

用细胞化学 G 6 P 酶观察大白鼠心肌细胞的偶联结构

韩玉昇 陈玉英

(上海第二医科大学生物物理教研室)

在高等动物的心肌细胞内有一种特殊结构称为偶联(Coupling),它是由肌膜或横管、肌浆网小管和二者之间间隙的电子致密物质共同组成。有关它们的功能和结构已经有许多报道^[1-5],本文运用细胞化学方法显示葡萄糖-6-磷酸酶(G 6 P 酶)活性,标志肌浆网小管,对大白鼠心肌细胞的偶联的形态和功能作进一步的研究。

材料与 方法

正常的 Wistar 大白鼠在麻醉下剖胸迅速取出心脏,用 1.5%戊二醛二甲砷酸钠固定液进行冠状动脉灌注固定,固定 3—5 分钟,把左心房壁及左心室的游离壁切成条块状。

一部分组织块作常规电镜包埋。另一部分组织块作细胞化学研究,具体方法采用本室^[6]改良的方法,组织块在灌注固定后立即用 0.1 mol/L 二甲砷酸钠缓冲液洗涤数次。在做酶反应孵育前用 Sorvall TC-2 组织切片机把组织条块切成 75 μ m 薄片。孵育液含有:0.1 mol/L 葡萄糖-6-磷酸钠盐 1 毫升,0.2 mol/L Tris-Maleate 缓冲液(pH 6.5)2 毫升,蒸馏水 3 毫升,36 mmol/L 硝酸铅 1 毫升,1 mol/L 蔗糖 3 毫升。在 37°C 水浴箱内孵育 1 小时。孵育后,用亚铁氰化钾还原铁氰后固定 1 小时,用酒精逐级脱水,环氧树脂 618 包埋。超薄切片仅用柠檬酸铅染色,在 JEOL-200 CX 电镜下观察。

结 果

大白鼠左心室心肌细胞肌膜向内凹陷形成横管又名 T 管,它们从 Z 线处陷入到细胞内构成横管系统。在横管侧面有肌浆网小管分布,平行于肌膜紧密相随,此为连接肌浆网。二者之间夹有 15—20 nm 间隙,在高倍放大时可见

到间隙内有电子致密物质或者从肌浆网膜伸出足突物质。肌膜、连接肌浆网和电子致密物质共同组成了一个特殊区域为偶联(图 1)。

在心肌细胞中 G 6 P 酶反应产物出现在肌浆网小管腔内,包括肌膜下池和核膜腔内都有反应产物。在肌原纤维周围 G 6 P 酶反应产物显示了肌浆网小管呈网状分布。在偶联的连接肌浆网腔内也有高电子密度反应产物出现,使得偶联更易辨认,而且它们和网状的肌浆网小管相互是连续的(图 2、3)。

大白鼠左心室心肌细胞在常规切片和酶反应切片中有多种形态的偶联出现,例如,一条横管和一条连接肌浆网组成的二联管(图 2、6);一条横管和二条连接肌浆网组成的三联管(图 1);二条横管和一条连接肌浆网的三联管(图 4);二条横管和二条连接肌浆网间隔排列的四联管;还有横管整个被连接肌浆网所包围等形态。

G 6 P 酶反应产物还显示了部分肌浆网小管和横管分支的纵行小管紧密相随,也形成了偶联。横管的分支小管是从 Z 线处的横管分出、纵行和肌原纤维长轴平行。由于弯曲,大多数见到的局限在 I 带和 A 带,但也发现分支小管从肌节一侧 Z 线处向另一侧 Z 线处延伸,连接肌节两侧的横管。分支小管直径不规则,大小不一,大的可达到 100 nm,小的只有 30 nm。在此处的肌浆网小管和 Z 线处的连接肌浆网相似,平行伴随在分支小管一侧或两侧,与分支小管一样从肌节一侧 Z 线处可通到肌节另一侧 Z 线处的连接肌浆网。二者组成的偶联长度相当于一个肌节的长度(图 6、7、8)。

除了横管处的偶联外,在左心室心肌细胞

用G 6 P酶活性反应也显示了肌膜下池和肌膜构成的偶联。

左心房细胞由于横管发育不好,在Z线处很难发现有G 6 P酶反应的连接肌浆网和横管组成的偶联,但在肌膜和肌膜下池组成的偶联比左心室心肌细胞多见。

在G 6 P酶反应产物的偶联间隙内,电子致密物质不太清楚,可能是在样品制备过程中丢失。

另外,在肌浆网小管周围或者在偶联区周围见到有丰富的糖原颗粒(图2、3、4、5、6)。

讨 论

Sommer 和 Johnson (1968, 1970)^[1,2]首先把心肌细胞的肌膜或横管和肌浆网小管形成的特化区域称偶联。在此以前,有人曾称此为二联管、三联管。他们认为二联管、三联管适合横纹肌细胞,因为横纹肌细胞内的肌浆网小管一般局限在一个肌节内,并在横管处膨大形成终池,而在心肌细胞内一个肌节内的肌浆网可以和另一个肌节内的肌浆网互相交通,不存在终池,所以称二联管、三联管不够恰当。他们根据功能和形态改称偶联,并把在偶联处的肌浆网称为连接肌浆网(junctional sarcoplasmic reticulum)。把横管和连接肌浆网组成偶联称为内偶联,把肌膜和肌膜下池组成偶联称为周边偶联。

偶联在Z线处有二联管、三联管、四联管等,与Forbes(1977)^[4]用辣根过氧化物酶作横管示踪剂观察偶联形态相似,可能是横管本身弯曲、折叠所造成,它增加了和肌浆网小管接触的面积。横管有分支小管伸出,可以连接肌节二侧Z线处的横管,这和Forssmann(1970)^[7]在大白鼠心室肌细胞用辣根过氧化物酶作为横管示踪剂见到横管的分支小管形态相一致。横管的分支小管有粗有细,细的分支小管如不用特殊染色很容易错认为肌浆网小管,尤其在肌原纤维之间的细小分支小管大约在30 nm,不易和肌浆网小管鉴别。本实验用G 6 P酶反应

产物显示肌浆网小管进行偶联结构研究,至今还未见到有关的报道。酶的反应产物也可把横管分支小管和肌浆网小管区分开来。Rayns (1975)^[8]在豚鼠的心肌细胞中发现偶联只存在Z线处,最大长度为510 nm,但根据本实验观察到偶联除了在肌膜和肌膜下池,在Z线处横管和连接肌浆网形成外,还有围住肌原纤维的肌浆网和横管分支小管之间的偶联,把肌节二侧Z线处的偶联沟通,形成了一个立体交叉的偶联网。

有关偶联的功能根据Forbes (1977)^[4]的综合分析,一种意见认为偶联是兴奋-收缩的通道,是电信号的接受器;另一种意见认为偶联主要是调节心肌细胞内钙离子,当肌膜去极化时通过偶联引起肌浆网腔内贮藏的钙离子释放,细胞质内钙离子浓度增加,使肌丝收缩。不管怎样,本实验中从形态上见到心肌细胞内广泛存在偶联,相互交织构成了一个立体体完整的偶联网,它在传递兴奋-收缩信号或调节细胞内钙离子起着重大作用,肯定和肌原纤维收缩同步化是密切相关的,广泛偶联装置是心脏肌肉收缩同步化的物质基础。

由于心房肌和心室肌的功能不一,心室肌细胞的偶联网要比心房肌细胞发达。心房肌细胞收缩只能依靠丰富的周边偶联传递冲动。

肌浆网广泛分布在心肌细胞内,除了上面提到的功能外,在能量产生方面也起了很重要的作用。肌浆网和糖原分布紧密在一起,G 6 P酶定位在肌浆网腔内,它可以调节糖原分解时G 6 P的浓度。Watanabe(1986)^[8]认为横纹肌细胞收缩需要大量能量供应,胞质内丰富的糖原和从血液来的葡萄糖是提供能量的原料,横纹肌细胞能够把从血液来的葡萄糖通过己糖激酶转变成G 6 P,再进一步合成糖原;同时也可以通过胞质内糖原分解形成G 6 P,G 6 P酶可水解G 6 P生成葡萄糖,所以G 6 P酶可调节G 6 P的浓度。他们通过细胞化学研究证实了G 6 P酶定位在横纹肌细胞的肌浆网腔内。他们的发现和本文实验在大白鼠心肌细胞肌浆

网腔内G 6 P酶定位相一致,所以心肌细胞的肌浆网在能量提供上也起了很重要的作用。

摘 要

大白鼠心肌细胞的特殊结构——偶联是由肌浆网小管和肌膜或横管所组成。G 6 P酶作为肌浆网的标志酶可以显示偶联的肌浆网小管。在Z线处的偶联有多种形态:二联管、三联管、四联管等。此外,还有横管分支小管和肌浆网小管也组成偶联,平行于肌原纤维,它能连接一个肌节二侧的Z线处偶联,形成了一个立体交织的偶联网。丰富的偶联网是心脏肌肉收缩同步化的物质基础。另外,G 6 P酶在肌浆网上定位,表明肌浆网与糖原分解有着密切的关系。

图 版 说 明

- 图 1 常规染色的切片,高倍放大。由横管(t),连接肌浆网(s)和间隙内电子致密物质(←)共同组成的偶联。×80000
- 图 2—8 肌浆网(s)均有G 6 P酶反应,有高电子密度产物沉淀。
- 图 2 由肌膜凹入细胞内形成的横管(t)和其旁连接肌浆网(s)形成偶联,糖原(←)分布在偶联周围,在左下角横管(t)旁有肌浆网组成的二联管。×24000
- 图 3 切片正好和肌浆网呈切线方向,显示

肌浆网(s)呈网状分布,在横管(t)旁有连接肌浆网附着,肌浆网小管之间是相通的。在肌浆网小管间有许多糖原(←)。×20000

- 图 4 二条横管(t)和一条连接肌浆网(s)组成的三联管,有糖原颗粒在其周围。其旁为线粒体(m)。×580000
- 图 5 二条横管(t)和二条连接肌浆网(s)相互间隔的四联管。×58000
- 图 6 横管分支小管由粗变细,细的和肌浆网小管(s)一样粗,分布到A带。左上方为二联管(t)。×24000
- 图 7 此横管分支小管(t)直通二端E线,其旁有连接肌浆网(s)。×20000
- 图 8 横管分支小管(t)和肌浆网组成偶联,直通肌节二侧Z线处偶联。×20000

参 考 文 献

- [1] Sommer, J. R. and Johnson, E. A., 1968, *J. Cell Biol.* 36: 497.
- [2] Sommer, J. R. and Johnson, E. A., 1970, *Amer. J. Cardiol.* 25: 184.
- [3] Rayns, D. G. et al., 1975, *J. Ultrastruct. Res.* 50: 306.
- [4] Forbes, M. S. et al., 1977, *J. Ultrastruct. Res.* 58: 50.
- [5] 叶世隽等, 1986, 解剖学报 17: 416.
- [6] 汤雪明, 1985, 细胞生物学杂志 7 (增刊): 3.
- [7] Forssmann, W. G. et al., 1970, *J. Cell Biol.* 44: 1.
- [8] Watanabe, J. et al., 1986, *Anat. Rec.* 214: 25.

向日葵生活胚囊中受精现象的荧光显微观察

周 埏

(武汉大学生物系)

迄今被子植物受精过程的观察主要依靠固定材料获得。直接观察生活材料的受精现象无疑地可从另一角度提供新的资料,有助于认识和控制这一重要过程。然而由于技术困难,文献中仅有个别报道。Poddubnaya-Arnoldi 在兰科植物的生活胚珠中观察过受精过程^[1]。Erdelska 以菊头桔梗和雪花莲的胚珠为材料,用显微电影记录受精的动态变化^[2]。他们的经验

在于选择特殊的植物材料,利用珠被透明的有利特点,透过胚珠组织观察受精的形态变化。显然,这不可能适用于大多数植物。

当前,胚囊与胚囊原生质体分离的工作已有相当进展^[3-8]。我们用酶法分离出生活胚囊

* 中国科学院科学基金资助课题。

** 承 Y. Yamada 教授惠赠所需的酶,谨致谢忱。