

博
學



JICHU YIXUE XILIE

基础医学系列

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

(第二版)

复旦博学·基础医学系列

复旦博学·基础医学系列

复旦博学·基础医学系列

復旦大學 出版社



基础医学系列

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

(第二版)

復旦大學 出版社

图书在版编目(CIP)数据

细胞超微结构与电镜技术——分子细胞生物学基础/凌诒萍,
俞彰主编.—2版.—上海:复旦大学出版社,2004.2
ISBN 7-309-03842-8

I. 细… II. ①凌…②俞… III. ①细胞-超微结构-研究
②分子生物学:细胞生物学 IV. Q2

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 110188 号

细胞超微结构与电镜技术——分子细胞生物学基础(第二版)
凌诒萍 俞 彰 主编

出版发行 **复旦大学出版社**

上海市国权路 579 号 邮编 200433

86-21-65118853(发行部) 86-21-65109143(邮购)

fupnet@fudanpress.com <http://www.fudanpress.com>

责任编辑 贺 琦

装帧设计 马晓霞

总 编 辑 高若海

出 品 人 贺圣遂

印 刷 上海华业装潢印刷厂

开 本 787×1092 1/16

印 张 12 插页 2

字 数 285 千

版 次 2004 年 2 月第二版 2004 年 2 月第一次印刷

印 数 1—2 500

书 号 ISBN 7-309-03842-8/R·824

定 价 19.00 元

如有印装质量问题, 请向复旦大学出版社发行部调换。

版权所有 侵权必究

前 言

我们曾于 2000 年编写了上海普通高校“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》，该教材主要用于医学院校本科生和研究生的教学。在多年的教学实践中，尤其面对 21 世纪快速发展的生物医学，我们发现学生并不满足于对一般细胞超微结构的认识，他们很想在此基础上深入了解细胞的这些超微结构在不同细胞中的表现，尤其是研究生课题研究工作中面对的是各种各样不同的细胞，而目前国内此类书籍并不多见。所以，我们认为有必要在原有教材基础上深入介绍各种不同细胞的超微结构特点，如上皮细胞、结缔组织细胞和细胞间质、肌细胞、神经细胞和神经胶质细胞、血细胞和骨髓造血细胞，以及一些其他类型的细胞，使学生对各种不同组织的细胞超微结构有比较全面的了解。本教材经修订后将更具有可读性，将为学生在超微结构领域的知识打下扎实的基础。对欲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，本书也是一本有用的参考书籍。

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

2004 年 1 月

目 录

第一章 细胞超微结构概论——分子细胞生物学基础	1
第一节 质膜	1
一、质膜的化学组成及分子结构	1
二、质膜的通透性和物质的跨膜运输	4
三、质膜的特化结构和功能	13
第二节 核糖体和内质网	19
一、核糖体	19
二、内质网	22
第三节 高尔基复合体	27
一、高尔基复合体的形态	27
二、高尔基复合体的化学组成	30
三、高尔基复合体的功能	30
第四节 线粒体	33
一、线粒体的超微结构	33
二、线粒体的功能	35
三、线粒体的生物合成	39
第五节 溶酶体	42
一、对溶酶体认识的历史进展	42
二、溶酶体的特征	42
三、溶酶体的功能	44
四、溶酶体的类型	46
五、溶酶体与疾病的关系	46
第六节 细胞骨架	47
一、微丝	47
二、微管	50
三、中间丝	54
第七节 细胞核	56
一、核内各成分的形态结构	56
二、核仁	64
三、核膜	65

第二章 不同组织和细胞超微结构特点	68
第一节 上皮细胞	68
一、被覆上皮细胞	68
二、腺上皮细胞	74
三、肝细胞及其他相关细胞	77
第二节 结缔组织细胞和细胞间质	80
一、细胞间质	80
二、结缔组织细胞	82
第三节 血细胞和骨髓造血细胞	87
一、血细胞	87
二、骨髓造血细胞	91
第四节 肌细胞	96
一、骨骼肌细胞	97
二、心肌细胞	101
三、平滑肌细胞	103
四、其他收缩肌细胞	104
第五节 神经细胞、神经胶质细胞和感觉传导细胞	104
一、神经细胞	105
二、神经胶质细胞	106
三、中枢神经系统的毛细血管	108
四、神经纤维	108
五、神经细胞间的联系	110
六、感觉传导细胞	112
第三章 研究细胞超微结构的常用技术	117
第一节 透射电镜技术	117
一、透射电镜的基本结构和原理	117
二、透射电镜生物样品制备技术	124
第二节 扫描电镜技术	130
一、扫描电镜的发展及其特点	130
二、扫描电镜的基本结构和原理	131
三、扫描电镜生物样品制备技术	132
第三节 电镜细胞化学技术	137
一、特殊染色技术	137
二、电镜放射自显影技术	138
三、电镜酶细胞化学技术	139
四、免疫细胞化学技术	141
第四节 低温制样和冷冻蚀刻技术	144
一、低温制样	144

二、冷冻蚀刻技术	146
三、冷冻蚀刻图像解释	149
第五节 电镜 X 线显微分析技术和超高压电子显微术	151
一、电镜 X 线显微分析技术	151
二、超高压电镜技术	158
第六节 扫描探针显微镜技术	159
一、概述	159
二、扫描探针显微镜的基本原理	160
三、扫描探针显微镜的基本结构	161
四、扫描探针显微镜在生物医学领域的应用	162
参考文献	164
汉英分子细胞生物学词汇	165

第一章 细胞超微结构概论

——分子细胞生物学基础

第一节 质 膜

质膜(plasma membrane, plasmalemma)又称细胞膜。它把细胞质与外环境分隔开,成为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被的细胞器,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胨状物质。细胞器的这些膜结构称细胞内膜(intracellular membrane),其中包括线粒体膜、高尔基复合体膜、内质网膜、溶酶体膜和核膜等。质膜与细胞器的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6~10nm。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1-1)。

表 1-1 几种膜的化学组成(%)

膜	蛋白质	脂类	糖类
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

1. 膜脂

质膜上的脂类以磷脂和胆固醇为主,有的质膜还含有糖脂。磷脂多以磷酸甘油脂的形

式存在,如磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC,即卵磷脂)、磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE,即脑磷脂)及磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PH)。磷脂中还有以鞘氨醇为支架的鞘磷脂。神经酰胺是神经鞘氨醇的衍生物,其末端碳上的羟基与上述磷酸甘油酯相连接形成相应的神经鞘磷脂(sphingomyelin)。神经酰胺与糖类结合形成糖脂。膜上很多受体即由糖脂构成。

组成生物膜的一类固醇物质主要是酯化型的胆固醇,它与磷脂碳氢链有相互作用,对相变温度有显著影响,对膜脂的物理状态具有调节作用。动物细胞无细胞壁保护,胆固醇有加强质膜的作用。

膜脂的种类虽多,但它们的分子具有共同的特点,既有亲水的极性头部,又有疏水的非极性尾部。这一结构特点有利于在水溶液中形成脂质双分子层,且游离端有自动闭合的趋势,不暴露碳氢链尾部。这样形成的稳定中空结构称脂质体(liposome),直径可达 $1\mu\text{m}$ 。若形成尾部相聚,头部朝着水相的小粒称为胶态分子团(micelle),直径约为 20nm 。质膜就是包绕细胞的封闭脂双层结构。膜蛋白可视为膜上的特化区,镶嵌或附着在脂双层上,脂双层的疏水环境可使蛋白质维持一定构象,且有利于某些化学反应的进行,脂双层是极性化合物的通透屏障,可保持细胞内环境稳定。因此,利用脂质体可进行大量质膜功能的实验性研究(图1-1)。

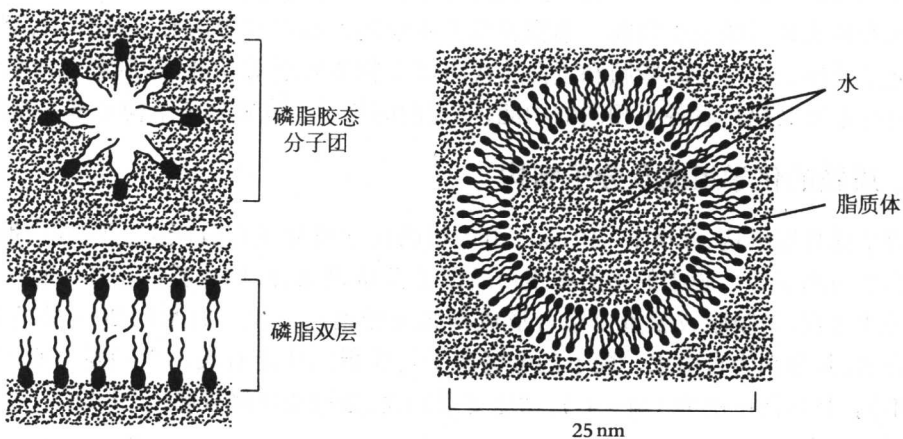


图1-1 脂质分子排列的几种形式

2. 膜蛋白

膜蛋白是膜功能的主要担负者,其中有多种酶、受体、通道蛋白等。不同功能的细胞,膜蛋白含量有明显的差异。功能复杂多样的线粒体内膜蛋白约占膜重的75%;而功能单纯的髓鞘约占18%。膜蛋白是球状蛋白,有一定的空间构象,基团围绕单链旋转时可引起构象的改变(conformational change),但构象的改变是可逆的。膜蛋白可分为两类,即外周蛋白(peripheral protein)和镶嵌蛋白(integral protein)。

外周蛋白通过静电作用及离子键、氢键和膜脂分子的极性头部结合,或者通过与镶嵌蛋白的相互作用间接与膜相结合,并不伸入到脂质双分子层的疏水区。外周蛋白的结合力较弱,通过改变溶液的离子强度或浓度等温和的方法即可将它们从膜上分离下来。外周蛋白占膜蛋白的20%~30%,其中常见的有红细胞膜胞质面的血影蛋白(spectrin)、质膜外侧面的糖萼(glycocalyx)蛋白、髓鞘的碱性蛋白、线粒体膜上的细胞色素C、己糖激酶等。

镶嵌蛋白深入到脂双层的疏水区并与之相互作用而结合在膜上,结合力较强,只有用去垢剂使膜崩解才能将镶嵌蛋白分离出来。镶嵌蛋白占膜蛋白质的绝大部分(70%~80%)。镶嵌蛋白嵌入的基本形式有4种:即埋入、插入、贯穿和以相同或相似亚单位组成的复合体形式存在。后者如带Ⅲ(band Ⅲ)蛋白、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶等。

许多蛋白质与糖以共价键结合形成糖蛋白。糖类分子只分布在质膜的外表面。糖蛋白是膜抗原的主要部分,也与细胞通讯、细胞识别有关。

3. 质膜上的糖类

质膜上糖类含量一般少于膜化学成分的10%,以寡糖(oligosaccharide)形式存在,分布于细胞外表面,形成糖萼或称细胞外衣(cell coat)。质膜上的糖类多与脂类和蛋白质结合形成糖脂或糖蛋白。一个糖脂分子只结合一个寡糖链,而糖蛋白分子上可结合多个寡糖链。寡糖链对蛋白质和膜的物理化学性质有很大影响,它有重要的生物活性,特别是其中的唾液酸和神经氨酸的作用更重要,它与细胞识别、配体受体的识别过程有关。近年来注意到在炎症反应时白细胞巡游至炎症部位就有一种糖蛋白分子称为选择素(selectin),参与其识别过程。

4. 质膜的结构

自20世纪30年代以来对质膜的分子结构已提出许多模型。最早的是1935年Danielli-Davson的质膜片层结构模型;随着新技术的发展和应,相继出现过亚基膜、蛋白晶态膜、镶嵌晶态膜等模型,其中1972年Singer和Nicolson提出的液态镶嵌模型(fluid mosaic model)最富有生命力。该模型认为生物膜是一种流动的、嵌有蛋白质的脂类双分子结构。脂类双分子层构成的主体,具有很低的通透性。镶嵌在脂双分子层中的蛋白质具有多种生物功能。少量膜脂与特定的膜蛋白有专一的相互作用,这是膜蛋白功能所必须的。膜蛋白除受某种专一相互作用的限制外,它可在脂双层中自由侧向扩散。

近年来发现质膜中的某些脂类之间呈特异性结合,脂类分子在相变中有协同作用。膜结构中有分相现象,并且各种脂类共存,以致形成膜平面上的区块结构和界面膜。据此,1977年Jain和White提出了“板块模型”(blocky model)。该模型认为在流动的脂类双分子层中存在着许多大小不同、能独立移动的板块。板块之间由无序的脂质流动区所分割,两者处于动态平衡中,膜平面中同时存在着不同组织结构和不同性质的许多板块,它们的变化主要由板块内组分的构象和相互作用的特异性所决定,而膜功能的多样性可能与板块的性质和变化有关。

液态镶嵌模型自提出以来,虽在个别细节上有所改动,但至今仍被广泛接受。从质膜的超微结构来讨论,还不得不强调Robertson于1959年提出的“单位膜”(unit membrane)学说,他发现膜经四氧化锇固定后在电镜下呈现出两暗层夹一明层的结构(插图1),并认为一切生物膜都是这种单位膜结构。单位膜的内外两个暗层是蛋白质分子和脂类分子的亲水端构成,每层厚2.2~2.5nm,分别称为质膜内叶层和质膜外叶层,明层是脂质分子的疏水端,厚2.5~3.5nm。随着近年来电镜技术的发展,膜上部分的具有特殊功能的分子可在电镜下观察到。

5. 生物膜的特性

它包括膜结构和功能的不对称性(asymmetry)及膜的流动性(mobility)。

膜内外两层的组分分布有很大的差异,首先脂质的种类及含量比例存在着差别。如在红细胞膜中,外层含鞘磷脂、磷脂酰胆碱较多,而在内层则含磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸较多。由于磷脂酰丝氨酸带有负电荷,因而膜的内侧面负电荷大于外层。特定的镶嵌蛋白

(酶)的周围需要有特定的磷脂才有活性,如 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶需要有磷脂酰丝氨酸、 $\text{Ca}^{2+} - \text{ATP}$ 酶需要有磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺。蛋白质分布的不对称性是绝对的,所有的膜蛋白与脂质双层的结合是不对称的,因为没有一个膜蛋白多肽既位于膜内侧又位于膜外侧。膜内外两层中镶嵌蛋白颗粒的分布内层多于外层,外周蛋白多附在膜内表面。糖类主要分布于膜的外表面,并与膜脂质和膜蛋白结合形成糖脂和糖蛋白。膜结构的不对称性保证了膜功能的方向性,使膜两侧具有不同的功能。膜的不对称性具有重要的生物学意义,它与膜上的物质运输、细胞间的联系、细胞黏着及细胞识别等功能有关。

生物膜又是一种动态结构,其中膜脂和膜蛋白分子皆不是静止的,而是具有流动性的特点。脂质双分子层具有液晶态结构,它的组分排列既是有序的,又是可以流动的,这是生物膜极为重要的特性。在生理常温下,脂质多呈液晶态,当温度下降到某一点时,液晶态则变为晶态,温度上升时晶态又可溶解为液晶态。这一引起相变的温度称为相变温度。在相变温度以上,液晶态的膜脂质总是处于流动状态(图 1-2)。膜蛋白在液晶态膜中也处于运动状态,与脂类协同完成生物膜的许多重要功能。事实上,膜的流动性是膜蛋白行使功能的必要条件。

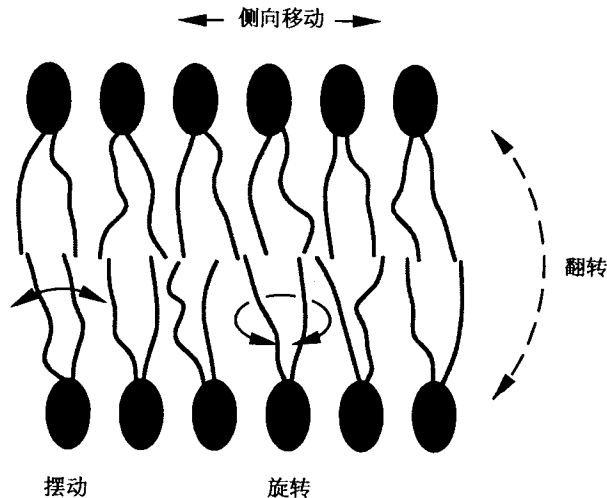


图 1-2 脂质分子在膜上的流动

二、质膜的通透性和物质的跨膜运输

活细胞膜对于物质跨膜运输具有选择性。膜脂双层结构本身是水溶性物质的天然屏障,它保证了细胞内环境的恒定。质膜的选择性通透对物质进出细胞起着调节和控制作用,并维持膜内外离子浓度差及电位差,保证了膜内外渗透压平衡。小分子物质可以通过简单扩散和膜蛋白介导的方式跨膜运输,大分子及颗粒物质则通过内吞作用和胞吐作用进行跨膜运输。

1. 膜的选择性通透和简单扩散(simple diffusion)

气体与不带电的极性小分子(CO_2 、 O_2 、尿素、乙醇)顺浓度梯度跨膜移动,不需要 ATP 供给能量,也不需特殊蛋白质帮助的转运称做简单扩散。

膜脂对这些物质的通透主要取决于物质分子的大小、脂类溶解度以及是否带有电荷。人工脂膜对水、气体(O_2 、 CO_2)以及小的相对疏水的水溶性分子(乙醇)是可以渗透的,对大多

数水溶性分子是不可渗透的,如葡萄糖、葡萄糖磷酸、ATP、核苷酸、氨基酸和蛋白质。水分子虽不溶于脂,但它分子小,不带电而具有双极性结构,所以容易透过脂双层。带有电荷的分子因其周围往往会形成水化层,使之难以透过,如 Na^+ 、 Cl^- 等。

2. 膜蛋白介导的运输

一些相对较大的极性 or 带电的分子,如葡萄糖、氨基酸及离子等物质不能通过单纯扩散进出细胞。这些物质需要膜蛋白介导进行跨膜运输。膜蛋白介导的跨膜运输分为载体蛋白(carrier protein)介导和通道蛋白(channel protein)介导两大类。载体蛋白能与所运输的特异性物质结合,经本身构象改变,而运送该物质穿过膜。通道蛋白则形成贯穿脂双层的充水孔道,在特异信号控制下,这些孔道打开时,能让特异性物质(一般是无机离子)经过而穿越膜。根据膜蛋白介导的跨膜运输中有无能量偶联又分为被动运输和主动运输两种形式。被动运输又称易化扩散(facilitated diffusion)。被动运输是在载体蛋白的协助下,使需要运输的物质顺着浓度梯度或电化学梯度,不消耗能量的物质跨膜运转过程。所有的通道蛋白和一部分载体蛋白介导的运输属于被动运输。主动运输是将物质逆浓度梯度或化学梯度进行运输的过程,在运输的同时伴有能量的消耗。大部分的载体蛋白介导的跨膜运输属于主动运输。以下分别以载体蛋白介导及通道蛋白介导来讨论膜蛋白介导的物质跨膜运输。

(1) 载体蛋白介导的运输

1) 葡萄糖载体蛋白: 葡萄糖的摄取是细胞重要的功能之一,位于细胞质膜上的葡萄糖载体蛋白(glucose carrier protein)介导葡萄糖的跨膜运输,该载体蛋白现已被从人红细胞膜中分离提纯并进行序列的测定。葡萄糖载体蛋白由 12 个 α 螺旋的跨膜蛋白片段组成,主要含疏水的氨基酸,但也有些极性氨基酸结合于膜中,相对分子质量 55 000。动力学研究指出葡萄糖的转运功能是通过它自身构象的改变来实现的。葡萄糖先结合在细胞膜的外面,并引起载体蛋白的构象改变。将葡萄糖的结合位点转向膜内,最终将葡萄糖释放到胞质溶胶中,随后载体蛋白构象复原。葡萄糖载体蛋白介导的葡萄糖运输属于被动运输型的跨膜运输(又称易化扩散)。大多数细胞,包括红细胞,细胞外的葡萄糖浓度总是高于细胞内,因此葡萄糖载体蛋白对葡萄糖的转运方向也是从胞外到胞内。一旦葡萄糖被细胞吸收很快就被代谢,因而胞内葡萄糖浓度始终低于胞外,葡萄糖不断地用这种方式吸收入细胞内,然而葡萄糖载体蛋白的构象变化是可逆的,有些情况下,它的转运也可以从胞内到胞外,如肝细胞可以合成葡萄糖而将它释放至血流中去。每种被动运输型的载体蛋白只能协助一种离子或分子,其扩散的速率较之简单扩散大大增加,这一扩散速率随溶质浓度增加呈指数曲线增大,故有一定限度。因为每一类型的载体蛋白对要运输的溶质分子都有一特定的结合位点,当它们所有的结合位点都被占据,此时运输速率达最大(V_{\max})。另外每个载体蛋白对它的溶质分子有一个特定的米氏常数(K_m)。其数值等于最大运输速度时溶质浓度的一半,它们间呈一个饱和动力学关系,这与酶促反应速率与底物浓度间的关系相类似。

2) Na^+ - K^+ -ATP 酶: 目前此酶已得到较充分的研究,可从多种细胞膜上提纯。哺乳动物肾脏和鳗鱼的电器官上含量较高。酶的分子结构是二聚体(dimer),分别有大小两个亚单位。小亚单位是一糖蛋白,相对分子质量为 50 000,另一为非糖的多肽,相对分子质量为 120 000,其上有一催化 ATP 水解的部位(图 1-3)。此酶的主要功能是负责 Na^+ 、 K^+ 通过质膜进行交换。此种交换功能可在体外用脂质体的实验加以证实。每分解 1 分子 ATP 可向质膜外推出 3 个 Na^+ 和向质膜内送入 2 个 K^+ ,因此又称作 Na^+ - K^+ 泵。 Na^+ - K^+ -ATP 酶位于质

膜内,部分露于膜之内外两侧。面向胞质侧有一 ATP 结合点和 3 个 Na^+ 高亲和结合点,面向膜外侧有 2 个钾高亲和结合点和哇巴因(ouabain)结合点。 Na^+ - K^+ 泵的机制尚不清楚,一般设想是依靠 ATP 分解的能量引起酶蛋白构象的改变,形成两种通道,使 Na^+ 、 K^+ 逆浓度梯度移动。

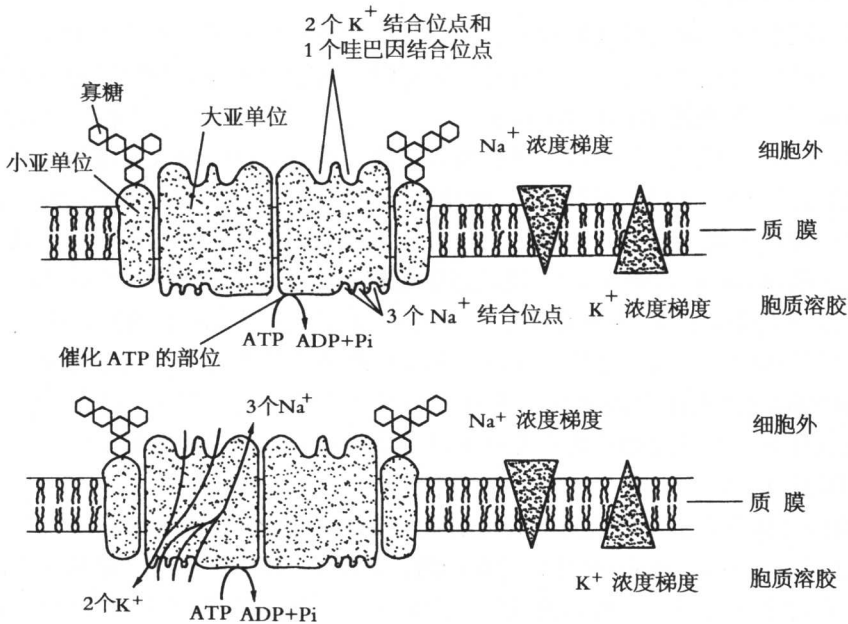


图 1-3 Na^+ - K^+ -ATP 酶结构与功能示意图

Na^+ - K^+ -ATP 酶作用的直接效果是维持了细胞内低钠高钾的特殊离子梯度。其间接效应应有: ① 调节细胞容积。细胞外高浓度 Na^+ 使 Na^+ 有顺浓度梯度流入细胞的倾向, Na^+ - K^+ -ATP 酶把流入的 Na^+ 不断泵出,维持了膜内外渗透压的平衡。若用哇巴因处理,细胞将很快肿胀破裂,可见 Na^+ - K^+ -ATP 酶对维持细胞容积的重要性。② 物质吸收。有些物质的吸收所需的能量是由 Na^+ 浓度差提供, Na^+ 浓度胞外大于胞内,大约相差 10 倍,离子浓度保持着 Na^+ 由高浓度向低浓度扩散的电化学势能,这种势能可被用来进行物质运输,如葡萄糖和某些氨基酸即是经载体蛋白与 Na^+ 相偶联进入细胞内(见“协同运转”)。③ 胞内高浓度的 K^+ 是核糖体合成蛋白质和糖酵解过程中重要酶活动的必要条件,此外也有利于保持胞内的渗透压。④ 膜电位的产生。因 Na^+ - K^+ -ATP 酶每泵出 3 个 Na^+ 只泵入 2 个 K^+ ,结果造成膜内相对负于膜外的电位差。这一效应对膜电位的形成有 10% 的作用。

3) Ca^{2+} -ATP 酶: 一般真核细胞内 Ca^{2+} 浓度 10^{-7}mol/L ,细胞外环境中 Ca^{2+} 浓度较高,约为 10^{-3}mol/L 。为了维持细胞内低 Ca^{2+} 环境,细胞膜上存在由逆 Ca^{2+} 浓度将 Ca^{2+} 向质膜外运转的 Ca^{2+} -ATP 酶,又称作钙泵。含 Ca^{2+} -ATP 酶极丰富的细胞内膜系统是横纹肌的肌质网,其膜上 80% 的膜蛋白属 Ca^{2+} -ATP 酶。肌质网内 Ca^{2+} 浓度亦高,约为 10^{-2}mol/L 。肌质网膜上 Ca^{2+} -ATP 酶可于肌细胞收缩后将胞质溶胶内的 Ca^{2+} 泵入肌质网,使肌细胞得到安息。 Ca^{2+} -ATP 酶是一种相对分子质量为 100 000 的多肽。每水解 1 分子 ATP 可运转两个 Ca^{2+} ,并伴有 1 个 Mg^{2+} 反向运转。因此 Ca^{2+} -ATP 酶的活性也需 Mg^{2+} 的存在。

4) H^+ -ATP 酶: 在一些细胞的质膜和部分细胞器的膜上存在 H^+ -ATP 酶,它能水解

ATP,提供能量使 H^+ 逆浓度梯度运转,故又称为质子泵(proton pump)。在线粒体和叶绿体中的质子泵参与 ATP 的合成,溶酶体膜上的质子泵,则可保持溶酶体内高酸度环境,对维持溶酶体的生理功能极为重要。一般细胞质中 pH 为 7,而溶酶体内 pH 为 4.5~5.0,两者的质子浓度可差 100 倍。维持这一质子梯度需 ATP 供能。

哺乳类动物胃内含 HCl,浓度为 0.1 mol/L,是一种高酸度环境,有利于蛋白消化,维持胃内容的酸性是依赖于胃壁细胞顶部质膜上的 H^+ -ATP 酶。质膜上的 H^+ -ATP 酶使 ATP 水解,将 H^+ 泵向细胞外。 H^+ 主动运转的同时,伴有 Cl^- 的被动运转,以达到电平衡,结果是胃腔内的 HCl 浓度升高。 Cl^- 的被动运转是靠胃壁细胞底部阴离子转运蛋白来完成的(图 1-4)。

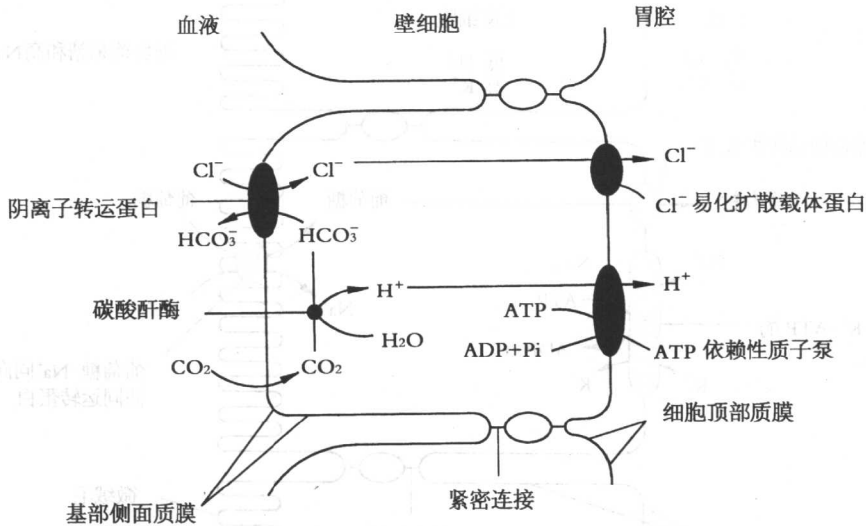


图 1-4 胃壁细胞分泌 H^+ 、 Cl^- 过程示意图

5) 协同运转(cotransport):许多主动运输不是直接由 ATP 水解供能,而是由贮存于离子梯度中能量来驱动,这一能量来源与进行偶联运转的载体蛋白相联系共同完成物质运输,称为协同运转,根据物质运转方向又分为同向协同运转(symport)和逆向协同运转(antiport)(图 1-5)。

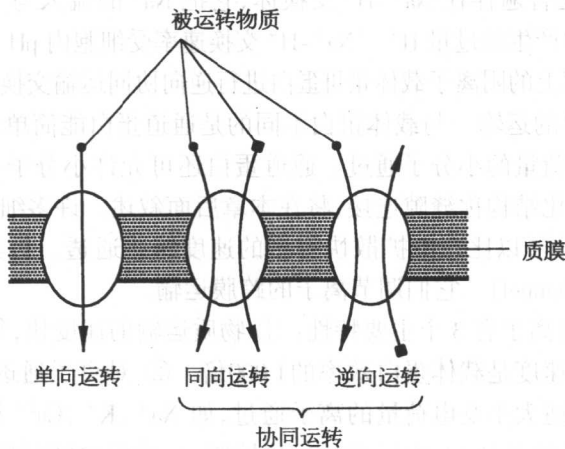


图 1-5 协同运转示意图

(引自 B Alberts 等)

同向协同运转：其中最常见的是 Na^+ 顺浓度梯度运转的同时伴有葡萄糖或氨基酸的逆浓度梯度运转。由于 Na^+ 倾向于顺其电化学梯度进入细胞，葡萄糖或氨基酸总是被一同“带”进去，进入细胞的 Na^+ 被 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶泵出， Na^+ 梯度得以维持。 Na^+ 梯度越大，葡萄糖或氨基酸的运入速率也越大，由此可见，这种偶联的能力实际上是由 Na^+ 的浓度梯度提供的， $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶消耗 ATP 只是能量的间接提供者。据此，有人把离子梯度驱动运输称为“次级主动运输”，ATP 酶介导的运输称为“初级主动运输”。同向协同运转经常见于小肠吸收上皮细胞(图 1-6)。

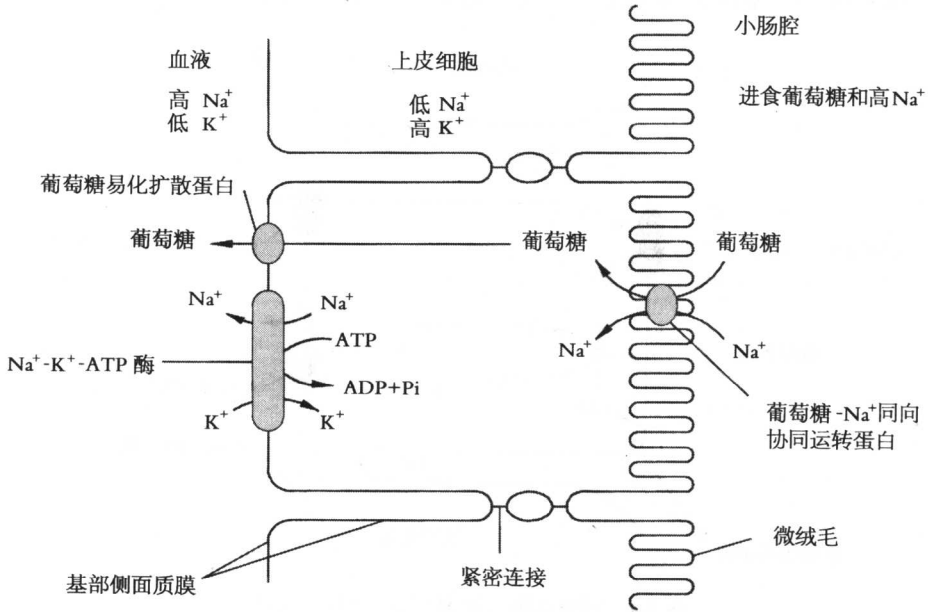


图 1-6 葡萄糖与 Na^+ 同向协同运转示意图

逆向协同运转：最常见的是 $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ 和 Na^+-H^+ 交换载体。当 Na^+ 顺浓度梯度进入细胞内时，供给能量使 Ca^{2+} 逆浓度梯度排出细胞外，这是细胞向外环境运转 Ca^{2+} 的一种重要机制。在动物细胞中还普遍存在 Na^+-H^+ 交换体，它把 Na^+ 的流入与 H^+ 的输出相偶联，从而清除细胞代谢过程中产生的过量 H^+ 。 Na^+-H^+ 交换速率受细胞内 pH 的调控，pH 越低，交换越活跃。人类红细胞膜上的阴离子载体带 III 蛋白进行逆向协同运输交换 Cl^- 和 HCO_3^- 。

(2) 通道蛋白介导的运输 与载体蛋白不同的是通道蛋白能简单地在膜上开放一个小孔，允许适合大小及电荷量的小分子通过。通道蛋白还可允许小分子在两个相邻细胞的膜上通过，这种质膜的特化结构称缝隙连接，将在本章后面叙述。许多细胞的质膜还含有水通道蛋白(aquaporin)，水分子以比自由扩散快得多的速度跨膜通透。最具特征性的通道蛋白可组成离子通道(ion channel)。它们调节离子的跨膜运输。

离子通道蛋白转运离子有 3 个主要特性：① 物质运输的速度快，每秒可有 10 个离子通过一个开放的通道，其速度是载体蛋白效率的 1 000 倍。② 对离子通透具有高度选择性，由于通道很窄，只允许合适大小及电荷量的离子通过，如 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 和 Cl^- 等离子。③ 大多数的离子通道不是持续开放的，而是有“闸门”控制的，当膜受特异性刺激时，闸门可短暂开放，随后很快关闭，另外，离子通道的物质运输均属被动运输，不需要能量，所以各种离子

均顺着其电化学梯度沿通道跨膜。

离子通道存在于所有的细胞质膜中,目前研究得较多且了解得特别清楚的如神经和肌肉细胞膜上的与神经冲动传导及肌肉收缩有关的离子通道。最常见的有电压闸门离子通道(voltage gated ion channel)和配体闸门离子通道(ligand gated ion channel)两种。下面以神经肌肉接头(neuromuscular junction)为例介绍几种离子通道。

这些离子通道的活动有以下几个步骤:①神经冲动传至神经末梢,引起其质膜的去极化,进而使在膜上的电压闸门的 Ca^{2+} 通道开放。由于神经末梢外的游离 Ca^{2+} 浓度比末梢内高1000倍,所以大量 Ca^{2+} 就从开放的 Ca^{2+} 通道流入末梢内,可使神经末梢胞质溶胶 Ca^{2+} 浓度升高,并触发神经末梢小泡内的乙酰胆碱释放至突触裂隙内。②释放的乙酰胆碱与肌细胞质膜上的乙酰胆碱受体(配体闸门离子通道)相应部位相结合,促使它开放形成一阳离子通道,允许 Na^{+} 进入肌细胞,使肌质膜去极化。③肌质膜的去极化又使膜上的电压闸门 Na^{+} 离子通道开放, Na^{+} 离子进入肌细胞,引起肌质膜的进一步去极化,其结果形成一动作电位沿着肌细胞整个质膜传播。④肌质膜的进一步去极化,使膜特化区(T管)的电压闸门 Ca^{2+} 离子通道活化,并传至肌质网,使其内贮存的 Ca^{2+} 离子从膜上 Ca^{2+} 释放通道释放至胞质内,引起肌细胞的收缩。

3. 大分子和颗粒物质的运输

大分子的蛋白质、多核苷酸、多糖等物质以及颗粒物质的进出细胞是通过质膜的运动产生的内凹或外凸,即经内吞作用(endocytosis)入胞,经胞吐作用(exocytosis)出胞。

(1)内吞作用(胞吞作用) 内吞作用是通过质膜的变形运动将细胞外物质转运入细胞内的过程。根据入胞物质的不同大小,可将内吞物大于 $1\sim 2\mu\text{m}$ 的胞吞作用称为吞噬作用,又由于胞吞机制的不同可将内吞作用分为以下3种。

1)吞噬作用(phagocytosis):吞噬作用是细胞摄入直径大于 $1\mu\text{m}$ 的颗粒物质的过程。在摄入颗粒物质时,细胞部分变形,使质膜凹陷或形成伪足将颗粒包裹摄入细胞。真核单细胞生物如阿米巴等就靠此过程吞噬食物,供生长所需。在哺乳动物体内,几种具有吞噬功能的细胞通过此过程摄入异物,这一过程需依赖细胞表面的特异相互作用而完成。感染的病原体进入机体后,产生血浆抗体,它与病原体表面的特殊蛋白质或糖类形成抗体衣,其主干部分称Fc段。巨噬细胞质膜表面有相应的受体(Fc受体),能与抗体分子结合,刺激巨噬细胞将其摄入。有些颗粒物质在机体内产生非特异性反应,如血浆中补体包住颗粒,与巨噬细胞表面的补体受体结合激活巨噬细胞亦可将其摄入。Fc受体近年来已被纯化,证明是一种阳离子易化扩散酶。当Fc段与之结合后可使之活化,引起 Na^{+} 、 K^{+} 流入,并激活巨噬细胞的多种功能,如吞噬运动、细胞运动、产生 H_2O_2 和其他抗细菌的化合物等。

2)胞饮作用(pinocytosis):胞饮作用是细胞摄入溶质或液体的过程,这是一非特异的摄入过程,摄入速度较快,其速度与细胞外该物质的浓度有关。

3)受体介导的内吞作用(receptor-mediated endocytosis):受体介导的内吞作用是细胞特异地摄取细胞外蛋白或其他化合物的过程。因为细胞表面的受体是具有高度特异性,与相应配体(ligand)结合形成复合物,继而此部分质膜凹陷形成有衣陷窝(coated pit),陷窝与质膜脱离形成有衣小泡(coated vesicle),将细胞外物质摄入细胞内,这种内吞作用具有很多生物学意义。如:①胎儿摄取抗体的过程:哺乳动物胚胎卵黄囊的衬细胞能特异地摄入母体抗体,内含抗体的转运小泡穿过细胞,通过质膜的外吐作用送至细胞外进入胎儿血液循环。

② 机体清除有害物质的过程：如肝细胞质膜中有一种半乳糖受体能与含半乳糖终末的糖蛋白结合，这是一种非正常功能的糖蛋白。因为正常功能糖蛋白的半乳糖基团在血浆中是有一层唾液酸覆盖。半乳糖暴露在外的糖蛋白被肝细胞摄入后，经溶酶体降解而被清除掉。

③ 特异摄取胆固醇过程：通常血中胆固醇多以胆固醇脂蛋白质复合体形式存在和运输，该复合体称为低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)。LDL 为球形颗粒，直径 20~25 nm，外层为磷脂分子组成的单分子层，其中嵌入疏水蛋白 apo-B100，中心含胆固醇，通过 OH 基团与脂肪酸长链脂化。当细胞摄取胆固醇时，LDL 上的 apo-B100 与细胞质膜上的 LDL 受体相结合，形成有衣陷窝，继而形成有衣小泡而进入细胞。有衣小泡脱去外衣，逐渐融合形成大的内体(endosome)，内体膜上有 H^+ 泵，其内容酸性，可使受体与配体分离，带有受体的部分膜结构芽生、脱落、再与质膜融合，受体又回到质膜，这一过程称受体的再循环。内体与溶酶体融合，LDL 被溶酶体消化，胆固醇及多种可利用的物质进入细胞供细胞代谢所需(图 1-7)。

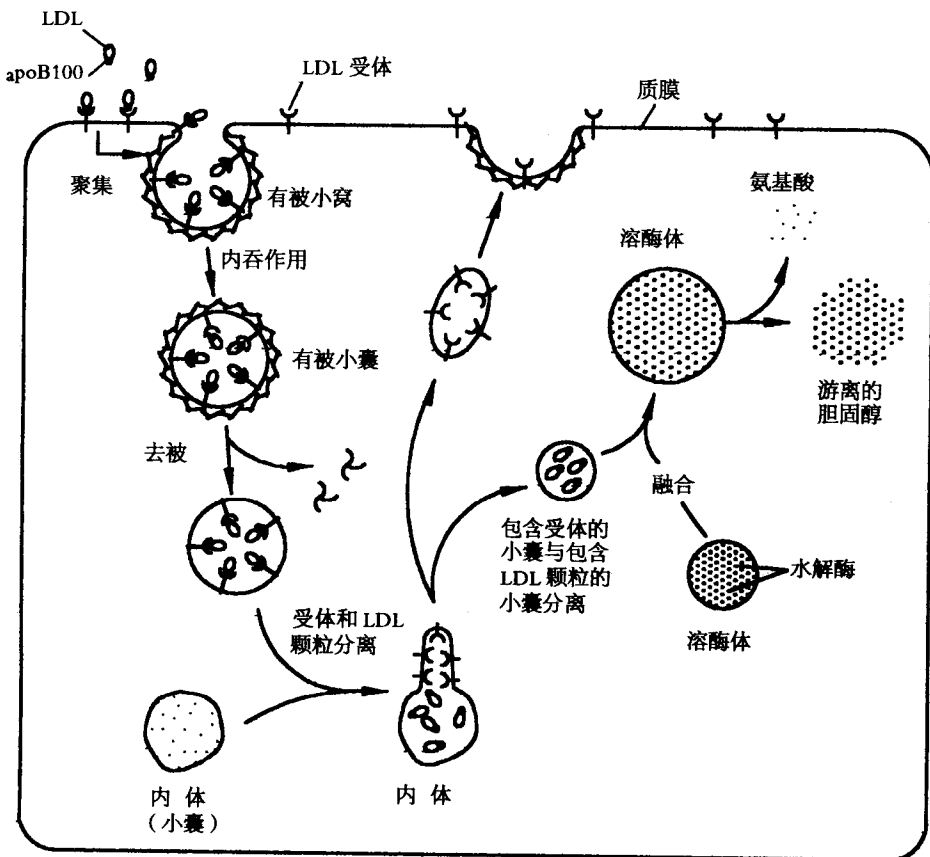


图 1-7 内吞后 LDL 颗粒与 LDL 受体的转归示意图

质膜上受体与配体特异结合部位的胞质面有一些蛋白质附着，其中主要的一种称网格蛋白(clathrin)。这种蛋白质即构成有衣陷窝和有衣小泡的外衣。有衣小泡除存在于内吞过程中外，在高尔基复合体转送蛋白至细胞表面的转运小泡上亦可见外衣。网格蛋白由一个重链和几个轻链组成。提纯后成为具有三腿样蛋白复合体(three-legged protein complex,