

郑国铝

(兰州大学细胞生物研究室)

高等植物细胞与动物细胞的主要区别在于前者有细胞壁和质体，而后者没有；在液泡系和有丝分裂方面也有所不同。现将植物细胞这些特有结构的最近研究进展，简介如下：

一、细胞壁

新细胞壁的形成是在细胞分裂末期的赤道面上。分裂的母细胞先形成桶状的成膜体，在染色体分向两极时，由微管将高尔基体分离出的小泡集合在赤道面上，小泡膜互相合并联在一起成为子细胞的质膜，而其中的内含物也联成一片成为细胞板。新的多糖物质沉积在细胞板上就逐渐形成中胶层，其后细胞内合成一些纤维素微纤维沉积在中胶层两侧的子细胞表面形成细胞壁。

Roland (1973)曾对细胞壁发生的过程作了综述，认为其步骤有三：(1) 在由高尔基体所产生的小泡中形成前体(壁的结构单位)，随着膜流的方向，逐步推进到细胞表面，经外排作用，放出前体；(2) 放出的前体结合到一定的网状物上；(3) 在稠密的细胞壁上出现化学变化，转换、变松和生长等现象，细胞壁就形成了，如图1所示。

最近 Roland 和 Vian(1979)对这一问题的进展作了综述，影响细胞壁形态发生的因素如下：(1) 在细胞伸展形成细胞壁时，压力是必需的条件；(2) 受质膜和微管的控制；(3) 细胞壁亚单位(微纤维组分)自组装过程中的调控作用很重要。

在形成细胞壁时，无论是细胞壁亚单位的定位和自组装，都必需有足够的压力。例如，在质壁分离的细胞中，虽然细胞壁的亚单位能

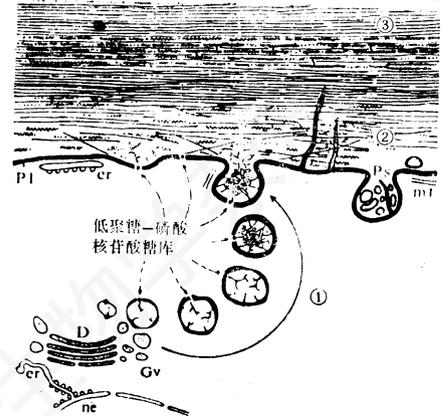


图1 细胞壁发生的步骤(Roland, 1973)
D. 高尔基体 er. 内质网 Gv. 高尔基小泡
mt. 微管 ne. 核被膜 Pl. 质膜 Ps. 质膜体

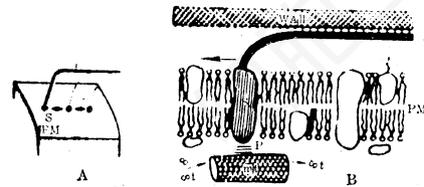


图2 细胞壁亚单位经过透性膜控制的定位 (Roland 等, 1979)

A. 合成酶(S)在质膜(PM)面上的移动性。

B. 微管(mt)收缩蛋白(P)和合成酶(S)之间可能的协作关系。t. 微管蛋白亚单位 f. 微纤维

继续释放，它们积聚在扩大了周质中，但不能进一步将这些亚单位排在壁上。

质膜是一种具有液态的结构。液态的脂质双分子层构成了膜的连续体，而蛋白质分子像一个岛屿一样不规则地分散在脂质的“海洋”中。但这些颗粒状蛋白质不是固定不变，

* 本文是1981年9月在芜湖召开的植物细胞生理学术讨论会的专题报告之一。

而是能在脂质中移动的。在质膜下面有丰富的微管骨架。这些微管在新细胞形成细胞板时,供运输物质和移动小泡之用。这些微管可能与细胞壁的形态发生也有联系。它们可能有使壁亚单位定位的作用,这是由于:(1)微管的分布与细胞壁里面亚单位的分布有因果关系;(2)抑制微管的药物会显著地影响壁结构。

根据目前了解,质膜可能是细胞微纤维唯一的合成场所。Heath(1974)认为:纤维素合成酶复合体(S)位于质膜(PM)之内,它与伸入到膜内侧的收缩蛋白(P)联结在一起并与邻近的微管(mt)相互作用产生一种滑动力,微管好像轨道复合体S沿着它移动,穿过了膜,就在周质中进行壁亚单位的自组装。利用冰冻蚀刻,不少作者在大豆、玉米的根尖细胞的质膜上看到了一排排颗粒,认为这些颗粒(如图2A所示)可能具有细胞壁亚单位微纤维的生物合成和定位的功能。图2说明当细胞表面分泌微纤维时,膜的表面是如何调节自组装的。纤维素合成酶流动的方向决定了微纤维生长端的位置,而细胞壁亚单位被安放到适当位置是由透性膜(transmembrane)所控制的。

细胞壁亚单位自组装的过程是以先存在的细胞壁为样板,从三个不同方向将亚单位定位。壁的生长包括三个步骤:(1)多聚体的合成;(2)链(S)有顺序的联结成微纤维状的组分;(3)链变硬和定位。在活体中这个自组装过程是在质膜与壁之间的周质中进行的。它是被壁(作为亚单位定位的样板)和质膜(含有合成酶)所调控的。

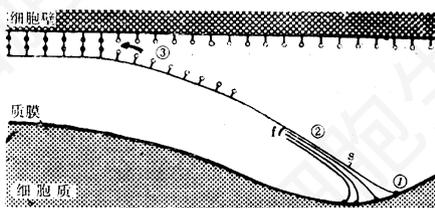


图3 细胞壁亚单位的装配(Reis, 1978)

据上所述,有关细胞壁的形成过程可归纳

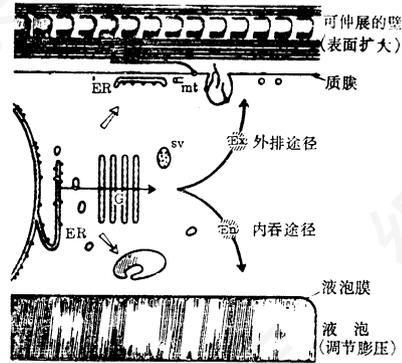


图4 膜流与植物细胞的生长调节

两个明显相对的细胞水平活动参与了细胞的伸展。内部的液泡系产生驱动力,在外部组合了可塑的初生细胞壁。

(Roland等, 1979)

G. 高尔基体 Sv. 分泌小泡 ER. 内质网, mt. 微管

如下(图4):

1. 细胞壁形成的几个步骤:(图4上)

- (1) 细胞壁亚单位的释放和聚合作用;
- (2) 在周质中,亚单位的三维组装,亚单位的定位和交联(cross-linking),这可能包括自组装与透性膜的控制;
- (3) 当壁在受到应力时,壁的各向异性的表面伸展现象,暗示着亚单位是有选择地松开和滑动。

2. 膜流与植物细胞生长的调节,有两条必须联合进行的途径(图4中、下):

- (1) 外排途径 它使质膜扩展并产生细胞壁亚单位;
- (2) 内吞途径 它使液泡膜扩展并调节膨压。

内质网与高尔基体对这两条不同方向的膜流都起着关键性的作用。这样,生长调节和壁的形态发生的主要成分,尽管在细胞内作用于不同水平,仍将导致一个协调的连续变化过程。

近年来,有关植物细胞壁形成和伸展的知识,不断有新的发展。将来,细胞学、发育生物学、生物化学和植物生理学工作者之间进一

步紧密合作，有可能更好地了解植物生长的这一特有形式。

二、叶绿体

高等植物叶绿体超微结构如图5所示。在内外两层膜之内，有基质与基粒，基质类囊体与基粒类囊体都是由密封的小囊构成，类囊体膜是由脂类双分子层中嵌入了一些大小蛋白质

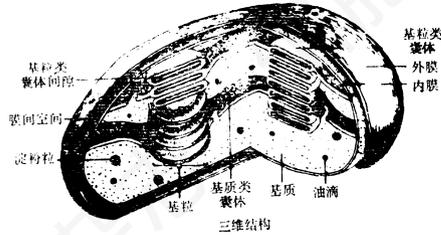


图5 叶绿体超显结构

颗粒所组成。由于类囊体膜嵌入的大小蛋白质颗粒直接与光合作用的电子传递链有密切关系，因此，有关类囊体膜上蛋白质颗粒的大小、分布和数量，一直是使人感兴趣的课题。最近 von Wettstein(1981)对光合膜内多肽成分的亚显微排列作了综述。

用凝胶电泳分析大麦提纯的光合膜最低限度能得到43条多肽，其中至少有30个不同的多肽与光合作用的功能有关。von Wettstein(1980)把这30个多肽成分排列如图6所示。在研究每个成分在类囊体膜内定位时，都应当

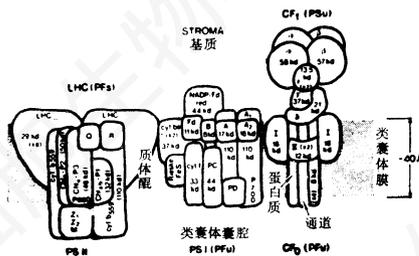


图6 电子传递链所需的已知光合作用多肽成分在类囊体膜内排列的图解(von Wettstein等, 1980)

考虑到电子传递的顺序、邻近有关的信息、抗体易接近性、人为的电子供体与受体、突变体

多肽成分和冰冻裂面所显示的结构特征等。光能被捕获光的叶绿素(light-harvesting chlorophyll)a/b 蛋白质2(简称LHC a/b-P₂)所吸收,可能是经过分子量32KD chl a/b-P₁和50KD chl a-P₂转移到位于46KD chl a-P₃光化学系统II(PS II)反应中心(P680),才起光化学反应,它越过膜引起电荷分离。从动力学与抑制剂的研究发现在PS II的氧化一侧(水的光解)含有三种成分Z₁, Z₂, M。在PS II的还原一侧电子从原初受体Q经过二个电子受体R被传递到质体醌(plastoquinone);由此,电子又按顺序从光化学系统I(PS I)的Rieske铁硫蛋白(FeS),细胞色素f,质体蓝素(PC),假设的原初受体(PD)传递到它的反应中心(P700)。分子量为110KD的叶绿素a蛋白质1含有天线叶绿素(antenna chlorophylls),它可转移能量到位于二个多肽之一的反应中心,才起光化学反应,它也必须越过膜进行电荷的分离。电子从位于或接近110KD多肽的原初电子受体A₁,传递到铁硫蛋白A₂,随后又传递到中心A和/或中心B。这个传递过程是经过铁氧化还原蛋白(Fd)到NADP-Fd还原酶的。在图解中细胞色素b₆₉₀和细胞色素b₆,分别在PS II和PS I的周围对循环光合磷酸化起作用。

叶绿体的磷酸化偶联因子复合体(ATP酶复合体)包括外在性蛋白(CF₁)和内在性蛋白(CF₀)两种成分,可使光合作用反应中心形成的质子梯度能量转变为ATP。类囊体内囊腔的质子浓度比基质中的高,因此,质子就可通过由6个分子的8KD多肽组成的通道穿膜,到达催化部位的α和β亚单位,这样就可生成ATP并释放到叶绿体基质中。

类囊体膜内蛋白质颗粒的排列位置,数量和功能的资料,可用冰冻蚀刻技术研究野生型和突变体叶绿体类囊体的结构来验证(图6)。

关于冰冻蚀刻技术的统一命名法,1975年由国际上十四位学者提出;现以叶绿体为例来说明。类囊体膜内外接触二个空间,外面与基

质接触称为原生质部分(“protoplasmic”half)以缩写P来代表;里面与类囊体内囊腔接触称为内质的部分(“endoplasmic”half),以缩写E来代表。膜本身的面也有二种,膜的亲水部分的真实面以S代表,经冰冻断裂技术沿疏水部分裂开的断裂面以F代表。因此,膜的面就有四种即:二种真实面PS或ES,二种断裂面PF或EF。另外,在叶绿体还有两种特殊情况,类囊体膜有的是在基粒类囊体,有的是在基质类囊体,前一种类囊体堆叠而后者不堆叠,因此,就用小写s和u来代表它们所在的位置(图7)。图7中代表的:

PF_u = 靠叶绿体基质的基质类囊体膜断裂面;

PF_s = 靠叶绿体基质的基粒类囊体膜断裂面;

EF_u = 靠叶绿体类囊体内囊腔的基质类囊体膜断裂面;

EF_s = 靠叶绿体类囊体内囊腔的基粒类囊体膜断裂面。

Simpson(1979)以大麦野生型和突变型为材料,用冰冻蚀刻技术对二者的类囊体膜进行了分析,发现野生型大麦叶绿体类囊体膜的四种断裂面上蛋白质颗粒的大小、数量、分布有如下差别:

PF_u——颗粒小,较稀疏;

PF_s——颗粒小,较密集;

EF_u——颗粒大,较稀疏;

EF_s——颗粒大,较密集。

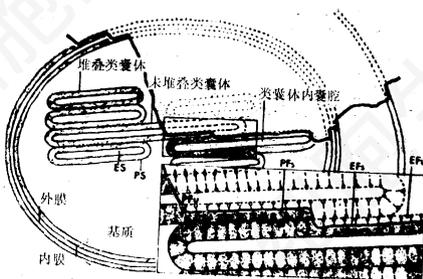


图7 冰冻断裂技术的命名法应用于叶绿体结构 (De Robertis等, 1980)

突变体大麦 *chlorina-f₂* 缺少 LHC a/b-P。从突变体得到的类囊体冰冻断裂面: PF_s 面上的颗粒比野生型的 PF_s 的颗粒少。野生型的颗粒为 6260/μ² 而突变型为 1120/μ², 减少很多。由于突变型缺少的是 LHC a/b-P, 因此,野生型 PF_s 面上的颗粒的主要成分就是 LHC a/b-P。因此,可以确定 LHC a/b-蛋白质是不对称地向着膜的紧靠基质的一边(图6)。冰冻断裂面将 LHC 复合体从 EF_s 面的 PS II 颗粒上分离出来(图8)。

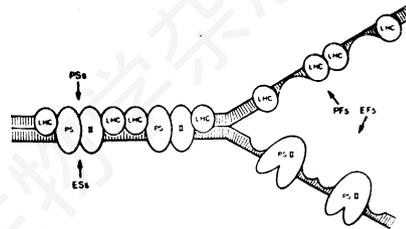


图8 野生型大麦叶绿体基粒类囊体膜冰冻裂面上出现的状态(Simpson, 1979)

又如大麦突变体 *viridis-m²⁹* 和 *zd⁶⁹* 特别缺少 50KD chl a-P₂, 它与 PS II 的反应中心紧靠在一起。在基粒类囊体膜的断裂面与野生型比较,两者都有正常的 PF_s 面,但在 EF_s 面上,突变体缺少许多大颗粒。这就可说明集合在野生型 EF_s 面上的大颗粒就是 50KD 叶绿素 a-蛋白质 2。

应用上述技术以及突变体缺少某种叶绿素蛋白质,就可以根据冰冻断裂面上出现颗粒的大小和数量多少的差别,逐个确定蛋白质颗粒在膜上排列的位置。

三、液泡系

在细胞内,凡是由膜包围的小泡或液泡,除线粒体和质体外,都属于液泡系。植物细胞中有几种特殊的液泡:

1. **圆球体** 为植物细胞所独有,系脂肪体,相当于溶酶体,由一层单位膜包围而成,来源于内质网。

2. **糊粉泡** 在植物的种子中产生的一种特异的液泡,其中贮有蛋白质(多数是酶)也起

源于内质网。

3. 微体 按其中所含有的酶来确定它们的性质。现在已经明确的微体是在两种特定的植物组织中的永久性结构。

(1) 叶片绿色组织中的叫过氧化物酶体(Peroxisome)。在光呼吸中与叶绿体和线粒体结合在一起, 它们是乙醇酸氧化的场所。

(2) 萌发种子的脂肪贮藏组织, 在子叶或胚乳中的叫乙醛酸循环体(Glyoxysome)。经过乙醛酸循环中的一些酶的作用, 使脂肪转变为糖类。

有关微体最新的研究, Newcomb等(1981)将大豆根瘤接种大豆根瘤菌(*Rhizobium japonicum*)后, 微体增多而膨大。他们认为这种微体是过氧化物酶体与从根瘤中新固定的 N_2 形成酰胺(ureide)有关。

在根瘤未感染的细胞中, 还存在着圆球体(脂肪体), 经常与微体混淆在一起, 不易区别。近年来, 由于电镜细胞化学试剂二氨基联苯胺[3, 3'-diaminobenzidine(DAB)]的应用, 很容易把微体从圆球体与蛋白质体中区分开。这是由于根瘤的切片被培育在含有DAB和过氧化氢的介质中, 结果微体中能沉积电子不透明物质, 即呈正反应, 而圆球体和蛋白质体呈负反应。

四、膜与有丝分裂

Porter和Machado最早提供膜与有丝分裂有关的资料。1960年在洋葱根尖细胞的有丝分裂中观察到内质网(ER)片层聚集在纺锤极, 并伸入到纺锤体之内。以后, 在植物细胞有丝分裂的两极, 经常看到这种现象(Hepler, 1977)。在动物细胞中也发现膜与有丝分裂之间有联系。近年来, 由于发展了一种锇酸钾, 铁氰化物($OsFeCN$)的后固定与染色法, 可以很清楚地把核膜与内质网(NE-ER)的膜进行选择染色, 看到膜的结构图象、分布以及与纺锤体结合的状况, 并能和来自高尔基体的膜区分开(Hepler 1980), 在大麦叶表皮细胞的

中期用 $OsFeCN$ 后固定与染色后, 出现染色很深的是内质网, 这些明显的膜层处于上面纺锤极和伸入到有丝分裂器, 并与染色体的着丝点接触在一起。如果把这部分的图象放大, 就可看到网状的內质网围绕并插入着丝点微管中, 同时 Hepler 还看到染色很深的內质网膜与三个着丝点联系在一起, 这进一步说明 ER 插入到有丝分裂器的事实。而且这些膜有两种状态, 即管网状与有孔片层状。

对有丝分裂器中膜的结构与分布的进一步研究, 发现膜内有钙离子的沉积。锇酸钾是一种电镜细胞化学试剂, 可用来测定钙离子。应用这种试剂染色可显示出正在分裂的大麦细胞中, 內质网膜内有钙离子沉积。这些 ER 膜围绕着有丝分裂器, 群集在两纺锤极而且深入到内部, 其中含有锇酸钙的沉积。

从上所述可见 ER 膜与纺锤体结构是有联系的, 其中并含有沉积的钙离子。与纺锤体结合的 ER 膜能暂时保存钙离子, 这已有实验证明(Silver等 1980)。如用机械法将海胆的有丝分裂器分离出来, 它仍保持着膜的渗透性, 并指出了与之联结的小泡有 ATP 存在能增进从介质中摄取钙离子。但当有丝分裂器用清洁剂处理后, 钙离子就释放出来。

细胞内除 NE-ER 膜作为 Ca^{++} 的调节场所外, 还要考虑到线粒体、高尔基小泡、质膜和细胞质中的其它因素。如已知绣球百合胚乳细胞的线粒体中就贮存有大量 Ca^{++} 。

有些植物细胞, 如绒泡菌原生质的穿梭流动就是依赖于 Ca^{++} 、ATP 和 ATP 酶的活力, 共同构成了一种调节肌动蛋白与肌球蛋白相互作用体系, 控制了丝状器的收缩, 使原生质来回穿梭流动。在动物细胞, 如海胆或哺乳动物的分裂细胞中, 也显示出了 Ca^{++} 和 ATP 酶的活力。

据上所述, Hepler(1981)将有丝分裂与膜的关系图解如图 9。他认为: 当细胞有丝分裂从中期进入后期时, 钙离子就从膜腔中释放出来, 这样, 在有丝分裂器中的游离 Ca^{++} 就

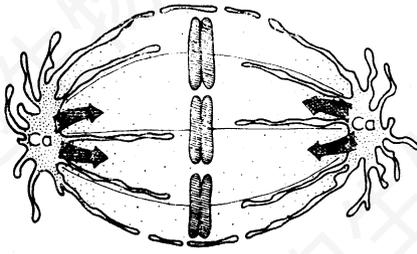


图 9 细胞有丝分裂晚中期图解

含有 Ca^{++} 的广大膜系，位于纺锤体的两极，并沿着着丝点伸入到纺锤体内部

增加，可能激活一个或几个能动的因子，经过一个肌动球蛋白——微丝系统与染色体运动结合在一起，有可能调节着染色体的运动。同时，还由于 ER 所处的位置，能很好地供给有丝分裂器与它周围的细胞质，甚至相邻细胞之间的通讯。因为 ER 的组分能从皮层的细胞质连续地伸展到纺锤体的内部，细胞表面所接受的信号可通过 ER 的潴泡腔传递到有丝分裂器，来

刺激或调节有丝分裂周期。因此，如果要进一步了解有丝分裂全过程的机理，就必须把膜与纺锤体都考虑在内。

参 考 资 料

- [1] Roland, J. C. and B. Vian, 1979. In: "Intern. Rev. of Cytology" Vol. 61, pp. 129-166.
- [2] von Wettstein, D. 1981. In: "Intern. Cell Biology 1980-1981" pp. 250-72. (Schweiger, H. G. ed.) Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York 1981.
- [3] Newcomb, E.H. and S.R. Tandon. 1981. In: "Intern. Cell Biology 1980-1981" pp. 651-6. (Schweiger, H. G. ed.) Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York 1981.
- [4] Helper, P. K., S. M. Wick and S. M. Wolniak. 1981. In: "Intern. Cell Biology 1980-1981" pp. 673-86. (Schweiger, H. G. ed.) Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York 1981.

心肌细胞培养研究的进展

李连达 李映欧

(北京中医研究院西苑医院)

体外培养的心肌细胞可保持其结构及功能上的某些特点，具有自发性节律搏动，已广泛用于生物学及医学研究，近年国外发展较快，为从细胞及分子水平研究心肌的生理、病理、药理以及某些基本理论问题，开辟了一个新的领域，早在 1910 年 Burrows 氏首创鸡胚心肌组织块培养，观察到搏动。两年后 Carrel 维持鸡胚心肌组织块连续搏动达 104 天，并做传代培养。他退休后由 Ebeling 继续培养达 34 年，但所培养的细胞株已转化为心脏成纤维细胞，失去搏动功能。由于鸡胚心肌细胞的生物学特性与人类有较大差异，Harary(1960)^[1]首次用哺乳动物 Wistar 种乳鼠进行心肌细胞

培养，成功地维持自发性节律搏动达 40 天，此后多数学者均采用他的方法，成为心肌细胞培养发展史上的一个重要里程碑。七十年代又从成年动物分离出单个搏动的心肌细胞^[2]，建立一些实验病理模型，开展了心肌细胞生长发育、生理、代谢、病理、药理等基本理论的研究，在培养方法及观察手段上也有了很大的改进，促进了心脏分子细胞学的发展。

培 养 方 法

一般采用胚胎或新生动物的心室组织，经胰蛋白酶消化，分离成单个心肌细胞，制成细胞悬液，37℃下培养。4~12 小时细胞贴壁生