

细胞超微结构及功能

〔附电子显微镜技术〕

第二军医大学电镜室、复旦大学生物系电镜室编

细胞超微结构及功能

[附电子显微镜技术]

第二军医大学电镜室 编
复旦大学生物系电镜室

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 江苏泗阳印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 12.5 插页12 字数 287,000

1981年1月第1版 1981年1月第1次印刷

印数: 1—5,000

书号: 13119·857 定价:(科五) 1.75元

前 言

分子生物学是当前世界上发展最快的基础学科之一。细胞超微结构及功能的研究是分子生物学的重要组成部分,而电子显微镜(以下简称电镜)技术又是分子生物学研究的重要手段之一。深入开展细胞超微结构及其功能的研究,尽快发展电镜技术,是实现科学技术现代化的一项重要课题。

人类对于生物体结构的研究,最初只能在肉眼观察所及的范围内建立起早期形态研究,但人的视力只能看到0.1毫米以上的物质。十七世纪发明了光学显微镜(以下简称光镜),使生物结构的研究出现了一个飞跃。及至十九世纪,在不断革新光镜的基础上,逐步建立了微观的细胞学、组织学等,这在当时对生物科学、医学和生产实践都起着很大的推动作用。然而光镜主要受分辨率的限制,一般只能观察大于0.1微米(μm , micron, 1微米= 10^{-3} 毫米)的物质,若要观察更小的微细结构就显得无能为力。二十世纪三十年代电镜的问世,突破了这一界限。此后,电镜技术的迅速发展及超薄切片等标本制作技术的不断改进,使对生物体微细结构的研究推进到了亚微(亚细胞)境界。所谓“亚微(submicroscopic)”即“亚显微”的简称。生物组织的亚微结构,指介于显微观(光镜)与分子结构之间的这一结构水平。至于超微结构(ultrastructure),严格讲,乃指分子结构而言。但是,目前一般书刊上所述及的亚微和超微结构的概念,两者间并无严格界限,往往把亚微结构笼统地也称之为超微结构。研究生物组织细胞超微结构的工具很多,除电镜外,还有如干涉显微镜,偏振光显微镜,X线衍射和超速离心等,一般均综合使用,相辅相成,但以电镜最为重要。电镜的分辨率可在10埃($\text{\AA}$,为波长单位“Ångström unit”的简称,1埃= 10^{-7} 毫米)以下,目前世界上高分辨率电镜的分辨率已达1.414埃。运用电镜研究细胞的超微结构,发现了以往在光镜下未能见到的一些构造,如内质网、溶酶体、微体、核孔、细胞外衣,乃至某些生物或其结构的高分子外形;使人们进一步认识某些结构的真实面目,如细胞膜、线粒体、纹缘、刷缘、细胞间桥、突触、中心粒和纤毛等;又如高尔基复合体的存在与否,在细胞学界长时期来争论不休,而电镜作了肯定的回答。总之,电镜能使人们直接观察到组织细胞内各种超微结构的形态和它们在活细胞内所处的空间关系,这是其它技术方法所难以达到的。六十年代发展起来的扫描电镜(scanning electron microscopy)使人们能直接观察到生动的、立体感很强的某些生物体和组织细胞的精致外形。应用超高压电镜,或对电镜下的图象进行三维重组的处理,可使人们获得微细结构三度空间的整体观。所有这些现代观察工具的发明和发展,使人们对于生物体基本结构和功能的单位——细胞,又有更深入的了解。

电镜技术结合其它一些学科(如生物物理和生物化学等)及新技术(如超速分层离心、X线衍射、放射自显影和激光技术等)的发展,使细胞学不断向纵深发展,在细胞形态、细胞生理和细胞化学等各个方面都增添了不少新的篇章,如近年来在电镜直观下,研究基因的转录、膜蛋白及染色质的大分子结构和蛋白质合成等,为现代分子生物学开辟了无限广阔的前景,使人们有可能在亚细胞水平、分子水平上来探讨生命现象及其本质。

电镜在基础医学和实验医学的领域中正日益发挥其特长。对于抗体分子、突触传递和

受体等的研究, 其中部分工作曾借助于电镜技术。近年来出现的免疫电镜技术(如免疫酶标、铁蛋白标记等)、放射自显影和细胞化学等, 更使电镜由单纯作为静态观察的工具, 发展为与动态和机能研究相结合的工具。

在临床医学方面, 电镜技术的应用虽属开端, 然而对于某些疾病的诊断、病因的探讨以及某些药物代谢的研究等都起到一定的作用。尤其在病毒病原的鉴别诊断上有其独到之处。

许多学科如生物学、生理学、病理学、生化学、遗传学、病毒学、免疫学、肿瘤学、放射医学, 乃至一些临床学科, 无不涉及细胞超微(包括大分子)结构的基础知识。甚至在中医药学领域内, 近年来国内也有不少作者试图在超微(分子)结构水平上寻求统一中西医理论的基本点, 如研究中医药对环-磷酸腺苷作用的影响即为一例。

为实现科学技术现代化尽一份微薄的力量, 谨将我们近年来科研工作中积累的部分资料汇编成此书。本书内容分细胞超微结构及功能、电镜技术以及电镜图片三大部分, 以介绍人体及常见实验动物的一般细胞超微结构为主, 叙述细胞核、细胞膜和细胞质的形态及其主要功能。为反映现代细胞学进展概况, 还适当收集了若干分子细胞学的资料。这本书是由第二军医大学电镜室和复旦大学生物系电镜室合写的, 由于两个实验室的工作各有所侧重, 所以, 在电镜图片中, 除正常细胞外, 还采用了一些肝癌细胞的材料; 除动物细胞外, 尚收集了一些病毒、支原体、螺旋体和细菌等内容, 以供参考。

由于我们水平所限, 错误、不妥之处在所难免, 敬请读者批评指正。

本书中所用之专业词汇, 均参照《英汉细胞学词汇》(第二版, 1964年), 《英汉生物化学词汇》(1977年)和《英汉生物物理学词汇》(1977年)定名。由于近年来在细胞超微结构及细胞学领域内, 出现不少新的词汇, 文中尽量选用国内公开发表的书刊上比较多见的译名。尚有一些外文专业名词一时找不到中文译称, 则根据外文词义进行翻译。为便于读者查证, 将一些专业词汇的英文名称附注译名后。

本书“细胞超微结构及功能”(包括有关电镜图片)部分由第二军医大学电子显微镜室赵慧娟、郑尊、夏愿耀、张其鸿、颜永碧等编汇; 附录“电子显微镜技术”(包括螺旋体和细菌的电镜图片)由复旦大学生物系电子显微镜室吴友吕、陈仲宜、蔡同润、张武宁等汇编。书中插图主要由第二军医大学绘图室殷克军等绘制, 电镜图片请赵逢时修缮, 特此致谢。

第二军医大学电镜室
复旦大学生物系电镜室

目 录

前言	
概述	1
第一章 细胞核	3
第一节 间期核的形态	4
一、核质	4
二、核仁	7
三、核被膜	11
四、核内包含物	16
五、细胞核常见的病理变化	16
第二节 细胞分裂和染色体结构	17
一、有丝分裂	17
二、中期染色体的形态结构	18
三、染色体大分子结构研究的某些进展	19
第三节 核的功能	27
一、基因的功能	28
二、基因表达的调节控制	31
三、逆转录	37
四、基因工程	37
第四节 细胞生活周期	39
第二章 细胞膜及其特化物	41
第一节 膜的结构	42
一、膜的分子结构	42
二、膜的代谢转换	49
第二节 膜行使功能的基础	49
一、膜成分的构型变化	49
二、膜蛋白与膜脂的关系	50
三、细胞表面调节装置及越膜控制	51
四、细胞膜受体	52
第三节 膜的主要功能	57
一、物质运输作用	57
二、调节代谢的作用	62
三、免疫作用	65
四、其它作用	67
第四节 细胞外衣	67
第五节 基层	69
第六节 细胞连接	70

一、紧密连接	71
二、裂隙连接	71
三、中间连接	72
四、桥粒	73
第七节 微绒毛	74
第八节 细胞内褶	74
第九节 纤毛	75
第十节 膜的运动	78
一、内吞作用	79
二、外倾作用	81
三、内移作用	81
第三章 细胞质	83
第一节 线粒体	83
一、线粒体的形态结构	84
二、线粒体的化学构成	87
三、线粒体的主要功能	87
四、线粒体执行其特殊机能的结构基础	88
五、线粒体的分布及与其它细胞成分间的关系	92
六、线粒体的发生	92
七、线粒体的进化起源	93
八、线粒体的更替	93
第二节 核糖体	93
一、核糖体的形态结构	94
二、mRNA 和多核糖体	95
三、异常情况下核糖体的变化	98
第三节 内质网	99
一、粗糙型内质网	99
二、平滑型内质网	101
三、特殊形式的内质网	103
四、内质网的更替	104
第四节 蛋白质合成的细胞学基础	104
一、蛋白质合成的细胞内定位	105
二、蛋白质合成与细胞超微结构的关系	105
第五节 环孔板	111
一、形态	111
二、功能	112
三、起源	112
第六节 高尔基复合体	112
一、形态	112
二、功能	114
三、高尔基复合体的形成与更替	115

第七节 分泌	115
一、分类	116
二、分泌的细胞学基础	116
第八节 溶酶体	120
一、溶酶体的种类	121
二、溶酶体的功能	124
三、溶酶体的形成与更替	125
四、溶酶体在医学生物学上的意义	125
第九节 微体	127
第十节 中心粒	128
第十一节 微管及微丝	129
第十二节 包含物	131
主要参考文献	133

附 电子显微镜技术

第一章 电子显微镜的原理和结构	136
第一节 电子显微镜的原理	136
一、分辨率	136
二、热电子发射	137
三、电磁透镜	138
四、电磁透镜的特性	139
五、成像原理	140
第二节 电子显微镜的结构	141
一、镜体	142
二、真空系统	147
三、供电系统	147
第二章 超薄切片方法	151
第一节 取材和固定	151
一、固定的意义和固定剂的选择	151
二、几种常用固定剂的特点和配制方法	152
三、取材和固定	158
第二节 脱水	159
第三节 组织块染色	159
第四节 浸透和包埋	160
一、浸透	160
二、甲基丙烯酸酯包埋剂	160
三、苯二甲酸二丙酯包埋剂	161
四、环氧树脂包埋剂	162
第五节 切片	167
一、铜网和支持膜	167
二、包埋块的修整	169

三、切片刀.....	169
四、超薄切片机及其设计原理.....	171
五、切片.....	172
六、超薄切片的染色.....	172
第六节 生物组织超薄切片制备步骤及时间	175
第三章 生物样品的其它制备技术	176
一、冰冻超薄切片.....	176
二、负染色技术.....	176
三、真空喷镀技术.....	176
四、复型技术.....	177
五、冰冻蚀刻.....	177
六、铁蛋白标记抗体.....	179
七、电镜放射自显影术.....	181
八、电镜组织化学(超微细胞化学)技术.....	183
主要参考文献	186
图版注字说明	189

图 版 目 次

图版 1 腺病毒	图版16 核内包含物	图版32 线粒体
图版 2 支原体	图版17 核内假包含物	图版33 线粒体
图版 3 钩端螺旋体	图版18 有丝分裂	图版34 线粒体
图版 4 绿脓杆菌	图版19 基层	图版35 线粒体
图版 5 细胞	图版20 单位膜	图版36 线粒体
图版 6 染色质间颗粒	图版21 髓鞘	图版37 环孔板
图版 7 细胞核	图版22 连接复合体	图版38 高尔基复合体
图版 8 染色质周围颗粒	图版23 连接复合体	图版39 粗糙型内质网
图版 9 细胞核	图版24 闰板(中间连接)	图版40 髓样小体
图版10 多个核仁	图版25 胞饮	图版41 胞溶酶体
图版11 核仁肥大、核质比 例增高	图版26 桥粒	图版42 脂褐素
图版12 异形核	图版27 微绒毛	图版43 微体
图版13 环形核仁	图版28 微绒毛(横断面)	图版44 中心粒及微管
图版14 核孔切线切面	图版29 微绒毛(刷缘)	图版45 微丝
图版15 核被膜、核孔	图版30 细胞内褶	图版46 糖元颗粒
	图版31 纤毛	图版47 色素颗粒

概 述

“细胞”(cell)一词出现于十七世纪中叶, Hooke(1665年)用放大镜观察软木塞的微细构造时,发现软木塞由许多具有隔板、似蜂窝样的小室所构成,他称此小室为细胞。尽管后来关于细胞的含义与 Hooke 最初发现的细胞不同,但人们还是沿用了这最初象征为小室的名称——细胞。

1824年 Dutrochet 首先提出所有动、植物均由细胞构成,以后 Schleiden 和 Schwann 分别在植物和动物体内进行了广泛研究,于 1838~1839 年发表了各自的研究成果,进一步指出一切动植物均由生物的基本单位——细胞所构成,建立起比较完整的细胞学说。细胞学说的重要意义在于第一次明确地指出了生物体构造的同一性,打开了进入生物微观世界的大门。同时也阐明了有机体的形态构造、发生和生长都是按生物发展的一定客观规律而进行的,遂使生物科学的研究向前迈进了一大步。伟大革命导师恩格斯曾把细胞学说、能量守恒定律和达尔文进化论誉为十九世纪的三大发现。

细胞是生物形态结构和生命活动的基本单位,是现代生物界里可以独立生存的最小生命体。细胞与非细胞活质之间的主要区别在于细胞能将外界环境的营养物质转变为自身的物质。病毒是具有生命的活质,它能进行新陈代谢和自我复制,但它不能独立地将外界环境的营养物质转变为自身所需的物质,必须依赖宿主细胞而生存,因此它不能称为细胞。反之,如支原体(mycoplasma)虽然很小,也象病毒一样能通过过滤器,但是它们能独立生存,经化学分析与较大的细胞有类似的代谢过程,因此归之于细胞之列。

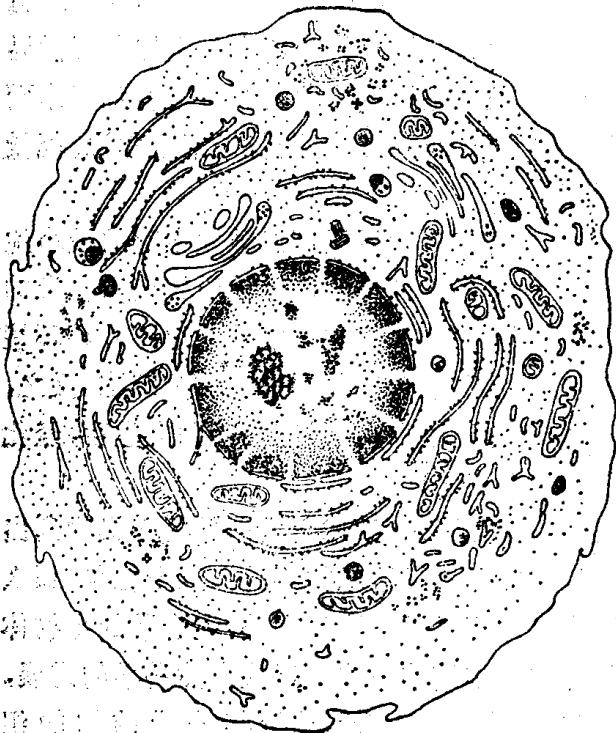
产生一定结构和功能的活细胞是自然界进化的必然结果。地球上由简单的无机物到出现最原始的单细胞生物,大约经过十多亿年的漫长历程。如果地球的年龄为五十亿年,那么细胞的出现约在三十多亿年之前。生物界除少数有机体不具备细胞形态外,大多数的生物体均由细胞组成。因此,长期以来细胞被视为生物体的基本结构单位。近代自然科学的进展,出现了崭新的分子生物学,对生物体结构的研究从细胞水平上升到研究其分子结构的组成,使生物体“基本结构单位”的概念赋有新的含义。故有人将细胞称之为生物学单位(biological unit),而分子则成为生物体的化学单位(chemical unit)。

原始的单细胞生物没有完整的核,称原核细胞(prokaryote,或称前核期细胞),在进化史上,仍然保持原核细胞特征的生物,称原核细胞生物,如细菌和某些藻类。原核细胞发展到出现了核的结构就称为真核细胞(eukaryote,或称真核期细胞),具有真核细胞特征的生物,称真核细胞生物。真核细胞除核之外,细胞质内尚有一些相对恒定的、具有一定生理机能的微细结构,如线粒体、高尔基复合体、中心粒和叶绿体等,称为细胞器。细胞核的出现在细胞发展史上是一个飞跃。从原核细胞生物到真核细胞生物经历了二十多亿年,而由有核的单细胞生物发展到种类繁多、结构极其复杂的多细胞生物却是近十多亿年的事。

细胞具有新陈代谢的能力,表现出应激性、运动、生长、分化、增殖、衰老和死亡等生命现象。细胞基本上由细胞核、细胞膜和细胞质三大部分组成(图版 5)。细胞核在一定程度上控制着细胞的生命活动。细胞质内含有各种微器官,如线粒体、核糖体、内质网、高尔基复合

原核细胞与真核细胞的主要区别

	原 核 细 胞	真 核 细 胞
存 在	细菌、蓝绿藻	较高等生物体
遗传物质	DNA 分子呈环状, 不与 RNA 或蛋白质结合	DNA 分子呈线状, 与染色体蛋白质及 RNA 连接一起, 以染色体(质)的形式存在
细胞核	无核被膜, 没有完整的细胞核结构	染色质围于核被膜中, 有完整的细胞核结构
细胞器	无成套的细胞器	有各种细胞器
转录与翻译	出现在同一时间、地点	出现在不同时间, 转录在细胞核内, 翻译则在细胞质中



细胞模式图

体和溶酶体等, 它们分别执行着呼吸、合成、分泌和消化等机能。细胞膜除保护、选择性通透作用外, 尚具有各种特异受体。细胞核、细胞质与细胞膜以极其紧密的方式互相联系、互相依存、互相制约。人们可以看到, 在无限多样的生物界里, 从最简单的细胞生物到进化最高的人体, 或在多细胞生物体内的一个细胞与完整机体之间, 无论在结构和功能上均具有极其微妙的同一性。

自然界最大的细胞为发育完善的鸵鸟卵细胞, 直径可达 12 厘米。最小的细胞是类胸膜肺炎微生物 (PPLO pleuropneumonia-like organisms), 即现在一般称为支原体的, 体积约 $0.07 \sim 0.25$ 立方微米。最简单的细胞生物只有一个细胞构成。一个成年人体约有 1800 万亿各种类型的细胞。

肌细胞具有收缩的功能, 呈细长形; 神经细胞能感受刺激传导冲动, 它们有许多细长的突起; 而在血管里循环流动的血细胞多呈球形或圆盘状, 形态上的可塑性较一般细胞为著; 即从超微水平上来分析各种细胞内的成分也能找到许多此类生动的事例。凡此种种无不证明了生物细胞形态与机能的辩证统一。多细胞的生物体, 除细胞外还有细胞间质, 它们共同组成各种组织、器官、系统而构成完整的机体。因此无论从结构或机能上来看, 细胞都是完整机体不可分割的一个组成部分, 服从生物整体的活动规律, 并与外界环境保持密切联系。

第一章 细胞核

早在 1674 年, 已有人(Leeuwenhoek)在鱼类的红细胞中见到核的结构。及至十九世纪三十年代, 才明确定名为细胞核(nucleus), 并认识到它是细胞的一个固定部分, 普遍存在于绝大多数的动、植物细胞中。

核的出现是活细胞进化的显著标志之一, 原核细胞与真核细胞的主要差别在于有无完整的核。有核细胞对环境因素的反应, 与核的存在有密切关系, 其可塑性和复杂性远较无核细胞为著。细胞核的主要功能为在一定程度上控制着细胞的代谢、生长、分化和繁殖等活动, 遗传的物质基础主要存在于细胞核中。任何有核细胞去掉了核便失去其固有的生活机能, 并很快趋于死亡。哺乳动物的红细胞成熟期失去了核, 不能再增殖, 而且其寿命也就有限。

1. 细胞核的大小、形状和数目

细胞核的形状往往与细胞形状有关, 但亦可以完全不规则。凡等直径的细胞(如球形、立方形、多角形), 其核一般为球形; 在柱状或梭形细胞中, 核多呈卵圆形; 而在扁平细胞中, 核为扁平卵圆形。分叶核中性粒细胞的核不规则, 可分成 2~5 叶。骨髓中的巨核细胞核大, 呈多形性。核的形状随机能状态可发生变化, 如: 细长的平滑肌细胞核呈杆状, 而当平滑肌收缩时, 核可发生螺旋形扭曲。在一些异常细胞如肿瘤细胞中尚可出现畸形核。细胞核的位置一般居于中央, 但有的细胞, 如脂肪细胞由于包含物过多可将核挤于一侧。细胞核与细胞的体积之间有一定关系。可用核质指数(NP)来表示:

$$NP = \frac{V_n}{V_c - V_n}$$

V_n 系细胞核体积, 而 V_c 代表细胞体积。

一般情况下, 当细胞体积增大时, 细胞核也必定增大。幼稚型细胞的核相对比较大(图版 11)。

绝大多数细胞均为单核的, 但也有双核者, 如一些肝细胞、肾管细胞和软骨细胞。破骨细胞可有 100 个或 100 个以上的核。骨骼肌细胞的核则可多到数百个。

2. 细胞核的化学成分

细胞核的化学成分包括:

- (1) 核 酸 $\left\{ \begin{array}{l} \text{脱氧核糖核酸;} \\ \text{核糖核酸;} \end{array} \right.$
- (2) 蛋白质 $\left\{ \begin{array}{l} \text{碱性蛋白质: 组蛋白及精蛋白;} \\ \text{非组蛋白性蛋白质: 酸性及中性蛋白质, 其中包括各种酶类;} \end{array} \right.$
- (3) 脂肪;
- (4) 水;
- (5) 无机盐及其它。

核内的主要化学成分为脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, 简称 DNA), 它与一些蛋白质结合, 以核蛋白的形式存在, 这种核蛋白称脱氧核糖核蛋白 (deoxyribonucleoprotein, 简称 DNP)。DNP 约占核干重的 70~80%, 为核内最主要的成分, 在某些有核红细胞中, 几乎占核内固体物质的 100%。用 Feulgen 染色法能使细胞内 DNA 呈特异性着色, 染成淡紫红色, 为鉴定 DNA 的组织化学反应之一。大多数的体细胞中, 核内 DNA 分子仅小部分 (约占 20%) 处于代谢活跃状态, 而其余部分不活跃。

早期研究认为, DNA 是存在于细胞核中唯一的核酸成分, 后来知道, 除此之外还有核糖核酸 (ribonucleic acid, 简称 RNA), 通常也以核蛋白的形式存在, 这种核蛋白为核糖核蛋白 (ribonucleoprotein, 简称 RNP)。

核内蛋白质成分中, 以碱性蛋白为主, 在大部分体细胞中, 核内碱性蛋白主要是组蛋白 (histone), 有些细胞如一些鸟类和鱼类的精子, 核内则为碱性更强的精蛋白 (protamine)。组蛋白与 DNA 在核内的含量大致相等。组蛋白结构较稳定, 转换率很低, 它是比较简单的碱性蛋白, 能被酸性染料着色, DNA 则与碱性染料结合。在一般具有酸碱两性染料的染色过程中, 细胞核往往显示出碱性染料的染色反应, 而将蛋白质的染色反应掩盖住, 如在普通苏木紫伊红 (H.E.) 染色的切片标本中, 核被苏木紫染成紫蓝色。除碱性蛋白外, 核内蛋白质尚有酸性及中性蛋白质, 也称非组蛋白性蛋白, 其中包括各种酶类。细胞核内的酶类不下 30 余种, 其中较重要的有, 核糖核酸聚合酶 (ribonucleic acid polymerase, 简称 RNA 聚合酶)、脱氧核糖核酸聚合酶 (deoxyribonucleic acid polymerase, 简称 DNA 聚合酶)、脱氧核糖核酸酶 (deoxyribonuclease, 简称 DNase) 和核糖核酸酶 (ribonuclease, 简称 RNase) 等。

此外, 核内尚有水、少量的脂类和无机盐等。脂类正常主要存在于核膜中, 无机盐中含相当量的钙和镁。

运用电镜技术研究细胞超微结构, 早期多集中在细胞质的各种细胞器上, 有关核的研究资料很贫乏, 主要因为没有比较满意的方法来显示染色质和染色体的超微形态, 以及它们在各种生理、病理情况下的变化。

近年来关于细胞核的超微结构积累了一些资料, 现就间期核的形态、细胞分裂和染色体的结构以及核的功能, 分别介绍于后。为便于叙述起见, 将细胞生活周期一节列入本章。

第一节 间期核的形态

细胞核的形态在细胞生活周期的各阶段变化很大, 动物体内的多数细胞均须通过有丝分裂而增殖或传种接代, 细胞在两次分裂之间的时期称为分裂间期 (interphase), 分裂间期的细胞核简称间期核, 由于动物体内大多数细胞均处于间期状态, 故首先介绍间期核的形态。

间期核包括三个组成部分: 核质、核仁和核被膜 (图 1-1, 图版 9、11)。

一、核质 (nucleoplasm)

广义地说, 凡核被膜所包围的物质 (包括核仁) 均归于核质的范围。但习惯上所称的核质主要指核液 (nuclear sap) 及埋藏于其中的染色质和其它一些结构, 而不包括核仁在内。

1. 染色质

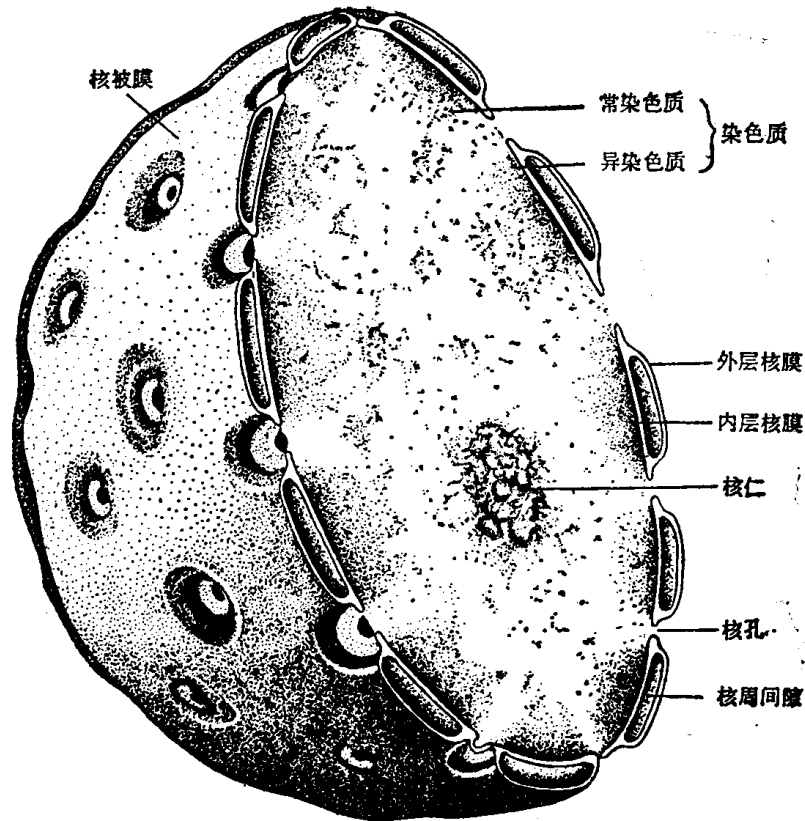


图 1-1 细胞核

有丝分裂期出现的染色体 (chromosomes) 在间期核中呈分散状态, 即为染色质 (chromatin), 它们埋藏于无定形的核液中, 构成核质的主体, 其主要化学成分为 DNP。在普通 H.E. 切片标本中, 可呈小块状或颗粒状凝聚在核膜上, 或分散在核液中, 有一小部分则附着在核仁上。

根据染色质的不同形态表现, 可将其分为异染色质和常染色质两种。近年来对染色体大分子结构的研究表明, 两种染色质形态上的差别, 可视为其中所含核蛋白丝螺旋化和折叠的程度不同而造成, 并与它们不同的功能状态相联系。

(1) 异染色质: 电镜下核质的形态可随固定液和染色方法的不同而呈现不同的图象。在单用钼酸固定的标本中, 核质呈现一片均匀一致的细粒状 (图版 7)。但用戊二醛固定 (通常为戊二醛-钼酸双重固定), 则见大小不等, 染色较深的小块物质散布于核液内, 通常还沿着核膜内面形成一薄圈 (图版 9)。铀染色 (如醋酸铀) 较铅染色 (如枸橼酸铅或氢氧化铅) 为深。光镜下所见轮廓清晰的核膜, 实际上就包括了这一薄圈的染色质在内, 故着色显著。还有一些小块与核仁相结合, 甚至围着核仁形成一层外壳, 为核仁相随染色质 (nucleolus-associated chromatin) 之一部分。这些致密的区域统称为异染色质 (heterochromatin, 见图 1-1, 图版 9), 即相当于光镜下的染色质小块。在分辨本领高的电镜下, 可观察到异染色质由直径约 100~250 埃的原纤维丝紧密缠绕而成。这些原纤维丝主要由等量的 DNA 及组蛋白和不等量的其它蛋白质结合在一起形成的。它们卷曲折叠后即形成光学显微镜下见到的染色线 (chromonema)。异染色质间散布着一些直径约 150 埃的颗粒, 稍带一些棱角, 可能是核糖体的前身。一般认为异染色质代表染色体在间期核中不活泼的卷曲部分, 故又称为浓聚染色质 (condensed chromatin)。此处的 DNA 与核组蛋白 (nucleohistone) 紧密结合, 处

于相对静止状态,一般情况下对于 RNA 及蛋白质的合成代谢不起作用。

(2) 常染色质:常染色质(euchromatin)在光镜和电镜下均难以证示,因为用一般的标本制作方法,它们与核质的其它部分不易鉴别。

在电镜下观察戊二醛-锇酸双重固定的标本时,在异染色质之间的浅亮区即为常染色质所在部位,一般居于核的中央部分,一部分则介于异染色质之间并通达核孔的内面(图1-1,图版9)。此外,在核仁相随染色质中也有一部分常染色质,往往以袢的形式伸入核仁内。光镜下见到一些细胞核呈车轮状,乃系常染色质与异染色质相间排列所致,以浆细胞最为典型。常染色质的微细结构与异染色质不同处,为原纤维的成分较细,直径可细至30埃,其间也有类似核糖体的颗粒。常染色质为染色体在间期核中代谢较活跃的非卷曲部分,故又称伸展染色质(extended chromatin)。其中的DNA参与RNA及蛋白质的合成,从而在一定程度上控制着间期细胞的代谢活动。在此处DNA与核组蛋白及非组蛋白性蛋白质相结合。一般认为组蛋白与DNA结合抑制DNA的活性,而非组蛋白性蛋白质在一定条件下通过某些方式能解除这种抑制作用,有人认为是通过非组蛋白性蛋白质与组蛋白的竞争性结合而使该区域的DNA显现活性。

在各种细胞中,常染色质与异染色质的分布比例很不一致,一般讲,凡专一化程度愈高的细胞核内往往以致密的异染色质为主。如精子、低等脊椎动物红细胞,它们的细胞核中异染色质约占90~100%,因此对于RNA和蛋白质的合成几乎不发生作用。而分裂很快的细胞核中常染色质占较大的比例,如:胚胎细胞、骨髓细胞、小肠腺细胞和肿瘤细胞等。可能因为它们需要利用更多的遗传物质来影响细胞的代谢、分化等活动。但上述看法并非绝对的,如分化程度很高、几乎终生不分裂的神经细胞,核染色质很淡,核内以常染色质为主;而合成代谢很旺盛的浆细胞,核内异染色质很显著。

细胞核内常、异染色质的分布、比例并非固定不变,即使同一类型细胞,亦可因所处的不同生活周期和功能状态而异。如在细胞融合的实验,可以清楚地观察到鸡红细胞核,当由相对静止期进入活跃的功能状态时,核体积剧增,可达原来核体积的20~30倍,同时异染色质松散,成为典型的常染色质。两种染色质间并无不可逾越的界限。电镜观察曾指出,异染色质与常染色质在结构上是连续的。有实验进一步证明两种染色质之所以出现形态上的差别,可能与组蛋白分布比例不同有关,如用一定量的组蛋白H1与常染色质结合,可使其变成异染色质。

关于染色质的大分子结构将在第二节中介绍。

2. 核液

为一些无定形基质,其中含有水、各种酶类和无机盐等,成为细胞核行使各种功能的有利内环境。此外,尚有一些很细的致密纤维,可能代表某些类型的核蛋白。一般核液的量与常染色质的量成正比,而与异染色质的量成反比。

3. 染色质周围颗粒(perichromatin granules)和染色质间颗粒(interchromatin granules)

核质内除染色质外,尚有一些形态与染色质迥然不同的颗粒,由于它们的性质、功能不明,故迄今人们还以染色质周围颗粒和染色质间颗粒等不太确凿的名词称呼它们。

(1) 染色质周围颗粒:最早是在1960年有人对它们进行了描述,似普遍存在于所有细胞核中,有人计算在一个肝细胞核内,约有500~2000个染色质周围颗粒。在电镜下它们位

于致密的染色质周围,常靠近核孔,为较大的一种颗粒,直径约 300~500 埃(图版 8)。它们似由 30~50 埃的细丝紧密排列而成,并有大量低反差的蛋白质基质,周围多有一圈淡亮的晕,染色质周围颗粒与周围的晕合在一起,直径约 750 埃。这些颗粒内含 DNA 及 RNA,有人推测它们可能代表某些类型的信息核糖核酸(messenger ribonucleic acid, mRNA)之形态基础,确实的结论则有待于将这些颗粒提纯,并进行生化分析。

(2) 染色质间颗粒:染色质间颗粒的直径为 150~500 埃,通常有细丝将它们联接成链,并集成很松散的小群(图版 6)。它们可能在核质中形成一个连续的网,含大量蛋白质及一个短链的 RNA,可能相当于 30S 或 40S 的 RNP 颗粒,有些作者称之为“核内核糖体(nuclear ribosome)”。染色质间颗粒为较稳定的结构,如用同位素标记,掺入很慢,并且绝大部分不离开核质,在原位代谢。通常在中毒细胞(如病毒感染或药物影响)及癌细胞核中较显著。功能不明。

此外,核质内尚有卷曲小体(coiled bodies)、染色质周围原纤维(perichromatin fibrils)等,它们的确实形态及意义都还很不清楚。

二、核仁(nucleolus)

在光镜下可见细胞核内有一个或一个以上的核仁,大小随各种细胞及不同的功能状态而异,核仁外无界膜。现已知除少数例外(如精子的核、早期卵裂阶段的细胞核等),绝大多数真核细胞核均有核仁。它是间期核中较恒定的微器官。核仁位置并非固定不变,可以位于核的任何部分,有时贴近核膜内面,即所谓“核仁边集(nucleolar margination)”,这一位置似有利于核仁内物质排到胞质中去。有人在大鼠再生肝中见到,约有 50% 肝细胞的核仁贴近核被膜,在其它生长旺盛的肿瘤细胞中也见到类似现象。

丧失核仁(或核仁功能受抑)的细胞活不长久;行有丝分裂的细胞若无核仁就不能进行完善的分裂;蛋白质合成旺盛的细胞,核仁也大,并可含多个核仁(图版 10),而在蛋白质合成不活跃的精子细胞、淋巴细胞及肌细胞中核仁可以很少或缺如。大量事实证明,核仁对于细胞生命活动具有重要意义,尤其与蛋白质合成关系密切。

用细胞化学及生化分析技术测得核仁主要含 RNA,约占核仁干重的 5~10%,能被碱性染料着色,故在通常 H.E. 标本中,核仁被染成紫蓝色。RNA 与蛋白质结合成 RNP 的形式存在。这些蛋白质中有可溶于中性 pH 的核仁蛋白、碱性蛋白以及剩余蛋白(residual protein),约占核仁干重的 70~80%。蛋白质与 RNA 之比约为 11.5/1。核仁内尚有少量 DNA,主要存在于核仁相随染色质的部分。

1. 核仁的超微结构

鉴于核仁在细胞生命活动尤其是蛋白质合成中的重要作用,故近年来人们对核仁超微结构及其功能的研究十分重视。

电镜下,核仁具有较高的电子致密度(见图 1-1,图版 9),广义来说,其微细结构包括四个组成部分:原纤维成分、颗粒成分、无定形基质和核仁相随染色质。

(1) 原纤维成分:系紧密排列的原纤维丝,长约 200~400 埃,粗约 50~80 埃,构成核仁的海绵状网架。

(2) 颗粒成分:直径约 150~200 埃的致密颗粒,类似胞质中的核糖体,散布于网架之间,或围绕着原纤维成分。

原纤维成分可能是颗粒成分的前身物(详见核仁的功能)。

狭义核仁的概念, 仅包括上述两种成分。光镜及电镜下见到的核仁丝(nucleolonema)也即由这两部分物质构成。

一般在电镜下这两种成分难以分辨, 尤其原纤维成分。这是由于常规的切片标本及电镜观察不易保存和辨认原纤维的立体图象, 原纤维多呈致密的颗粒状。加以原纤维区与颗粒区互相移行, 并无严格界限。

用 RNase 处理后, 这两种成分均可被消化, 证明是 RNA。

当以电镜高倍率放大观察核仁内的原纤维和颗粒区, 得知它们均由细纤维构成, 只是颗粒系由细纤维网状交织而成, 而原纤维则是细纤维不规则排列所致。其中直径约 20~30 埃的细纤维, 与 RNA 分子直径一致, 可能就是 RNA。因此, 核仁的颗粒区可能为球状的 RNA 分子团, 而其原纤维区乃是伸展状态的 RNA 分子。

(3) 核仁相随染色质: 即相当于核仁组成中心所在的染色体部分。它们在间期时以染色质的形式仍与核仁保持联系, 构成了核仁相随染色质。其中一部分围绕着核仁(这里所指系狭义的核仁), 有时形成一层外壳, 这一部分主要为不活泼的异染色质, 也有人称之为核仁周围染色质。另一部分伸入核仁区, 则称为核仁内染色质, 这一部分主要为常染色质, 其中的 DNA 分子以袢的形式伸展到核仁原纤维区, 为合成 RNA 提供样板。

核仁的原纤维及颗粒成分与核仁相随染色质的关系不是固定不变的, 在同一个动物细胞中也可以发生变化, 这可能反映着不同的功能状态。

(4) 无定形基质: 与一般核液同, 上述成分即埋藏于基质中。

核仁外无被膜, 上述成分之所以能如此紧密集聚在一起, 有人认为主要依靠大分子的二硫键维持其结构形式, 当分离的核仁用高浓度的二硫苏糖醇(dithiothreitol, DTT)处理后, 即引起核仁广泛解聚(disaggregation)和释出 RNP 颗粒。

2. 核仁的类型

有人根据核仁的超微结构特点将其分作三种类型:

(1) 核仁丝型: 核仁物质呈现丝状结构, 核仁丝的直径约 0.1 微米或更粗一些, 它们分支吻合交织成网状。绝大部分细胞的核仁均属于此型。

(2) 致密型: 其特点为核仁物质呈致密均匀的一片, 无显著之核仁丝。此型仅在某些实验条件下的一些细胞中见到。

(3) 环型: 核仁物质围成环状一圈, 形似一层壳(图版 13)。它们出现于某些血细胞、精母细胞和卵母细胞中。可能与细胞分化、成熟的程度有关。这型核仁我们在分化较低的肿瘤细胞中也曾见到。

3. 核仁包含物

在一些细胞中或在某些病理情况下, 核仁内出现脂类、碳水化合物或蛋白样包含物, 但不能确定它们是否在核仁内形成。此外, 在人体分泌期子宫内膜的上皮细胞中, 可见到核仁内有沟管系统(channel system), 有人称之为旋管, 它们的功能意义并不清楚。

4. 核仁的形成

核仁不仅在形态和功能方面, 而且在发生上与染色质均有很密切的关系。核仁的形成与核仁组成中心密切相关, 核仁 RNA 是依染色体一定节段上的 DNA 为模板而合成的, 核仁组成中心就是指这些模板所在的染色体节段, 它们仅存在于有随体(satellites)的染色体上。在人只有第 13、14、15、21 和 22 对染色体上有随体, 因此也只有这五对染色体上有核仁

组成中心。

每一个核仁组成中心均能产生一群核糖体样颗粒(ribosome-like granules), 这些颗粒形成了间期核的核仁。至于核糖体样颗粒形成的细节, 与核糖体的形成过程类同, 下面将作叙述。核仁形成于有丝分裂期末、新细胞诞生之时, 而核糖体的形成则出现于间期核中, 为间期核的重要功能之一。如上所述, 人的体细胞理应有 5 个核仁, 然而在形成过程中, 它们往往融合一起, 所以人体内绝大多数细胞的核仁均少于 5 个, 通常只有一个。

5. 核仁的功能

已知蛋白质在胞质内的核糖体(ribosomes)上合成, 核糖体的前体分子是在细胞核而主要是核仁中合成的, 并且当它们移到核的其它部分或胞质中之前, 暂时还储存在核仁中。核仁通过合成核糖体的前体分子而与蛋白质之合成密切相关。在一些快速生长的胚胎细胞、再生细胞和肿瘤细胞中, 核仁体积往往显著增大, 反映了核仁功能亢进。

尽管核仁中以蛋白质成分占得最多, 但目前对核仁内蛋白质的代谢过程以及蛋白质与 RNA 在核仁中的关系了解很少, 并不如对核仁 RNA 的代谢了解得那么清楚。

多方面资料表明核糖体核糖核酸(ribosomal RNA, 简称 rRNA)主要在核仁内合成。结合生物化学及细胞遗传学方面的研究, 可以认为在所有真核细胞中, 从草履虫等单细胞生物, 直至高等脊椎动物的细胞, 核仁 RNA 的代谢基本相类似。在各种细胞中 rRNA 与核仁 RNA 的碱基组成很相类似, 故一般认为核仁 RNA 即 rRNA 的前身。

Miller 及 Beatty 1967 年以来在两栖类 *Triturus viridescens* 发育的卵母细胞中, 用电镜亲眼目睹了 rRNA 在活跃的 DNA 分子上转录合成的过程(见图 1-2)。两栖类卵母细胞核大, 核内可有好几百个甚至上千个染色体外核仁(extrachromosomal nucleoli), 为观察单个基因活动创造了有利条件。这一转录过程在核仁内发生, 转录形成 rRNA, 故有人称之为核糖体型转录(ribosomal transcription, 或核仁型转录 nucleolar transcription), 鉴于它们的形态有似圣诞树, 故也有将这些转录的大分子结构称为圣诞树型转录复合物(“Christmas-tree” type transcriptional complexes)。这一科研成果在分子生物学领域中颇为引人注目, 近年来有人将这一成果引入哺乳动物细胞(如 HeLa 细胞、大白鼠肝细胞和小鼠生精细胞等), 获得类似结果。除见到核糖体型转录外, 还见到非核糖体型转录(non-ribosomal transcription), 这一类转录复合物呈现明显的非均一性, 转录复合物的长度尤其侧枝的长度很不一致, 生长也不规则。分析 RNP 原纤维的长度及 RNA 聚合酶的分子密度均证实它们具有高度的非均一性。这些复合物中的 RNA 很可能属于 mRNA 的前身不均一核糖核酸(HnRNA, 详见第三章第二节)。

现知在典型的真核细胞中, rRNA 的前身为大分子 45 S 的 RNA, 它们在活跃的核仁 DNA 上转录形成(见图 1-3), 这一部分 DNA 也称核糖体脱氧核糖核酸(ribosomal DNA, rDNA), 即为核仁内染色质伸展到原纤维区的部分(也即相当核仁组成中心的部位), 故原纤维区对 DNase 也具有一定的敏感性。运用电镜放射自显影术证实, 新合成的 RNA 首先出现在原纤维区, 稍晚再见之于颗粒区, 有时尚可见到 RNA 由原纤维区转移到颗粒区。用 RNase 处理后均消逝。核仁内的原纤维区可能为 45 S 的 RNA 的形态表现。一般认为 rRNA 在原纤维区的 DNA 上转录形成, 在颗粒区与蛋白质结合, 然后移入胞质中。Miller 根据电镜观察(1970)提出: 蛋白质是在 rRNA 转录过程中即与其结合一起的。45 S RNA 经几个中间阶段裂解(cleavage)为 28S、18 S 的 RNA, 另有一部分降解。此外, 在原核及