

解就必须应用免疫电镜和生化的方法。因此,研究某种结构凭单一的电镜技术常常是不够的,必须结合多种技术,才能对这种结构有一个比较全面的微观概念。可以预期,随着细胞生物学研究的日益深入,对各种技术会不时提出新的要求,这就对电镜技术的发展起了促进作用,而电镜技术的发展必然会更好地解决细

胞生物学的问题。这种相互促进、相互推动的事实科学技术的发展史上是屡见不鲜的。

### 参 考 文 献

- Abstracts of The Second International Congress on Cell Biology, 1980, *European Journal of Cell Biology* 22(10).

## 细 胞 骨 架

潘 玉 芝

(中国科学院上海细胞生物研究所)

真核细胞的超微结构的早期研究就指出,在细胞质中含有错综复杂的胞质纤维网。根据纤维直径的大小,将其分为微丝(5—6毫微米),微管(20—25毫微米)和中等纤维(7—11毫微米)。由于观察的样品必须切得很薄,电子才能穿过,因此尽管电镜能够详细观察细胞切片的结构,但对细胞内成分之间的关系很难重组出完整概念。因此对上述三种纤维的立体概念是不清楚的。这方面多年没有什么重大的进展。近来,生物学家有条件去观察完整细胞的纤维网,应用免疫荧光技术标记细胞内纤维的结构蛋白,研究单一纤维的分布、结构和功能,发现细胞中有三种类型网状系统即:微丝系统、微管系统和中等纤维系统。这种纤维研究术被称为蛋白质化学解剖术。与此同时生物学家还利用高压电子立体显微镜新技术来观察完整细胞,除了看到上述三系统之外,还发现细胞基质中有一个比微丝还细的纤维系统称为微梁系统<sup>[1]</sup>,纤维直径为3—6毫微米。我们将细胞内的这些纤维系统总称为细胞骨架(图版I,图1)。细胞骨架能把分散在细胞质中的细胞器的膜层结构组织起来,并固定在一定的位置,使它们能执行自己的功能。倘若纤维重新组织和排列,也可使细胞内部的结构成分移动位置,所以细胞骨架也具有肌肉系统的功能。

### (一) 微 丝

培养的上皮细胞和纤维母细胞具有一个共同特点,就是它们能够贴在玻璃底物上,并变得扁平。在相差显微镜下观察这种细胞,它显示出很多致密的直纤维,沿细胞长轴方向平行排列,在上皮样细胞中平行排列纤维可集中于局部区域<sup>[2]</sup>。通过电镜、免疫荧光标记(图版I,图2)和生化方法鉴定,证实这纤维相当微丝束,经常在细胞膜下方被发现,其主要成分是肌动蛋白,分子量为42000。肌动蛋白有纤维型和球型,微丝是由两列球型肌动蛋白单体联合而成,并相互扭缠成双螺旋形。在非肌肉细胞中,肌动蛋白纤维履行许多细胞功能,包括细胞分裂、内吞、外排、细胞附着底物、细胞运动、胞质分裂、细胞形状的维持和褶皱膜的形成。

关于肌动蛋白纤维在培养的非肌肉细胞中介导的特殊细胞功能的机制尚不能清楚解说,由于对这些纤维在细胞中的结构和对调节这些纤维聚合的其他结构蛋白都缺乏认识。近年,在免疫荧光技术中应用肌动蛋白抗体,研究了肌动蛋白在肌肉和非肌肉细胞中的分布。从而开辟了利用肌肉各种结构蛋白的抗体来研究相关抗原在非肌肉细胞中的分布和功能的可能性。目前知道,肌肉的结构蛋白如原肌球蛋白(tropomyosin)、辅肌动蛋白( $\alpha$ -actinin)和肌

球蛋白(myosin)。在完全铺展的培养的非肌肉细胞中与肌动蛋白构成同一纤维。

1. 肌动蛋白纤维在完全铺展细胞中的结构 日益增长的事实告诉我们,在非肌肉细胞质内除含有肌动蛋白和肌球蛋白外,还有其他肌肉结构蛋白如原肌球蛋白和辅肌动蛋白被发现。它们的非肌肉形式和肌肉对应部分的抗原是相似的。从肌肉中提取的辅肌动蛋白和原肌球蛋白的抗体可被用来研究它们的相关抗原在非肌肉细胞中的分布。用完全铺展的细胞的相差纤维做为参考结构,使用免疫荧光技术,明显指出肌动蛋白、原肌球蛋白和辅肌动蛋白在胞质中的分布与相差显微镜中所见纤维束是一致的。肌动蛋白抗体沿相差纤维表现连续荧光,而原肌球蛋白和辅肌动蛋白抗体表现周期荧光。原肌球蛋白抗体染出的荧光带与辅肌动蛋白抗体染色所见的无荧光带长度相似。反之,原肌球蛋白的无荧光带相当于辅肌动蛋白的荧光带长度,如果将上述两种抗体都用来染色,纤维的荧光就无周期出现。结果说明原肌球蛋白与辅肌动蛋白是沿肌动蛋白纤维交替存在的。

2. 正在铺展的细胞中肌动蛋白纤维的重新组成 当培养细胞浸在胰酶中,细胞便失去它与底物的附着,细胞变成圆形。当它重新与底物接触,便开始变扁,肌动蛋白纤维束再组成。在细胞开始贴壁的2小时内仍是圆形,肌动蛋白、辅肌动蛋白和原肌球蛋白抗体染色均为弥散荧光。在8小时阶段,约40%原代大鼠胚胎细胞组成高度规律性的肌动蛋白纤维网(图版I,图3)。利用相差显微镜下所见的网状结构作为参考构造,通过免疫荧光技术,可看出肌动蛋白纤维网丝交接点含有辅肌动蛋白(图版I,图4),但不含原肌球蛋白,在网丝交点之间的连接丝内含有原肌球蛋白,而不含辅肌动蛋白(图版I,图5)。从网丝交点呈辐射状伸向细胞边缘的纤维含有上述三种蛋白分子(图版I,图3,4,6),其形态和分布与完全铺展细胞中的肌动蛋白纤维无区别。因此,纤维的交接点可能是新肌动蛋白纤维在胞质中形成的中

心。网状结构本身是个暂时的结构形式,在细胞铺展晚期就以直的应力纤维(stress fiber)或缆(cable)所取代<sup>[3,4]</sup>。

## (二) 微管

圆柱体状,直而中空,其长度经常改变。构成微管的主要蛋白称为微管蛋白。微管蛋白具有 $\alpha$ 和 $\beta$ 两型,分子量为55,000,两个分子联接在一起形成二聚体,由它螺旋盘绕装配成微管的壁。13个二聚体构成一周,因此在微管的横切面上有13个原纤维。在许多细胞中,微管并不是光滑的,常覆盖束状结构的纤维,它具有重要的功能。

胞质中的微管可分为两类,一种是易变的微管,另一种是稳定的微管。微管在真核细胞中与很多重要细胞功能有关,如细胞形状的维持、细胞运动、染色体运动、轴质的运送和色素颗粒的运动等。

微管的详细研究开始于1963年,在水媳刺细胞<sup>[5]</sup>和 *Phleum pratense* L 根细胞中,使用切片法发现微管<sup>[6]</sup>。在70年代中期,微管蛋白提纯和抗体制备成功,开始了免疫荧光法观察胞质中微管的结构和分布。在人、猴、大鼠、小鼠和鸡的培养细胞中均看到微管(图版I,图7)<sup>[7]</sup>,纤维粗细一致,对秋水仙素敏感。用长春新碱能引起纺锤体微管和胞质微管消失而产生付结晶。

小鼠3T3间期细胞经秋水仙素处理后,发现有一胞质结构不受影响。当处理药物去除,微管便从那个结构辐射伸出,走向细胞膜,这个结构称为微管发生中心<sup>[8]</sup>。生活细胞中微管的聚合是有次序的单方向进行的。这样可避免不必要的、无方向的和不连接的微管的聚合。这足以说明在活体细胞中微管蛋白聚合成微管的过程是受调控的。

在培养的正常细胞中的微管,随细胞分裂周期的出现,它也在不断的变化。如在细胞分裂时期,细胞的胞质微管完全消失,但在细胞分裂后,又重新出现。这可说明分裂周期的细胞具有两套独立的微管实体;即胞质微管与有丝分裂纺

锤体<sup>[21]</sup>。它们之间可能有微管蛋白二聚体的交换,但微管蛋白的聚合可能是分别独立控制的。

### (三) 中等纤维

又称 10 毫微米(100 Å)纤维。当它存在于神经原、神经胶质或上皮细胞中分别又称神经原纤维、神经胶质纤维和张力原纤维。由于它们大部分是不溶解的并且缺乏专一结构的和化学的标志,所以对中等纤维各方面知道得较少。近年来,这种情况有很大改变,主要由于有了新的制备方法和荧光标记方法。根据免疫学的标准,对中等纤维的认识较清楚。用抗血清法至少可将中等纤维区分为三类。第一类是类张力原纤维的中等纤维,可用角质蛋白(keratin)抗血清来辨认。第二类中等纤维是肌肉组织的特点,可用结蛋白(desmin)抗血清来辨认。第三类中等纤维是间充质细胞和从间充质细胞来源的细胞所具有,可用波形纤维蛋白(Vimentin)抗血清来辨认。

角质蛋白是从牛蹄棘层组织制备的,分子量为 48,000—68,000。它的荧光抗体在上皮来源细胞中可染出类张力原纤维的纤维系统。不同种类培养的细胞中显示出纤维的排列式样也不同。如在 PtK<sub>2</sub> 细胞中显示出一波形弯曲的纤维系统(图版 II, 图 8)。而在牛的乳腺上皮细胞中则显示出旋转(图版 II, 图 9)或网状排列的纤维系统<sup>[10]</sup>。核周纤维十分致密。

结蛋白是从鸡平滑肌、横纹肌或心肌的中等纤维中提取的,分子量为 50,000—55,000。在分化的横纹肌和心肌细胞中存在“Z”线。在培养的鸡胚心肌细胞中结蛋白是胞质结构成分,形成网状纤维系统<sup>[11]</sup>(图版 II, 图 10)。

波形纤维蛋白是小鼠 3T3 细胞中等纤维的主要结构蛋白,分子量 57,000,它的荧光抗体能使来源于间充质的非肌肉细胞的中等纤维着色。波形纤维蛋白纤维是一个从核周发出,伸向细胞质边缘的有复杂排列的纤维系统(图版 II, 图 11)。经秋水仙碱胺(colcemid)处理,除能在核周产生聚集的中等纤维外,还能形成独特的聚集图象<sup>[12]</sup>。

最近报道,发现在同一细胞中至少存在两种有明显区别的亚单位的中等纤维。例如在 PtK<sub>2</sub> 细胞和 HeLa 细胞中除含有丰富的角质蛋白纤维外,同时也含有波形纤维蛋白纤维<sup>[13]</sup>。使用微量注射方法将角质蛋白抗体导入培养的 PtK1 细胞,得知细胞内张力原纤维与波形纤维蛋白纤维之间存有相互依赖关系。在功能上它们是共同合作的。因此,当张力原纤维解聚也导致网状结构的波形纤维蛋白纤维的瓦解。使用双相电泳分析无纤维母细胞的鸡胚肌肉培养物、鸡胚纤维母细胞、3T3 细胞和 BHK 21 细胞结果说明,细胞除含有波形纤维蛋白纤维外,还含有第二个多肽,与肌肉的结蛋白十分相似。在横纹肌肌管和分离的肌原纤维中,发现结蛋白和波形纤维蛋白的分布是一致的。最近免疫荧光实验指出胶质细胞除含有专一纤维亚单位外,还含有波形纤维蛋白。上述结果指出结蛋白和波形纤维蛋白能在肌肉细胞和非肌肉细胞中共同存在,波形纤维蛋白和角质蛋白亦可在上皮型细胞中共同存在。

中等纤维抗体也有自发性的。Osberon 等<sup>[14]</sup>和 Gordon 等<sup>[15]</sup>在兔中发现中等纤维自发抗体。Kurki 等<sup>[16]</sup>发现人平滑肌抗体阳性血清可在纤维母细胞中染出中等纤维。我们实验室在豚鼠中也发现自发抗血清的存在<sup>[17]</sup>。可在 CHO 细胞中染出一纤维系统。秋水仙素可使细胞内纤维集聚,此集聚的纤维经电镜鉴定证实为 10 毫微米纤维。

关于中等纤维的功能了解较少。根据 Hynes 等<sup>[18]</sup>利用从鸡胚纤维母细胞中提取的 58K 细胞骨架蛋白抗体,在 NIL-8 细胞中观察其运动和分裂的结果说明,当细胞运动的时候,中等纤维落后于微丝和微管,当细胞分裂时,中等纤维卷曲在细胞边缘,在细胞周期中中等纤维都是处在聚合状态。说明它与细胞运动、细胞铺展和细胞分裂关系不密切。

根据中等纤维的存在和分布,认为它是细胞的结构成分之一,它的功能是支持和强制细胞核处在细胞中一定位置上<sup>[19,20]</sup>。

## 参 考 文 献

- [1] Miller, J. A., 1977, *Science News*, 112: 250—253.
- [2] Goldman, R. D. et al., 1975, *Exp Cell Res.*, 90: 333—344.
- [3] Lazarides, E., 1976, *J Cell Biol.*, 68: 202—219.
- [4] Kimball, J. W., 1978, *Cell Biology*, pp. 98—99.
- [5] Slaughterback, D. B., 1963, *J Cell Biol.*, 18: 376—388.
- [6] Ledbetter, M. C. et al., 1963, *J Cell Biol.*, 19: 239—250.
- [7] Weber, K. et al., 1975, *Proc Natl Acad Sci.*, 72: 459—463.
- [8] Osberon, M. et al., 1976, *Proc Natl Acad Sci.*, 73: 867—871.
- [9] Brinkley, B. R. et al., 1975, *Proc Natl Acad. Sci.*, 72: 4981—4985.
- [10] Franke, W. W. et al., 1978, *Exp Cell Res.*, 116: 429—445.
- [11] Lazarides, E., 1978, *Exp Cell Res.*, 112: 265—273.
- [12] Franke, W. W. et al., 1978, *Proc Natl Acad Sci.*, 75: 5034—5038.
- [13] Osberon, M. et al., 1980, *Exp Cell Res.*, 125: 37—46.
- [14] Osberon, M. et al., 1977 *Proc Natl Acad Sci.*, 74: 2490—2494.
- [15] Gordon, W. E. et al., 1978, *Cell*, 13: 249—261.
- [16] Kurki, P. et al., 1977, *Nature*, 268: 240—241.
- [17] 潘玉芝等 1980 豚鼠自发抗体显示中等纤维的观察(待发表资料).
- [18] Hynes, R. O. 1978, *Cell*, 13: 151—163.
- [19] Small, J. V. et al., 1978, *J Cell Sci.*, 31: 393—409.
- [20] Lehto, V. P. et al., 1978, *Nature*, 272: 175—177. (全文未完待续)



## 中国电子显微镜学会成立

中国电子显微镜学会于80年11月1日在成都召开成立大会,这是多年来从事电子显微镜工作的科技人员的共同愿望。来自全国各地的288位代表,共提出390篇文章,其中生物、医学部分约占三分之一。在成立大会上,国际电子显微镜联合会总书记托马斯到会致祝词,并讲到去年8月间联合会的执委会已讨论了中国加入国际电镜联合会的问题,希望我国电镜工作者能够参加1982年在汉堡召开的国际电镜年会。

会议期间,分仪器、生物、医学、材料金属、地质与半导体、化工石油等专业组进行学术交流活。生物与医学组对很多专题都共同感兴趣,所以联合请有关专家在免疫电镜术、扫描电镜术、放射自显影术、标本制备术、大分子样品制备及电镜放射线测量与防护等方面作了中心发言。会议气氛活跃。

与会代表讨论了学会会章及最近二年的工作计划,并选出由五十名理事(其中保留台湾省一名)组成的,以钱临照为理事长,武忠弼、郭可信、柯俊、黄兰友为副理事长的理事会。希望能在这次会议的基础上更好地组织起来,积极开展学术交流活动,普及电镜科技知识,促进电子显微镜术的发展。

中国科学院上海细胞生物研究所——张哲夫——1981年1月9日