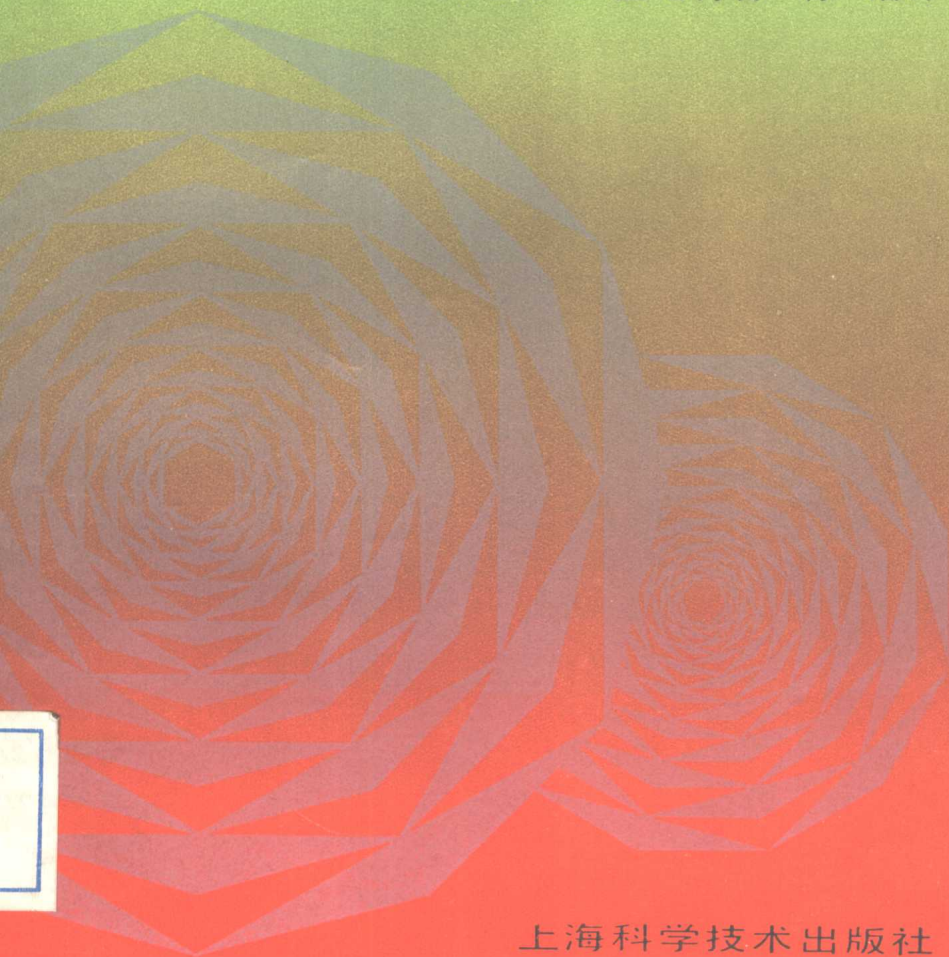


微小体

[形态·生化·功能·发育]

奥地利 B·盖哈特著 徐浩译



上海科学技术出版社

108190

微 小 体

【形态·生化·功能·发育】

〔奥地利〕B·盖哈特著 徐浩 译

上海科学技术出版社

**Microbodies/Peroxisomen
pflanzlicher Zellen**

B. Gerhardt
Springer-Verlag
Wien New York
1978

微 小 体

〔形态·生化·功能·发育〕

〔奥地利〕B·盖哈特著 徐浩 译

上海科学技术出版社出版

（上海瑞金二路 450 号）

新华书店上海发行所发行 上海东方印刷厂印刷

开本 850×1156 1/32 印张 10.25 字数 269,000

1987 年 4 月第 1 版 1987 年 4 月第 1 次印刷

印数：1—1,400

统一书号：13119·1270 定价：2.55 元

88清点

内 容 简 介

本书对近年来在细胞学研究中进展很快的微小体(过氧化物体)工作作了第一次严谨的、集中的叙述。取材遍及植物、藻类及真菌,此外还有一些动物细胞研究中的结果。本书对微小体的超微和分子结构、酶的功能、发育以及它在整体细胞中的地位均详加论述。尤其可贵的是对于研究过的材料均列成表格,便于参考。

本书可供综合性大学以及师范、农业等大专院校有关专业的师生、专业研究单位和生产部门有关人员参考。

译 者 的 话

这本书是 1978 年吴素萱教授去世前嘱译的，中间两次出差，一再停顿，完稿时已是 1981 年了，加上排印需时，直到今天才与读者见面。由于这是一本微小体的基本研究的书籍，并未失去其时效，略堪告慰于读者。

当翻译或精读 Gerhardt 氏著的此书时，感到在细胞学中将形态与功能联系在一起，电镜观察和生化测试联系在一起是何等重要。特别像电镜下的微小体这样的胞器，在作胞器分离时到底相当于哪一个组分，怎样将两种研究结果联系起来并确证其同一性，又是何等曲折而引人入胜。从本书可以看到，由于文献爆炸性的增长，辨别其真谬、正误显得极其重要。不加辨别的相信一切发表的文献，从某种意义上说，其害胜于不读书。“尽信书不若无书”，科学上的信与不信，亦即科学上的判断都不能是盲目的，先验的，主观的。这方面 Gerhardt 氏一书给了我们一些很好的启示，细心的读者定能体会。

本书成稿过程中承徐纪望同志协助核对、检查，特此致谢。

徐 浩

目 录

1	引言	1
1.1	微小体——过氧化物体	1
1.2	过氧化物体的功能	5
2	微小体的结构	8
2.1	微小体鉴别的标准	8
2.2	微小体衬质的内含物	11
2.3	微小体细胞质的内陷	17
3	微小体与其他胞器的结合	20
4	植物细胞中微小体的存在	25
4.1	微小体是植物细胞中正规存在的胞器	25
4.2	每个细胞中的微小体数目	31
5	微小体中所含酶类的细胞化学证明	34
5.1	过氧化氢酶的细胞化学证明及显微术定位	35
5.1.1	过氧化氢酶的细胞化学证明	35
5.1.2	过氧化氢酶的亚细胞位落	40
5.2	根据细胞化学证示对其它过氧化物酶作亚 细胞定位	44
5.2.1	形成过氧化氢(H_2O_2)的氧化酶	44
5.2.2	L- α -羟酸氧化酶	45
5.2.3	苹果酸合成酶	48

5.3	微小体中非专一性的过氧化物体酶的细胞 化学证明	49
6	由植物细胞中分离过氧化物体	51
7	植物细胞的过氧化物体的组分	63
7.1	过氧化物体的膜	63
7.1.1	过氧化物体膜的蛋白组分	66
7.1.2	过氧化物体膜里的脂类的成分	70
7.2	过氧化物体的衬质及其内含部分	72
7.3	过氧化物体中酶特性的测定	73
7.3.1	过氧化氢酶	74
7.3.2	尿酸酶	78
7.3.3	异柠檬酸裂合酶	78
7.3.4	苹果酸合成酶	84
7.3.5	柠檬酸合成酶	86
7.3.6	β -氧化作用的酶	87
7.3.7	碱性脂肪酶	88
7.3.8	取决于 NAD 的苹果酸脱氢酶	89
7.3.9	乙醇酸氧化酶和乙醇酸脱氢酶	93
7.3.10	羟基丙酮酸还原酶(NADH-乙醛酸还原酶; D-甘 油酸脱氢酶)	100
7.3.11	转氨酶	105
7.3.12	醇类(甲醇)氧化酶	111
7.4	在颗粒中酶的区室化作用	111
7.4.1	酶与过氧化物体内含物的结合	113
7.4.2	在乙醛酸体中酶的区室化	114
7.4.3	叶片的过氧化物体中的酶的区室化	120
8	高等植物细胞的过氧化物体的代谢及功能	121
8.1	乙醛酸体	121

8·1·1	发芽的蓖麻种子胚乳的乙醛酸体	122
8·1·2	其他植物组织的乙醛酸体	146
8·2	叶过氧化物体	148
8·2·1	乙醇酸代谢	152
8·2·2	叶过氧化物体中乙醛酸代谢的反应	156
8·2·3	在叶过氧化物体中的乙醛酸反应	160
8·2·4	乙醇酸代谢及叶过氧化物体的功能	163
8·2·5	在叶过氧化物体中的其他酶	164
8·2·6	C ₄ 植物的叶过氧化物体	167
8·2·7	在无叶绿素的叶组织中的过氧化物体	172
8·3	非专化功能的过氧化物体	173
8·4	在过氧化物体中的嘌呤分解酶	178
8·5	在过氧化物体中芳香族化合物代谢的诸酶	180
9	藻类中的过氧化物体的证明、代谢及功能	183
9·1	过氧化物体的证明	183
9·2	乙醛酸循环以及它们的亚细胞位置	187
9·3	乙醇酸代谢及乙醇代谢中各种酶的亚细胞定位	192
9·4	总结	199
10	真菌中过氧化物体的存在、代谢及功能	201
10·1	过氧化物体的证明	201
10·2	过氧化物体的乙醛酸体特性	207
10·3	利用甲醇的酵母的过氧化物体	212
11	微小体(过氧化物体)的生物发生及发育	217
11·1	生物发生	217
11·2	在过氧化物体中核酸的存在	228
11·3	微小体(过氧化物体)的发育	232
11·3·1	乙醛酸体	232
11·3·2	叶过氧化物体	249

11·3·3 其他植物组织的过氧化物体	252
11·4 过氧化物酶的活性表现	253
11·4·1 过氧化物体酶的重新合成或活化	254
11·4·2 过氧化物体酶的转录及翻译过程	256
12 过氧化物体酶活的调节	259
12·1 光线造成的调节	259
12·2 植物激素的调节	266
12·3 代谢物进行的调节	269
13 总的回顾	273
参考文献	289



引 言

1·1 微小体 (Microbodies)——过氧化物体 (Peroxisomen)

微小体这一用语在 1954 年由 Rhodin (参见 Rhodin, 1958) 提出, 指的是鼠肾的肾小管细胞中的一种胞器, 由一简单的限制膜围绕的均一体, 在电子显微镜图片中显示出具有细颗粒的衬质 (Matrix)。自此以后, 在哺乳动物中其他组织的细胞里也发现有微小体。这种胞器的图形显示略有不同, 即在基础母质中还有一电子致密的区域, 或呈现类晶体结构的内含物 (图 1·1)。今天已可证明微小体, 或类似微小体的这种颗粒在许多哺乳动物的组织中均有存在。(综述性文章参见: Hruban 及 Rechcigl, 1969; Hruban 等人, 1972; Böck, 1973 a; Novikoff 等人, 1973)。其他类的脊椎动物组织中 (Hruban 及 Rechcigl, 1969) 以及无脊椎动物中 (Owen, 1972; Hand, 1974) 也有所存在, 甚至在原生动物中也能找到微小体 (Hruban 及 Rechcigl, 1969; Müller, 1975)。

在植物细胞的显微形态学中直到 1966 年尚未应用微小体这一概念。相应于动物细胞微小体的结构却曾有过描述, 但使用的是另外的术语 (见 Sitte, 1965 Mollenhauer 等人, 1966; Frederick 等人, 1968), 并且没有把它当做细胞质中的一种单一的类群^①来加以处理, 只是 Mollenhauer 等人 (1966) 才证实了植物细

① 依 Sitte (1971) 的说法, 胞质体 (Cytosomen) 是一种在功能上及生物发生上均未搞清的、颗粒状的、由单层膜围限的细胞组成物。

胞的胞质体(Cytosomen)与动物细胞中的微小体在结构上的一致性,并将微小体概念也引入到植物细胞的显微形态学中。植物细胞微小体的结构特色及其作为专化的胞器的定义,以后主要是由 Frederick 等人(1968),及 Frederick 和 Newcomb(1969 a)引入的,现在已把微小体视为植物分生细胞及分化细胞的规律性的细胞器。关于植物细胞的微小体的综合性叙述,特别是这种胞器的结构,可见 Vigil(1973)、Frederick 等人(1975), Maxwell 等人(1975)及 Silverberg(1975a)的文章。

微小体具有结构上的特征,某些胞器和微小体排列成群,成为其形态学的标志。各种细胞类型的微小体的酶装备或其代谢生理功能,必然是但却不一定是彼此一致的(图 1·2)。微小体第一个重要的生物化学特征的资料,是由鼠肝细胞内的酶的胞内定位研究而得来的。De Duve 及其共同工作者(见 De Duve, 1965 a的综述)由这些细胞中分离出一些胞器,它们含有过氧化氢酶,及形

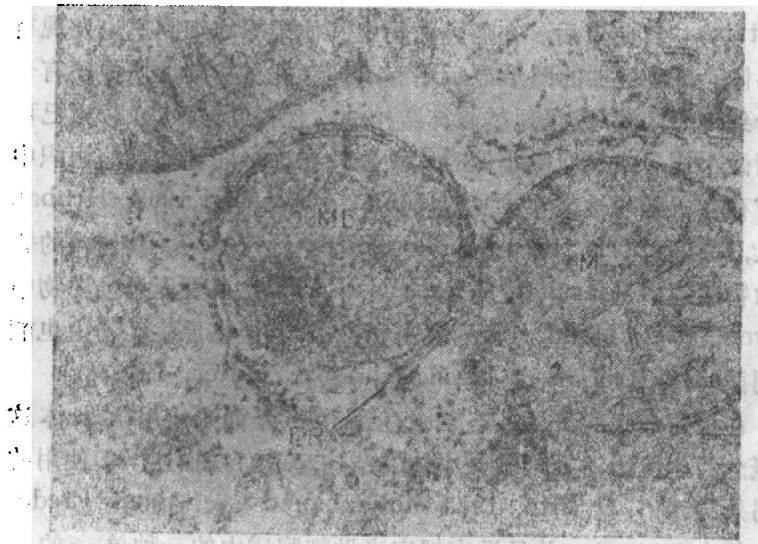
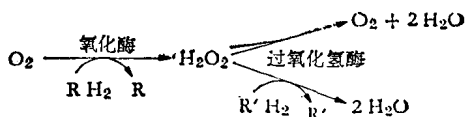


图 1·1 鼠肝细胞的微小体(Mb)。这种微小体与内质网(ER)相结合。线粒体(M)。放大 41000 倍,蒙 R.L. Wood 允用原图(Wood 及 Legg, 1970)

本书中图版都按原书的 7~8 折制版。——译者注

成 H_2O_2 的氧化酶(尿酸酶, D-氨基酸氧化酶, α -羟酸氧化酶)。根据提供 H_2O_2 的酶反应的位置, 以及 H_2O_2 代谢的过氧化氢酶也在同一细胞器之内这一事实, 可以将这个胞器看做细胞内 H_2O_2 代谢的一个基本地点。由氧化物酶及过氧化氢酶相互配合的酶促反应过程相当于一种经过过氧化物而进行的呼吸, 因此这种胞器称为“过氧化物体”^① (De Duve, 1965 b)。



过氧化物体的定义是指含有过氧化氢酶和至少一种形成 H_2O_2 的氧化酶的胞器(De Duve, 1969 a)。然而, 过氧化物体一词也非常不精确地用于含有一些过氧化氢酶, 却未能证示存在有形成 H_2O_2 的氧化酶的细胞器。只限于把过氧化氢酶作为主要的酶而将胞器划为过氧化物体是不够的, 它们中的一部分是动物的“微过氧化物体”。至于在植物细胞中称之为过氧化物体的不精确之处, 本书将以相应的方式, 在讨论过氧化物体时予以讨论。

过氧化物体一词系指由鼠肝中分离出的, 含过氧化氢酶和专一性氧化酶的胞器, 虽然对这种纯化制备物的电子显微镜研究表明它与肝细胞的微小体是同一物类(Baudhuin 等人, 1965), 但对于一般的微小体和鼠肝分出的微小体在具有的酶装备方面到底是否有差别尚不清楚, 同时也不知道另外一些细胞类型所展示的在其生化性质上相应于肝细胞的过氧化物体的细胞器是怎样的结构。因此“过氧化物体”一词的定义不同于“微小体”的定义之处在于这种细胞器是依照一定的生物化学功能标准而划分出来的。在这种划分中不涉及胞器的结构特色。因此过氧化物体是细胞的一个组分, 它确实可能和依形态标准而定义的微小体是同一物类。但

① “过氧化物体”一辞不能简单地认为是有过氧化物酶存在的地点, 尽管有时有这样的误解。在过氧化物体中未能证明有过氧化物酶, 关于在植物细胞中过氧化物酶定位的研究, 人们可参见 Parish (1972C, 1972d, 1975C; 亦参见 Stafford, 1974)。

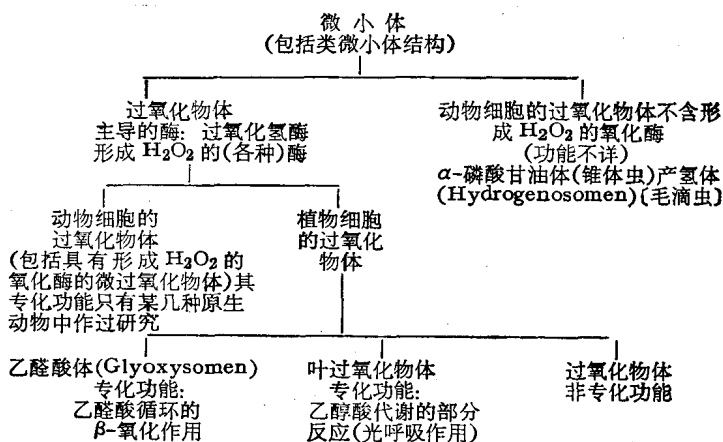


图 1·2 微小体和过氧化物体的分划图

又不一定是同一物类。

为了证实过氧化物体和微小体是同一事物，需要将过氧化物体的制片置于电子显微镜下进行形态上的研究，或对微小体的生化特色进行细胞化学研究，看看在微小体中是否具有过氧化物体的酶。由动物细胞，植物细胞或微生物中所分离出来的过氧化物体，至少在电子显微镜制片中可以看到，几乎是无例外的全部相应于微小体。迄今为止对过氧化物体中酶的细胞化学证示基本上只做了过氧化氢酶。从就位上看，这种酶只是在下列颗粒中能明显地证实其存在，即在可称之为微小体，或至少称之为类微小体的结构物中存在（如 Novik off 及 Novikoff, 1972 称之为微过氧化物体那种胞器）。上述结果表明“微小体”和“过氧化物体”可做同物异名使用。严格说来这两种定义是由不同的两种角度即结构的角及生化功能的角去处理同一种细胞器而得来的。

证明过氧化物体和微小体的同一性却不能说明微小体总是和过氧化物体是同一性的（图 1·2）。关于植物细胞，迄今为止尚未有人明确指出微小体不具有过氧化物体的特点。一般微小体中只有过氧化氢酶能做细胞化学上的证示，但未能证示还存在氧化酶，而按照定义这对证示微小体就是过氧化物体却是必不可少的。某些

藻类及真菌的微小体内用细胞化学方法未能证示存在有过氧化氢酶，当用分离出的微小体进行研究时却又得到了证实。团藻目的微小体用细胞化学方法检查过氧化氢酶为阴性结果，而用分离出的微小体则有所不同，证明其中确有过氧化氢酶及过氧化物体氧化酶(尿酸酶)。在一种美丽眼虫杆形变种(*Euglent gracilis* var. *bacillaris*)的微小体中用细胞化学方法不能证示有过氧化氢酶(可能是由于藻类的培养条件所造成的)。这种酶在无细胞匀浆液中也见未其存在，但在这种藻类的微小体中却能找到高等植物细胞的过氧化物体所专有的并具有特定功能类型的酶。

在动物细胞和原生动物中则与前述在植物细胞中的情况相反，并不是总能看到微小体与过氧化物体相互一致(图 1·2)。在许多哺乳动物组织的细胞里，确曾看到称之为微过氧化物体的类似于微小体的结构中有过氧化氢酶(Novikoff 和 Novikoff, 1972 Novikoff 等人, 1973)，但在这些胞器中是否存在着过氧化物体氧化酶则对于名称不同的组织有着不同的报道(de Duve, 1973 Connock 等人, 1974; Hand, 1974 Böck 等人, 1975; Goldenberg 等人, 1975)。某些原生动物属的微小体(其中包括锥体虫，毛滴虫*)既不包含过氧化氢酶，也不包含形成 H_2O_2 的氧化酶。在这些原生动物的微小体中(图 1·2)存在着其他的酶，它们催化着一些反应，从而使还原地位上相当的好氧生物(如形成水的锥体虫)或厌氧生物(形成氢的毛滴虫)在它们的氧化还原反应中保持其能量守恒(综述见 Müller, 1975)。

1·2 过氧化物体的功能

由于在过氧化物体上存在着形成 H_2O_2 的氧化酶及过氧化氢酶，使得这种胞器成为细胞中 H_2O_2 代谢的地点，但它并不是 H_2O_2 代谢的唯一地点。某些 H_2O_2 是在细胞的其他部位由“超氧化物

* 原文数处均为 *Tritrichomonas*，恐系 *Trichomonas* 之误。——译者注

根”(Superoxidradikal 即 O_2^-) 直接地或间接地借助于超氧化物歧化酶(Superoxiddismutase)^① 而形成(综述见 Halliwell, 1974 a; Sies 1974), 也有证明由过氧化物体释放在过氧化物体内形成的 H_2O_2 (Boveris 等人, 1972)。过氧化物体以外的 H_2O_2 的分解可能是由于过氧化氢酶的作用所造成的。过氧化氢酶(除红血细胞以外)也是在过氧化物体以外的, 它位于基础质中, 这一点在目前是明确无疑的(5·1·2; 7·3·1)。

细胞中 H_2O_2 代谢所具有的, 却还未精确掌握的过氧化物体的一般性功能(参见 Oshino 等人, 1973; Halliwell, 1974 a; Sies, 1974)与过氧化物体的专一性功能相反, 在某些情况下这种胞器中是能够证示的(图 1·2), 相信它们在细胞的某些代谢过程中与过氧化物体的活性成为一个整体。在发芽种子的富含脂肪的组织内, 胞器内存在着 β -氧化和乙醛酸循环的酶, 因此称之为乙醛酸体(Breidenbach 和 Beevers, 1967), 但后来发现与过氧化物体是同一胞器。迄今为止在生化上乙醛酸体是过氧化物体的测定得最佳的特殊功能型(综述性文章见: Beevers, 1969, 1971; Tolbert, 1971 a)。另外一种组织上和功能上特定类型的过氧化物体类型是叶肉的过氧化物体, 它含有需要光合作用的光呼吸[或叫乙醇酸代谢(Glycolatstoffwechsels)]的酶, 并且由于它的这种专一性功能特征而称之为叶过氧化物体(综述文章有: Tolbert 及 yamazaki, 1969; Tolbert, 1971 a, 1973 a)。这种专化功能型的过氧化物体也能在某些真菌、藻类及原生动物中找到(综述文章见 Müller, 1975)。关于参与细胞的 H_2O_2 代谢的胞器功能, 在动物细胞的过氧化物体中迄今为止尚未为人们发现。有一种假说, 即过氧化物体的这种活动在细胞代谢中是过氧化物体的呼吸作用, 但这一点并未得到证实(综述文章见: De Duve 及 Baudhuin, 1966; De Duve, 1969 a; Vandor 及 Tolbert, 1970)。但过氧化物体在大部分类型的植物细胞及大多数微生物中却是一种过氧化

① 超氧化物歧化酶不位于过氧化物体之中(Asada 等人, 1973; peeters-Joris 等人, 1975; Tyler, 1975)。

物体的未曾专化的功能型。到底在多大程度上专化的功能型是由这一类过氧化物体分出的，估计作为整体的过氧化物体在细胞中的活动如何，尚有待于过氧化物体的未来的研究工作。

微小体的结构

2.1 微小体鉴别的标准

在高等植物细胞中微小体的结构主要是由 E. H. Newcomb 研究集团进行的(Frederick 等人, 1968; Frederick 和 Newcomb, 1969 a, 1971; Gruber 等人, 1970, 1972, 1973; Vigil, 1970; Newcomb 和 Frederick, 1971)。

微小体与其他细胞器在形态标准方面的主要区别如下:

1) 微小体是一种胞质颗粒, 它们由一种简单的, 不附有核糖体的膜所环绕(图 1·1, 2·1)。在未分化的植物细胞中, 它们有时不甚显著(图 2·2)。膜的厚度为 6~8 微米(Grave 等人, 1971; McLaughlin, 1973; Oakley 及 Dodge, 1954; Silverberg 及 Sawa, 1974; Philippi 等人, 1975; 此外也参见 Hruban 及 Rechcigl, 1969), 并且呈现为具有电子透明中间层的三层结构(图 2·3)因此其结构上相应于一套单位膜(对于现代的“单位膜”概念, 见 Müller, 1973; Sitte, 1973)。对于微小体膜结构的不同观察结果见 Wedel 及 Berger (1975) 发表的文章。依照连续切片对鼠肝细胞的三维重建图形可以看到有两类具有微小体特性的胞器。尽管对胞器的斜向切片看到这两种类型的胞器在其膜结构上并无差别, 但在膜的垂直切片〔胞器中径切片(Medianschnite)〕中却可以看到明显的不同。那种直径较大的(约 0.4 微米), 并且在其衬质中有一个电子致密区域(2·2)的所谓微小体的胞器, 具有一层 11 毫微米厚的单层膜。另外一群胞器是否能称之为微小体尚未搞清