

上海普通高校“九五”重点教材



# 细胞超微结构与电镜技术

——分子细胞生物学基础

主编 凌诒萍 俞 彰

AOWEIJIEGOU YU DIANJINGJISHU



上海医科大学出版社

**图书在版编目(CIP)数据**

细胞超微结构与电镜技术/凌诒萍,俞 彰主编.-上海:  
上海医科大学出版社,2000.8

ISBN 7-5627-0563-1

I. 细... II. ①凌...②俞... III. ①细胞内含物-  
超微结构②细胞-电子显微术 IV. Q248

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 19755 号

**责任编辑 沈彬源**

**责任校对 蓝 申**

**细胞超微结构与电镜技术**

——分子细胞生物学基础

主编 凌诒萍 俞 彰

---

上海医科大学出版社出版发行

上海市医学院路 138 号

邮政编码 200032

新华书店上海发行所经销

上海译文印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 8.5 插页 2 字数 206 000

2000 年 8 月第 1 版 2000 年 8 月第 1 次印刷

印数 1-3000

---

ISBN 7-5627-0563-1/R·532

---

定价: 21.00 元

如遇印、装质量问题,请直接与印刷厂联系调换

(地址:上海共和新路纪蕴路 14 号 邮编:200435)

主 编 凌诒萍 俞 彰

编 者 (按姓氏笔画排列)

毛明珍	刘 懿	江家婉
吴正泉	沈 强	周武雄
法 京	柳晓慧	钟慈声
俞 彰	俞永富	凌诒萍

# 前 言

编者于 1990 年编写了《细胞超微结构——分子细胞生物学基础》讲义,主要用于本科生的教学,也作为研究生学位课程的参考教材,并于 1996 年修订后再版。多年来的教学实践证明,学生对微观世界的认识有着非常迫切的要求,尤其对能看到的细胞形态结构与细胞的功能相联系的学习有着更浓厚的兴趣。近年来随着细胞超微结构的研究不断深入以及电镜技术的发展,考虑到学生对这方面知识的渴求,有必要在原有的基础上将讲义进行修改和补充,重新编写了这本教材,以适应 21 世纪教学的需要。

在本教材中编者除了将最新的细胞超微结构及其与细胞功能关系的知识加入各章节外,还补充了各细胞器的电镜照片,又增加了详细介绍各项电镜技术和探针显微镜术的基本原理及常规制样的具体方法一章。内容中既介绍了国内外的先进技术,也介绍了编者实验室组建 35 年以来开展各项电镜技术宝贵的经验积累。细胞超微结构图像的获得,与各项电镜技术是不可分割的,学生学习了各项电镜技术后,无疑对细胞的结构和功能的认识会更加深入、全面。

本教材除可用于临床医学、生物学等专业的本科生和研究生教学外,对拟以细胞超微结构为基础进行研究工作的医学科研人员来说也是一本有用的入门参考书。

本教材中不妥之处望同道与读者给予批评指正,以便在今后修订时加以完善。

凌诒萍

2000 年 3 月

# 目 录

<b>第一章 绪论</b> .....	( 1 )
一、细胞超微结构的分子细胞生物学基础 .....	( 1 )
二、细胞超微结构的研究内容 .....	( 2 )
三、显微镜分辨率与形态研究的关系 .....	( 8 )
四、细胞超微结构和电子显微术 .....	( 9 )
五、细胞超微结构研究的展望 .....	( 9 )
<b>第二章 细胞超微结构——分子细胞生物学基础</b> .....	( 11 )
<b>第一节 质膜</b> .....	( 11 )
一、质膜的化学组成及分子结构 .....	( 11 )
二、质膜的通透性和物质的跨膜运输 .....	( 15 )
三、质膜的特化结构和功能 .....	( 22 )
<b>第二节 核糖体和内质网</b> .....	( 28 )
一、核糖体 .....	( 28 )
二、内质网 .....	( 29 )
<b>第三节 高尔基体</b> .....	( 34 )
一、高尔基体的形态 .....	( 35 )
二、高尔基体的化学性质 .....	( 37 )
三、高尔基体的功能 .....	( 38 )
<b>第四节 线粒体</b> .....	( 40 )
一、线粒体的超微结构 .....	( 40 )
二、线粒体的功能 .....	( 42 )
三、线粒体的生物合成 .....	( 46 )
<b>第五节 溶酶体</b> .....	( 49 )
一、对溶酶体认识的历史进展 .....	( 49 )
二、溶酶体的特征 .....	( 49 )
三、溶酶体的功能 .....	( 50 )
四、溶酶体的类型 .....	( 53 )
五、溶酶体缺陷引起的疾病 .....	( 54 )
<b>第六节 细胞骨架</b> .....	( 54 )



一、微丝·····	( 54 )
二、微管·····	( 57 )
三、中间丝·····	( 59 )
<b>第七节 细胞核</b> ·····	( 60 )
一、核内各成分的形态结构·····	( 60 )
二、核仁·····	( 68 )
三、核膜·····	( 69 )

### **第三章 电子显微术**····· ( 72 )

#### **第一节 透射电子显微术**····· ( 72 )

一、透射电子显微镜的基本结构和原理·····	( 72 )
二、透射电子显微镜生物样品制备技术·····	( 78 )

#### **第二节 扫描电子显微术**····· ( 88 )

一、扫描电子显微镜的发展及其特点·····	( 88 )
二、扫描电子显微镜的基本结构和原理·····	( 89 )
三、扫描电子显微镜生物样品制备技术·····	( 90 )

#### **第三节 电子显微镜细胞化学术**····· ( 97 )

一、特殊染色术·····	( 97 )
二、电镜放射自显影术·····	( 97 )
三、电镜酶细胞化学术·····	( 98 )
四、免疫细胞化学术·····	( 100 )

#### **第四节 低温制样和冷冻蚀刻术**····· ( 103 )

一、低温制样·····	( 103 )
二、冷冻蚀刻术·····	( 105 )
三、冷冻蚀刻图像解释·····	( 108 )

#### **第五节 电镜 X 线显微分析术和超高压电子显微术**····· ( 110 )

一、电镜 X 线显微分析术·····	( 110 )
二、超高压电子显微术·····	( 119 )

#### **第六节 扫描探针显微术**····· ( 120 )

一、简介·····	( 120 )
二、扫描探针显微镜的基本原理·····	( 121 )
三、扫描探针显微镜的基本结构·····	( 122 )
四、扫描探针显微镜在生物医学领域的应用·····	( 123 )

## 一、细胞超微结构的分子细胞生物学基础

自从 1932 年德国的诺尔(Knoll)和腊斯卡(Ruska)建造了第一台电子显微镜以来,细胞学的研究又进入到一个新的阶段,人们在电子显微镜下清楚地观察到一些细胞内的结构或称之为小于细胞的结构甚至一些分子结构,因而发展了细胞超微结构的研究。目前对介于细胞水平和大分子水平之间的结构,一般地称为“亚显微镜结构”(submicroscopic structure)(简称“亚微结构”)或“亚细胞结构”(subcellular structure),也称“细微结构”(fine structure)。而“超微结构”(ultrastructure)一词,严格地讲是指分子水平的结构。但目前一般书刊上所称的亚微结构、亚细胞结构、细微结构和超微结构,并无严格的界限,往往将普通光镜分辨界限以下的结构笼统地称之为超微结构。本书也是按这种意义采用超微结构这一名词的。

细胞是所有生物体结构、功能和发育生长的基本单位,无论人类、动、植物或单细胞生物(如细菌)都由细胞组成。在多细胞的机体中,每个细胞在某些功能上既是独立的又是互相依赖的,然而细胞生命现象的物质基础又在于生物大分子。生物大分子中主要包括蛋白质、核酸、糖类、脂类以及它们的复合体,它既负责生命活动的不停运行,又保证了生物体的世代遗传。所有生物功能都依赖于生物大分子的调控,这些大分子可被视为完成各种具体功能的机器。一个细胞即可视为各种大分子精巧组装的复合机器:DNA 与组蛋白构成了染色质,细胞核中的为数众多的非组蛋白又与染色质之间形成复杂的功能联系;细胞质内 mRNA、rRNA 及 tRNA 相互配合进行着蛋白质合成,进而再给以加工、修饰、运输;由类脂质及蛋白质共同组成的流动镶嵌的联系,将细胞分割成许多功能区域;位于细胞边界的质膜,更承担着物质通透、内吞、外吐及信息传递等重要功能。

研究细胞的形态结构、功能和发育的科学称为细胞生物学(cell biology),早在 1665 年,英国人 Hooke 及 1674 年荷兰人 Leeuwenhoek 就分别用简陋的显微镜发现了细胞。到了 19 世纪 30 年代,德国科学家 Schleiden 及 Schwann 分别断定一切动、植物都由细胞组成,提出了细胞学说(cell theory)。细胞学说的建立可以认为是细胞生物学的起点,它打开了进入生物微观世界的大门,随后的 100 余年细胞生物学的研究集中于对细胞形态结构的观察,由于技术的局限,不少研究仅仅停留于单纯的形态描述和孤立的静止观察。20 世纪 30 年代以后,大量的物理和化学技术引入生命科学的研究领域,同时物理学家、生化学家、遗传学家及微生物学家共同研究建立了分子生物学这一新兴学科,并使这一学科向细胞生物学中渗透,使细胞生物学的研究得到深化和发展。在此基础上利用分子细胞生物学的研究成果对细胞及细胞器的结构和功能进行分析和深入探讨就成为本课程的中心内容。

## 二、细胞超微结构的研究内容

电子显微镜问世以后才有条件对小于细胞的结构进行观察和研究,其中包括生物大分子、病毒、原核细胞和真核细胞及其细胞器。由于电镜技术的发展,在上述各方面都取得不少可喜的成绩。

### 1. 核酸和蛋白质

核酸的形态研究显示 DNA 分子在碱基对(bp)水平上的结构,在扫描隧道显微镜下已观察到 DNA 分子的每个螺距(约 2.7 nm)含 10 个 bp,应用电镜暗场成像原理,能分辨出 DNA 分子中相当于 10 bp(3 nm)的螺旋。应用电镜负染技术可观察到线形或环形 DNA 分子的外貌。

对于蛋白质分子,经过分离后的蛋白质分子可应用电镜负染技术观察到蛋白分子的外形。目前还可采用电子晶体学技术在电镜下,观察蛋白质分子的晶体像。在相对分子质量(分子量)为  $10^6 \sim 10^9$  的高纯度的生物大分子或大分子集合体都能用低温电镜技术和三维重构法进行分子的结构研究。所能达到的分辨率取决于样品颗粒所具有的对称性程度。对于螺旋对称的样品,例如烟草花叶病毒、F-actin 等,其结构测定的分辨率目前已达 0.9 nm。二十面体对称的球状病毒颗粒结构的三维像重构的研究,是当前蛋白质电子晶体学的热点之一,迄今已有数十种病毒的结构被测定。这类研究可以获得病毒衣壳的形态、核酸的构建、形态发生以及病毒-抗体和病毒-受体等复合物的结构等信息,这类研究的分辨率通常可达约 2.5~4 nm。我国的电子显微工作者在蛋白质电子晶体的研究中也获得很大的成就,如对从巨大芽胞杆菌中分离的青霉素酰化酶的研究,这种蛋白质分子经纯化后,用常规的 SDS-PAGE 法测定该酶亚基相对分子质量,两个亚基的相对分子质量分别为 20 500 和 6 000,在适当条件下使这种青霉素酰化酶结晶,用 1% 醋酸铀负染,可在放大率为 4.5 万倍时摄下各晶面的电子显微像,再经过傅立叶变换和计算机处理而获得单晶胞的晶面平均像,并可测出晶面参数分别为:晶格边长  $a = 4.3 \text{ nm}$ ,  $b = 13.8 \text{ nm}$ ,  $c = 9.5 \text{ nm}$ ;各主轴夹角  $\alpha = \gamma = 90^\circ$ ,  $\beta = 81^\circ$ ;每个单晶胞体积为  $564 \text{ nm}^3$ 。

### 2. 病毒

病毒是一类非细胞生物,是以微小颗粒形式存在,称病毒颗粒或称病毒粒子(virion)。其化学组成主要是核酸和蛋白质,但其结构是极其多样的。单个病毒粒子一般只有数十至一二百纳米(100~200 nm),最大的牛病毒也只有 300 nm 左右。电子显微镜的出现对于这样小的颗粒,才可进行观察,目前在电镜下已能看到病毒粒子的完整大小和形状,就是其内部结构也可有所了解。病毒通常都有核酸位于中心,外面包有壳膜(capsid)。有些病毒在壳膜外面还包有一层来自宿主细胞膜而又被改造成具有病毒抗原特点的膜结构,称为包膜(envelope)。大多数病毒颗粒可根据它们壳膜的构造分为螺旋形和多面体两类,而许多噬菌体则有一个多面体的头部连接着一个螺旋形的尾部。在电镜下可见壳膜是由一些更小的亚单位组成称为壳粒或称子粒(capsomer),其化学成分是核蛋白。

1) 螺旋形病毒的粒子:这种病毒粒子中最具代表性的和研究得最多的是烟草花叶病毒。图 1-1 是它的构造示意图,无数子粒很有规律地排列呈螺旋状构成病毒的壳膜,中央形成的沟槽中有单股的 RNA 分子,完整的病毒粒子为杆状结构。壳膜约含有 2 000 个完全相同的子粒。也有另外一些病毒螺旋形的壳膜是不规则盘绕在包膜内的,如腮腺炎病毒。



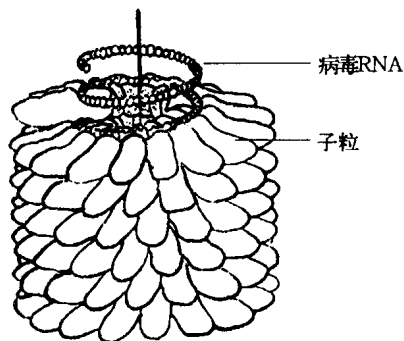


图 1-1 烟草花叶病毒构造示意图

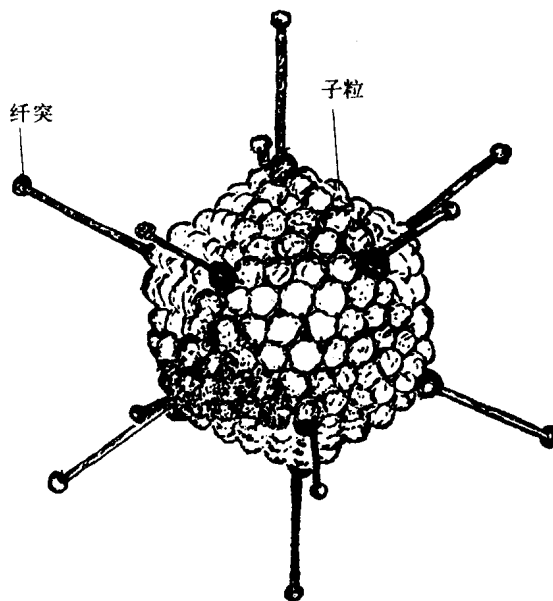


图 1-2 腺病毒模式图

2) 多面体病毒粒子:这种病毒粒子的核酸是以尚未知的方式集装在一个空心的多面体的头部内的。大多数壳膜是一种规则的二十面体,有 12 个角,20 个三角形和 30 条边,典型的如腺病毒,图 1-2 是它的模式图。其子粒在壳膜上的排列,相互间有着特定的关系,最多见的有两种关系,在其 12 个顶角上的子粒周围有 5 个邻近的子粒,称五邻体(pentamer)。其余子粒周围都有 6 个邻近的子粒,称为六邻体(hexamer)。另外腺病毒以及其他部分病毒在壳膜的顶角上可见有细长的尖端带有圆球的突起,称为纤突(projection)是病毒的吸附器官,它具有抗原性。

3) 噬菌体颗粒:它们是结构最复杂的病毒,图 1-3 是枯草杆菌噬菌体的模式图。噬菌体不仅仅具有一个二十面体的、含有核酸的头部,而且还有一个无核酸的“尾巴”。这尾巴本身也是一个相当复杂的结构,包括可收缩的尾鞘、起吸附作用的尾丝和尾刺等(图 1-3)。一旦尾丝吸附到宿主细胞上时,尾鞘便收缩,迫使尾刺穿过细胞壁,尖端到达细胞膜时,噬菌体头部 DNA 便注入宿主细胞。病毒核酸能提供病毒合成必需的全部遗传信息,指导被感染的细胞合成新的病毒粒子。

病毒的核酸是包含在病毒粒子中,其核酸类型随病毒种类而异。大多数病毒含有双股的 DNA 或单股的 RNA,有些病毒如大肠杆菌噬菌体 fd 只有单股的 DNA,而呼肠病毒等的核酸为双股 RNA。

同一种病毒的核酸是恒定的,但在不同病毒中其

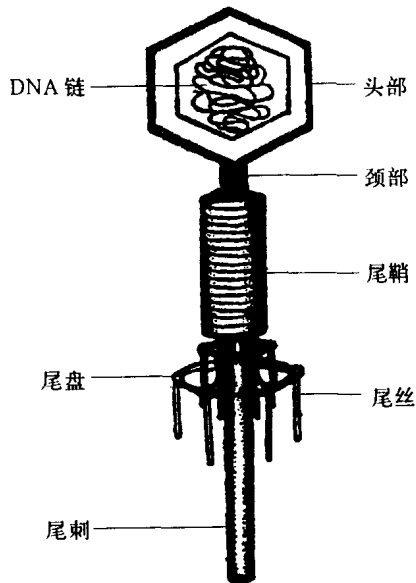


图 1-3 枯草杆菌噬菌体模式图

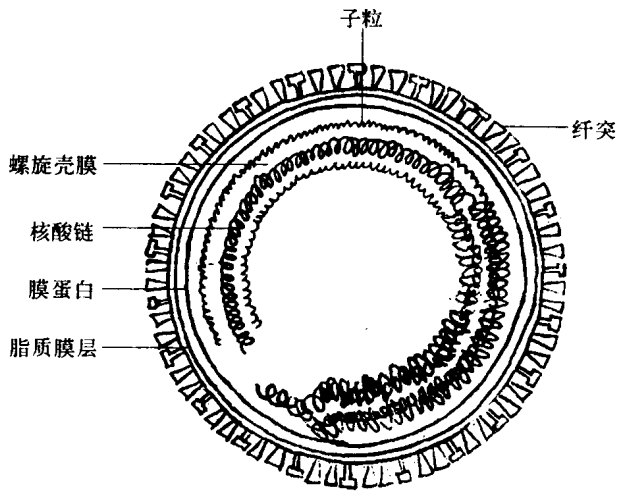


图 1-4 粘液病毒平面构造示意图

长度的变化可以从几千个核苷酸(或核苷酸对)多至250 000个核苷酸(或核苷酸对)。几乎所有RNA病毒和多数DNA病毒的核酸都是线形的,只有部分DNA病毒的核酸是环形的。

病毒的包膜多数是从寄主细胞中释放出来时带下的一层细胞膜形成的,但很多情况下,这包膜含有的蛋白质是由病毒基因决定的。完整的包膜常有数层,具有复杂的构造。图 1-4 是一个粘液病毒的模式图。图中可见包膜表面上有呈放射状排列的一层无数微细短杆状的纤突。它们是病毒感染时附着到细胞上的吸附器,同时也是

中和抗体的抗原。在正粘液属和副粘液属病毒里,纤突是血凝素和神经胺酶的蛋白大分子。纤突附着在一层具有保护作用的脂质膜上,其下是一层膜蛋白。这几层结构包被在蛋白质-核酸的核心外面,有保护和吸附作用。

### 3. 细菌及有关原核细胞生物

细菌是典型的原核细胞生物。其最明显的构造特点之一是没有内质网、高尔基体、线粒体和溶酶体等细胞器,也没有细胞核。大多数细菌的电子显微镜照片揭示出其内部细胞构造上只有两个可以区别的区域:即细胞质和核质,外面围着一层细胞质膜和比质膜厚得多的细胞壁(支原体等没有细胞壁)。图 1-5 是细菌的立体构造示意图。

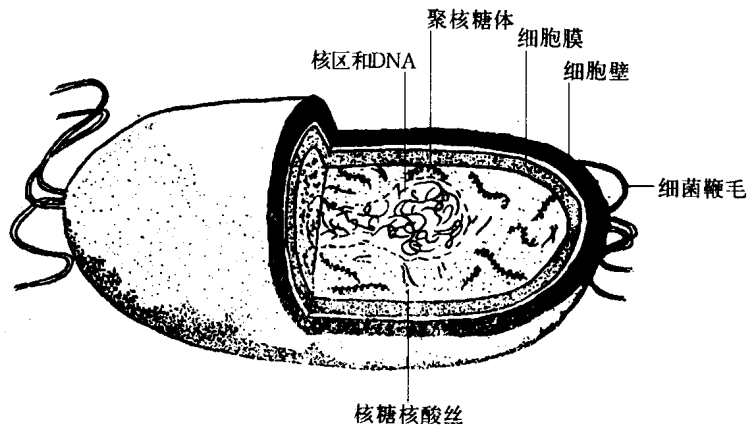


图 1-5 细菌立体结构示意图

根据细菌细胞壁的构造可分为两大类,①G<sup>+</sup>细菌:它合成单层的细胞壁;②G<sup>-</sup>细菌:它合成两层以上不同层次构造的细胞壁。

(1) 细菌的大小变异很大,单个细菌的体积通常在 5 ~ 50  $\mu\text{m}^3$ ,但大的可达 5 000  $\mu\text{m}^3$ ,最小的只有 0.01  $\mu\text{m}^3$ ,后者在光镜下很难分辨出来。

(2) 细菌胞壁:  $G^+$  和  $G^-$  细菌都有细胞壁, 其化学成分是复杂的, 一般由蛋白质、磷脂、脂多糖和粘肽组成。电镜下  $G^-$  细菌一般可见由 2~4 个致密层及中间透明区构造的细胞壁, 其中至少有两层很容易区别的层次, 其内层很致密均匀; 厚约 2~3 nm, 即“硬层”, 外层则较厚(8~10 nm), 构造很精致, 几乎与细胞质膜的构造形态没有区别, 故有时候叫做外膜。然而它在化学组成和功能上都和细胞质膜不一样。外壁层的表面是很不规则的, 在超薄切片中表现为波浪式的断面。在  $G^+$  细菌, 电镜下细胞壁只见有一层致密层, 呈均质纤维状构造, 厚 20~80 nm。细胞壁能防止细菌在低渗环境中发生渗透溃溶作用。图 1-6 示  $G^+$  和  $G^-$  菌细胞壁的比较。

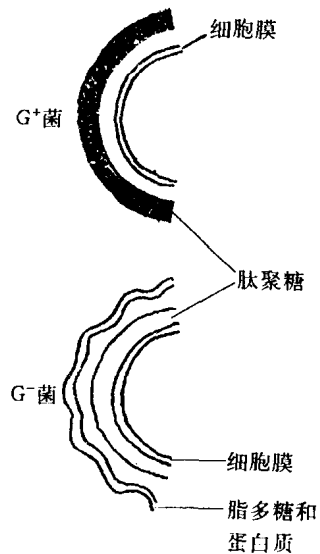


图 1-6  $G^+$  和  $G^-$  菌细胞壁的比较

(3) 细菌质膜: 细菌的质膜多数是单位膜, 电镜下通常表现为两个致密层及中间透明区所组成的结构。但少数细菌仅有一个致密层。质膜的主要成分是磷脂和蛋白质。细菌质膜的选择性较高, 只有相对分子质量不很大的物质如 DNA 的片断和相对分子质量较低的蛋白质(细胞分泌的外酶)才能穿过这一屏障。并且细菌质膜没有内吞和外吐现象。另外, 细菌质膜上具有与呼吸作用有关的一系列酶, 故可进行产能代谢活动。细菌质膜上还有专门供 DNA 附着的位点, 在细菌分裂过程中, 复制后的基因体各自附着在不同的位点上, 随着质膜的增长而分开, 最后分配到两个子细胞中。另外在很多细菌中可以看到一个特殊的膜性结构, 叫间体(mesosome), 电镜下发现它由质膜内折形成, 顶端膨大呈囊状, 内含团块样卷曲的电子致密物质。间体可能与细菌横壁的形成有关。

(4) 细菌胞质: 在电镜图上, 细胞质内常常可以看到一些小的深色的颗粒, 这是核糖体, 它们由大约 60% 的 RNA 和 40% 的蛋白质组成, 其直径大约为 20 nm。不过细菌的核糖体颗粒比真核细胞小, 前者沉降系数是 70 S, 后者为 80 S。每个核糖体颗粒在电镜下发现由大小不等的两个部分组成。另外, 核糖体常聚结成不同大小的聚核糖体, 由 mRNA 联结而成。胞质内还可见到一些光亮的区域, 不散射电子, 被一层非单位膜包围成颗粒, 由聚  $\beta$ -羟丁酸(PHB)组成, 故又称 PHB 颗粒, 是碳和能量的贮藏库。另外胞质中还可见到糖原、脂滴和多聚磷酸盐颗粒等, 后者可用甲苯胺蓝染成淡红紫色, 故又称异染颗粒。

(5) 细菌核区: 在电镜图中, 核区仅仅是一个微弱反差的区域, 它含有细丝状物质而缺乏确定的膜, 细丝状物质是 DNA。现在我们知道, 电镜下观察核区呈现的 DNA 细丝状物在多数情况下是极长的环状 DNA 的一些片段所折叠起来形成的聚集体, 与真核细胞的染色体不同。细菌的 DNA 不结合碱性蛋白(组蛋白)。

(6) 有些细菌还有一些附属结构: 如鞭毛、纤毛等。

1) 鞭毛(flagellum)可协助细菌运动, 是一种细长的附属丝, 一端着生于细胞上, 而另一端游离。

2) 纤毛(cilia)是与运动无关的结构。它比鞭毛短但数目很多。其功能不太清楚, 有些称为性纤毛的可能同细菌遗传物质的转换有关; 有些能使细菌附着于静止的表面, 或在液体表面形成菌膜或浮膜。

其他有关的原核生物主要有以下几种：

1) 立克次体:它是一种节肢动物(如跳蚤、虱子等)的细胞内寄生物,可引起斑疹伤寒等疾病。呈短杆状,约  $0.3\ \mu\text{m} \times 1.0\ \mu\text{m}$ ,它含有 DNA 和 RNA,有类似核区的结构,表面有细胞膜和细胞壁,并能进行某些代谢活动。电镜下立克次体具有原核生物的结构特征。

2) 衣原体:它是鸟类和哺乳动物(包括人)的一些疾病的病原体,如沙眼衣原体等。细胞接近球形,稍小于立克次体,直径为  $0.2 \sim 0.7\ \mu\text{m}$ 。衣原体细胞同样有细胞壁、细胞质膜和 DNA、RNA 等。

3) 螺旋体:典型螺旋体细胞是细长、弯曲、螺旋形,并且往往很长。螺旋体由细胞质膜和细胞壁包围着细胞质和核区构成的原生质柱。另外还有  $2 \sim 100$  条以上的微细纤维,称做轴丝。它与细胞两极相连接并盘绕在原生质柱周围,外面再包被三层膜称外鞘。轴丝的超微结构和化学组成类似于细菌的鞭毛。

4) 支原体:支原体是没有细胞壁的,电镜检查 and 化学分析都证明了这一点。由于缺乏细胞壁,因此其形态是极其多变的。电镜下可见细胞呈球形或梨形,有时候长出丝状伸长物或细丝(分枝或不分枝)。支原体细胞很小,相当于直径为  $0.3 \sim 0.9\ \mu\text{m}$  的圆球,一般不会运动。是一些疾病的病原体如非典型肺炎、尿道炎等。

#### 4. 真核细胞

原核细胞经过漫长的进化,发展到一个更高级的阶段,出现了细胞核,与此同时出现了多种细胞器。与原核细胞相比,真核细胞主要特点是:细胞内的 DNA 集中于核内,核与细胞质之间有双层核膜相界;细胞膜不再像原核细胞那样具有能量代谢等多种功能,而成为分工负责细胞与外界的信息交流;细胞内的多种细胞器分工负责完成细胞生命活动的各种功能。细胞内有丰富的胞内膜系将细胞质分区规划,除核膜外还有线粒体、内质网、高尔基体、溶酶体及过氧化小体等的膜系,这些膜在结构与功能上均高度特化,分别承担呼吸、能量代谢、吸收及生物合成和分泌等功能。真核细胞有内吞及外吐现象,将胞内膜系与质膜相关连;真核细胞内还有细胞骨架,可使如此庞大复杂的细胞内结构安排有序,并能控制细胞本身或细胞

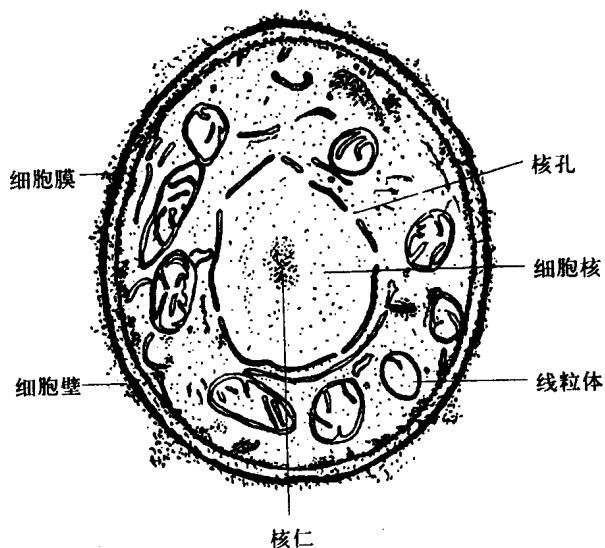


图 1-7 真菌(酵母细胞)模式图

内细胞器的运动。真核细胞内的细胞骨架由肌动蛋白丝及微管系统组成,细胞内的各细胞器均直接或间接附着于细胞骨架上,当细胞运动时,细胞器可在细胞骨架的轨道上被驱使。细胞分裂时,染色体向两极移动也依靠微管的收缩。

真菌是一类最简单的真核细胞,虽具有一些真核细胞的特征,但结构和功能皆甚低级。从超微结构上可见真菌有一个真正的核,有核膜,同时它还有多种细胞器如内质网、高尔基体、线粒体等,图 1-7 是一个真菌的模式图。通常每个真菌由细胞壁、细胞质膜和胞质及细胞核等组成。多细胞真

菌由菌丝和孢子组成。

(1) 细胞壁:真菌的细胞壁比细菌的厚,有些在光镜下也能观察到。电镜下细胞壁一般可显示三层结构。内外两层电子密度较低,各厚约 50 nm,为均匀无定形结构。中间一层染色较深厚约 20 nm 为纤维素层。在有些切片上纤维层表现为两层或更多。细胞壁在化学组成上多为葡萄糖的聚合物,许多真菌还含有几丁质。另外在细胞壁上还有一些蛋白质、类脂和多糖成分。

真菌的质膜位于细胞壁内面,也是由单位膜构成。与细菌相比,真菌质膜上存在着许多向胞质内的反褶,其深度随着生长时相的不同而不同。此外,质膜上还有很多内陷小泡。在生长菌丝的顶端以及生芽和产生菌丝隔的地方常见很多小泡聚集。它与质膜相遇后,小泡膜与质膜融合,使生长的质膜得到补充,与此同时,小泡的内容物也释放至质膜外,其中含有组成细胞壁的前身物质和一些酶,它参与细胞膜的新陈代谢。这些小泡可能来自高尔基体、内质网、核膜或质膜。

(2) 细胞器:真菌细胞器不甚发达,但真核细胞的各种细胞器已具备。内质网可分为粗面内质网和滑面内质网两类。真菌的粗面内质网池较狭窄,末端膨大形成的小泡很不明显。真菌高尔基体不发达,结构较简单,没有成叠的扁平囊和周围的大小泡群,往往只见一狭窄的新月形膜囊或由新月形膜囊围成一环状结构及少量小泡,小泡有时可逐渐移向质膜,并与质膜融合后向外输送物质,因此又称转运小泡。真菌线粒体丰富,呈椭圆形或杆形,长径一般为 2  $\mu\text{m}$ ,但嵴较少。线粒体膜近腔面也有各种与呼吸作用有关的成分如电子传递系统等。在线粒体腔内可有核糖体颗粒和 DNA 片段。真菌的核糖体由两个亚单位组成,大亚单位 60 S,小亚单位 37 S。至于分布和功能与哺乳动物等没有差别。大泡也是一种常见的细胞器,大小变异很大,里面含有许多水解酶,具有类似溶酶体的功能,有些含有营养物、中间代谢产物和废物。由于大泡可向不同方向发展,其内容物也随之而异,因而其表现形式亦多种多样。另外在菌丝中还有微体、脂滴和糖原等包含物。另外还有一种膜样小体,具体功能不详,通常由质膜衍生而来并与质膜相连。其中特别的又称蜂窝状体,可能与细胞壁前身物质的输送有关。

(3) 细胞核:真菌细胞核已有核膜完整包围,是由两层单位膜组成,其外层膜常可与内质网相连。核膜上分布有许多核孔,这样由核仁合成的核糖体成分得以离开核进入细胞质。另外与细菌不同的是真菌的 DNA 存在于较复杂的结构即染色体中,每个核可形成多个染色体,而细菌的全部 DNA 是以单分子游离态存在的,且通常只有一个。

(4) 隔膜:菌丝可有隔膜(septum),它可以是完全的、部分的或有孔的,随菌种或生理条件而不同。其结构与细胞壁相同。隔膜处的质膜常与内质网相连,附近有许多小泡聚集。有孔隔膜在发育成熟后,其孔被一椭圆形称之为 woronin 小体塞住。这小体起源于微体,形成初期位于菌丝顶端,随后逐渐向隔膜处移行。它有一层被膜包裹,内含一些染色较深的物质,有些切片上可见内含物具有晶体结构。当菌丝逐渐衰老时,它也逐渐退变,表现为小泡状或其他不规则结构。

(5) 孢子:大多数真菌产生孢子(spore),它是能广泛散布到新的场所大量繁殖和能抵抗不良的环境条件使之生存下来。孢子是真菌的生殖细胞,它也具有细胞壁、质膜、细胞核以及其他一系列细胞器。

## 5. 高等动物细胞

哺乳动物及人体的基本细胞都是高度发达的真核细胞,具有复杂的结构和功能,用近代分子细胞生物学研究成果来分析、讨论这些细胞的超微结构,描述在生理条件下各种细胞器、质膜及其表面特化结构在电镜下的表现,及其相关的功能,将在以下各章节中逐个详细介绍。

现代医学的发展离不开基础医学的成就,1858年德国病理学家 Virchow 在用光学显微镜观察细胞病变的基础上提出了细胞病理学,对认识疾病以及人类向疾病的斗争作出了极大的贡献。但随着医学的发展,大量重大前沿课题的解决,如脑的奥秘,生育控制,心血管疾病及肿瘤的防治,脏器移植,免疫反应等都需更深入地进行亚细胞及分子水平的研究。人体及高等动物细胞超微结构及其功能的学习将为今后医学课程的学习和深入研究奠定基础。

### 三、显微镜分辨率与形态研究的关系

17世纪光学显微镜问世以来,对生物科学、医学和生产实践的发展起了很大的推进作用。但它由于受到光波特性的限制,分辨率比较低,只能观察到大于  $0.1\ \mu\text{m}$  的结构,对细胞内和细胞间许多结构则无能为力。

“分辨率”(resolution)或称“分辨本领”(resolving power),是将邻近两点清晰区分辨认的能力,用能被辨认的邻近两点的距离表示。能被辨认的两点距离越小,表示分辨本领越大。人眼的分辨本领与物体观察时环境的照明有关,也与物体和背景间黑白对比度有关,这就引入另一重要概念“反差”。当反差高时,能从背景上容易辨认物体,如果反差低,就不能把物体从背景上分辨出来。物体在人眼视网膜上成像的大小,和物体与眼之间距离的关系是:物体与眼的距离缩小,视网膜上的物像就增大,眼的分辨率就提高。由于眼屈光能力的限制,物体移近眼睛的距离是有限度的,物体离眼太近,将引起眼肌疲劳。一般将眼睛正常的工作距离定为  $25\ \text{cm}$ ,并称之为“明视距离”。当物体离眼  $25\ \text{cm}$ ,即与眼的明视距离相等时,眼睛可分辨出相距  $0.25\ \text{mm}$  的两个点,因此将  $0.25\ \text{mm}$  定为人眼的分辨率。

为了提高人眼的分辨能力,可设法将物体放大。当光学显微镜放大物体时,由于可见光波的平均波长约为  $500\ \text{nm}$ ,当物体两点间距离小于光波的半波长( $250\ \text{nm}$ )时,光波产生衍射现象,使两点不能被辨认。因此,用光学显微镜所辨认的两点的最小距离是  $250\ \text{nm}$ 。这也就是光学显微镜的极限分辨率,比人眼分辨率( $0.25\ \text{mm}$ )提高了  $1\ 000$  倍。为了进一步提高分辨率,人们选择了波长较短的电子射线作“光源”,制造了电子显微镜。电子射线的波长是随加速电压变化的。如加速电压为  $50\ \text{kV}$ ,电子射线的波长约等于  $0.0054\ \text{nm}$ 。当电子显微镜所用的加速电压高于  $50\ \text{kV}$  时,波长更短,所产生的分辨率还会更小。但由于电子显微镜存在球差,限制了自己的分辨率,不能真正达到其波长之半的程度。目前较好的电子显微镜的分辨率一般为  $0.2\ \text{nm}$  左右,比一般光学显微镜的极限分辨率( $250\ \text{nm}$ )提高了  $1\ 000$  倍,比人眼分辨率( $0.25\ \text{mm}$ )高  $100$  万倍。

电镜本身的分辨率虽然可达  $0.2\ \text{nm}$  左右,但观察组织切片的实际分辨率还受到许多因素如切片厚度等的影响。当所用超薄切片较薄时,分辨率可达  $1\sim 2.5\ \text{nm}$ ,切片较厚时,实际分辨率为  $5\sim 10\ \text{nm}$ 。在生物科学和医学研究中,采用肉眼、光学显微镜和电子显微镜观察方法,它们的分辨率不同,适用范围也不同。一般小于  $0.1\ \text{mm}$ ,大于  $1\ \mu\text{m}$  的结构,包括细胞、细胞核和其他一些大的细胞器,主要在光镜下观察;小于  $1\ \mu\text{m}$ ,大于数纳米( $\text{nm}$ )的结构,包括亚细胞成分、细菌、病毒和大分子等的结构,主要在电子显微镜下进行观察(图 1-8)。在电



子显微镜下的对象细小,常用的度量单位是微米( $\mu\text{m}$ )和纳米( $\text{nm}$ ),其相互关系如下:

$$1 \text{ nm(毫米)} = 1000 \mu\text{m(微米)} = 10^{-3} \text{ m(米)}$$

$$1 \mu\text{m(微米)} = 1000 \text{ nm(纳米)} = 10^{-6} \text{ m(米)}$$

$$1 \text{ nm(纳米)} = 10 \text{ \AA(埃)} = 10^{-9} \text{ m(米)}$$

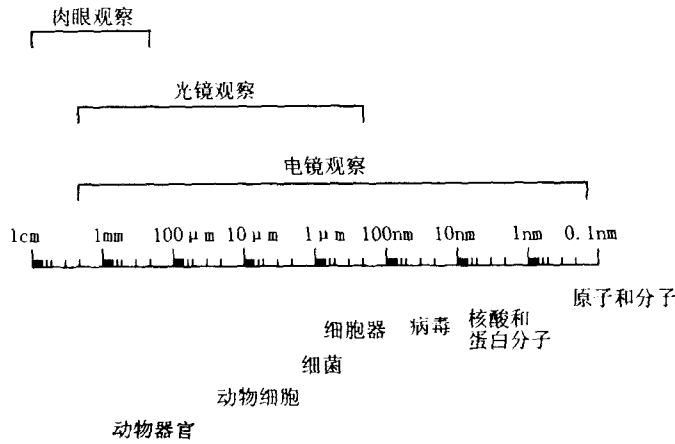


图 1-8 不同分辨率的形态研究

#### 四、细胞超微结构和电子显微术

电子显微术在生物科学和医学中的成功应用是与其生物标本的成功制备有密切关系的。20 世纪 30 年代,电子显微镜随着物理学的发展而出现。但由于电子束的穿透力很弱,对于厚度大于  $0.1 \mu\text{m}$  的切片就不能用电镜进行观察。只有在发展了超薄切片技术以后,电子显微术才在生物科学和医学领域中得到应用。20 世纪 60 年代以后,电镜技术和生物样品制备技术获得进一步发展。随着新仪器的研制成功,发展了扫描电镜术、冷冻复型术、高压电镜术、X 线显微分析术、扫描隧道显微术和原子力显微术等,结合其他细胞化学技术的新成就又发展了电镜放射自显影术、酶细胞化学和免疫细胞化学技术等。由于大量电子显微术的应用,极大地丰富了细胞超微结构的内容,可对结构的各个侧面给出更多的信息量。

为了更好阐明细胞超微结构及其功能,研究技术不能仅限于电镜,必须与其他先进的细胞生物学研究技术相结合,其中包括细胞培养(cell culture)及在倒置相差显微镜(inverted phasecontrast microscope)下观察体外活细胞生长的技术,荧光显微术(fluorescence microscopy)及免疫荧光显微术(immunofluorescence microscopy),细胞显微分光光度术(microscope photometry)以及细胞成分的分离和提纯、分析和测定技术及各种分子生物学技术等。由于众多技术的结合和应用,对亚细胞成分功能的认识正在逐渐深入。

#### 五、细胞超微结构研究的展望

超微结构的研究,从 20 世纪 30 年代电子显微镜问世以来,至今已有近 70 年的历史。早期由于生物组织标本制备上存在的困难,超微结构的研究发展很慢。20 世纪 50 年代超薄切片技术的发展,为超微结构研究提供了极其优越的条件,促进了超微结构研究的迅速发展。20 世纪 60 年代末以来,电子显微镜制造技术得到改进,电镜分辨率大大提高,扫描电

镜已商品化,加上近 10~20 年扫描隧道显微镜等的普及,有关的电镜标本制备新技术的发展,使超微结构的研究获得又一次飞快的发展,主要表现在以下几个方面:

(1) 对于超微结构的研究从二维结构向三维结构发展,也就是说从研究平面结构向研究立体结构方向发展;其中包括超高压电镜以及倾斜标本台的应用;连续超薄切片的制备及三维重建技术的应用;冷冻蚀刻技术和扫描电镜技术的应用等。这样使细胞核和染色体结构的研究,细胞内管道系统的立体研究,细胞膜(包括细胞内膜)表面结构的研究和细胞邻界面上联结结构的研究等,都获得很多新的进展。

(2) 对超微结构的研究从单纯形态观察,深入到对其功能、代谢、化学组成、分子结构及元素分布的研究;其中包括冷冻超薄切片、电镜免疫标记、电镜酶细胞化学、电镜放射自显影、电子探针 X 线显微分析(electron probe x-ray microanalysis)以及扫描隧道-原子力显微术等技术的应用。

(3) 对超微结构的研究从定性描述向定量测定的方向发展:由于自动计数装置和电子计算机技术的应用,使电镜形态测量技术(morphometry)和电子探针 X 线显微分析技术也都获得了相应的发展,使研究结果进行量化并更为精确。

(4) 超微结构的研究从经化学固定的结构向活细胞整体方向发展:由于电镜超高压、超真空技术进一步发展,特殊样品室的设计和改进,扫描隧道显微术的应用为使样品处于生理条件下在显微镜下直接观察创造了条件。

(钟慈声 俞 彰)

# 细胞超微结构

## ——分子细胞生物学基础

### 第一节 质 膜

质膜(plasma membrane 或 plasmalemma)又称细胞膜。它把细胞质与外环境分隔开,构成细胞与外环境的重要屏障。细胞内还有很多由膜组成的或由膜包裹的细胞器,这些膜又将细胞器与胞质溶胶(cytosol)分隔开。胞质溶胶即为细胞质中除去细胞器的胶冻状物质。这些膜结构称细胞内膜(intracellular membrane),其中包括线粒体膜、高尔基体膜、内质网膜、溶酶体膜和核膜等。这两部分膜不但在结构上相似,同时也互相有联系,因此统称为细胞膜系统或生物膜。细胞膜系统不仅起着简单的界膜和支持作用,并能参与细胞的能量转换、兴奋传递、脂肪和蛋白质代谢以及物质转运等功能,细胞膜系统的不同部分虽结构有差异又执行着各不相同的功能,但它们的化学组成和分子结构是基本相似的。

#### 一、质膜的化学组成及分子结构

质膜呈薄片层结构,厚度为6~10 nm。组成膜的化学成分主要有脂类、蛋白质、糖类、水、无机盐和金属离子等。膜中的脂类和蛋白质以非共价键结合,构成膜的主体。糖类多以复合糖的形式存在,与膜脂或膜蛋白结合形成糖脂或糖蛋白。膜上的水约20%呈结合状态,叫做结合水,其余则为自由水。膜上的金属离子与膜蛋白功能有关。不同膜上脂类和蛋白质比例不同,其比例范围为1:4~4:1,功能复杂的膜,蛋白质比例较高(表2-1)。

表2-1 几种膜的化学组成(%)

膜	蛋 白	脂 质	糖类(碳水化合物)
髓鞘	18	79	3
质膜			
人红细胞	49	43	8
小鼠肝	44	52	4
阿米巴	54	42	4
嗜盐菌紫膜	75	25	0
线粒体内膜	76	24	0
叶绿体内膜	70	30	0