

生物超微结构

A. 恩格斯特朗

J. B. 费 宁

科学出版社

Q-336

3701

生物超微結構

A. 恩格斯特朗 著
J. B. 費 宁
叶 容 譯

科 学 出 版 社

1 9 6 6

ARNE ENGSTRÖM J. B. FINEAN
BIOLOGICAL ULTRASTRUCTURE

Academic Press Inc.

New York, 1958

内 容 简 介

“生物超微结构”研究生物分子构型和其组织方式,近年来借助于各种现代物理技术,尤其是电子显微镜和X射线衍射的应用,使这个领域有了迅速的进展。本书较全面地概括了这方面的成就,着重描述了蛋白质、脂类和核酸的超微结构,并介绍了有关的技术和仪器。本书可供一般生物学、医学、细胞学、生理学、生物化学和生物物理学研究和教学工作者参考。

生 物 超 微 结 构

A. 恩格斯特朗
J. B. 费宁 著

叶 容 译

*

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街 117 号

北京市书刊出版业营业许可证书出字第 061 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

*

1963 年 8 月第 一 版 开本:850×1168 1/32

1956 年 2 月第二次印刷 印张:9 13/16

印数:3,201—4,100 字数:256,000

统一书号:13031·1802

本社书号:2781·13—10

定价:[科七] 1.60 元

序 言

近年对生物超微結構問題的兴趣有很大增长，生物超微結構和分子結構領域給組織学、生理学、药理学、病理学、生物化学及生物物理学諸学科的研究成果提供了汇合比較的场所。虽然用經典方法曾获得很有价值的生物超微結構資料，例如偏振光显微术，特别是 W. J. Schmidt 的工作，但这一領域取得迅速进展和显著成果还是凭借現代 X 射綫晶体分析及电子显微鏡技术。若干年来有許多實驗室从事这个領域的研究，其中著名者有 W. T. Astbury 和 F. O. Schmitt 的實驗室，他們的開創性工作有力地推动了超微結構研究。

今日的一般生物学家对物理化学家所提供的精确的分子数据日益发生兴趣，特别是 L. Pauling 及其同事所提出的若干概念引起对生物大分子結構观念的革新。

这个領域的不少經典著作，象 A. Frey-Wyssling 的“原生質亚显微形态学”，是从細胞学家的观点陈述丰富的实验观察資料的。本书中我們嘗試从描述简单的单位开始，次及較大的分子，最后讲到若干生物体系的超微結構。

生物超微結構領域是非常廣闊的，不可能在象这样的入門性著作中充分討論整个領域，所以本书的主要目的是向动物学、植物学、医学直至生物化学和生物物理学的各門学科的学生及研究工作者初步介紹生物超微結構領域。在正文中我們只引証一些概要性著作，后者包含更詳尽的文献目录，在缺乏这种著作的地方則介紹一些最近最重要的文献，为了有志于深入钻研这个領域的讀者的方便，每章后面列有补充文献目录，以供进一步参考。

A. Engström 和 J. B. Finean

于斯德哥尔摩和伯明翰

目 录

序言	iii
第一章 从显微形态学到分子结构	1
組織学和細胞学途径	2
化学途径	5
生物超微结构	6
第二章 超微结构研究方法	9
一、显微术	9
1. 相差显微术	10
2. 干涉显微术	11
3. 暗視野显微术和显微灰化	17
4. 偏振光显微术	18
5. X射綫显微术	21
二、电子显微术的应用	26
1. 电子显微鏡	26
2. 标本制备	29
三、光譜学方法	40
1. 紫外綫	40
2. 紅外綫	41
3. 二向色性	45
四、X射綫衍射的应用	46
1. 晶体分析	47
2. 粉末图	54
3. 纖維图	55
4. 分散体系	55
5. 測微方法	57
第三章 分子结构原則	60
一、化合价的电子理論	60

1. 离子鍵·····	62
2. 共价鍵·····	63
3. 共振的概念·····	64
4. 氫鍵·····	66
5. 范德瓦尔斯力·····	67
二、空間排列·····	67
1. 离子半径·····	67
2. 共价半径·····	69
3. 共振对原子間距离的影响·····	71
4. 氫鍵·····	72
三、重要原子基团·····	72
四、分子聚集, 与水的相互作用·····	78
1. 水的結構·····	79
2. 液体晶体·····	80
3. 晶体結構·····	80
4. 从結晶水到眞溶液·····	84
5. 胶体溶液·····	85
6. 凝胶結構·····	88
7. 界面层·····	91
8. 非溶性单分子层·····	92
第四章 蛋白質·····	95
一、氨基酸·····	95
二、多肽鏈·····	99
三、纖維狀蛋白·····	100
1. 角蛋白和基本鏈构型·····	102
2. 表皮和皮肤結構·····	113
3. 肌球蛋白和肌肉·····	116
4. 鞭毛·····	132
5. 纖維蛋白原和纖維蛋白·····	134
6. 絲心蛋白·····	137
7. 胶原·····	140
8. 彈性硬蛋白·····	151
四、粒蛋白·····	152

1. 变性	152
2. 結晶蛋白的研究	154
3. 膨脹和收縮	164
4. 溶液中的蛋白質和它們的生物活性	165
第五章 脂类	177
一、分离的脂类分子的結構与特性	177
1. 碳氫鏈	178
2. 脂类的多晶型現象	183
3. 长鏈化合物物理特性的交替变化	184
4. 磷脂	186
5. 含碳水化合物化合物的脂类	191
6. 固醇	193
二、混合脂类体系, 与蛋白的相互作用	194
1. 髓形	194
2. 与蛋白的相互作用	195
三、天然脂蛋白	199
1. 神經的超微結構	201
2. 視網膜棒体和錐体的結構	216
3. 紅血球的超微結構	218
4. 膜結構	223
5. 粒綫体、微粒体和高尔基体	226
第六章 碳水化合物	231
一、单糖	231
二、二糖	232
三、多糖	233
1. 纖維素	233
2. 淀粉和糖原	234
3. 粘多糖	238
4. 多糖-蛋白体系	240
第七章 核酸	242
一、核酸的結構	242
1. 糖成分	242
2. 杂环碱, 嘌呤和嘧啶	242

3. 核苷·····	246
4. 单核苷酸·····	246
5. 多核苷酸·····	248
6. 核蛋白·····	253
二、病毒·····	254
1. 噬菌体·····	255
2. 植物病毒·····	256
3. 动物病毒·····	258
三、細胞核、染色体和基因·····	260
1. 細胞核·····	260
2. 染色体·····	261
3. 基因·····	264
第八章 矿物盐·····	267
一、碳酸鈣的結構·····	267
二、磷酸鈣的結構·····	267
1. 磷灰石的結構·····	268
2. 磷酸三鈣水合物和羥磷灰石·····	269
三、骨和牙·····	269
1. 总化学組成·····	269
2. 矿物盐的分布·····	270
3. 骨和牙中矿物相的性質·····	273
4. 骨和牙中顆粒的大小·····	275
5. 骨盐的表面化学·····	278
6. 骨中有机和无机成分的关系·····	279
四、骨骼外組織鈣化·····	280
1. 尿結石·····	281
2. 耳石·····	281
五、无脊椎动物的外骨骼·····	283
第九章 超微結構在生物学和医学中的地位·····	285
名詞索引·····	296

第一章 从显微形态学到分子结构

生物学家的主要任务之一是描述有生命物质的结构，而描述的精細程度密切依赖于观察方法。

单光学透镜系统的发明导致解剖学向组织学和细胞学的过渡，Robert Hooke 就是利用这个简单的光学工具首先发现和描述了细胞结构。随着光学显微镜方法的不断改进，描述更精細结构的工作也不断高涨，当然，由于观察日益精細，有待描述的结构也愈益增多。这个忠实报导机体显微形态的潮流持续通过了十九世纪中叶，并有若干次与其他学科发生联系，象 Schleiden 和 Schwann 最先了解细胞的基本作用，Virchow 把这些概念应用于病理学，从而建立细胞病理学。

虽然有这些一般联系，但大量描述性资料只是给显然是动态的结构描出一幅静态图画，大部分被描写的结构仍然未能在功能水平上加以综合，虽然对生长分化等连续阶段的精細研究也给不少设想提供了一些依据。再者，由于显微镜方法的改进而得以显示的精細结构要求有更佳的反差，为此而采用的制备步骤包括脱水、切片和染色等，换言之，形态学成为遭受过改变的结构的一幅静态图画。固定方法的发明是为了保持较粗大结构尽量接近于正常形态，但是若干被描写的细节是一些远为精細的结构，它们不能用其他方法加以检验。无疑假象是常会产生的，它们可能被认真记录下来作为某些结构特征。因此经典形态学家所详细描绘的是组织标本经过某种程度皱缩和扭曲后的图形，靠不同的形状、大小、内部构造、外部关系及对染色的不同反应来分辨无数的结构，下一步工作应该是把这些资料与活体相联系。

組織学和細胞学途径

如果要了解經典形态学的价值和限制，必須考虑到观察过程中的物理和化学因素。人眼能察觉可見光波长和強度的变化，普通显微鏡的作用只是将象放大，以便在高分辨的条件下呈現这些变化。在用光学方法研究生物体系时，一个基本的限制是組織各部分吸收光的差別极小，在新鮮組織中这主要是由于水的含量很高，但即使干組織的各部分也只表現甚小的密度差异，因此如果沒有任何特异性的波长吸收以产生顏色差別，則在普通光学显微鏡下所观察到的反差通常是很低的。克服这个缺点的方法之一是采用染色技术，这是利用組織的不同部分对某些染料的亲和力不同而在象上造成反差，这种对染料的亲和力可能是化学作用，最近細胞学技术的改进是設法利用这种作用进行化学成分的定量測定，染料的物理吸附也有助于产生顏色差异，在物理和化学因素俱起作用的地方，通常很难将二者区别开，不过單純形态学工作只需辨别組織或細胞各部分而不是一定要去探求它們的化学組成，所以能在象上造成任何反差都是有益的，因为它毕竟指示結構上的某种差异。

从單純形态学观点来看，主要缺陷倒在于为了使用染料和制备标本以适于显微鏡观察在絕大多数場合下必須將生物材料加以固定、脫水和切片，固定是为了限制脫水——生物材料的主要成分——引起的形态学結構变化以及埋藏和切片所产生的变化，已經找到多种固定方法，主要由經驗而来，方法的优劣視最終获得的图形的清晰程度而定。

近来有許多人致力于給各种固定方法奠立化学基础，設法研究固定剂中包含的各种化合物及离子与生物体系中各种类型的化学基团之間的化学反应，正是靠了这种化学反应固定才是有效的。从細胞化学的观点来看这工作是很重要的，对生物超微結構来講也是这样(后面还要討論)。但目前这方面可用的資料还太少，远不足以在化学反应的基础上深入討論显微形态学所采用的各种固

定方法。

近年来用冰冻干燥固定法保存显微结构受到重视,这在更大的程度上是一种物理方法,注重于控制组织在脱水时的物理条件。我们知道生物组织在通常脱水时所产生的许多畸变往往是由于液相在结构中移动,而且早已知道用冰冻法可使水相不能移动,再在低压下使其升华逸去,这样可以避免许多上述的畸变。经验表明在高度真空和低于一临界低温的条件下快速冰冻干燥一般可得最佳结果,但结果的好坏还随组织的性质有颇大差别。这些固定方法都是为了在埋藏、切片和随后脱除埋藏介质的各步中保存一般形态学结构,在这个阶段,用各种有机染料和金属盐等可以增进标本的反差,它们在不同程度上与形态学各部分起反应,象核酸对碱性染料(如亚甲蓝)的亲合力有利于显示含大量戊糖核酸和去氧戊糖核酸的结构,要进一步区别这两种化合物可以用 Feulgen 染色反应,它特异性地作用于去氧核糖核酸中的糖,故而在细胞核与细胞遗传学研究中被广泛利用。

异染性染色可以用于酸性多糖,但它的特异性比 Feulgen 反应低,然而加上其他一些辅助染色法,可使多糖的鉴定相当可靠。此外有许多常用的染色法,例如苏木精伊红和 Ladewig 染色法,几乎没有特异性,但它们被广泛用来增进一般的反差,因为它们与不同的细胞构造有不同程度的结合。应用这些染色技术已经得到了大量正常和病理组织的描述性资料。还应该提到所谓的浸染法,这类方法一般用来观察原纤维结构,有多例表明浸染反应强度主要决定于各形态学部分的物理细分状态,例如病理学家凭借银浸染能够区别胶原和前胶原(pre collagen),而根据化学研究知道它们都是胶原,电子显微镜图片指出二者的主要区别大概是原纤维的聚集状态不同。

如果要把这些组织学资料更具体地与组织中各基本过程相联系,那就必须付出更大努力去深入了解染色方法的化学基础,并且把这些资料与活的结构相联系。

技术的进步如相差和干涉显微术使活组织研究得到很大进

展,活組織的各結構使通过它們的輻射发生位相变化,由于人眼并不能感觉相差,相差与干涉显微术就是設法把相差轉变为強度差別,后者是人眼所能察辨的,这样就能在活材料中識別細胞細節,而其分辨率也达到了經典組織学方法的水平,活过程的观察給显微形态学增添了动态方面。在許多場合下,这种观察証实了早期組織学研究結果,无疑經典組織学方法确曾清楚辨別結構中真正存在的一些差別,但时常是通过頗严重的畸变而辨識的,被观察到的个别結構可能与活材料很少相同之点。

Abbe 和 Rayleigh 的早期工作就已清楚証明一个光学放大系統的分辨率,最后要被它所利用的輻射的波长所限制,当可見輻射的理論极限已在实践中达到后,很自然地要去探索更短波长輻射的潛在可能性。在紫外綫区内,一些实际困难把可用的波长限制在 $2500 \text{ \AA}$ 以上,但即使这样也把分辨极限大約提高了两倍,紫外綫显微鏡还有一个优点是某些細胞部分在这区内有特异性吸收,这有助于活細胞內某些物質的定位。物質对短于 $2000 \text{ \AA}$ 的輻射吸收強烈,因此必須在真空中进行工作,这个缺点在短波紫外綫和軟 X 射綫区内繼續存在,但到較硬 X 射綫(較短波长)区吸收就大为減弱,从这点講, X 射綫應該适用于显微术,但是,在提供一个能控制这种輻射并能有效地發揮其高分辨可能性的光学系統方面碰到很大困难,它的分辨率从理論上講能够接近原子綫度。此外又知道运动的电子也具有类似的短波长,而电子由于它們帶有电荷,可以在磁場和电場中很方便地加以控制,在过去廿年中迅速利用了这些因素来发展电子显微鏡。电子的成象特性要求整个光程封閉在高真空中,这排除了观察活組織的可能性,至少在要求高分辨时是如此。电子显微鏡的分辨率已接近原子綫度,但是从生物学方面講,在制备条件影响下要保存这个水平的結構是有困难的。由于这个工具的焦深很大,要达高分辨率必須用很薄的标本,一般可以这样說,复杂标本的厚度不应超过希望达到的綫分辨率值很多。

这条形态学途径現已引伸到观察分子及其相互作用的水平,

正是應該在这个水平上弄清生命过程的准确性質，用形态学图画中各特定地点发生的化学作用序列来解释这些过程，这个追溯生命过程的形态学途径扼要地列于表 1。

表 1

綫 度	名 称	結構举例	直接观察結構单位的方法
0.1毫米(100微米)以上	解剖学	器官	肉眼及单透鏡
100微米—10微米	組織学	組織	{ 各种光学显微鏡 及 X 射綫显微鏡 电子显微鏡
10微米—0.2微米(2000 Å)	細胞学	細胞, 細菌	
2000—10 Å	亚显微形态学 (超分子結構)	病毒, 細胞的組成部分	
10 Å 以下	分子及原子結構	原子排列	(不能直接观察)

化学途径

生物体系的化学分析是与形态学分类平行进展的，早期生物化学的主要工作是測定整个器官和組織的化学成分，象水、蛋白質、脂类、碳水化合物、核酸和矿物盐等成分的化学分析最早是按解剖学单位进行的。由这些研究得到的最引人注意的事实是高水含量，水差不多占活材料重量的四分之三。自从对生物組織作这种最初的化学描述以后，生化研究沿着两条主要路綫发展，其一是設法对显微鏡方法所能分辨的愈来愈細小的形态学单位进行化学描述，这条路綫发展成为組織化学和細胞化学領域，另外一条路綫是集中力量于分离和描述有生物学重要性的物質，这导致对生物体系所包含的各化学成分的深入了解，这些化学成分通过它們之間的相互作用最終产生生命活动，不过必須強調这些相互作用密切依賴于它們的生物学环境。从一大块組織中分离出来的某种化学成分可能原来只是在一个局部的形态学区域内进行活动的，因此为了将个别物質的作用更精确地定位，最近的趋势是从大标本上小心地取下愈来愈小的样品来加以研究，还有用超离心等物理方法分离出个别的形态学部分，这样可以使最后分离出来和予以描述的物质性質具有更为特定的功能意义。

将形态学可辨别的組織和細胞成分分离为若干均匀的部分以供化学研究，这类工作可为純粹組織化学和細胞化学研究增添份量，后者试图确定单个形态学結構的化学組成。标准的化学分析方法通常不适用于作为組織化学和細胞化学研究对象的那样大小的样品，已經建立起来一些特殊的分析技术，它們利用染色反应、輻射能的显微吸收、自动輻射照相术（autoradiography）、显微干涉量度术及其他特殊显微术。这些方法的一个突出优点是它們能够研究体积极小的材料（見表 2），不过被测的化学成分在这些小体积中通常应有較高的浓度。虽然这类方法能够进行很精細的分別測定，但每个化学成分定量測定的准确度通常不及适用于較大标本的标准化学分析方法。用上述方法可以进行組織和細胞的比較研究，这种研究的重点放在单个組織学或細胞学部分的化学組成上，但在应用这些方法比較不同样品时应考虑到个体差异，并且只有对每一种样品进行多次測定后才能得到一个真正有代表性的数值。

化学研究可如上述那样揭示各化学成分的性質和特性，这些化学成分应与有生命物質形态学图形中的某些位置相联系，然而，如果想要追寻化学成分作用的最終位置，則必須在組織化学方法所确定的单位內把各个分子組織起来，因为最終的作用地点就在分子自身。由化学分析測出的一些微量物質在某些特定地点也有很重要作用。

表 2

級 度	重 量	名 称
1 厘米	1 克	普通生物化学
1 毫米	1 毫克(10^{-3} 克)	显微化学
100 微米	1 微克(10^{-6} 克)	組織化学
1 微米	1 微微克(10^{-12} 克)	細胞化学

生物超微結構

假設我們現在已經把化学成分定位于各形态学单位中，超微

結構研究的目的就是把極重要的水分添加進去，並且用一定的分子組織方式去解釋這些結構的生理特性，要做到這點就必須從分子自身開始，考慮它們的荷電和空間特徵（可根據由生物體系分離出的許多化合物的大量結構數據推知），並使這些分子適合得自組織的一般參數，以便解釋其應有功能。

一般來說，生物體系的細節不能用直接的結構分析方法來研究，但由修改后的方法常能得到一些結構參數。在若干生物體系中有相當規則並且占有相當大體積的重复結構，從這種結構可以得到更詳盡的結構資料，它們給生物體系中存在的分子組織方式提供了一些可靠數據。重复結構能夠得到這樣多資料是因為對重复結構能應用那些曾用於晶體分析的方法，一般可以說這類方法對結構中分子綫度和取向能夠提供直接資料。X射綫衍射技術能夠對較簡單的無機和有機晶體甚至一些複雜晶體如青黴素進行完整的結構分析，另外還有一些技術也可以得到重复結構的資料。電子顯微鏡常能對生物體系的一些較大的重复單位進行結構參數的直接測量，當然用這個技術也能分辨單獨的一個單位，但是如果同時有不只一個單位存在，則對這種單位的識別更為可靠，測量也更為準確。結構的取向可以用不少技術加以研究，在生物體系中最先廣泛利用的是偏振光學方法，偏振光顯微鏡的使用標誌生物超微結構研究的開端，因為早期的德國科學工作者象 Ballentine 利用它找到了規則結構。以後用它進行定量測定，主要通過 W. J. Schmidt 的工作，第一次提出有關組織中分子組織方式的具体設想。偏振光研究固然可以用來考察較少量的結構，象規則的單層，而且能夠揭示相當大的結構單位如分子組纓的組織方式，但是只當它用於體積較大的重复結構時才能得到最有價值的結果。各種波長輻射吸收的研究也已獲得關於結構成分取向的有價值資料。在研究某些基團或鍵的吸收時，象對紅外線和紫外綫的吸收，如果使標本與偏振輻射的電矢量方向成不同的角度，則吸收會隨角度而改變，這時測定的二向色比（標本軸與偏振輻射電矢量平行和垂直時吸收的比例）可指示引起吸收的特定基團或鍵的取向，這些方

法得到的資料对解决結構組織問題是有用的，但这二向色比也是只在大体积的規則体系中才能察觉到，这种体系只是偶尔遇見。

虽然这种重复結構一般說来并非常規而是特例，但是由有生命物質的每一种主要分子成分組織而成的标准体系尚不难找見，在多数情况下，这种結構是一些正常組織，在其中某些結構单位以一定的方式重复延續，并以这种結構实现一定的功能，例如骨、肌肉、腱和髓鞘，但也有可能在不同种类的有生命物質中这些結構的发达程度不同，因此在研究某一特定成分时通常應該选择一个理想体系，还有一些病理状态也值得注意，这时某个特定成分往往累积到可供詳細研究的地步，这在平时是办不到的。有充分理由可以认为某种分子在各种不同体系中的表現是相似的，而且在标准体系中确立的結構原則，在其他不能直接研究的体系中也不見得会有根本的改变。最后一个要求是給这分子形态学加上动态的面貌，这样才能充分理解其功能和更新替換的意义。談到功能，重要的是各种分子組織方式的功能意义，許多形态学的不同部分常表現同一功能，要很好地研究这种功能就应把这些不同部分放在一起同时加以討論。正是由于怀有这一目的，也为了合理組織生物超微結構的實驗資料，本书拟从个别的分子成分开始来构筑复杂的生物組織，这些分子成分在其中可能有重要作用，而不采取这样的做法：先給形态学的图画，再将分子填入。

参 考 文 献

1. Frey-Wyssling, A. "Submicroscopic Morphology of Protoplasm." Elsevier, Amsterdam, 1953.
2. Hammarsten, O. "Lehrbuch der physiologischen Chemie." J. F. Bergmann, München, 1926.
3. Meyer, K. H., and Mark, H. "Makromolekulare Chemie." Akad. Verlagsges., Leipzig, 1950.
4. Robertis, E. D. P., Nowinski, W. W., and Saez, F. A., "General Cytology." Saunders, Philadelphia, 1954.
5. Suñer, A. P. "Classics of Biology." I. Pitman and Sons, London, 1955.

第二章 超微結構研究方法

一、顯 微 術

顯微術的目的是形成放大的象而盡量避免發生光學象差，Abbe 和其他人的工作早已說明光學顯微鏡的分辨率不可能超過一定極限，事實上在很早年代就已制成能充分發揮理論分辨率的光學系統。透鏡系統分辨細節的能力決定於一個光學常數，稱做數值孔径，為 Abbe 在 1873 年所採用。一個透鏡的數值孔径(NA)是進入透鏡的光錐的半角的正弦和媒質折射系數的乘積，一個包括物鏡和聚光鏡的顯微鏡，其有效 NA 是這兩個透鏡系統數值孔径的平均值，用斜照明時一個顯微鏡可達其最高分辨率，这时的分辨率極限(d)約為

$$d \cong \frac{0.61\lambda}{\frac{1}{2}(NA_{\text{OBJ}} + NA_{\text{ILL}})} \quad (1)$$

式中 λ 為光波長， NA_{OBJ} 和 NA_{ILL} 分別為物鏡和聚光鏡的數值孔径，油鏡的最大 NA 約為 1.4，用一溴化萘浸沒的特殊系統可達 1.6。

用可見光照明的顯微鏡能分辨的最細結構約為 1/4 微米。要達到這個分辨率，被檢物必須有高反差，這在生物學工作中常借染色方法得到。當不能製出更高 NA 的光學系統時，很自然地利用更短的波長進行試驗以提高分辨率。玻璃透鏡不能透過短波長，在製造紫外綫顯微鏡時必須採用石英透鏡或反射光學，利用波長 2000—3000 Å 的紫外輻射可使分辨率提高約二倍，然而紫外綫顯微鏡的主要優點倒並非是較高的分辨率，而是未經染色的生物標本對紫外綫有天然的強烈吸收（由於蛋白質和核酸的存在——見