

高尔基体的结构与功能(二)

汤 雪 明

(上海第二医学院)

二、高尔基体的功能

高尔基体的主要功能是参与细胞的分泌活动。近年来用细胞化学和放射自显影等技术对此作了深入的研究,阐明了高尔基体在分泌活动中的作用,主要是将由糙面内质网合成的蛋白质作进一步加工、浓缩和运输,形成各种分泌颗粒。分泌颗粒刚形成时,一般电子密度较低,称未成熟颗粒,随后分泌颗粒不断浓缩、成熟,成为电子密度较高的分泌颗粒离开高尔基体。除了加工和浓缩蛋白质外,高尔基体本身还能合成一些物质,如糖类,这些糖在高尔基体中与蛋白质结合形成各种糖蛋白。

(一) 高尔基体与糖蛋白合成

动物细胞内主要有三种类型的糖蛋白,分别位于细胞膜、溶酶体和细胞分泌产物中。糖蛋白是细胞膜的主要成分之一,在细胞膜的功能活动中起重要作用。糖蛋白也是溶酶体和分泌颗粒的主要成分,现已证明,大多数细胞分泌的蛋白质以及溶酶体酶都是糖蛋白。高尔基体在上述糖蛋白的合成和分泌过程中起着重要作用^[15]。

糖蛋白由多肽链骨架和多糖侧链组成。多糖侧链又由两部分组成:接近多肽链的核心部分和远离多肽链的周围部分(图2)。核心部分富有甘露糖,周围部分有半乳糖和唾液酸等,岩藻糖虽直接与核心部分相连,但其特性与周围部分的糖相似,位于多糖侧链末端。放射自显影技术是研究细胞内糖蛋白合成过程的一种很好的方法,注射放射性同位素标记的各种糖蛋白前体(氨基酸和糖),用放射自显影方法追踪它们在细胞内掺入糖蛋白的部位。实验证明,

糖蛋白的多肽链部分在糙面内质网中合成,然后运送到高尔基体进一步加工;核心部分的糖(如甘露糖)在糙面内质网内就加入到糖蛋白中,而周围部分的糖(如半乳糖、唾液酸和岩藻糖)则在高尔基体中加入糖蛋白。说明糖蛋白的多肽链在内质网合成后,先在内质网内加入多糖侧链的核心部分,然后运送到高尔基体并在那里加入多糖侧链的周围部分。

我们用放射自显影的方法,注射³H-岩藻糖示踪大鼠精细胞发育过程中高尔基体合成糖蛋白的情况以及新合成糖蛋白的去路。关于精细胞高尔基体合成糖蛋白的情况,实验中有二点较有意义的发现:首先,³H-岩藻糖在高尔基体两大部分的分布是不均匀的。我们将电镜放射自显影的结果进行定量分析,看到在注射³H-岩藻糖后三十分钟到一小时,银粒主要位于高尔基体的外周部分,在较长时间间隔时,很多银粒积聚在高尔基体中央部分。说明³H-岩藻糖在高尔基体外周部分内开始掺入糖蛋白,新合成的糖蛋白并不直接转运到别处,而在中央部分内继续加工或作短暂贮存。这一结果表明,中央部分在形态与功能上都是高尔基体的一个重要组成部分;其次,³H-岩藻糖不仅掺入早期精细胞的高尔基体,而且掺入顶体期精细胞的高尔基体。这一结果证实了顶体期精细胞的高尔基体能继续合成糖蛋白,仍然处于功能状态,因此把它称为残余高尔基体是不妥当的。

关于新合成糖蛋白的去路,我们看到在精细胞发育的不同阶段是不同的。在注射³H-岩藻糖四小时以后,高尔基体上的银粒数逐渐减少,而出现在其它细胞器上的银粒数不断增加,说明新合成的糖蛋白由高尔基体转运到其它细

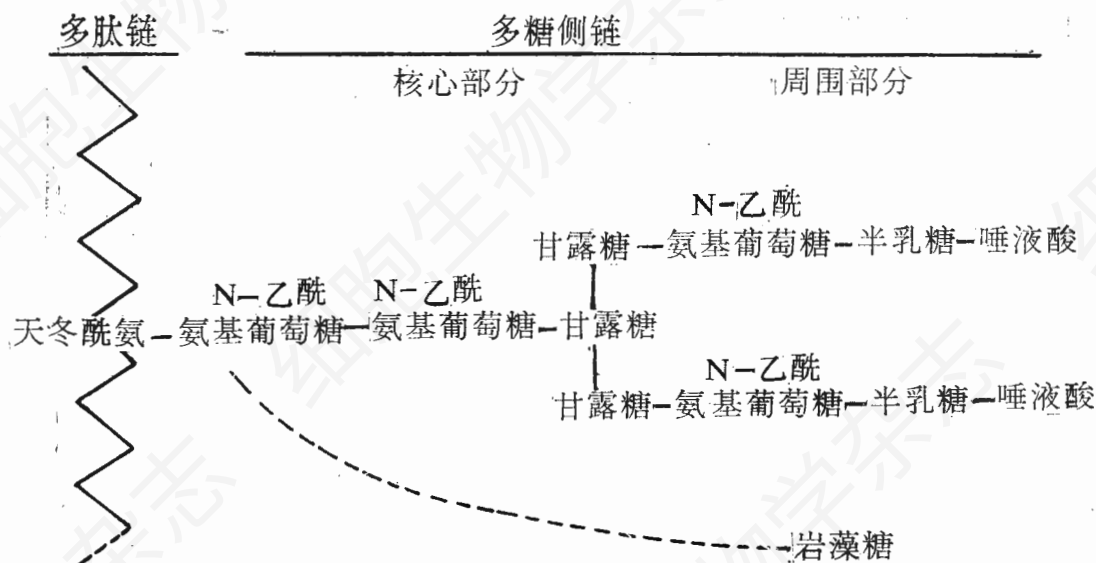


图2 糖蛋白中一条与天冬酰胺相连的多糖侧链

胞器。在早期精细胞中，新合成的糖蛋白主要转运到顶体系统和多泡体(图版图9)，只有少量参与细胞膜糖蛋白的更新；在顶体期精细胞中，糖蛋白不再转运到顶体系统，但继续供应细胞膜糖蛋白的更新(图版图10)；到成熟期精细胞，高尔基体进入退化过程，不再合成糖蛋白。

(二) 高尔基体与细胞分泌活动

高尔基体在细胞的分泌活动中起重要作用。腺体细胞的分泌颗粒、血细胞的细胞质颗粒、精细胞的顶体以及细胞内的各种溶酶体都是由高尔基体分泌的。但是，对高尔基体参与分泌活动的详细过程还没有完全弄清楚，对分泌作用的机制也有着不同解释。

一种解释是，分泌产物中的蛋白质在糙面内质网中合成，然后从内质网长出运输小泡，把合成的蛋白质运送到高尔基体。在高尔基体生成面，运输小泡互相融合形成新的生成面膜囊。随着生成面膜囊的不断形成，各层膜囊向成熟面移动，依次成为中间膜囊和成熟面膜囊，在此过程中将膜囊内容物进行浓缩和加

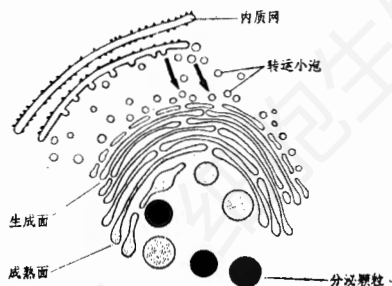


图3 对高尔基体与分泌活动关系的解释之一。(膜流动理论)

工。最后由成熟面膜囊长出分泌泡，形成分泌颗粒(图3)。这就是流行的膜流动理论，根据这种理论，高尔基体膜囊是不断生成和不断消耗的。但这种理论不能解释为什么高尔基体的酶系统与内质网截然不同以及为什么高尔基体各层膜囊有不同的酶细胞化学反应。

Palade等^[18]人根据放射自显影实验提出了另一种解释(图4)。他们将³H-亮氨酸注射豚鼠，观察胰腺外分泌细胞分泌颗粒的形成。他们发现放射自显影银粒先出现于内质网，然后出现在分泌颗粒上，而并不出现于高尔基体上。因此他们认为转运小泡直接将蛋白质从内质网转

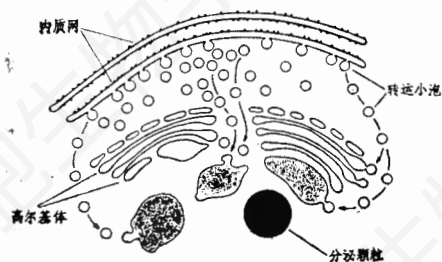


图4 对高尔基体与分泌活动关系的解释之二 (Palade等)

运到分泌泡,中间不经过高尔基体。尽管他们也认为在受刺激的胰腺外分泌细胞和其他分泌细胞中,运输小泡也可以与高尔基体膜囊的边缘相融合,但他们的解释没有说明高尔基体在分泌活动中起什么作用。

还有一种解释是 Novikoff 等^[17] 根据细胞化学实验结果提出来的(图5)。他们用细胞化学方法显示了 TPP 酶位于高尔基体的成熟面膜囊,而酸性磷酸酶位于 GERL、分泌泡和溶酶体中。他们认为 GERL 是一种独立于高尔基体的特殊结构,与内质网直接相连,溶酶体从 GERL 上长出来,溶酶体中的酸性水解酶由内质网合成后通过 GERL 直接进入溶酶体。由于溶酶体和刚形成的分泌颗粒都含有酸性磷酸酶而不含 TPP 酶,因此他们认为二者都来自 GERL 而不是来自高尔基体,分泌颗粒中的内容物一部分来自与 GERL 相连的内质网,还有一部分直接由运输小泡转运而来。这种解释强调了内质网与 GERL 在分泌活动中的作用,但也没有说明高尔基体在分泌活动中起什么作用。

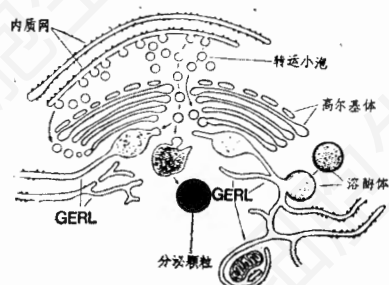


图5 对高尔基体与分泌活动关系的解释之三 (Novikoff等)

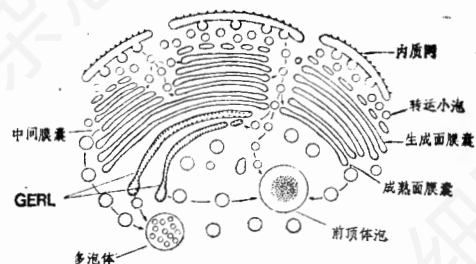


图6 我们对高尔基体与分泌活动关系的看法

我们根据细胞化学、冰冻蚀刻和放射自显影等实验结果,以精细胞为例,对高尔基体与分泌活动的关系提出了一些粗浅的看法(图6):

1. 高尔基体是一种结构相当复杂的细胞器,它的各个组成部分(包括生成面膜囊、中间膜囊、成熟面膜囊、GERL 以及成熟面的各种泡状结构等)都具有其独特的超微结构和酶系统,在分泌活动中各自起着不同的作用。在细胞分泌过程中,首先由运输小泡将蛋白质运送到高尔基体各层膜囊和 GERL 中,然后各层膜囊和 GERL 分别将蛋白质进行加工,加入新的成分,形成各种不同的分泌物质,最后由不同部位的膜囊和 GERL 以出芽方式长出各种泡状结构,把分泌物质送到高尔基体成熟面的中央部分,在那里进行组合而形成不同的分泌颗粒和溶酶体。如精细胞中,TPP 酶阳性的成熟面膜囊与 CMP 酶阳性的 GERL 共同参与顶体系统(含 TPP 酶和 CMP 酶)的形成,而 NADP 酶阳性的中间膜囊与 GERL 一起形成多泡体(含 NADP 酶和 CMP 酶)。另外,也可能有一些运输小泡直接运送由内质网合成的蛋白质进入分泌颗粒中。

2. GERL 是高尔基体的一个特殊组成部分。在细胞发育过程中,GERL 也有一个生长、发育和退化的过程。GERL 的主要功能是将来自内质网的蛋白质加工形成酸性水解酶和其它分泌产物,参与溶酶体和一些分泌颗粒的形成。但并不是所有的高尔基体都具有 GERL 结构,

也不是所有的分泌活动都必须有 GERL 参加。如高尔基期和顶帽期精细胞的高尔基体的主要功能是产生顶体系统和多泡体,完成这一功能 GERL 是必需的;在顶体期精细胞中,GERL 退化,但高尔基体仍具有合成糖蛋白的功能,这些糖蛋白主要用于细胞膜糖蛋白的更新,这一功能不需要 GERL 的参加。

参 考 文 献

- [1] Golgi, O., 1898, *Arch. Ital. Biol.*, 30: 60—71.
- [2] Whaley, W. and M. Dawwalder, 1979, *Int. Rev. Cytol.*, 58: 199—245.
- [3] Novikoff, A. B., 1964, *Biol. Bull.*, 127: 358.
- [4] 汤雪明, 1983, 生殖与避孕, 3 (2): 21—24.
- [5] Parat, M. and J. Painleve, 1924, *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, 179: 844—846.

- [6] Friend, D. S. and M. Murray, 1965, *Am. J. Anat.*, 117: 135—150.
- [7] Novikoff, A. B. and S. Goldfischer, 1961, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 47: 802—810.
- [8] Smith, C. E., 1980, *J. Histochem. Cytochem.*, 28: 16—26.
- [9] Tang, X. M. et al., 1982, *Am. J. Anat.*, 163: 283—294.
- [10] Novikoff, A. B., 1963. In: *Ciba Foundation Symposium on Lysosomes*, pp. 36—77.
- [11] 汤雪明, 1983, 电子显微学报, 2: 28—31.
- [12] 汤雪明等, 1983, 实验生物学报, 16 (4): 457—465.
- [13] 汤雪明等, 1983, 实验生物学报, 16 (4): 427—437.
- [14] Bainton, D. F. and M. F. Farquhar, 1966, *J. Cell Biol.*, 28: 277—301.
- [15] Bennett, G. and C. P. Leblond, 1977, *Histochem. J.*, 9: 393—417.
- [16] Caro, L. G. and G. E. Palade, 1964, *J. Cell Biol.*, 20: 473—495.
- [17] Novikoff, P. M. et al., 1971, *J. Cell Biol.*, 50: 859—886.

细胞培养中的支原体污染问题(续)

何大澄 张鸿卿 邱相寰* 薛绍白

(北京师范大学 生物系)

6. 放射性同位素自显影方法

可用 ^3H 标记的胸腺嘧啶脱氧核苷或尿嘧啶核苷自显影实验检查支原体的污染。此法的简单原理是:无污染的正常细胞在 S 期 (DNA 合成期) 可摄取大量的胸腺嘧啶脱氧核苷到细胞核中。而当细胞被污染后,培养液的胸腺嘧啶脱氧核苷被支原体的嘌呤嘧啶核苷磷酸化酶分解成自由碱基,使细胞不能利用,故细胞核的掺入明显减少或消失。而支原体对核苷及自由碱基都可利用,故在支原体分布处可发生标记物的掺入。应用的另一类标记物尿嘧啶核苷为 RNA 合成的前体。在正常细胞中,它们首先是只掺入到细胞核中,约 20 分钟后才开始

从核进入细胞质中,支原体的存在同样可使核中的掺入减少,而在支原体分布处出现标记。

将生长有待检查细胞的玻片放在含有 ^3H —胸腺嘧啶脱氧核苷的标记液中培养 12—24 小时,或含有 ^3H —尿嘧啶核苷的培养液中脉冲标记 20 分钟。然后用浸沾法或其它方法在玻片有细胞的一面涂布一薄层感光乳胶。曝光 4—7 天。显影定影后在显微镜下观察银颗粒的分布。在用 ^3H —胸腺嘧啶脱氧核苷标记时,若有支原体的污染,则细胞核中的标记明显较正常细胞减少或根本无标记,同时在胞

* 江西医学院进修教师。