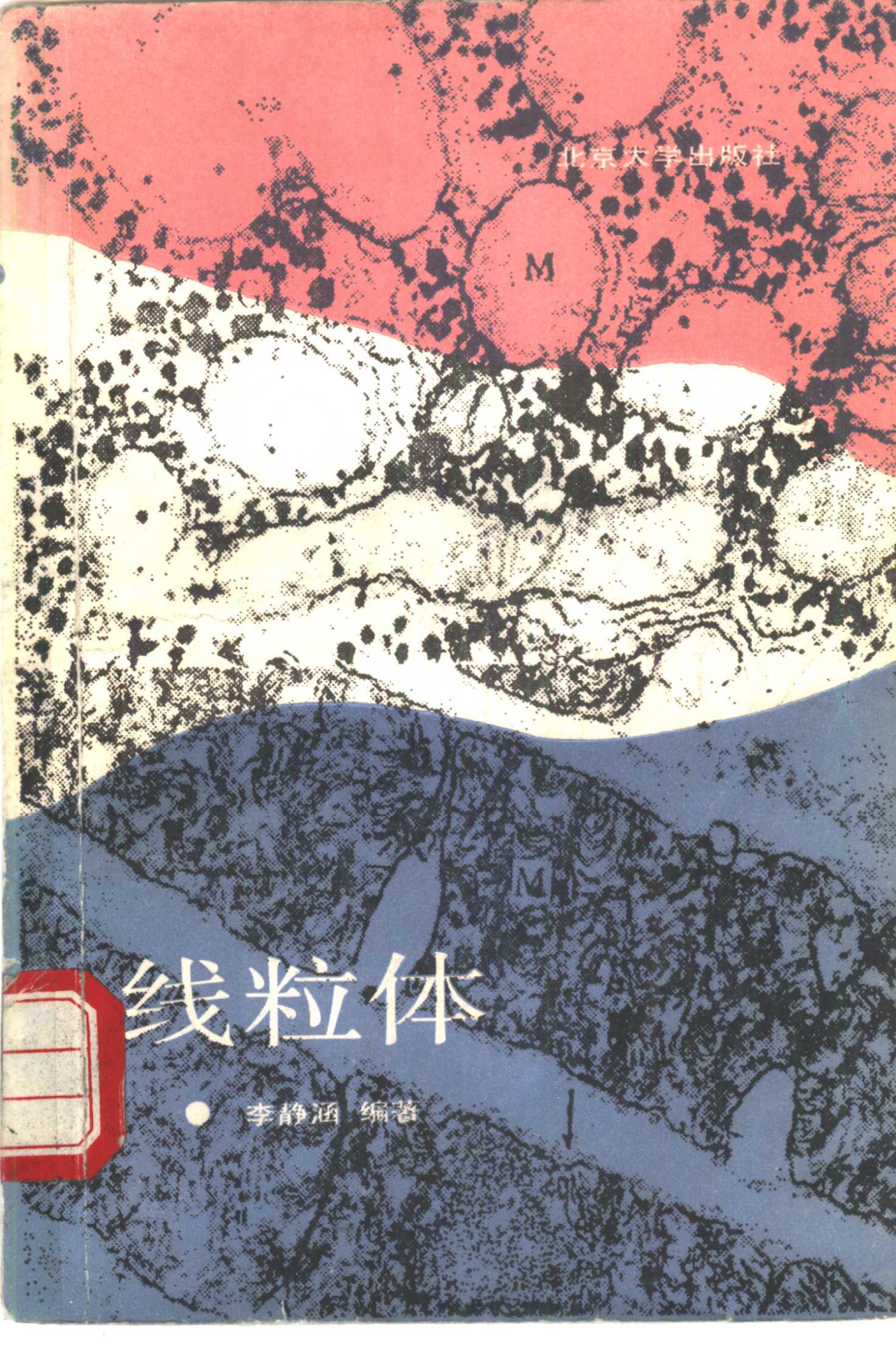


The background of the book cover is a black and white electron micrograph of mitochondria. The image shows several large, rounded mitochondria with internal cristae. Some mitochondria are labeled with the letter 'M'. The image is divided into three horizontal color bands: red at the top, yellow in the middle, and blue at the bottom. The text is overlaid on these bands.

北京大学出版社

线粒体

● 李静涵 编著

线 粒 体

李静涵 编著

北 京 大 学 出 版 社

线粒体

李静涵 编著

责任编辑：李惠兰

北京大学出版社出版

(北京大学校内)

北京大学印刷厂 印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

787×1092 毫米 32开本 6.625印张 130千字

1988年6月第一版 1988年6月第一次印刷

印数：00001—2300册

ISBN 7-301-00229-710-051

定价：2.05元

前 言

近些年，在生物科学尤其是分子生物学方面出现了许多重大的突破，对生物科学各个领域的发展产生了深远的影响，细胞生物学当然也不例外。细胞器结构与功能的研究是细胞生物学的重要组成部分。20多年来，由于生物化学及细胞学的发展，从而能以相当高的速度积累了有关这方面研究的大量文献资料。在教学过程中，由于教学计划安排及课时所限，不可能在课堂上详尽讲授，故此促使我产生编写有关细胞器资料的愿望，以供进修细胞生物学课程的高年级大学生和研究生作为课外参考书。如若本书在线粒体的超微结构及其功能方面对开始进入线粒体研究领域的人员能有所帮助，也是编者所希望的。

在编写过程中，北京大学出版社李惠兰同志细致的编辑工作给予我很大的鼓励和帮助，北京大学生物系于永彬同志为插图制作付出了辛勤劳动，谨此深表感谢。

由于水平的限制，本书定会有缺点和错误，恳请读者给予批评指正。

编 者

一九八六年十一月

目 录

第一章 线粒体的研究历史	(1)
第二章 线粒体的形态结构	(8)
2-1 线粒体的形态	(8)
2-2 线粒体的基本结构	(21)
2-3 线粒体的内含物	(33)
第三章 线粒体的化学结构组织	(37)
3-1 线粒体组成成分的分离	(37)
3-2 线粒体各组成部分的化学成分	(41)
3-3 线粒体酶系的定位分布	(49)
3-4 呼吸链的脂类蛋白复合体(呼吸复合体)	(54)
第四章 线粒体的功能	(66)
4-1 能量转换	(66)
4-2 运输系统: 运输蛋白和穿梭载体	(84)
4-3 钙的摄取	(87)
第五章 线粒体的生物发生与更替	(91)
5-1 线粒体 DNA (mtDNA)	(92)
5-2 线粒体中的转录与翻译	(95)
5-3 线粒体的生物发生	(97)
5-4 线粒体的更替	(106)
第六章 线粒体的进化起源	(109)
参考文献	(114)
图版	(141)

第一章 线粒体的研究历史

线粒体 (mitochondria) 是一种具有半自主性的细胞器 (semiautonomous organelles), 它有自身独特的遗传系统。进行有氧呼吸的酵母、原生动物和高等动植物细胞都有线粒体, 但很多哺乳动物的成熟红细胞却是例外, 它们的线粒体是在红细胞发育成熟的过程中逐渐退化消失了。

Benda (1897—1898) 首先杜撰 mitochondria 一词。mitochondria 是由希腊字根 mitos (线, thread) 与 chondrion (颗粒, granule) 合并而成, 但当时并未广泛地被学者们接受。线粒体还有其他的名称, 如 fuchsinophilic granules, parabasal bodies, plasmosomes, plastosomes, vermicules, chondriosomes, 其中以 chondriosomes 一词的使用最为持久; 直到近年 Tzagoloff (1982) 仍然把成熟精子的线粒体称作 chondriosomes。目前这个名词在欧洲的书刊中还时有出现, 但已不普遍使用了。

生物体内的生物合成、呼吸、分泌及机械运动等全部细胞活动所需要的化学能, 都是由线粒体提供的。通过十分复杂而又相互关联的一系列综合反应和电子传递, 线粒体利用糖和脂肪酸氧化过程中所释放的自由能, 将二磷酸腺苷 (ADP) 和无机磷酸转变为三磷酸腺苷 (ATP)。ATP 是一种独特的供能分子。线粒体至少具备有 70 种以上的酶, 这些酶按精确的顺序合理分布于线粒体的各个不同部位。这是生物学中结构与功能完善结合的一个突出的实例。

对线粒体的研究虽然已有一个多世纪的历史，但人们对它确切的功能还不了解。究竟谁是线粒体的最早发现者，也是个难于确定的问题。早在19世纪50年代发表的光学显微镜观察的报道中，便提到了在多种不同类型细胞内有大量颗粒状结构。19世纪后叶，细胞学家们就已在细胞质内观察到除颗粒状结构外，还有棒状或丝状的小体，其中有些即是线粒体。

1856至1857年间，Kölliker描述了肌肉的“肌粒 (sarcosomes)”认为它是一种独立的实体，与细胞质的其他部分没有直接联系。Kölliker的报告很可能是有关线粒体研究的最早资料之一。于1880年 kölliker 从昆虫横纹肌中分离出线粒体，并指出线粒体具有自身的界面膜，以此与细胞其他结构分隔开来。Flemming 在上世纪八十年代便把线粒体视为一种独立存在的结构，他曾在许多种细胞中看到有颗粒状或丝状小体，Flemming (1882) 称这些小体为“*fila*” (拉丁语，即“线”或“丝”之意)。到1888年 Flemming 也自昆虫肌肉中别离出一些较大的“*fila*”，如把这些小体置入水中便会膨胀起来，根据这一现象Flemming认为*fila*外表是具有界面膜的。Flemming 的推论直到七十五年之后才得以证实。

线粒体研究的深入是与实验技术的进展密切相关的。以铁苏木精染色和精细地分化退色后，可在光学显微镜下辨明线粒体确为实体结构。当使用酸性品红 (acid fuchsin) (Altman, 1890) (图版 I-1) 和结晶紫 (crystal violet) (Benda, 1898) 作为显微切片的选择性染料以后，便发展了特异性染色方法，并推进了线粒体的系统研究。19世纪末细胞学家们就不

同类型线粒体在形态、数目和分布等方面的问题发表了不少论文。

Altmann 认为线粒体是一种自主的细胞器或机体，也就是基本的生命单元。它们生活在寄主细胞的原生质中，细胞的其他成分均是由这种单元衍生出来的，因此 Altmann 称这种单元为“原生粒 (bioblasts)”。Altmann 这一猜测性的观点并没有获得公认。从现代观念来看，线粒体只不过是细胞整体中的一个组成部分。本世纪初有些文章曾认为线粒体是在肌原纤维、卵黄、色素、分泌颗粒或其他细胞成分的分化过程中所产生的。事实证明这种观点是错误的。关于线粒体的进化起源的争论，主要有两种假说。

由于体外细胞培养技术的发展，为线粒体的研究开创了新的局面，为观察生活的线粒体形态和行为，提供了理想的条件 (Lewis 和 Lewis, 1915—1920; Strangeway, 1924)。虽然直接观察活细胞线粒体由于折射率低而有困难，但在暗视野或相差镜下便可直接观察；另外还可借助微速摄影术 (time lapse cinematography) 将线粒体的形态变化以及活动的动态过程精确地记录下来，进行研究。通过对细胞的培养得知线粒体具有明显的可塑性，能够对生理或环境条件的变化迅速地作出相应的反应。

Michaelis (1900) 首先使用杰纳斯绿 B (Janus green B) 对线粒体进行活体染色。其实验原理是因线粒体含有细胞色素氧化酶系，致使杰纳斯绿 B 处于氧化型，因而把线粒体染成蓝绿色，在线粒体四周细胞质内的染料又处于还原型，于是便形成无色的背景，从而把染成蓝绿色的线粒体鲜明地衬托出来。这样就提高了线粒体的可见度，这是细胞学上鉴

定线粒体的明确指标。其次，杰纳斯绿 B 又是一种氧化还原指示剂，线粒体对它的反应就显示了自身的化学特性的实质，即线粒体具有氧化还原的能力。

近些年来，生物学家开始采用荧光染色法直接研究培养细胞线粒体的代谢活动，或者利用线粒体对荧光染料具有选择性吸收的特性，研究线粒体在生活细胞中的分布及其形态变化。实验证明，一些影响细胞骨架系统的条件，除引起线粒体外形改变外，还可影响线粒体在细胞内的分布。总之，荧光染色技术可以作为从事研究线粒体对细胞不同生理和病理状态反应的一个有效工具。

关于线粒体的生化特性及功能问题，在本世纪初十余年间曾有过许多争论。Kingburg (1912) 提出，线粒体可能是进行细胞呼吸的场所，也就是利用氧的一种细胞结构，他的观点为以后许多学者所证实。Warburg (1913) 证明细胞微粒成分具有耗氧能力，这些微粒与呼吸酶是相关联的。遗憾的是，当时大多数生物化学家对细胞器的研究不感兴趣，他们把细胞微粒成分的研究视为烦恼之事，并认为花费精力进行呼吸酶及其他有关酶的分离实验的成效不大，因而对细胞的分离研究裹足不前。

1934年细胞学家 Bensley 和 Hoerr 最先使用差速离心法 (differential centrifugation)，试图从肝脏匀浆中把线粒体分离出来，但不太成功。十多年后，Claude (1946) 使用 0.88mol/L 蔗糖作为离心基液，成功地分离出线粒体。被分离出来的线粒体仍然保持原有的正常形态，还可用杰纳斯绿进行活体染色 (Hogeboom, Schneider和Palade, 1948)。这项分离技术的突破，为使用生物化学方法直接进行细胞的研究

究开辟了新的途径，有力地促进了对线粒体功能方面的研究。一系列研究结果证实，从匀浆中分离出来的线粒体几乎含有匀浆内全部的细胞氧化酶 (Hogeboom等, 1948) 和脂肪酸氧化酶 (Kennedy和 Lehninger, 1948)。分离的线粒体在试管内 (*in vitro*) 能够氧化三羧酸循环中所有的中间产物，并且能够通过氧化磷酸化作用形成 ATP (Kennedy和 Lehninger, 1949)。此后，研究者确认线粒体是进行细胞呼吸的一种细胞器，是产生细胞活动所必要的 ATP 分子的重要场所。实践还证明，有关线粒体生化特性及其功能的研究是在早期形态学研究基础上发展而来的，特别是 Rockefeller 大学的 George Palade 及其同事们由于改进了线粒体的分离技术，取得直接的实验证据，起了重要的作用。

生物材料的固定、包埋、染色和切片技术的改进，尤其是电子显微镜及超薄切片技术的应用，促进了线粒体形态结构的研究，已取得许多重要进展。1952年 Palade 首先发表了线粒体超微结构的电镜照片，报道了他对一些哺乳动物不同组织超薄切片的观察结果。但他错误地认为线粒体是由单层膜及其内折所组成。他把这种内折称为“线粒体嵴 (cristal mitochondriales)”。一年后，Palade 根据对肝脏线粒体的观察，确认线粒体是具有内、外两层的双膜结构，由内膜向内折叠形成嵴。Sjöstrand (1953) 曾根据肾脏线粒体的观察，误认内膜与嵴无关，把嵴看成是独立的结构。其后 Sjöstrand 的学生 Anderson-Cedegren (1959) 通过连续切片仔细分析，证明嵴与内膜是相连的。产生以上互相矛盾解释的原因主要是由于嵴结构的复杂性及多样性所造成。Palade 以肝脏线粒体为材料，明显地看出嵴是由内膜内折而形成的，但

Sjöstrand观察肾脏线粒体时，很少看到内膜与嵴之间的直接相连，故做出错误的判断。此后实验证明，各种不同类型细胞中，线粒体的形态结构虽然变化多端，但它们的基本结构都与Palade所描述的轮廓是一致的。

电子显微术中的常规固定剂往往不能完好地保存线粒体的全部结构。借助负染技术，Fernandez-Moran (1963) 观察线粒体断片发现了线粒体内膜上的亚单元。经生化分析表明这些亚单元含有与能量转换有关的酶系。

事实一再说明，要解决细胞器的功能问题，细胞形态结构和生物化学两方面的研究需要很好地结合。由于分离纯化技术的发展，取得了比较匀一的亚细胞组分，为生物化学的研究提供了分析材料，这是开展深入研究所不可缺少的物质基础。如果不具备这样的条件，要在细胞器功能的研究中取得今日的成就，是难以想象的。

近年随着生物物理学及生物化学技术的广泛应用，有关线粒体的细微结构与生物能量转换之间的关系，得到了进一步的阐明。线粒体各方面的研究工作正日趋深入，并已进入了分子水平。

尽管人们对线粒体比对其他细胞器的研究要深入得多，但有关其结构与功能之间的关系还存在不少尚待揭示的问题。深入研究线粒体与整个细胞之间的相互作用，对于认识真核细胞的发生发展有着重要的意义。

1963—1964年，Nass和Nass在鸡胚细胞内发现有一种线状结构，它们可被DNA酶消化但不能被RNA酶所消化，这就是线粒体自身的遗传物质——线粒体DNA (mtDNA)。mtDNA的发现为细胞信息结构的研究展开了新的一页，无论

从细胞遗传的观点，还是从生物发生的观点来看，贮存在mtDNA上的遗传信息问题已成为引人注目的课题。此外，还可把线粒体作为研究膜生物发生的理想模型。

Albert L. Lehninger (1964) 曾就线粒体的研究概况写过下面的一段话：“关于线粒体当前的研究状况可比喻成一幅建筑工地上的繁忙景象。正在升起的建筑物仍隐藏在脚手架之中，各行各业的工匠勤奋地运用他们的传统技能，专心致志于他们各自的任务，榔头的巨响，工人們的呼嚷，常使人感到震耳。为了对这座新的大厦有所认识，看来我们应该走到工地，去巡视一番，透过脚手架仔细地看一看，听听建筑师和工匠们的议论，然后躲到一个安静的地方，想想这种艰难尝试的意图和方向。”

1984年Thorpe展望线粒体研究的前景时曾指出：“...Lehninger 所提及的那个建筑工地上现在只剩下了一些修饰工，他们正在仔细地进行最后的装修，把黄铜栏杆和门上的把手擦亮，细致地安排室内的陈设，脚手架即将拆掉，整个建筑物就要隐约可见了，但可能还有一些障碍物遮盖着它...”

在这座大厦兴建的过程中，形态学家、生物化学家、生理学家、遗传学家、发育生物学家、物理化学家等都已做出了重要的贡献。要进一步揭开那些“遮盖物”还需我们付出艰巨的劳动。

第二章 线粒体的形态结构

2-1 线粒体的形态

一、形状及大小 无论是哺乳动物或低等真核细胞的线粒体的体积通常与大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 的大小相当。最多见的为卵圆形颗粒,长约 $1-2\mu\text{m}$, 短约 $0.5-1\mu\text{m}$ 。因随细胞种类及其生理状态的改变,线粒体形状往往是多样的,可呈棒状、球形或细丝状(图版 II-1、图版 II-2、图版 II-3)。处于对数生长期的四膜虫 (*Tetrahymena pyriformis*),其线粒体还可呈环状(图版 II-4)。

一般来说,在同型的细胞、机能相同的细胞中,其线粒体的形状基本上保持一定程度的稳定,但也并不是绝对不变的,既或是在同一细胞内,由于所在的部位不同,线粒体的形状也各有差异,例如,分布于肠上皮细胞顶部的线粒体呈细丝状,而分布于肠上皮细胞基部和周边的多呈颗粒状。同一类型细胞由于生理状态和营养条件的不同,线粒体的形态也有明显变化,例如,利用醋酸盐和二氧化碳作为碳源的衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*),其线粒体呈小椭圆状。若只以二氧化碳作为碳源的衣藻,其线粒体变得又大又长。有趣的现象是,在这两种不同条件下生长的衣藻,只是线粒体形状、大小和数量上有差别,而它们的线粒体所占细胞质总体积的比例却是近似的 (Gillham, 1978)(图版 II-5)。

在不同类型的细胞中,其线粒体的形状更是多种多样,褐脂组织的线粒体多为球形,肝细胞的线粒体为圆形或卵圆

形，肾细胞的为圆筒形或丝状，成纤维细胞的则为细丝状，酿酒酵母 (*Sacharomyces cerevisiae*) 线粒体呈复杂而无规律的分枝状，蚯蚓 (*Lumbricus terrestris*) 精子中段的线粒体为纵列的杆状，其横切面呈三角形(图 2-1)。制片中有时在同一切片上也可见到形状、大小不同的线粒体，这是由于切面不同而造成的(图版 II—6)。

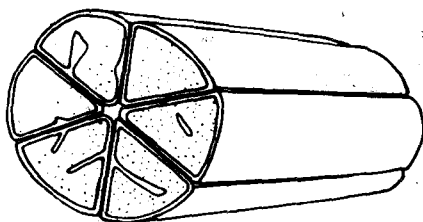


图2-1 蚯蚓精子中段线粒体的形状及排列 (引自Munn, 1974)

小眼虫 (*Euglena gracilis*) 的线粒体是一个遍布整个眼虫细胞的网状结构。通过连续切片三维重构的方法，表明小眼虫线粒体是一个由细线 (直径约 $0.4-0.6\mu\text{m}$) 构成的网络 (图版 II-7)。随着细胞的生长和分裂，这个网络状的线粒体也同步地进行生长和分裂，线粒体网络占眼虫总体积的 6% (Pellegrini, 1980 a)。在缺碳 (Leedale 和 Buetow, 1970) 或在退色过程中 (Pellegrini, 1980b)，线粒体的形态、体积和网状结构的厚度都有改变。营异养生活的小眼虫 (在醋酸盐培养基内，黑暗中生长)，其线粒体变成带有小孔的壳状，占整个细胞体积的 15—16%。

蟹 (*Callinectes sapidus*) 的鳃吸盐细胞有许多质膜内折，排列在内折间的线粒体呈双凹平盘状或套杯状 (图版

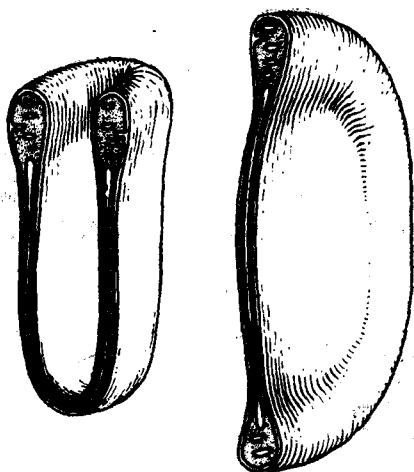


图2-2 双凹盘状和套杯状线粒体 (引自 Copeland和Fitzjarrell, 1968) II-8, 图2-2)。

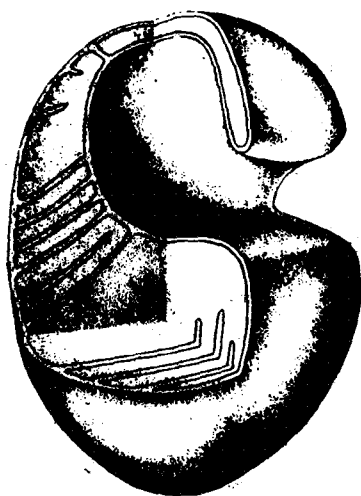


图2-3 牛的成熟格雷夫氏卵泡的罩状线粒体 (引自Fleming 和 Saacke, 1972)

Senger 和 Saacke (1970) 曾报道, 在牛的成熟格雷夫氏卵泡 (Graafian follicles) 中有许多形态异常的罩状结构的线粒体。线粒体嵴和基质的分布很特殊, 线粒体的一端折成罩状结构, 其中只有一层很薄的基质(图2-3)。

线粒体的大小、长短也相差悬殊, 多数线粒体在其宽度上处于比较稳定的范围 (0.5—1

μm),但在长度上的变量很大,一般为 $1-2\mu\text{m}$,长者可达 $7\mu\text{m}$,豹纹蛙 (*Rana pipens*) 卵母细胞的线粒体其长度为 $20-40\mu\text{m}$,人的成纤维细胞线粒体也可长达 $40\mu\text{m}$ (图版 II-9),蜗牛上皮细胞线粒体更为细长 (图版 II-10)。

线粒体的形态与所属细胞的年龄和老化程度也有关。绿头苍蝇 (*Callipora erythrocephala*) 肌肉细胞线粒体随着肌肉细胞的老化,线粒体的嵴密度明显增加,并出现螺旋状结构,与此同时线粒体的呼吸能力也降低。一般认为,这是退化过程中产生的现象 (图版 II-11)。

机体的生理状态也会影响线粒体的形态。受精前后海胆卵线粒体的形态是不同的,未受精卵的线粒体其外室往往是膨胀的,基质致密度增加和嵴的排列不规律。受精以后,线粒体呈正常的典型形态,即内膜形成典型的嵴,基质占线粒体总体积的绝大部分,而外室的体积只占一小部分 (Innis 等, 1976)。

不同的组织在不同条件下有时出现体积异常膨大的线粒体,通常称之为巨型线粒体 (megamitochondria 或 giant mitochondria)。关于巨型线粒体的成因说法不一,有人认为这种巨型细胞器是由若干线粒体融合而成,也有人认为它们是由单个线粒体的生长发展而成,或者以上两种情况兼而有之。这种巨型化效果通常只见于细胞中的一两个线粒体,其余线粒体仍保持正常状态,或甚至变小。巨型线粒体不只外形增大,其内部结构也发生很大变化,嵴数增多,并常常重新排列 (有时排列方式很奇特),其后出现髓样结构、颗粒状非结晶的残渣、嗜脂酸脂类物质,这都是一些退化性的变化,最终内膜发生断碎或全部解体,形成单层膜的小体,

其中包围有膜的残迹和电子致密的物质。

这种巨型线粒体还可见于恶性营养不良患者的胰脏 (Blackburn 和 Vinijchaikul, 1969) 和缺乏蛋白的大鼠肝脏和肾上腺 (Svoboda等, 1966)

病变也导致线粒体巨型化。在人的肝细胞中线粒体巨型化的现象可见于: (1) 病毒性肝炎患者 (Wills, 1968; Spycher和Rüttner, 1968); (2) 胆管癌患者 (Jézéquel, 1959); (3) 紫质症患者 (Jean等, 1968); (4) 钩端螺旋体病患者 (Sandborn等, 1966); (5) 硬皮病患者 (Feldmann等, 1977); (6) 妊娠期反复患黄疸病的患者 (Van Haelst 和 Bergstein, 1970) 和肝癌患者 (Ghadially 和 Parry, 1966) (图版 II-12)。近十多年来, 在造血组织中也发现了巨型线粒体, 如红白血病患者骨髓的巨噬细胞中即见有巨型线粒体 (Ghadially 和 Skinnider, 1974) (图版 II-13)。内分泌不平衡可能也是导致线粒体巨型化的因素之一。切除脑下垂体后的大鼠肾上腺中出现巨型线粒体 (Volk 和 Scarpelli, 1966), 接受促肾上腺皮质激素 (ACTH) 或甾体激素合成阻断剂处理的大鼠 (Racela等, 1969) 可见有巨型线粒体。

André (1962) 研究了在精子形成过程中线粒体的变化。大鼠精原细胞减数分裂开始时, 线粒体数目增多, 并积聚成簇, 每簇约有 5—10 个线粒体, 线粒体内部结构同时也发生变化, 嵴彼此分离, 基质凝聚。减数分裂终止时, 线粒体排列于质膜的內侧周围, 其基质更加凝聚, 线粒体体积变小。在精子形成的最后阶段, 这些缩小了的线粒体相互融合形成大螺旋状的线粒体, 紧紧缠绕鞭毛, 几乎占据了精子中段的