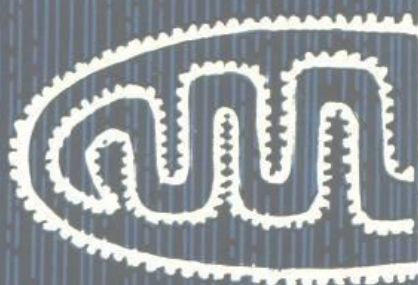


线 粒 体

——结构、功能和组装

P. A. 惠特克 著
S. M. 丹 克



科 学 出 版 社

线 粒 体

——结构、功能和组装

P. A. 惠特克 S. M. 丹克 著

林治焕 郭信奇 赵云鹏 等 译

杨福愉 林治焕 校

科 学 出 版 社

1 9 8 2

内 容 简 介

本书主要论述线粒体的结构、功能和组装。理论和技术结合,把线粒体的各个方面组织在一起以连贯的方式加以阐述,是本书的特色。

可供细胞生物学生物化学、生物物理和有关生物学工作者,以及大专院校生物系师生参考。

P. A. Whittaker and S. M. Danks
MITOCHONDRIA: STRUCTURE, FUNCTION AND
ASSEMBLY

Longman Inc., New York 1978

线 粒 体

——结构、功能和组装

P. A. 惠特克 S. M. 丹克 著
林治焕 郭倍奇 赵云鹏 等 译

杨福愉 林治焕 校

责任编辑 吴浩源

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

1982 年 7 月第 一 版 开本: 787 × 1092 1/32

1982 年 7 月第一次印刷 印张: 5 1/4

印数: 0001—4,100 字数: 114,000

统一书号: 13031 · 1917

本社书号: 2599 · 13—10

定价: 0.85 元

前 言

我们感到,现在要给大学生讲授线粒体,在教材方面还存在着空缺。现有的书要么是为“A”水平的或一年级的 大学生写的,要么就是为毕业后专门研究线粒体工作的人写的。因此,关于线粒体研究的重要概念的介绍或是显得很肤浅,或则太偏于技术性。我们希望这本书将填补这个空缺。此外,我们尽力把线粒体的所有方面都组织在一起并以连贯的方式加以介绍,使这个细胞器的结构、功能和组装能清楚地互相联系起来。

本书在正文中没有包括参考文献,但在每章的最后给出一个参考文献的目录,其中每个主题至少有一篇参考文献。这就为三年级的高年级学生甚至毕业后的工作者的阅读提供了基础。我们在叙述时还将注意实际的操作方面,即尽可能地指出和总结已使用上的较重要的研究技术。

在这里我们还想指出:当我们提到与线粒体生物发生相联系的“细胞质”(cytoplasm)或“细胞质的”(cytoplasmic)这个名词时遇到的一个特殊问题,有些作者以细胞质遗传的角度使用这些专有名词——在此情况下系指一个基因在线粒体 DNA 上的可能的定位,另方面,细胞质的核糖体系指线粒体外核糖体。我们理解细胞质系指除了核以外的细胞的其它部分,也就是说,它也应该包括线粒体在内。我们理解细胞溶液是指细胞匀浆后通过离心去掉核、线粒体、内质网和核糖体所剩下的上清液。我们试图使用合适的名词。

缩 写

AMP	腺苷-5'-一磷酸(腺一磷)
ANS	1-苯胺基-8-萘磺酸
ADP	腺苷-5'-二磷酸(腺二磷)
ATP	腺苷-5'-三磷酸(腺三磷)
ATPase	腺苷-5'-三磷酸酶(ATP 磷酸水解酶)
BR	细菌视紫质
CoA	辅酶 A
CTP	胞苷-5'-三磷酸
Cyt	细胞色素
DABS	2,5-二氨基苯磺酸
DCCD	N,N'-二环己基碳二亚胺
DNA	2,4-脱氧核糖核酸
DNP	二硝基苯酚
EC	酶委员会
ESR	电子自旋共振
ETF	电子转移黄素蛋白
FAD/FADH ₂	黄素腺嘌呤二核苷酸(氧化态/还原态)
FCCP	ρ -三氟甲氧羰酰氧苯胺
FMN/FMNH ₂	黄素单核苷酸(氧化态/还原态)
GDP	鸟苷-5'-二磷酸
GTP	鸟苷-5'-三磷酸
ITP	次黄苷-5'-三磷酸
K _d	介离常数

K _i	抑制常数
LA	硫辛酸
MI	线粒体抑制剂
M _r	相对分子质量(M_r 分子量)
mRNA	信使核糖核酸
NAD ⁺ /NADH	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(氧化态/还原态)
NADP ⁺ /NADPH	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(氧化态/还原态)
OSCP	赋予寡酶素敏感的蛋白
PFK	磷酸果糖激酶
P _i	无机磷
p. m. f	质子运动力
poly A	多聚腺苷酸
P _{Pi}	焦磷酸
RCR	呼吸控制比率
RNA	核糖核酸
SDS	十二烷基硫酸钠
TMPD	N, N, N', N'-四甲基对苯二胺
TPP	硫胺素焦磷酸
tRNA	转移核糖核酸
UTP	尿苷-5'-三磷酸
UQ/UQH ₂ (Q/QH ₂)	辅酶 Q (氧化态/还原态)

目 录

前言	v
缩写	vii
第一章 绪论	1
1.1 线粒体的分布和定位	1
1.2 结构和超微结构	4
1.3 线粒体功能的组织化	11
1.3.1 线粒体的制备	11
1.3.2 线粒体组分的定位	13
1.4 ATP 和生物功	18
进一步阅读的建议	22
第二章 线粒体的新陈代谢	24
2.1 引言	24
2.2 三羧酸循环	25
2.3 三羧酸循环的中心作用	28
2.4 回补的反应	33
2.5 三羧酸循环结构的组织化	35
2.6 尿素循环	40
2.7 脂肪酸的 β 氧化	43
2.8 线粒体新陈代谢的调节	46
2.9 线粒体中进行的其他新陈代谢反应	51
进一步阅读的建议	52
第三章 氧化磷酸化	54
3.1 引言	54

3.2 电子载体	55
3.2.1 吡啶核苷酸连接的脱氢酶	55
3.2.2 黄素蛋白	57
3.2.3 铁硫蛋白	58
3.2.4 泛醌	59
3.2.5 细胞色素类	61
3.2.6 铜	67
3.3 氧化还原电位	67
3.4 电子传递系统结构的组织化	69
3.5 呼吸链的抑制	73
3.6 氧化磷酸化的测定	76
3.7 ATP 合成与电子流的偶联	78
3.7.1 化学偶联理论	80
3.7.2 化学渗透偶联理论	82
3.7.3 构象偶联理论	88
3.7.4 偶联机制的讨论	89
3.8 腺三磷酸复合体	90
3.8.1 交换反应	92
3.8.2 分离的寡霉素敏感的 ATP 酶复合体	93
3.8.3 ATP 酶复合体的结构	94
3.9 逆转的电子流	98
3.10 NAD(P) ⁺ 转氢酶	99
进一步阅读的建议	99
第四章 跨线粒体膜的离子运转	102
4.1 引言	102
4.2 线粒体通透性的测定方法	103
4.3 运载体的类型	106
4.4 阴离子运载体	107
4.5 运载体的生物学重要性	113

4.6	还原当量转移进入基质	114
4.7	生电的运载体	116
4.7.1	谷氨酸与天门冬氨酸的交换	116
4.7.2	鸟氨酸与瓜氨酸的运转	117
4.7.3	谷氨酰胺与谷氨酸的交换	117
4.7.4	腺核苷酸的交换	118
4.8	肉碱-脂酰 CoA 的运转	118
4.9	阳离子的运转	119
4.9.1	一价阳离子	119
4.9.2	二价阳离子	120
4.10	与运载有关的蛋白质的分离	122
	进一步阅读的建议	123
第五章	线粒体的组装	126
5.1	引言	126
5.2	线粒体的细胞起源	126
5.3	线粒体的核酸和蛋白质合成	130
5.4	线粒体的突变种	136
5.5	线粒体的组装	143
5.6	线粒体遗传学	150
5.7	线粒体的进化起源	153
	进一步阅读的建议	155

第一章 绪 论

1.1 线粒体的分布和定位

生物可分为两大类，较高等的是由真核细胞组成的，它们的特征是拥有内含染色体并围有核膜的真核。另一类生物是由原核细胞组成的，它们不具备上述特点但具有由紧密聚集的一束 DNA 组成的类核，缺少分界的核膜。细菌和蓝绿藻是原核细胞——所有其它生物都是真核细胞。这两类生物除了在遗传物质的组织化方面有区别外，在结构和生物化学的一些其它特性上也还存在着差别。其中最重要的一点是真核细胞具有线粒体。正如我们将看到的，线粒体的主要功能(虽然不是唯一的)是通过氧化磷酸化过程使 ADP 和无机磷合成 ATP。原核细胞不含线粒体，氧化磷酸化在它的外周膜上或者可能在这种膜的内陷(间体)上进行。

线粒体的进化必须满足细胞合成 ATP 的能力的增长，这可能就是容许较大的细胞进化并最终形成现今的多细胞生物的关键因素之一。很清楚对线粒体的结构和功能以及它们与整个细胞的相互作用的了解对于认识真核细胞的形成是非常重要的。

真核细胞里线粒体的数目变化很大。有少数种类一个线粒体也没有。这些必然属于简单的单细胞，它们可能由于退化性的进化而失掉了线粒体。特殊的例子是缺少功能线粒体(参看第五章)的酵母小菌落变种和哺乳类的红血细胞，它们的线粒体在发育过程中退化了，绝大多数没有线粒体的这些细胞的能量是由糖酵解产生的 ATP 来供给，但在一些单细

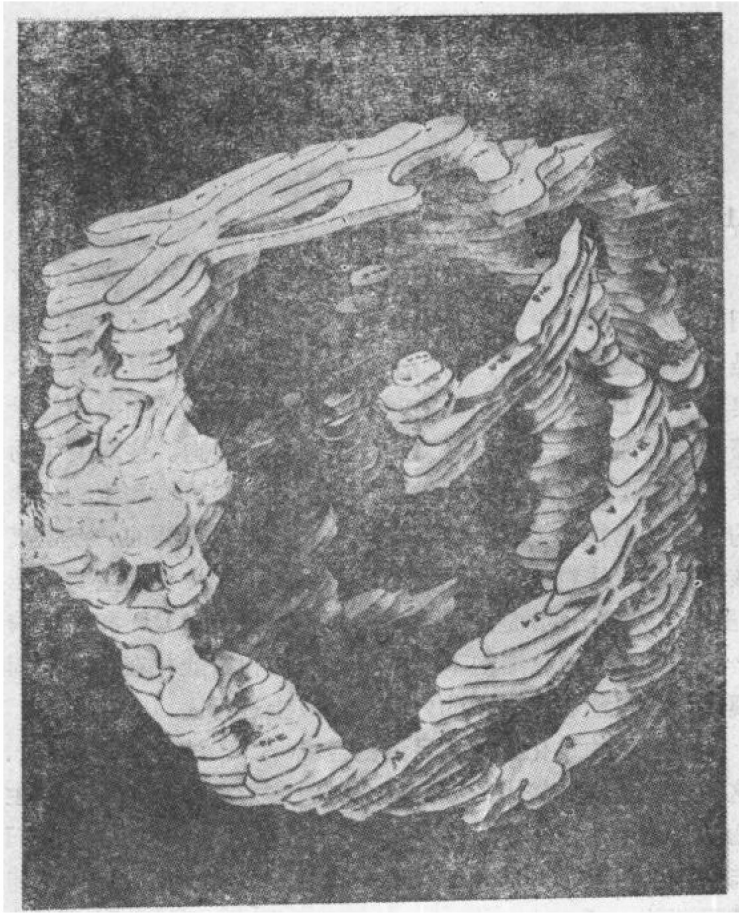


图 1.1 酵母细胞线粒体的模型,此模型是根据酵母细胞的连续切片的剖面重组而成的酵母细胞线粒体的三维图。这个模型代表一种不出芽的静止相酵母细胞的线粒体。(来自 Dr. C. Avers)

胞藻类或原生动物可能从寄生在它们的细胞质中的内共生细菌得到 ATP。线粒体数量的另一个极端是有些海胆卵能含

• 2 •

几千个线粒体。有一些种,象鞭毛藻 *Chromulina pusilla* 只含有单个线粒体,它在细胞分裂过程中一分为二。锥体虫的短膜虫(非生殖)阶段也只含有一个单个的大线粒体。最近有人提出从面包酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)的连续切片表明它只含一个单个的高度分枝的线粒体。它沿着细胞质(图1.1)的周围形成一个网状结构。看来根据细胞的生长情况这种网状结构可能多少碎裂成一些小的线粒体结构。经常从中制备线粒体以供研究工作需要的大鼠肝细胞大约含有1000个线粒体。

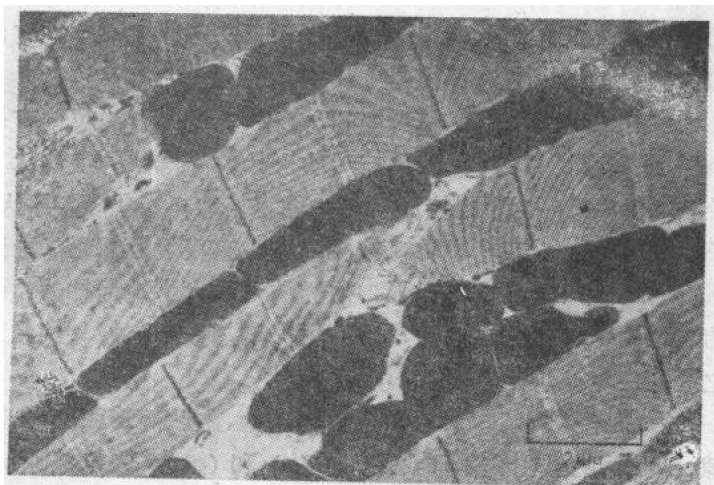


图 1.2 *Calliphora erythrocephala* (绿头苍蝇) 飞翔肌线粒体的定位。戊二醛/四氧化钨固定; 醋酸铀/柠檬酸铅染色。(来自 Dr. M. Tribe 和 Mrs. S. Webb)

必须指出,在固定的细胞中所见到的个别的特定的线粒体仅仅是它的动态的一个静止图。活细胞的相差显微镜观察显示线粒体能融合和裂解,因此很可能线粒体在细胞内的存

在只是一种暂时的连续。但也许并不都是如此,因为一些线粒体在细胞内的定位多少是固定的。可以想象线粒体经常定位于靠近需要 ATP 的地方。值得注意的是,在昆虫的飞翔肌和其它肌肉细胞中的线粒体分布在肌原纤维之间(图 1.2),精原细胞的线粒体以螺旋形围绕着它的鞭毛的基部进行分布。

1.2 结构和超微结构

在这样大小的一本书中要将线粒体结构的多样性进行详细介绍是不可能的。这一节集中介绍线粒体的一般特征并简要叙述其重要变异。这并不是说结构的变异不重要,毫无疑问,在进化过程中形成的这些差异能容许这种细胞器在它们的不同细胞环境中执行相同的功能。

线粒体的整个形状是可变的,在许多情况下线粒体有一个相当规则的从圆球状到圆柱形的形状。圆球状的线粒体直径从 0.5 到 $5\mu\text{m}$ 而圆柱形的那一种直径为 $0.2\mu\text{m}$ 或更大,长可达 $10\mu\text{m}$ 。在个别种或细胞类型中它可显示特殊的形状,诸如杯形、环状或圆盘形,这样的形状大大地增加线粒体的表面面积与体积之比值,因而可能增加细胞溶液和线粒体之间代谢物交换的可能性。

一个线粒体基本上具有双层膜结构,由此而形成两个间隙,即膜间的间隙和基质。图 1.3 (a) 和 (c) 各表示鼠肝和鼠脑垂体前叶生长细胞 (RAPS) 线粒体的电子显微图。鼠肝线粒体的电子显微图是用常规技术制备的,但 RAPS 的线粒体是依照在组织脱水和包埋时避免人为的矫作物那种方法制备的。虽然按照这后一种方法制备的线粒体的微细结构是看不清楚的,但在任一电子显微图中线粒体的主要特征都能显现出来。这就说明这些不是制备中的矫作物。图 1.3 (b) 是图 1.3 (a) 中所示的鼠肝线粒体的部分图。虽然在高

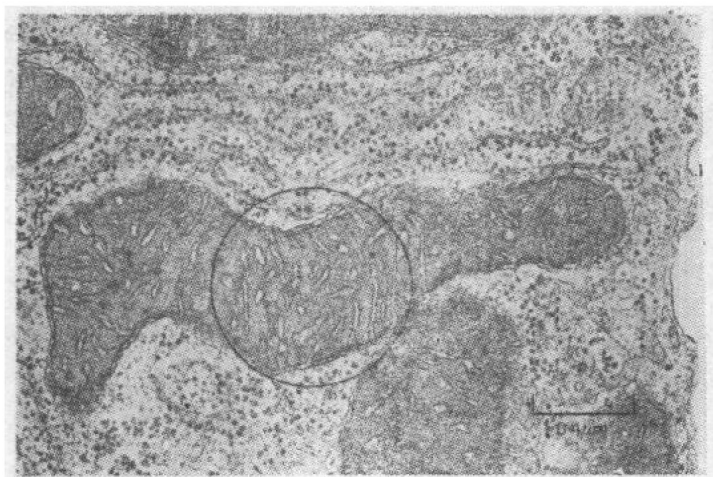


图 1.3(a) 鼠肝线粒体的电子显微图，戊二醛和四氧化铁固定，醋酸铀和柠檬酸铅染色。(来自 Dr. G. Bullock)

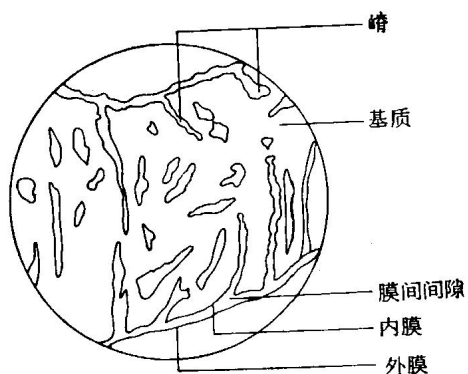


图 1.3(b) 这是图 1.3 (a) 中所表明的大鼠肝线粒体的圆圈部分的结构图解。

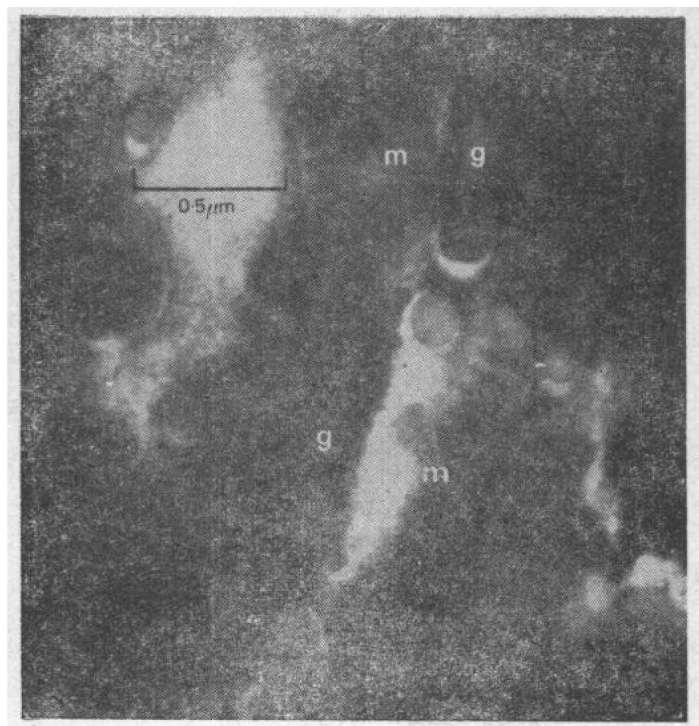


图 1.3(c) 鼠脑垂体前叶的生长细胞的一部分的冰冻切片，该组织先以戊二醛固定，然后在液氮中冰冻，在 -80°C 下切片，这一步骤可避免在组织脱水包埋过程中产生矫作物的可能性。这样制备的样品线粒体结构(m)和储藏颗粒 g 可以看得很清楚。用4%硅钨酸染色。(来自 Dr. S. Howell)

分辨力的电子显微图中线粒体外膜上有凹窝和直径大致为 $25-30 \text{ \AA}$ 的孔，但通常外膜是相当平滑而无特征的（图 1.3 d）。对照之下，绝大部分的线粒体内膜的走向是随着外膜的轮廓的，内膜在适当的位置上内陷产生一种结构，这就是线粒体嵴（更通常叫嵴），来源不同的线粒体其嵴的数量和形状有很大差别。典型的例子是高度活动的组织中的线粒体，例如

昆虫和鸟类的飞翔肌和心肌有大量紧密聚集的嵴〔图 1.4 (a)和(b)〕。另一方面,消化道的许多寄生虫的线粒体如肝蛭和绦虫,因为它们几乎在无氧环境中仅有有限的呼吸活动所以它们含有较少的嵴(图 1.5)。

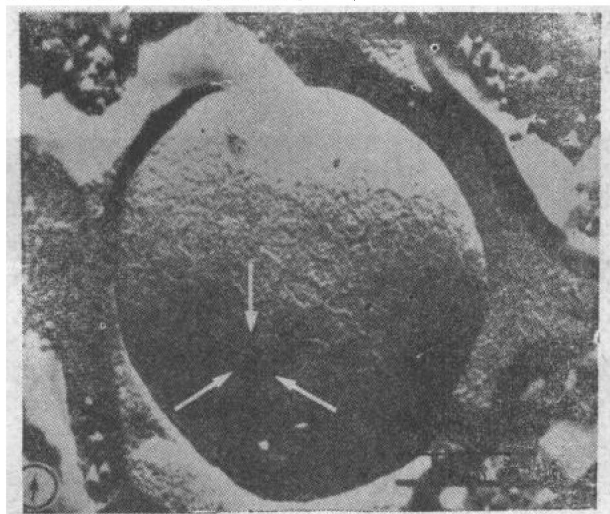


图 1.3 (d) 分离的大鼠肝线粒体的冰冻-刻蚀样品的电子显微图象,线粒体未经固定,在 -100°C 刻蚀 2 分钟,在圆圈内的箭头指示投影的方向,三个箭头指出模糊的圆形的斑块。

(来自 Dr. J. M. Wrigglesworth)

虽然在绝大多数的动物线粒体中嵴有清晰的片层结构,但在植物〔图 1.6 (a)〕和有的动物的线粒体如老鼠的肾上腺皮质〔图 1.6 (b)〕线粒体的嵴通常是更细的象指头样的突起。嵴通常横贯线粒体长轴排列,有时伸延通过线粒体短轴,有时仅部分通过,昆虫飞翔肌的线粒体的嵴含有隔膜(图 1.7),规则排列的有孔结构称为孔状排列。线粒体内膜负染的样品中(其中电子不透明的盐象磷钨酸盐的薄膜在样品的周围干燥了,而样品的未渗入部分则能被电子所穿透)内侧表

面上可看到一排间隔规则的颗粒(图 1.8 (a)一(c))。这些颗粒有时称为 **Fernandez-Moran** 颗粒(根据发明者命名)或称为由三部分组成的重复单元,即多少呈圆形的头部,一个圆柱形的柄和一个基部(3.8 节);许多工作者用不同的线粒体测量过这些颗粒的大小,在图 3.29 中所示的颗粒是一些线粒体带柄的颗粒的典型。

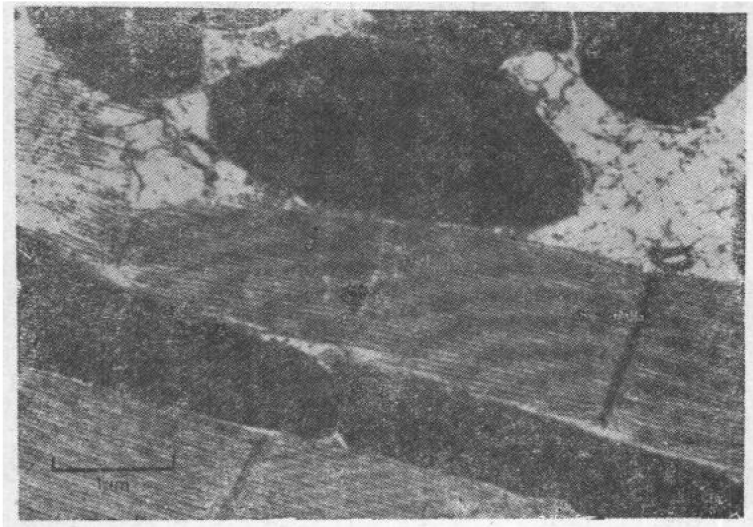


图 1.4(a) 家蝇 *Musca domestica* 飞翔肌的线粒体显示紧密聚集的脊,戊二醛/四氧化铁固定,醋酸铀/柠檬酸铅染色。
(来自 Dr. M. Tribe 和 Mrs. S. Webb)

虽然已用几种不同的负染技术证明了这些颗粒,但通常在完整的线粒体切片中是看不见它们的,因此有人曾提出它们可能是由负染所引起的矫作物。即使这种说法是可靠的(实际上并不能肯定)膜上颗粒的有规则形状和分布是位于靠近基质一侧内膜表面大分子的重复结构的一个清晰标志。