

膜结合细胞器和内膜系统的研究方法 PDF转换可能丢失图片或格式，建议阅读原文

https://www.100test.com/kao_ti2020/260/2021_2022__E8_86_9C_E7_BB_93_E5_90_88_E7_c22_260328.htm

膜结合细胞器和内膜系统的研究方法 虽然电子显微镜能够获得高度清晰的细胞内膜系统的结构，但是不能研究单个膜结合细胞器的结构和功能。离心分离技术、同位素示踪技术和突变技术是有效的研究内膜系统的方法。 放射自显影术（autoradiography）

胰腺系统中胰泡细胞具有最发达的内膜系统，主要功能是合成消化酶类。这些酶类合成之后要从胰腺系统经由导管分泌到小肠中行使功能。这些酶是如何分泌出去的？Jamws Jamieson和George Palade使用放射自显影技术证明了蛋白质分泌起始于内质网，经高尔基体到达细胞外。 差速离心分离与功能分析

微粒体（microsomes）分离 虽然放射自显影技术证明了分泌蛋白合成的起始部位，但不能证明合成分泌蛋白的是何种细胞器。Albert Claude和Christian De Duve发展了细胞组份分离技术，分离到了具有蛋白质合成和分泌功能的结构。这些结构称为微粒体。用机械匀浆将细胞破碎，各种膜细胞器破碎，并且重新自我融合形成各种球形膜泡，通过较高速度离心除去细胞核、线粒体、过氧化物酶体等细胞器。收集悬浮液再用较低速度离心，然后用电子显微镜检查离心后分开的两部分结构。发现上层的囊泡表面是光滑的，沉淀下的囊泡表面有核糖体颗粒。 微粒体的功能研究

通过差速离心分离的微粒体不仅保留了膜的结构特征，同时还具有活细胞中的生物活性和功能。如来自高尔基体的囊泡具有将蛋白质和脂进行糖基化修饰的作用。用从这些囊泡中分离的特殊蛋白

作为抗原制备抗体，然后将制备的抗体与特定的颗粒如金颗粒结合，再通过免疫电镜技术就能够对用作抗原的酶进行定位，通过这些研究详细揭示了高尔基体在复杂的糖装配中的具体过程。

用突变体研究内膜系统的功能 为了研究编码与分泌途径相关蛋白的基因，科学家们筛选了一些突变体，在这些突变体中，内膜结构不正常。如获得的涉及ER出芽小泡形成基因发生突变酵母突变体的ER就特别大；若是涉及与高尔基体融合基因突变，这种酵母突变体中就会积累大量的分泌泡。通过对酵母突变体的研究，揭示了小泡运输的过程（图9-8）。图9-8 与分泌相关的不同酵母突变体 野生型是分泌正常的酵母，A、B、C、D、E是五类不同的sec基因（secretory genes）突变，代表了蛋白质分泌的五个过程。A：分泌蛋白不能进入内质网，B：内质网出芽缺陷，C：分泌小泡不能与高尔基体融合；D：高尔基体不能形成分泌泡；E：分泌泡不能与质膜融合。目前已经分离和克隆了几十个与分泌途径相关的基因，通过序列分析，表明这些基因与哺乳动物分泌基因具有同源性，推测哺乳动物的细胞分泌过程与酵母相似。

100Test 下载频道开通，各类考试题目直接下载。详细请访问 www.100test.com