

酵母菌的冰冻蚀刻电镜观察

岳奎元 郑中华

(中国科学院成都分院分析测试中心电镜室,成都)

冰冻蚀刻电镜技术除已广泛用于研究细胞膜外,它还可以从不同层次、不同深度及不同方向暴露出细胞的内部结构,照片立体感鲜明,因此也是研究细胞结构的一种重要手段。

材料和方法

我们使用中国科学院成都生物研究所菌种组提供的啤酒酵母(*Sacharomyces cerevisiae* Hansen),冰冻蚀刻前收集生长良好的酵母菌体,在2%的戊二醛固定液中于冰箱中固定2小时,再转入30%的甘油生理盐水中浸渍2小时。以后按冰冻蚀刻技术常规步骤操作^[1-3]。将样品装入样品杯后,迅速放入液氮中,冷冻到约-196℃。用日本电子光学公司(JEOL)和EE-FED·B冰冻蚀刻装置,在 1×10^{-5} Torr、-130℃将样品“切”断,暴露出酵母的内部结构,再使温度在1分钟内从-130℃上升到-100℃,进行

蚀刻。在蚀刻后的酵母表面以45°角喷铂,再垂直喷碳,制成复型膜。最后用浓次亚氯酸钠腐蚀掉菌体。将复型膜捞在带支持膜的铜网上,用JEM-100CX电子显微镜,在80KV的加速电压、物镜光栏孔为60μm的条件下观察拍照。

结果和讨论

1. 细胞壁: 在酵母菌的超薄切片中,可以看到较厚的细胞壁,电子密度大。在冰冻蚀刻的酵母菌中,所有的劈裂面都显示出厚厚的细胞壁,包围着整个细胞(图版 I-1-4)。图中可以看出,无论劈裂到酵母的何种部位、何种深度,细胞壁都被“切”断,显露出一个清晰的横断面。可以清晰地看到细胞壁表面呈现出无规则的短杆状结构,这些结构有的突起,有的凹

中国科学院成都生物研究所菌种组提供酵母菌,特此致谢。

下,它们随机地布满整个细胞表面(图版 I-5)。

关于酵母细胞壁的结构,虽然 Lampen 提出了一个模式图^[4],但总的说来,细胞壁的形态结构,目前仍不十分清楚,有待进一步研究。

2. 细胞核: 冰冻蚀刻时,由于断裂部位是随机的,所以劈裂面暴露出酵母菌的不同层次的内部结构(图版 I-1—4)。酵母菌的细胞核呈圆形突起,清晰可见,几乎都位于细胞中央,核表面光滑。核内部结构比较简单(图版 I-2)。核体积很大,核的直径几乎都是菌体直径的一半。在观察到的细胞核表面都没有见到核孔,也没有见到核膜的劈裂面,未见膜性结构。

3. 细胞器: 冰冻蚀刻显示出酵母细胞内部结构比较简单,大部分为均匀的细胞质(图版 I-2—4)。各种细胞器远不如动物细胞复杂、丰富^[5]。但线粒体清晰可见(图版 I-1—2)。线粒体的劈裂面可以看到嵴,未劈裂者呈现出一个圆形突起。它们在细胞中随机分布,占据很大空间,线粒体的直径与核的直径比大约是 1:60 到 1:30。内质网不够明显,但仍可见(图版 I-2)。也可见到一些空泡(图版 I-3)。

4. 细胞质膜: 有的酵母细胞在冰冻“切”断时,细胞壁被撕裂除去,暴露出细胞质膜(图版 I-6)。当冰冻断裂发生在膜层结构时,往往从细胞膜的疏水部位撕开,暴露出细胞质膜的 PF

面和 EF 面(图版 I-6)。虽然细胞表面不平,有的凹下,有的突起,但 PF 面和 EF 面都清晰可见,PF 面镶嵌蛋白颗粒丰富,EF 面蛋白颗粒稀少。从图 6 中也可以看出在冰冻切断时随机进行所显示出来的各种不同层次的结构。

冰冻蚀刻技术对于动物组织比较成熟^[1,3,5]。但对于微生物和植物细胞或组织,难度较大,技术上应作适当改进。Robards 报道了一些较难制作冰冻蚀刻复型膜的生物样品的有关技术^[6]。我们的试验中用铂为 19 mg,清洗时曾用 30% 左右的次亚氯酸钠腐蚀 1 小时,效果欠佳。后改用浓次亚氯酸钠(日本产),获得了良好的效果。

参 考 文 献

- [1] 李文镇主编: 组织细胞冷冻复型电镜图谱, 人民卫生出版社, 北京, 1981 年, 第 1—14 页。
- [2] Stanley Billivant: Freeze-Etching and Freeze-Fracturing, in *Advanced Techniques in Biological Electron Microscopy*, Springer-Verlag, New-York, 1973, pp. 66—112.
- [3] 岳奎元, 郑中华: 植物生理学通讯, 4: 45—48, 1982。
- [4] 徐浩等: 生物科学参考资料(第十集), 科学出版社, 北京, 1978 年, 第 172—183 页。
- [5] 岳奎元, 郑中华: 两栖爬行动物学报, 2(2): 23—28, 1983。
- [6] Robards, A. W. et al.: Improved Freeze-Etching of Difficult Specimens, in *Electron Microscopy*, V. 2, (Biology), Toronto, Canada, 1978, p. 138.