



细胞体密度特征参数的测算方法

郑 富 盛

(北京医学院生物物理教研室)

在研究细胞形态及其变化时,往往要对细胞器的大小或数量多少进行描述或比较。用形态计量学(Morphometry)的方法分析细胞,则可以给出具体的三维结构参数,包括细胞与细胞内各种结构成份的体积、膜结构的面积、颗粒结构的大小及数量等。据我们对几种细胞进行的分析以及文献资料^[1],各种细胞在各种生理或病理状态下,结构参数有所不同,它们的差异往往有一定的功能意义。其中,体密度(Volume density)这一组结构参数比较容易获得,而且能够代表细胞的结构特征。本文以LACA小鼠正常肝细胞为例,介绍我们测算细胞的体密度特征参数的方法。

细胞的体密度特征参数

细胞的三维结构参数,并非指一个细胞而言,而是同一种细胞的群体的统计平均,这个细胞群体处于同一生理或病理环境,而且只测算间期细胞。在测算体密度时,要事先选择一定的参考系统。本文在测算细胞核与细胞质的体密度时,以整个细胞为参考系统,此时,核的体积与细胞的体积之比,称为核的体密度,胞质的体积与细胞的体积之比,称为胞质的体密度。在研究细胞质中各种结构成分的体密度时,我们以整个细胞质为参考系统,此时,胞质中任何一种结构成分的体积与细胞质的体积之比,称为这种结构成分的体密度。由此可见,体密度是一相对数,没有单位,通常用百分数表示。

在测算体密度的同时,还要求出其标准误差(standard error)。相对标准误差(标准误差/均值)的大小代表了该种结构成分在细胞中分

布不均匀的程度。

表1是LACA小鼠正常肝细胞的体密度特征参数,表中数据均以百分数的分子表示。由数据可见,脂滴的相对标准误差最大,达50%,它在胞质中分布最不均匀,而线粒体的相对标准误差最小,为4.3%,它的分布是比较均匀的。表中基质一项,包括比较分散而不易划定范围的成分,如核糖体、小泡、微管等。

表 1 细胞的体密度特征参数

细胞名称	LACA小鼠肝细胞
细胞核	8.13±0.78
细胞质	91.87±0.78
线粒体	28.44±1.22
溶酶体	1.03±0.22
微体	2.52±0.30
高尔基体	0.94±0.30
粗面内质网	15.85±1.44
滑面内质网	11.28±1.51
脂滴	0.64±0.32
糖原	2.62±0.53
基质	36.68±1.57

体密度参数的求法

1. 制样

取有代表性的样品,按常规方法,做成环氧树脂包埋块10个以上。

2. 切片

首先制作半薄切片,厚度不超过1 μ m,边长约0.5mm,用来求核与胞质的体密度。然后做超薄切片,厚度约500 \AA ,其低倍电镜照片,也可用来求核与胞质的体密度,而高倍的电镜照片,则用来求胞质中各结构成分的体密度。

3. 拍照

对每个包埋块,选一张较好的半薄切片,在光镜下拍照,200倍左右,要求有5张以上好的照片。超薄切片在电镜下观察,每个包埋块只能选一张好的切片拍照,以胞质为主,随机在不同部位拍摄3至5张,倍数近10,000,要求电镜照片的总数不少于30张。

4. 测试

我们按照立体学的原理^[2]用测试点计数法求体密度。首先做成测试格,然后将它与底片迭在一起放大,得到印有测试格的放大照片,图版I是一个例子。我们实际使用的光镜照片在1000倍左右,电镜照片近30,000倍。

以图版I为例,实线的120个交叉点为测试点。根据细胞的结构特征,把胞质划分为若干个结构成分,如线粒体、溶酶体、高尔基体、粗面内质网、滑面内质网、脂滴、基质等,然后数出落在每种结构成分上的测试点数目,以X代表任一种结构成分上的测试点数,以Y代表胞质上的测试点总数。根据立体学的原理,体积比等于测试点数目之比,因此某一结构成分的体密度 V_v 为:

$$V_v = \frac{X}{Y} \quad (1)$$

在同一张照片上,对每一种结构成分均可按此法算出体密度。对每一张电镜照片,都进行这样的测试。对光镜照片,也用测试点计数法求核与胞质的体密度,此时,X代表核或胞质上的测试点数,Y代表落在细胞上的测试点总数。

5. 计算

如果有N张同类照片,对某种结构成分,我们测出N个X,同时,对参考系统相应地得出N个Y。体密度的均值M,按下式计算:

$$M = \frac{\sum X}{\sum Y} \quad (2)$$

式中 $\sum X$ 与 $\sum Y$ 分别为N张照片X值的和与Y值的和。

标准误差S用下式计算^[3]:

$$S = \sqrt{\frac{N(\sum X^2 + M^2 \sum Y^2 - 2M \sum XY)}{(N-1)(\sum Y)^2}} \quad (3)$$

我们表1中的数据,就是按(2)、(3)两式计算,然后乘以100得出的结果。这与过去我们用X/Y的算术平均为均值,用一般求标准误差的公式所得的结果^[4]相比,有一些差别,应以现在的数据为准。只有当N个Y值相同时,两种计算方法所得的数据才完全一致。

6. 计算机程序

用(3)式求标准误差时,如果用一般能进行统计运算的电子计算器,不仅很麻烦,而且容易出错。我们用BASIC语言编制了一个程序,在PDP 11/23电子计算机上运行,效果很好。此程序如下:

```

10 REM VOLUME DENSITY
20 PRINT "X","N","M","S"
30 N=0\A=0\B=0\C=0\D=0\E=0
40 INPUT X
50 IF X=-1 THEN 120
60 READ Y
70 DATA(按实际数据输入)
80 N=N+1\A=A+X\B=B+Y\
   C=C+X^2\D=D+Y^2\E=E+
   X*Y\M=A/B
90 IF N>=2 THEN S=SQR(N*(C+
   M^2*D-2*M*E)/(N-1)/B^2)
100 PRINT " ",N,M,S
110 GOTO 40
120 END

```

在这个程序中,^为乘方符号,\为语句分隔符号。70行的DATA,对同一个参考系统是不变的一组数据,换一个参考系统时,只要更换一组数据即可。在运行中,每输入一个X值,都可以在显示屏上看到运算结果,很容易查对。

讨 论

1. 细胞体密度特征参数反映了细胞结构的基本特征。其中,核与胞质的体密度之比,即核质比,往往与细胞的增殖能力、成熟程度

或蛋白质合成的能力有关；而胞质中各种结构成分的体密度，也反映了细胞的生物学特征。在研究细胞形态变化时，首先求出细胞的全部体密度数值，得到最基本的定量资料，这对客观地准确地分析细胞，无疑是很有意义的。

2. 体密度是无量纲的比值，不包含细胞结构绝对大小的数值。用不同的方法做细胞包埋块，可能有不同程度的收缩，但由于体密度是相对值，基本上不受收缩的影响。不同的实验室做出的结果可以互相比较，有利于资料的积累与整理。

3. 把细胞的体密度特征参数绘制成图，更加形象化，图1是LACA小鼠正常肝细胞的体密度图。其绘制原则是：核与细胞的大小，以相对的球径为比例。球径比等于体积比的三次方根，这里就是核的体密度的三次方根。胞质中各结构成分的体密度，用扇形面积的大小代表。这种作图法，相当于把细胞与细胞核按同体积原则变换为同心球，胞质中各种结构成分分类集中成桔瓣状，然后通过赤道作截面所得出的结果。

对各种细胞的体密度特征参数进行分析比较，有可能找到细胞结构的一些规律，但这有待于资料的积累。

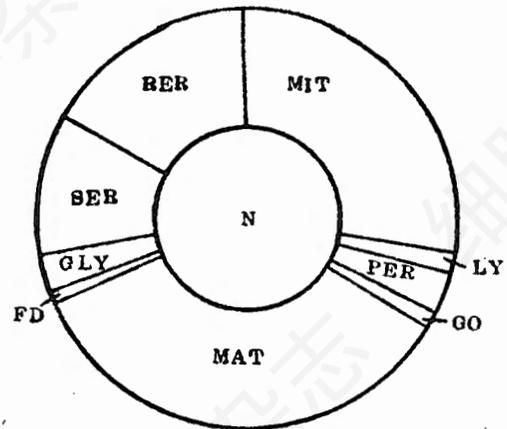


图1 细胞的体密度特征参数图

图中符号：N—核，MIT—线粒体，LY—溶酶体，PER—微体，GO—高尔基体，MAT—基质，FD—脂滴，GLY—糖原，SER—滑面内质网，RER—粗面内质网

参考文献

- [1] David, H. 1977. Quantitative Ultrastructural Data of Animal and Human Cells, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. New York.
- [2] Weibel, E. R. 1979. Stereological Methods Vol. 1: Practical Methods for Biological Morphometry, Academic Press, London.
- [3] Cochran, W. G. 1977. Sampling Techniques 3rd ed., Wiley, New York.
- [4] 郑富盛等。1983, 中华物理医学杂志, 5(1): 37.

FPR 实验装置的一些改进*

张孔华 徐成汤 蔡永和 张跃远

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

荧光漂白恢复(FPR)技术最初由 Peters 等(1974)提出^[1]，后经 Koppel 和 Smith^[2-4]等加以改进和发展，目前已广泛用于测量细胞膜和人工膜分子的侧向运动。

根据 FPR 原理，我们于 1981 年组装了一台 FPR 测量装置^[5]，并用它测定了人鼻咽癌常温和高温细胞株表面伴刀豆球蛋白受体的侧向扩散系数^[6]。在工作中我们感到实验装置本身

能引起一定程度的系统误差。例如，激光器件的波动性和激光模式，光学元件的不完整性和光电接收器件的噪声等都会降低 FPR 数据的精度。为了进一步提高其精度和灵敏度，完善实验装置，我们对光学和电子系统作了改进。另外，为了提高实验系统的可靠性，采用了 DBJ-Z80 单板微处理机控制实验程序。现分述如下：