

# 盘基网柄菌 AK127 细胞超微结构的观察

杨 硕 侯连生\*

(华东师范大学生命科学学院, 上海 200062)

**摘要** 盘基网柄菌 AK127 细胞是 gp150 蛋白基因被剔除的突变细胞。为探明发育期间 AK127 细胞亚显微结构特征, 用透射电镜观察了发育 14 h、16 h、20 h 的细胞, 结果表明: 发育 14 h 细胞内含丰富内质网系统, 由内质网组织围裹细胞质密度明显低于周围的细胞质, 能清楚地观察到多层膜组成的多膜结构。细胞核的内核膜产生凹陷, 使内外核膜间产生一个含丝状物质的泡状空间, 内核膜上可见螺旋状染色物质, 外核膜表面布满颗粒状物质。发育到 16 h 时, 多膜结构内某些膜开始解体, 形成自噬泡。线粒体膜性结构完整。发育 20 h 细胞内有一个内含数个多膜结构的大自噬泡。据此笔者推测多膜结构作为一个储备营养成分“仓库”, 为维持细胞生命所用。这些数据提示 gp150 分子的缺失对于细胞的结构和生理过程均有较大影响, gp150 分子在细胞生长和发育过程中起重要作用。

**关键词** 盘基网柄菌; 突变细胞; 多膜结构; 自噬泡

社会变形虫盘基网柄菌隶属原生动物门网柱超纲<sup>[1]</sup>, 不同营养条件下具有不同的生活状态: 营养丰富时以单细胞形式依靠伪足的运动摄食, 行二分裂方式繁殖; 当剥夺食物使其处于饥饿条件下, 由单细胞生活状态进入多细胞发育阶段<sup>[2]</sup>。

AK127 突变细胞来源于 KAx-3 细胞, 是经过限制性内切酶作用被剔除了 *lagC* 基因的突变细胞, 不表达相应的粘附分子 *gpl50*。*gpl50* 分子由 *lagC* 基因编码, 是在盘基网柄菌多细胞发育后期表达的膜蛋白分子<sup>[3]</sup>, 其功能是通过调节细胞间异嗜性粘着的相互作用来影响细胞粘着, 从而调节细胞的发育和分化。王大磊等<sup>[4]</sup>发现与 *gpl50* 分子相互作用的蛋白都是与细胞分化有密切关系的蛋白。两种类型细胞株在发育 12 h 后的形态发生出现了分歧, AK127 突变细胞可以进行早期的细胞聚集发育阶段, 但只能停留在疏松聚集阶段, 最终不能完成发育<sup>[5]</sup>。因此与野生型细胞相比, 突变细胞不能经历细胞丘、蛞蝓体和子实体三个发育阶段。谭宁等<sup>[6]</sup>对 KAx-3 细胞亚显微结构的研究结果表明: 细胞丘中绝大部分细胞的线粒体出现空泡化, 发生细胞器水平上的内自噬现象, 标志着凋亡开始, 用自噬而不是凋亡小体来清除胞内各种细胞器。所以发育 14h 后的细胞处于发育关键点, 不同分化的细胞在亚显微结构水平上显示出一定差别。而处在相同发育时间段的 AK127 突变细胞亚显微结构特征及与野生型细胞的异同, 未见有报道。为此我们选取发育 14 h、16 h、20 h 阶段的突变

细胞, 与野生型在相应阶段的发育特征作对比。本文所述“发育阶段”仅指突变细胞在发育时间上与野生型细胞发育时间相同。笔者借助透射电镜技术观察突变细胞在发育期间的亚显微结构, 发现了一些新的现象, 为进一步分析 *gpl50* 分子在细胞生长和发育过程中的作用提供了新的资料。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

AK127 突变细胞: 来源于 KAx-3 细胞, 是利用限制性内切酶整合技术(REMI)剔除了 *lagC* 基因的突变细胞。细胞培养在 SM 固体培养基上(SM 琼脂: 10 g 胰蛋白胨, 1.0 g 酵母粉, 1.9 g 磷酸二氢钾, 0.6 g 磷酸氢二钾, 10 g 葡萄糖, 1.0 g 硫酸镁, 20 g 琼脂, 加水至 1 L, pH 6.1~6.4, 灭菌), 辅以好氧性克雷伯氏细菌(*Klebsiella aerogenes*)饲养。

### 1.2 实验方法

1.2.1 细胞发育和收集方法 收集生长在对数期的细胞, 用磷酸缓冲液(pH 6.4)洗净其食物克雷伯氏细菌, PDF (Phosphate development fluid, 配方为 1.5 g KCl, 0.5 g MgCl<sub>2</sub>, 1.6 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.6 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.5 g 硫

收稿日期: 2010-04-23 接受日期: 2010-07-28

国家自然科学基金(No.30970316, No.30670266)资助项目

\* 通讯作者。Tel: 021-62233767, E-mail: lshou@bio.ecnu.edu.cn

酸链霉素,加水至1 L,调节pH为6.4,4℃保存备用)制成 $2 \times 10^8$ 个/ml细胞悬浮液,取500  $\mu$ l,均匀铺在蒸馏水配制的2%琼脂平板上,铺成直径为4 cm的圆,置湿盒中,放入22℃恒温培养箱中使其发育,PDF溶液离心收集发育至14 h、16 h和20 h的细胞。

**1.2.2 透射电镜样品制备方法** 按常规电镜制片方法处理各聚集时期的细胞,参照张敏等<sup>[7]</sup>的方法,并做适当修改,其中包埋剂和100%丙酮(1:1)2 h,纯包埋剂2 h,68℃,48 h聚合变为以下步骤:将样品依次在包埋剂:丙酮为1:2、1:1、2:1的混合液中各渗透1 h,加入纯包埋剂,渗透过夜;次日换入干净的纯包埋剂,温箱保存,分别为37℃ 12 h,45℃ 12 h,60℃ 24 h,使包埋剂聚合。用JEM2100CXII电镜观察。

## 2 结果

### 2.1 14 h发育阶段的超微结构特征观察

亚显微结构显示:细胞核完整,核膜双层结构完整,未见明显核仁,染色质均匀分布于细胞核中。可观察到细胞核明显的特征是核内膜呈圆弧状内陷,与外膜之间形成一个大小不一的空泡,空泡内含有电子密度低的丝状物质,核外膜表面则布满一层高电子密度的颗粒状物质(图1A,图1B)。这些内陷的核内膜上都悬挂有一些染色质(图1A,图1B)。周围出现一些大小不一的圆形小泡,直径约0.1~0.3  $\mu$ m,小泡的质膜外都被一层颗粒状物质,电子密度高,小泡内含有电子密度较低的丝状物质(图1A,图1B)。而那些有核仁的细胞核的内外核膜间未能观察到空泡化现象,在它们的周围也没有上述圆形小泡(图1C)。细胞核周围分布较多溶酶体,内含物均一,电子密度高,多聚集分布,可以观察到溶酶体靠近边缘处产生低电子密度区域,并与相邻的溶酶体发生融合(图1D)。细胞内仍可观察到食物泡,内含有正在消化的细菌残留物,电子密度较高(图1E)。线粒体呈圆形,双层膜结构明显,其嵴为管状(图1F)。内质网丰富,在其发达的网状组织中,可以看见两层膜之间的内腔(图1G)。在粗面内质网聚集的部位,核糖体颗粒清晰可见,多层网状结构围成的区域细胞质地较为疏松,染色较浅,在其中间三四层网状结构的两端几乎连接,呈圆弧状(图1H)。我们观察到细胞内出现一些同心圆状膜结构,形态多样,有的呈四层膜组成的同心圆,且膜间距较大(图1I),有的由三层膜结构组成,圆心处的一层膜结构表面发生向中间的凹陷,周围有三个膜性小泡(图1J)。有的为多层膜形成的同心圆,呈指纹的“斗”状,膜间距很小,且除了

边缘之外几乎相等,边缘出现一些电子密度高的物质(图1K)。还观察到最外层为膜结构包裹,内部含有两个大同心圆和若干小同心圆的现象,且每个同心圆结构之间用界膜隔开(图1L)。

### 2.2 16 h发育阶段的超微结构特征观察

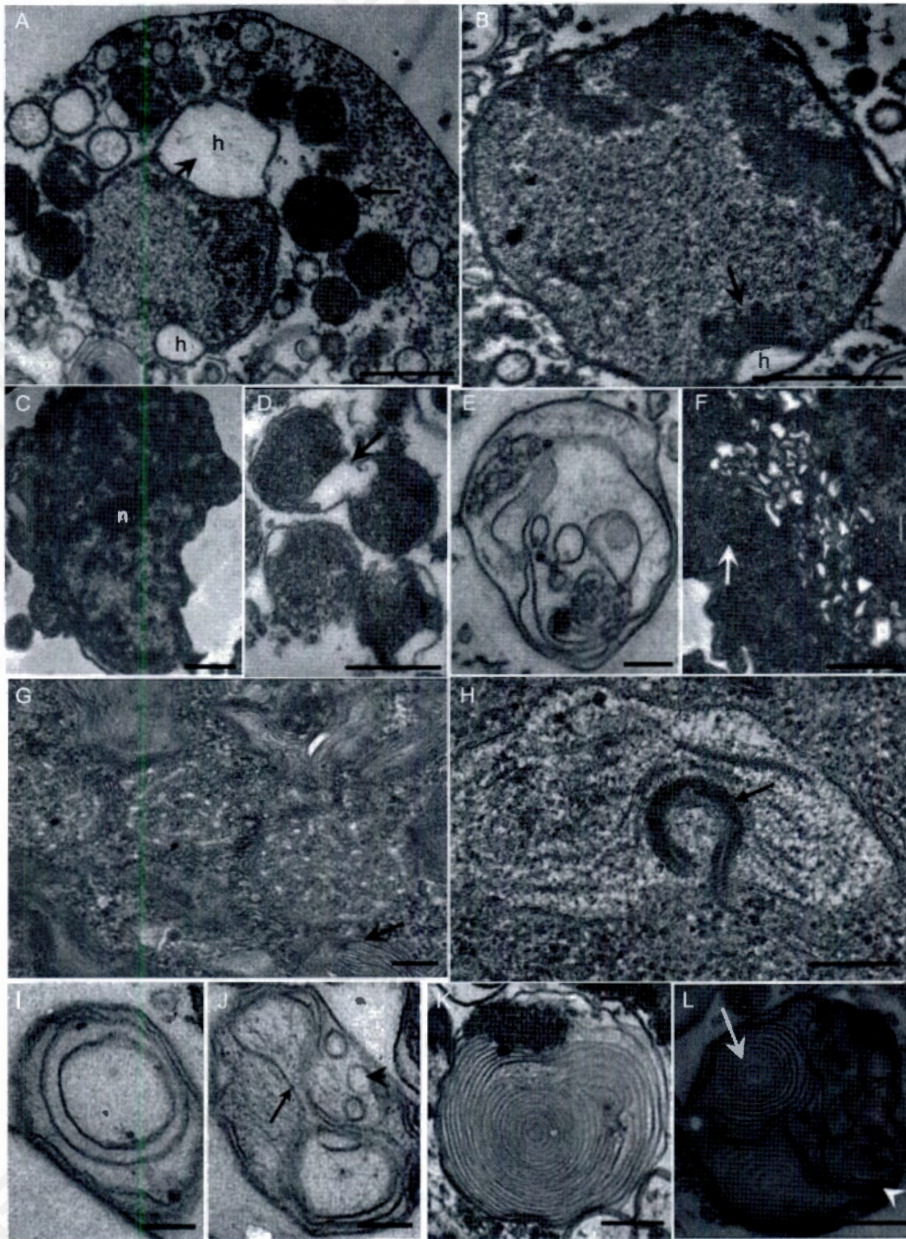
此发育阶段细胞质较14 h质地疏松,染色较浅。线粒体丰富,呈圆形,嵴完整(图2A)。与14 h阶段相比,溶酶体已经非常稀少。观察到一些与同心圆多膜结构有所区别的多膜结构:圆心处中空,膜结构在中间不连续,呈现两个圆弧状的膜结构,看上去有点立体的感觉,整体形状与“簸箕”指纹相似(图2B)。同心圆状多膜结构的形态更加丰富:出现了一些表面呈现凹凸感的同心圆多膜结构,组成同心圆的每一圈单位膜都是由双层膜组成的。靠近同心圆边缘的膜间距很小,染色较深;近圆心处的同心圆之间膜间距较大,染色较浅,圆心处有低电子密度的颗粒状物质(图2C)。有的同心圆多膜结构的内部,形成了若干膜性小泡,内部含有一些电子密度较低的颗粒状物质(图2D)。接着圆心处的膜结构开始模糊,其余部位的膜结构仍清晰可见(图2E)。随着发育进程,同心圆状多膜结构内部大部分膜结构已经模糊不清,边缘的膜还较清晰;但在靠近边缘膜结构的部位,也出现了膜性小泡(图2F)。圆心处大部分膜性结构已经模糊,基本看不清双层的单位膜,只有边缘处的膜结构还较清晰,还能观察到局部的双层膜结构,这时的多膜结构类似一个大自噬泡(图2H,图2I)。与发育14 h细胞相比,胞内发生的自噬作用相当明显。图2H中在大自噬泡附近还能观察到两个小自噬泡,小自噬泡内部含有颗粒状物质,电子密度比周围细胞质低,并且自噬泡之间还发生了融合(图2G,图2H)。

### 2.3 20 h发育阶段的超微结构特征观察

细胞质地显得十分致密,染色较深。细胞内出现一个大自噬泡,内含丰富的同心圆状多膜结构,大小形状各异,结构复杂,有的比较完整,有的膜结构从圆心处开始瓦解,有的膜结构已经模糊。细胞核结构依然保持完整(图2J)。

## 3 讨论

发育细胞形态结构和亚显微结构的改变与细胞发育时间和阶段有着密切关系。发育14 h时,细胞内有相当数量的溶酶体,有的溶酶体相互之间还发生融合。溶酶体可作为细胞内的消化“器官”为细胞提供营养,很多靠吞噬细菌和某些真核微生物而生存的单细胞真核生物如变形虫等,溶酶体的消化作用显



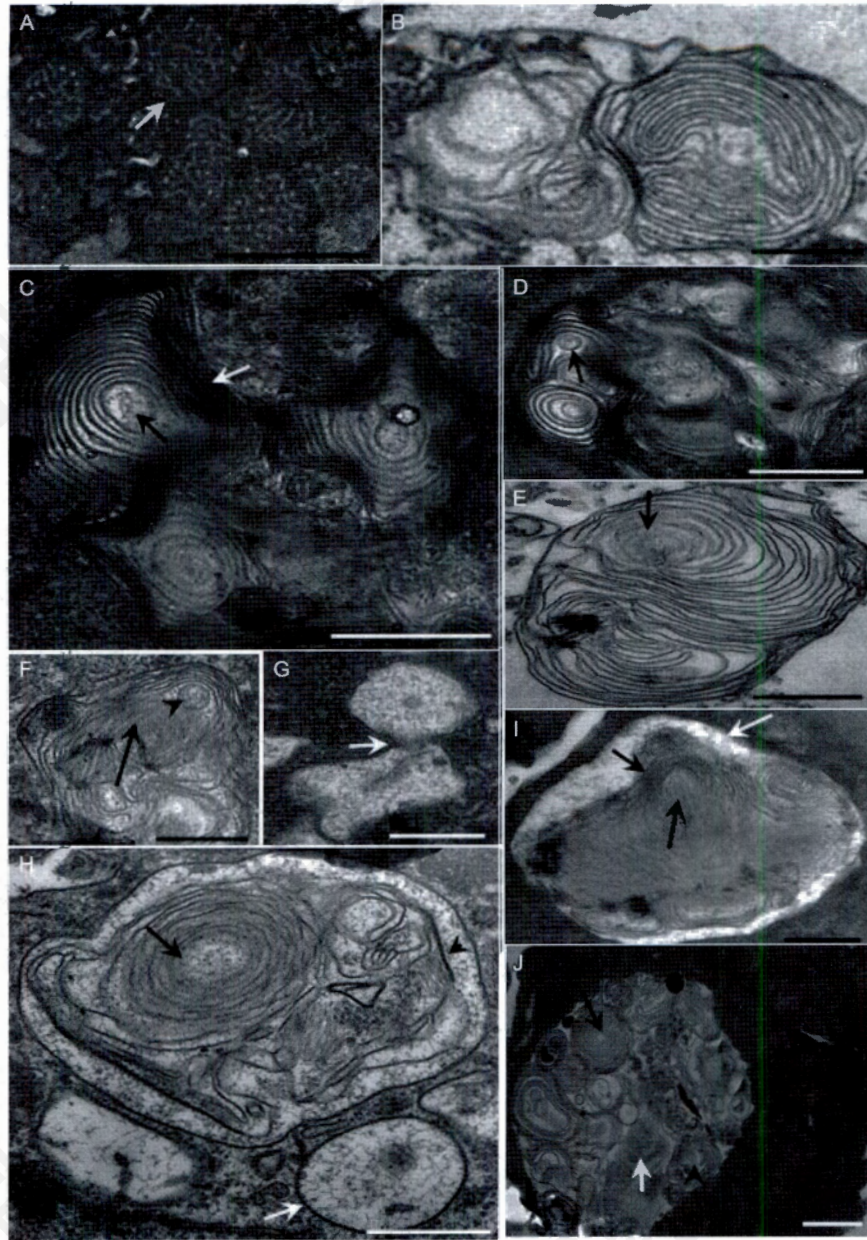
**Fig.1 Cell ultrastructure at development 14 hour**

A, B: the hollow space been low-density filamentous materials (arrowhead) exist between inner nuclear membrane and out nuclear membrane of nucleus, out nuclear membrane covered by granular materials, some chromatin suspended from inner nuclear membrane (hollow arrow). The round lysosome can be observed (arrow). Bar=1  $\mu\text{m}$ . h: hollow space; C: the large nucleolus that located along the karyotheca can be observed. Bar=0.5  $\mu\text{m}$ . n: nucleolus; D: the lysosome begin to fuse each other (arrow). Bar=500 nm; E: food vacuole can be found. Bar=1  $\mu\text{m}$ ; F: some round shaped mitochondria locate around membrane, cristae are tubular (hollow arrow). Bar=1  $\mu\text{m}$ ; G: a lot of network of endoplasmic reticulum can be found (arrow). Bar=200 nm; H: the density of cytoplasm enclosed by some rough endoplasmic reticulum is more transparent, in which ER wrapped (arrow). Bar=500 nm; I, J: a Multi-Membrane Concentric Circles (MMCC) consisted of three or four layers membrane. In fig.1J, the larger vacuole pinched off two vesicle in the middle (arrow), three vacuoles nearby (arrowhead). Bar=200 nm; K: about twenty membranes formed intact MMCC. Bar=0.5  $\mu\text{m}$ ; L: two larger MMCC (hollow arrow) and several smaller MMCC (hollow arrowhead) formed complex MMCC. Bar=0.5  $\mu\text{m}$ .

得相当重要<sup>[8]</sup>。这与我们曾观察到许多细胞内还有一些残存食物泡是比较吻合的。细胞发育到 16 h 阶段时,几乎观察不到溶酶体,取而代之的是细胞内出现许多多膜结构。这些数据提示多膜结构的出现标

志着盘基网柄菌细胞外源营养成分已消耗殆尽。

Shintani等<sup>[9]</sup>认为当细胞缺乏营养时,便诱发自体吞噬作用,参与细胞的发育。在此过程中,会形成双层或多层界膜结构,用以降解或回收利用大分子物



**Fig.2 Cell ultrastructure at development 16 and 20 hours**

A: the cristae in mitochondria are intact (hollow arrow). Bar=1 $\mu$ m; B, C: after 16h of development, there are a certain number of non concentric multi-membrane structure in the cell, in their center low-density granular material is observed (arrow), the membrane at the edge joint tightly, looks stained brighter (hollow arrow). Bar=500 nm; D: a vacuole inside MMCC (arrow). Bar=500 nm; E, F: the membrane in the centre region begin to disrupt (arrow). A vacuole can be observed at the edge (arrowhead). Bar=0.5  $\mu$ m; G: the autophagic vacuoles fuse each other (hollow arrow). Bar =0.5  $\mu$ m; H, I: the larger autophagic vacuoles can be observed (hollow arrow), much membranous structure are indistinct (arrow), two layers of unit membrane at edge can be distinguished easily (arrowhead). Bar=500 nm; J: a large autophagic vacuole contains variety of MMCC, some are intact (arrow), some are disrupted in the centre (arrowhead), and some are disrupted entirely (hollow arrow). Bar=1 $\mu$ m.

质,可以更新细胞成分,参与细胞的发育。这与我们在AK127突变细胞中发现的多膜结构基本一致。但在他们的研究中,关于自噬作用中膜的来源还没有一个明确的验证。从我们的实验结果来看,在粗面内质网丰富的部位,多层网状结构围成的区域内细胞

质致密度明显低于其周围的细胞质有的还发生圆弧形包裹。笔者认为,这可能是同心圆状多膜结构形成的早期。在同心圆状多膜结构形成之初,只有较少几层膜结构,且膜间距比较大,若圆心处的膜不发生凹陷,则演变为一个完整的紧密同心圆多膜结构;若

在早期圆心处最内层的膜发生凹陷(图 1J), 则有可能演变成由两个较大同心圆组成的同心圆结构。但对于形状如指纹中的“簸箕”的多膜结构的形成尚不清楚, 有可能相近的粗面内质网恰巧产生了方向相反的圆弧状包裹现象。令人惊奇的是随着发育进程, 有些同心圆多膜结构已经开始解体, 靠近圆心处的膜间距开始增大, 变得疏松, 膜的层数也变少, 最终形成一个大的自噬泡。因此笔者倾向于认为在盘基网柄菌中自噬泡起源于这种多膜结构, 但最终确定还需分子和生化水平研究的证据。

因为发育 20 h 的 AK127 细胞的一个大自噬泡中有许多多膜结构的超微结构现象, 使我们有理由相信, 同心圆状多膜结构的另一功能可能作为一个储存膜结构和细胞内大分子等营养物质的“仓库”, 为饥饿细胞提供营养物质, 以维持生命。在 ATP 的能量供应不足的压力胁迫下, 小鼠肝结节细胞也通过细胞自噬来维持细胞的存活和增殖<sup>[10]</sup>。在凋亡缺陷的实体瘤细胞中, 亦用自噬作用来应对短期营养匮乏, 以促进细胞生长<sup>[11]</sup>。因此在饥饿细胞中自噬作用有参与细胞能量管理的作用<sup>[12]</sup>。我们实验室在研究野生型细胞在发育期间前柄细胞凋亡过程中也发现自噬泡, 这种自噬泡吞噬细胞内几乎所有的细胞器, 包括细胞核, 造成细胞结构整体呈现空泡化, 最后细胞死亡。而在突变细胞中自噬泡仅仅消化多膜的同心圆结构, 并不损伤其他细胞器。所以在不同生理状态下细胞, 自噬泡所起的作用也是不同的。

在本实验中, 引起笔者格外关注的是细胞核内核膜内陷, 与外核膜之间形成若干空泡的现象。尽管如此, 整个核被膜完整, 没有任何破损; 且整个细胞核内染色质分布均匀, 无任何染色质固缩现象, 说明细胞核结构完好。在空泡部位的内核膜上悬挂着一些呈螺旋状的染色物质, 并在空泡内有许多低电子密度丝状物, 外核膜上布满颗粒状物质, 说明该区域是 DNA 功能活跃的区域。我们知道 DNA 转录或复制需要一个结构支架。原核生物的 DNA 复制是结合在细胞膜上进行的, 而真核细胞中的 DNA 转录和复制与核膜没有直接关系, 更无专一性的结合位点, 真核生物 DNA 复制起点是核骨架结合序列(MAR), 核骨架是 DNA 复制的空间支架<sup>[7]</sup>。本研究的结果暗示我们, 作为低等真核生物的盘基网柄菌 DNA 转录和复制有可能以核膜作为支架, 因为在内核膜和外核膜之间的空泡内存在许多低电子密度丝状物; 所以很有可能是原核生物(以细胞膜作为 DNA 复制支架)和高等真核生物(以核骨架作为 DNA 复制支架)的一种中间过渡

状态, 这也是和盘基网柄菌特殊的进化地位所相符的。

另一值得注意的现象是: 局部空泡化的细胞核附近出现一些外被一圈颗粒状物质、内有低电子密度丝状物的小泡, 我们称之为有衣小体。这种小泡在外形与上述的核膜处的空泡有相似之处, 都是内含有的丝状物质, 外被一层电子密度高的颗粒状物。有趣的是, 只有出现局部空泡化细胞核周围才出现上述小泡, 而没有这种空泡化的细胞核周围没有这种小泡的出现, 据此, 笔者推测: 很有可能外核膜上布满颗粒状物质分泌到细胞质中, 形成了一个有衣小体; 至于有衣小体的作用及与细胞核的关系等还有待深入研究。

线粒体在细胞程序化死亡过程中发挥着重要作用, 在细胞凋亡的过程中, 线粒体的形态会发生某些改变<sup>[13]</sup>。Kirasak 等<sup>[14]</sup>在研究石斛花瓣叶肉细胞的分化中, 发现分化后期细胞的线粒体内部出现瓦解, 这些线粒体最终降解为一个大的囊状空泡。类似的, 酵母细胞的线粒体通过内自噬过程进行更新<sup>[15]</sup>, 在心肌原细胞的衰老过程中也出现线粒体嵴的缺失和内部结构瓦解现象<sup>[16]</sup>。所以线粒体除了提供能量外, 其形态特征变化与细胞其他生命活动有一定相关性。

我们实验室详尽地研究了野生型细胞分化过程中线粒体的形态学特征, 认为野生型 KA<sub>x</sub>-3 细胞处于细胞丘阶段时, 线粒体会发生内自噬现象, 最后形成前孢子细胞特有的小泡。而前柄细胞分化时, 线粒体的嵴发生瓦解现象<sup>[6]</sup>。本实验中发育 14 h 和 16 h 的突变细胞分别对应于细胞丘阶段和前柄细胞分化阶段, 在这两个时间段, 我们观察到线粒体数目丰富且嵴完整, 既没有发生内自噬现象, 也没有发生嵴瓦解现象。另一个值得注意的现象是, 在自噬泡内基本没观察到被吞噬的线粒体, 即使在发育 20 h 的细胞的大自噬泡内也没有观察到被吞噬的线粒体。这至少说明两个问题, 一是突变细胞没有发生明显的细胞分化, 二是线粒体结构变化与细胞分化有一定关系。

综上所述, 盘基网柄菌细胞缺失粘附分子 gp150 后, 突变细胞发育过程受阻, 细胞不能发生明显的分化, 亚显微结构与野生型相比发生了较大变化, 特别是突变细胞为了生存, 形成了一些特殊多膜结构及有限定目标消化的自噬泡, 这些现象提示 gp150 蛋白的缺失对细胞自噬作用有一定关联, 自噬的结果不是细胞凋亡, 而是有利于维持细胞生命, 度过饥饿环境。这从另一个侧面证实了 gp150 蛋白对盘基网柄菌细胞的发育和细胞分化起重要作用, 其信号通路和调控机制值得进一步研究。

## 参考文献(References)

- 1 宋微波译. 原生动物学. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2007, 159-60.
- 2 Firtel R A, Meili R. Dictyostelium: a model for regulated cell movement during morphogenesis. *Curr Opin Genet Dev* 2000; 10(4): 421-7.
- 3 Wang J, Awrey D, Loomis WF, Firtel RA, Siu CH, Hou LS. The Membrane glycoprotein gp150 is encoded by the *LagC* gene and mediates cell-cell adhesion by heterophilic binding during dictyostelium development. *Dev Biol* 2000; 227(2): 734-45.
- 4 王大磊, 侯连生. 盘基网柄菌中 gp150 分子相互作用蛋白质的分离及分析. *中国细胞生物学学报* 2010; 32(3): 445-50.
- 5 侯连生, 马宁莎, 王 钊, 韩 轶, 付卓敏. 盘基网柄菌(*Dictyostelium discoideum*)KAX-3 和 AK127 细胞形态发生和同工酶的比较研究. *华东师范大学学报(自然科学版)* 2004; 12(4): 103-9.
- 6 谭 宁, 施佳乐, 彭建涛, 侯连生. 盘基网柄菌细胞分化和凋亡的形态特征. *动物学报* 2006; 52(3): 603-11.
- 7 张 敏, 谭 宁, 侯连生. 盘基网柄菌细胞分化和凋亡中酸性磷酸酶的定位. *动物学报* 2007; 53(2): 278-84.
- 8 瞿中和, 王喜忠, 丁明孝. 细胞生物学. 北京: 高等教育出版社, 2000, 184-6, 346-9.
- 9 Shintani T, Klionsky JD. Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science* 2004, 990-4.
- 10 Choudhury Y, Sharan RN. Ultrastructural alterations in liver of mice exposed chronically and transgenerationally to aqueous extract of betel nut: implications in betel nut-induced carcinogenesis. *Microsc Res Tech*. 2010; 73(5): 530-9.
- 11 Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, Bray K, Anderson D, Chen G, *et al.* Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation and tumorigenesis. *Cancer Cell* 2006; 10: 51-64.
- 12 Boya P, Gonzalez-Polo R, Casares N, Perfettini J, Dessen P, Larochette N, *et al.* Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis. *Mol Cell Biol* 2005; 25(3): 1025-40.
- 13 Wasilewski M, Scorrano L. The changing shape of mitochondrial apoptosis. *Trends Endocrinol Metab* 2009; 20(6): 287-94.
- 14 Kirasak K, Ketsa S, Imsabai W, Doorn GW. Do mitochondria in dendrobium petal mesophyll cells form vacuole-like vesicles? *Protoplasma* 2010; 241: 51-61.
- 15 Kissová I, Deffieu M, Manon S, Camougrand N. Uth1p is involved in the autophagic degradation of mitochondria. *J Biol Chem* 2004; 279: 39068-74.
- 16 Terman A, Dalen H, Eaton JW, Neuzil J, Brunk UT. Mitochondrial recycling and aging of cardiac myocytes: the role of autophagocytosis. *Exp Gerontol* 2003; 38(8): 863-76.

The Ultrastructural Observation on *Dictyostelium discoideum* AK127 Cells

Shuo Yang, Lian-Sheng Hou\*

(School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

**Abstract** *Dictyostelium discoideum* AK127 cells are the lagC protein gene knock-out mutant strains. We studied the AK127 cells ultrastructural characteristic in the development of 14 h, 16 h and 20 h of cells with a transmission electron microscopy. The result showed that the 14 h of cells contained rich endoplasmic reticulum system. The density of cytoplasm wrapped around by the endoplasmic reticulum significantly lower than the surrounding cytoplasm. Abundant multi-membrane structure can be observed clearly. Because of inner nuclear membrane depression, some bubbly spaces containing filamentous material are produced between out nuclear membrane and inner nuclear membrane. Some spiral chromatins are suspended on inner nuclear membrane and out nuclear membrane is covered by granular materials. Development to 16 h, some membranes in the multi-membrane structure commence to disrupt and several autophagic vacuoles begin to emerge. In the development 20h cells, a large autophagic vacuole containing several multi-membrane structures can be observed. According to this, we presumes that these multi-membrane structures may be regarded as a reserve nutrients "warehouse", in order to maintain cell life. These results suggest that absence of gp150 have a certain relationship with bubbly nuclei, multi-membrane structure and disappearing of endoautophagy in mitochondrion. We consider that gp150 is a key factor in *Dictyostelium discoideum* cell differentiation and development.

**Key words** *Dictyostelium discoideum*; mutant cell; multi-membrane structure; autophagic vacuole

Received: April 23, 2010

Accepted: July 28, 2010

This work was supported by the grant from the National Natural Science Foundation of China (No.30970316, No.30670266)

\*Corresponding author. Tel: 86-21-62233767, E-mail: lshou@bio.ecnu.edu.cn