫外光（ 365nm ）和蓝紫光（ 420nm ），经过滤色系统，作为激发光，激发标本内的荧光物质发射出各种不同颜色的荧光后，再通过物镜和目镜（石英玻璃制成）的放大进行观察，这种荧光在显微镜下很容易辨认，敏感性高，能对细胞的特定物质进行定性、定位和定量观察。

与生物学有关的荧光现象有 3 种：

- (1) 自发荧光 通过激发光使物体发出荧光，如叶绿素、维生素 A 等。
- (2) 诱发荧光 通过诱导剂作用而发的荧光，如甲醛蒸气处理可诱发细胞和组织中生物单胺类产生荧光。

(3) 荧光染料染色 荧光 吖啶橙可以对细胞 DNA、RNA 同时染色, 显示不同颜色荧光, DNA 呈绿色荧光, RNA 呈橙色荧光。荧光染料和抗体以共价键结合, 标记的抗体再与相应的抗原结合, 形成抗原抗体复合物, 经激发后发射荧光, 可以辨别有关抗原定位。

3. 相差显微镜 (phase contrast microscope)

人们在普通光学显微镜下观察被检标本时, 只能靠颜色 (光波的波长) 和亮度 (光波的振幅) 的差别看到被检物的结构。染色标本, 由于细胞各部与染料亲和力不一样, 着色程度不一样, 因而在普通光学显微镜下, 通过波长和振幅的变化即可观察标本。活细胞和未经染色的生物标本, 细胞各部的折射率和厚度相差不大, 光波通过时, 波长和振幅虽有变化, 人眼是无法加以鉴别的, 故在普通光学显微镜下很难细致地观察细胞的结构。

光波通过两种不同折射率的物质时, 其波长、振幅和相位均有不同程度的变化。相位是指在某一时间上光的波动所能达到的位置, 相位发生的差异即为相差, 相差决定于光波所通过的介质折射率与厚度的差异, 等于折射率与厚度的乘积之差。光波的相差用肉眼很难分辨, 只有利用衍射和干涉现象, 把相差变为振幅差, 即明暗之差, 肉眼才能识别, 这就是 30 年代 Zernike F. 所提出相差显微镜的原理和设计依据。

相差显微镜能够改变直射光或衍射光的相位, 并利用两者的干涉, 把相差变成振幅差。它与普通显微镜的主要区别是: 用环状光阑代替可变光阑, 用带相板的物镜代替普通物镜, 并带有一个合轴用的望远镜。环状光阑是由大小不同的环状孔形成的光阑, 它们的直径和孔宽是与不同的物镜相匹配的, 其作用是将直射光所成的像从一些衍射旁缘分出来。相板安装在物镜的后焦面处, 装有吸收光线的吸收膜和推迟相位的相位膜, 能推迟直射光线或衍射光的相位, 还有吸收光使亮度发生变化的作用。合轴望远镜用于观察调节装置, 以便环状光阑和相板的准确配合。

观察培养细胞常采用倒置相差显微镜, 它与一般相差显微镜不同的是光源和聚光器装在上方, 相差物镜装在载物台下方, 便于观察在培养瓶中贴壁生长的活细胞。

(二) 电子显微镜技术

1. 电子显微镜种类

近年来, 电镜的研究和制造有了很大的发展, 一方面分辨率不断提高, 透射电镜的点分辨率由 10nm 提高到 0.2~0.3nm, 晶格分辨率已接近 0.1nm, 已使人类能用电镜直接观察原子结构; 另一方面发展了多种电镜, 如扫描电镜、分析电镜、高压电镜、超高压电镜, 使人类能对细胞进行综合研究。

(1) 透射电镜 (transmission electron microscope) 具有和光学显微镜相似的结构系统 (见图 2-5), 不同的是由电子枪内产生的电子射线作为光源, 电磁透镜代替光学显微镜中用玻璃制成的聚光镜、物镜和目镜, 用荧光屏代替肉眼直接观察。电子显微镜的镜体结构相当复杂, 镜筒内部要求高度真空, 并要有一整套供电系统, 常用加速电压在 100kV 以下, 加速电压越高, 电子束波长越短。

电镜的成像原理和光学显微镜不同, 在电镜中, 电子射线在几万伏的加速电压作用下, 产生了短波长高能电子束, 电子束带负电荷, 具有光的波动性, 又受到电磁场的影响, 可改变其行进方向。当电磁透镜通以电流时, 线圈周围形成磁场, 从线圈中心轴某一点发出的电子, 在磁场中沿螺旋线轨迹前进, 然后会聚到中心轴的其他一点上。对于电子束来说, 磁场起着透镜的作用, 有聚焦的特性。当电子束照射到样品上时, 电子便会与样品发生多种效

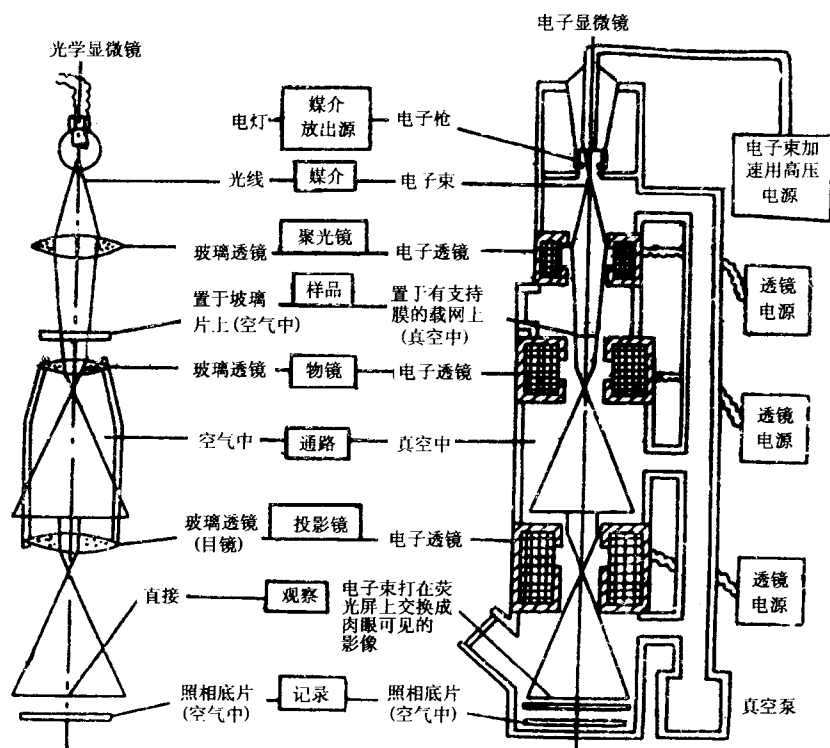


图 2-5 光学显微镜 (右) 与电子显微镜 (左) 比较图解

应, 其中一部分电子可直接透过样品, 形成透射电子及散射电子, 即透射电镜的信号来源。另一部分电子和样品中的原子发生碰撞, 形成背散射电子, 还有一部分电子照射到原子上被样品吸收, 使样品原子上的电子激化, 从样品本身发出二次电子、特征性 X 射线、俄歇电子、阴极荧光等。这些不同类型的电子如果分别加以收集, 就可以构成不同种类电子显微镜 (见图 2-6)。

透射电镜中, 电子射线在几万伏的加速电压下, 以极高的速度聚到样品上, 其中大部分电子能从原子与原子之间的空隙穿过去, 而只有极少部分的电子会与原子的原子核或原子的轨道电子发生碰撞。电子与原子核发生碰撞, 电子不损失能量, 仅改变方向, 称电子的弹性散射; 电子与轨道电子碰撞, 既改变方向, 又损失部分能量, 称电子的非弹性散射。由于物体上不同部位的结构不同, 它们散射电子的能力也各不相同, 结果使透过样品的电子束发生疏密的差别。在散射电子能力强的地方, 透过去的电子数目就少, 打在荧光屏上发出的光就弱, 显现为暗区; 散射电子弱的地方, 透过的电子数目多, 打在荧光屏上发出的光就强, 显现为亮区, 终像上就造成了有亮有暗的区域。成像电子通过样品时, 碰到原子数目越多, 散射的可能性越大; 碰到的原子核越大, 即样品的密度越大, 散射的几率也就越

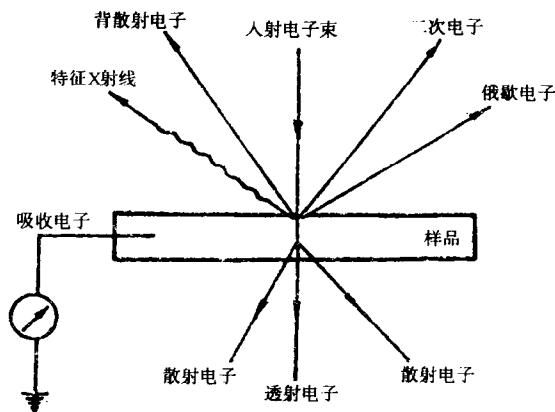


图 2-6 电子与样品发生的多种作用