

溶 酶 体

〔英〕 R. T. 迪安 著



科学出版社

溶 酶 体

〔英〕 R. T. 迪安 著

金传荫 译

朱 激 校

科 学 出 版 社

1 9 8 3

内 容 简 介

溶酶体是一种存在于动植物大多数细胞中的、具有界膜的囊泡，内含各种降解酶。本书对溶酶体的结构和功能作了清晰、概括的说明，并以具体例子说明溶酶体与病理失调的关系。可供大专院校生物系师生阅读，中学生物教师参考。

Roger T. Dean

LYSOSOMES

Edward Arnold, 1977

溶 酶 体

〔英〕 R. T. 迪安 著

金传荫 译

朱 激 校

责任编辑 高小琪

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

1983 年 6 月 第 一 版 开本: 787×1092 1/32

1983 年 6 月 第一次印刷 印张: 2 1/4

印数: 0001—4,900 字数: 47,000

统一书号: 13031·2265

本社书号: 3096·13—10

定 价: 0.38 元

总 序

当前要使一本教科书既能概括整个生物学领域，又能充分反映其最新成果，这已经是不再可能的了。同时，中学和大专院校的师生们还需要掌握这个学科的最新动向和了解哪些领域有了重大发展。

为了满足进一步探求这些知识的需要，几年来我们生物研究所主持编辑了这套小丛书，题目由专门编辑小组精心选定，并受到中学和大专院校师生们对这套小丛书的热情欢迎，这就表明这套书的选题范围，特别是在研究方面和观点的进展方面，以及阐述简明而内容新颖，对读者是具有实用价值的。

这套小丛书的特点是注意研究方法，并尽可能为实际工作提出建议。

作者和本研究所主管教育负责人欢迎读者批评。

生物研究所 伦 敦

前 言

溶酶体是一种存在于动植物大多数细胞中的具界膜的囊泡，内含各种降解酶。正如十余年前溶酶体的发现者德杜弗（de Duve）所料，在大多数细胞物质（如蛋白质）不断经受分解与重合成过程中，溶酶体在其分解期是重要的。它们也与破坏进入细胞的外界物质有关，这就构成了动物防御系统的主要部分，例如，抗侵入的有机体。在原生动物一类单细胞生物中，它们主要起着消化系统的作用。新近，溶酶体一系列出乎意外的作用也变得显而易见了（受控的不完全的降解，细胞内的运输与贮存，细胞外的分泌）。正由于溶酶体的酶具有破坏能力，故易于推断，溶酶体系统功能异常会带来严重后果。

本书想对溶酶体的结构与功能作一明晰的，概括性的说明，简短地指出它们与病理失调的关联。第1—5章叙述溶酶体的正常情况，第6章说明其功能，并提到几个溶酶体病理学的例子。

迪 安

1977年于伦敦

• v •

目 录

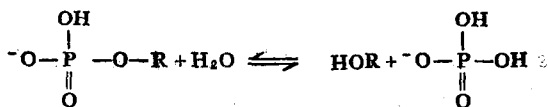
总 序	iii
前 言	v
1 溶酶体的结构与分布	1
1.1 溶酶体的发现	1
1.2 分 离	2
1.3 形 态	8
1.4 组 成	10
1.5 结 构	14
1.6 存 在	18
2 溶酶体的生理生化特性	20
2.1 稳定性与透性	20
2.2 溶酶体内的 pH 值	23
3 溶酶体的形成与变化	26
3.1 溶酶体组分的合成	26
3.2 溶酶体组分的转运及初级溶酶体的形成	27
3.3 溶酶体的转化作用	29
3.4 溶酶体内容物的胞质释放	34
3.5 溶酶体组分的降解	35
4 细胞内吞作用与外排作用	36
4.1 吞噬作用	36
4.2 胞饮作用	38
4.3 外排作用	40
5 自噬作用及物质的积累	46

5.1 自噬作用	46
5.2 积累作用	48
6 溶酶体的功能	50
6.1 细胞内吞物质的降解	50
6.2 细胞内物质的降解	53
6.3 溶酶体积累物质的作用	58
6.4 溶酶体组分的细胞外活性	60
溶酶体术语汇编	63

1 溶酶体的结构与分布

1.1 溶酶体的发现

生物化学家对于酶这种起生物催化剂功能的蛋白质，特别感兴趣。他通常遇到的主要问题之一，是他选择的酶不稳定，当他试图纯化酶，甚至还在组织匀浆状态研究酶时，酶早已不能进行催化反应了。德杜弗（Christian de Duve）在十九世纪五十年代早期碰到完全相反的问题。他将鼠肝匀浆静置，酶显著增加了活性！这酶是酸性磷酸酶，它水解几种磷酸脂，在酸性条件下作用最佳：



德杜弗并未就此为止，还查明这一缓慢的激活可以利用各种物理处理迅速产生，例如冰冻和融化，或添加去垢剂，并且这一激活伴随着酶状态的改变，由 20,000g，15 分钟离心产生沉淀，变成 100,000g，1 小时离心也不产生沉淀。德杜弗推测酸性磷酸酶最初包含在可沉淀颗粒的连续膜内。匀浆中酶活性一般很低，是因为颗粒里面的酶不能接近添加于颗粒外溶液中的底物（磷酸酯）（此时酶被称为“潜伏的”），但当静置后或因冰冻和溶化，膜逐渐破裂时，酶得以接近底物，于是活性增加。所以酶的潜伏状态是“与结构关联的”，有赖于溶酶体膜的完整（图 1-1）。德杜弗在弄清这些颗粒的沉降特性与已知的细胞实体（见 1.2）截然不同之后，提出

把这些颗粒称为“溶酶体”，它是酸性水解酶的唯一场所。

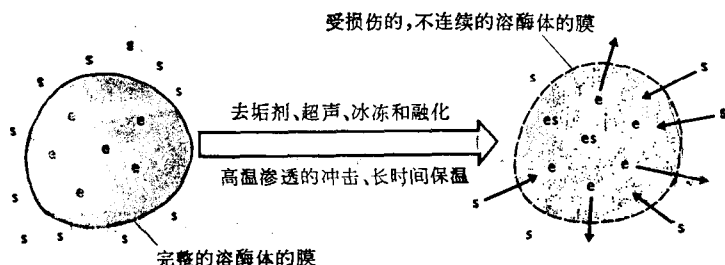


图 1-1 溶酶体酶的潜伏。在正常溶酶体内，完整的膜既防止底物 (s) (如磷酸酯、核酸、蛋白质、糖苷) 进入溶酶体内，也防止溶酶体的酶 (e) 逸出至溶酶体外。所以，除非膜为上述方法之一所破裂，酶活性便难于检测。

这一术语是按意思选定的，溶酶体 (Lysosomes) 的酶是水解 (hydrolyse) 底物的，它们包含在这些颗粒 (小体) (somes 来自希腊语 *soma*) 之中。由于溶酶体水解酶潜在的危险的特性，很明显，必须将它们分隔开，从而让它们受控制地接触细胞物质。确实，当用实验处理使细胞内溶酶体破裂时，细胞的死亡便接踵而来。然而，溶酶体远非“自杀袋”，在某些方面已广泛地这样认为：它们是“被囚禁的”，这并无贬意！1974年授予德杜弗诺贝尔奖金，以褒奖他发现溶酶体以及继后对这些及其它细胞结构的研究。在丁格尔 (Dingle) 及其同事所编辑的关于溶酶体的丛书的第一本中，德杜弗对这一领域早期的进展作了令人喜爱的叙述。

1.2 分离

尽管德杜弗在1960年以前利用离心技术已能显示溶酶体

是特殊的颗粒，而且溶酶体的酶除了酸性磷酸酶外，还有几种在酸性时活性最高的水解酶，但他并未获得纯的溶酶体。

在不损害的条件下分离细胞器的一般问题，已在以前几卷书中讨论过（第9及31卷）。其中的一些困难是：如何破坏细胞而不破坏所需要的细胞器，将细胞器移出正常的细胞环境后，如何仍保持细胞器的完整，如何将细胞器彼此分开。到目前为止，我们已经有了—些好主意，能很好地做到前两点，尽管没有一个方法能说是理想的。就溶酶体而言，如何将其与其它细胞器分开，仍然是一个棘手的问题。

离心技术能否成功，主要取决于被分离的颗粒在大小或密度上的区别，或二者均有不同。不幸在这两方面，溶酶体都与线粒体相似，在大多数细胞中线粒体又相当多。德杜弗1955年用于鉴别溶酶体的差速离心方案示于图1-2中，它说明了线粒体与溶酶体相似的行为。

然而溶酶体的某些特征性的功能，能用来改变其离心时的行为，从而使它们与线粒体（以及其它结构）完全分开。例如，将在第四章中讨论，某些物质能在吞噬作用过程中进入细胞，在细胞中被裹于具界膜的小泡中，这些小泡又与溶酶体融合。如果这些物质具有很低或很高的密度，那么它们在溶酶体中积累，必定改变溶酶体的密度，足以使其与线粒体相区别。这样，只要在密度梯度（常用蔗糖）下离心到平衡，便能分开线粒体与改变了的溶酶体，从而得到纯溶酶体（图1-3和1-4）。反过来，现在也有改变线粒体密度的方法来达到同一目的。溶酶体表现出物理和化学上的多样性（如图1-6和1-7），所以任何一个纯化的溶酶体分部未必能完全代表溶酶体系统。某些酶学标准结合形态学的检查，用来鉴定分离物的纯度，图示于图1-5，该图描述了鼠肝溶酶体特殊的制备法。

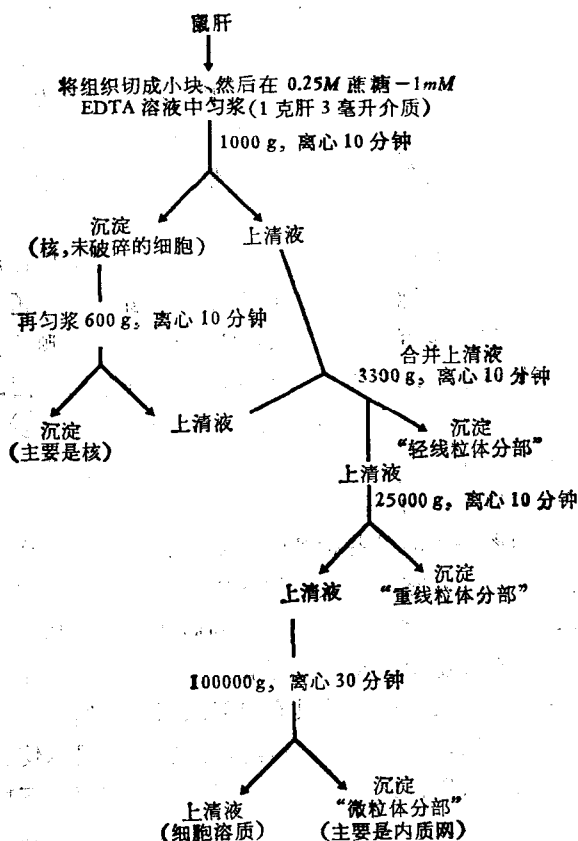


图 1-2 用差速离心方法部分纯化的鼠肝亚细胞组分。0.25M 蔗糖提供渗透保护（见本文），而EDTA（乙二胺四醋酸）的钠盐隔绝那些使某些酶被抑制或不稳定的痕量金属。所有操作在 4℃ 进行。所谓“轻”的和“重”的线粒体分部指的是获得的两个分部，都主要由线粒体组成。前一个分部含溶酶体的比率比较高，这就达到了溶酶体的部分纯化，这一分部常用来作进一步纯化。

胶体铁（山梨糖醇柠檬酸铁络合物，AB Astra, Sweden），
用盐水1:1稀释。给150—200克雄鼠肌注，3周中注射15次，
总量达50毫克 Fe^{+++} /100克体重，杀死前饥饿15小时

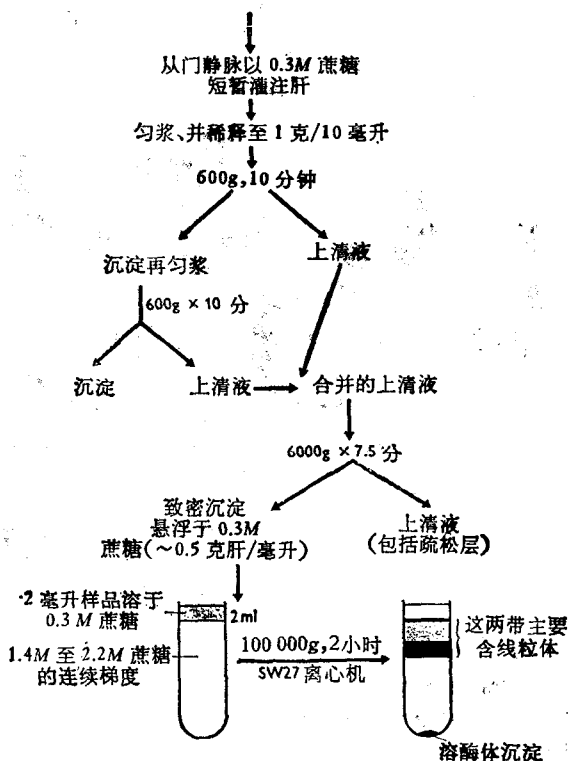


图 1-3 分离载有胶体铁的鼠肝溶酶体。

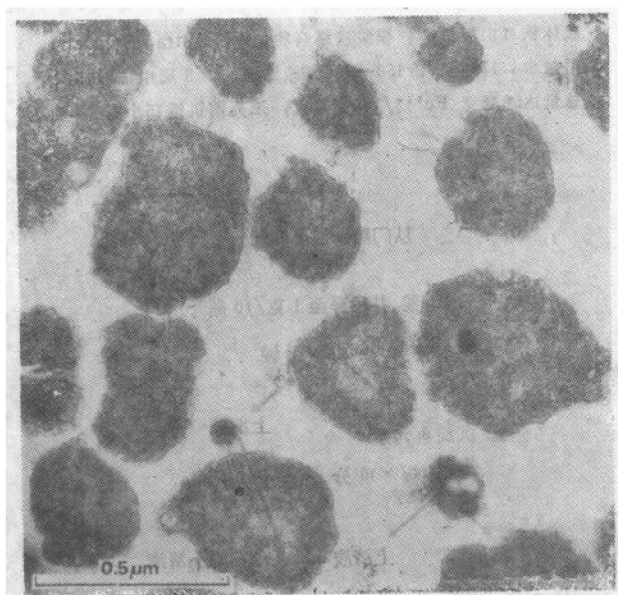


图 1-4 纯化的载铁溶酶体。溶酶体显现出各种形状和很不规则的膜轮廓。没有线粒体之类污染细胞器显现。

成 分 (代表细胞器)	整个程序中 的复现率 %	溶酶体分部 中的收率 %	溶酶体分部 中的相对比 活	对溶酶体分部蛋 白质的可能影响 %
蛋白质	100.5	0.34	1	
酸性磷酸酶 (溶酶体)	103.0	11	33	
芳基硫酸酯酶 (溶酶体)	112.0	12	33	
组织蛋白酶D (溶酶体)	107.0	13	35	
NADPH-细胞色素C 还原酶 (微粒体)	未给出	0.007	0.022	0.5
琥珀酸-细胞色素C 还原酶 (线粒体)	未给出	0.033	0.091	1.8
D-氨基酸氧化酶 (过氧化物酶体)	未给出	0.23	0.615	1.5
总计污染				≥3.8

图 1-5 鼠肝纯化的载铁溶酶体的特点

纯化的重要生化指标如下：在整个操作程序中，酶和蛋白质的总复现率应该是确定的，而且如果能作出有意义的解释，复现率应在90—110%之间。大于100%的复现率常常说明酶与抑制剂分离，反之，低的复现率通常表明酶不稳定。显然，溶酶体分部中没有不稳定的线粒体的酶存在，并不是不存在线粒体的令人满意的证明。只有证明已知细胞器特异性的稳定的酶不存在，而且哪儿也不复现，方可声称溶酶体制备物消除了有关细胞器的污染。通常用分部中酶的相对比活来表示这一情况：比活是每单位蛋白质的活性。而相对比活是分部中与匀浆中比活的比值。因此，在溶酶体的制备物中，要求溶酶体的酶显示高的相对比活值（三个数据标明如上），而要求其它细胞器的酶显示低的相对比活值（三个数据标明如上）。这一资料还可用来估计每一细胞器可能提供的污染蛋白质的总量。在这一表中，可以见到污染仅占溶酶体分部蛋白质的4%左右。然而这一资料有两个缺点，首先，没有考虑细胞膜的“标记”酶，故质膜的污染程度不知道。其次，非溶酶体结构的三个酶的总复现率未给出。

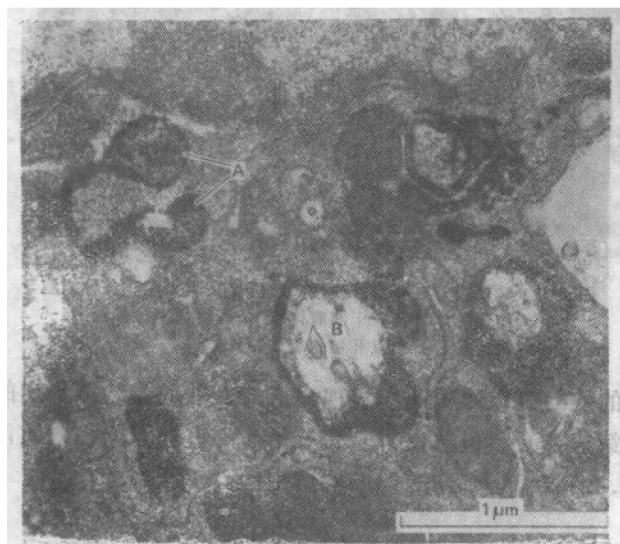


图 1-6 溶酶体的自体吞噬作用与形态的异质性。皮下注射了过氧化物酶的小鼠皮下巨细胞组织切片，已进行酸性磷酸酶染色。一个溶酶体显然“正在包裹”一些细胞物质(A)，在单膜内的整个基质具有酶活性。可能是这种包裹过程产物的另一个溶酶体(B)的酸性磷酸酶，仅在一对膜之间看到，其内层将终究被降解，允许溶酶体的酶进入，以作用于包裹的底物。还可见几个其它的溶酶体。

现已弄清，正如德杜弗所料，大部分酸性水解酶几乎完全限制在溶酶体内。 β -葡萄糖苷酸酶是个值得注意的例外，在大多数类型的细胞的内质网中，表现出显著的活性。溶酶体

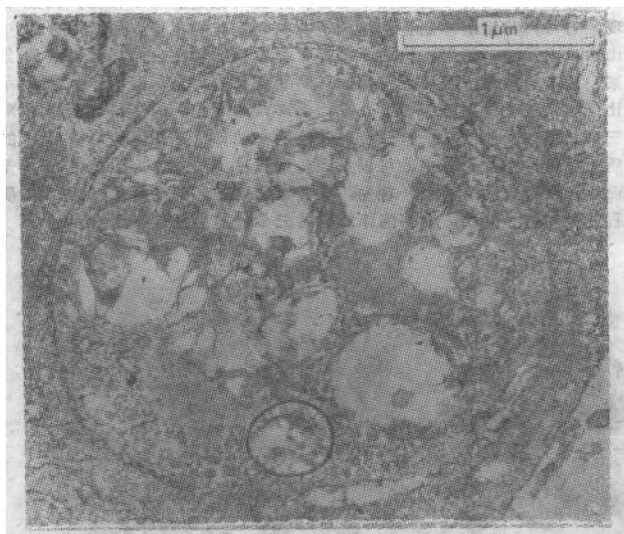


图 1-7 具二膜的自噬泡，酸性磷酸酶仅在膜之间。各种细胞的膜的片断存在于溶酶体膜内，即将被消化。经图1-6所述处理的小鼠肝细胞组织切片。

其它的酶的确在内质网上显现出低的、然而检测得出的活性（第五章），但这或许仅仅是由于那些在粗糙型内质网上合成，而将输送到溶酶体的酶所引起。

1.3 形态

在组织切片的电镜照片中，可以看到很多异质的具有单膜的细胞质液泡，它们与线粒体显然大不一样，也与具有结晶内含物的小液泡（过氧化物酶体）显然不同。其中很多是

溶酶体，但只有用酶染色法才能对它们作最后的鉴别（这类切片的例子见图1-6和1-7）。

原先常常使用酸性磷酸酶，现在有几种其它的酸性水解酶的活性也能在光学显微镜和电子显微镜下显现出来。对几种酶而言，难于找到特异性的底物，以确凿地显示出酶的位置，因为其它的酶也能转化这些底物。因此，溶酶体酶的免疫学定位技术就日益重要了。这些技术有赖于这样一个事实：当外来的分子注射给高等动物，如人的身体时，动物就会合成一种分子（称为抗体），其随血液循环，能与注射的

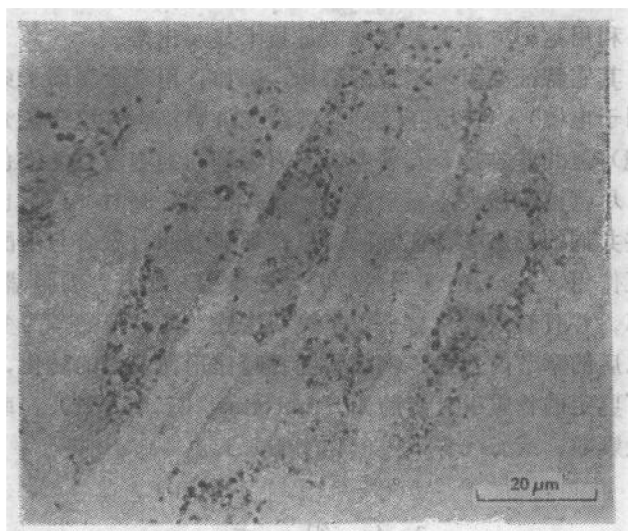


图 1-8 兔成纤维细胞组织蛋白酶D的定位。酶的位置用双抗体技术显现，固定的细胞首先加羊的抗体保温，羊抗体是由抗兔组织蛋白酶D的特异抗血清制备的，然后加猪抗体及辣根过氧化物酶，猪抗体是由抗羊IgG的抗血清制备的。洗涤后，细胞经过氧化物酶的作用，置明视野显微镜下镜检。染上色的颗粒显现出来，标明了溶酶体的组织蛋白酶的分布。n示核。

分子起特异性的反应，但不与别的分子反应。这就形成了动物抗外来物质以及抗外来有机体（如细菌）的正常保护机制。这一所谓“免疫反应”，在医学上用于产生抗病的保护作用（利用接种），它也用在科学上。如果注射单一物质，则抗体将仅仅与这种物质反应。这种对溶酶体的酶特异的抗体是能获得的（经过一定的努力！），如果某种显色物质或电子吸收物质能与这种抗体在化学上亲合，这种结合就可以用光学显微镜（用显色物质）或用电子显微镜（用电子吸收物质）作溶酶体酶的定位。图 1-8 表明兔成纤维细胞溶酶体的蛋白酶（见 1.4），组织蛋白酶D的定位，在光学显微镜下，利用这一方法更灵敏的改进技术显示出来。

其它特征亦用来鉴定溶酶体，例如，用重金属离子染色（用于电镜），或用吖啶橙之类荧光染料染色（用于荧光显微镜）但并非总是令人满意的，因为别的细胞器也能染色。

尽管溶酶体大小、形态多种多样（图1-6和1-7），也还有些共同的形态学特征：膜〔以及那些能通过融合与溶酶体相互作用（3.4）的细胞器的膜，如质膜〕比其它细胞器的膜厚，并且膜内经常有一电子透明区域。几种形态学的变化在以后的章节内叙述，例如紧随吞噬作用而发生的转化，能将可鉴定的物质引入溶酶体〔thorotrast（二氧化钍），或胶体金颗粒，或酶（辣根过氧化物酶）〕。

1.4 组 成

虽然已经搞清，某些类型的细胞的溶酶体含有一些特化的酶，但大多数动物细胞具有一系列共同的、各式各样的溶酶体的酶，几乎全为水解酶。已知在一类或几类细胞的溶酶体中，存在约60种酶，就是蛋白酶类、糖苷酶类、核酸酶