

酵母细胞的分化和性接合

张伟心 杨启瑞

(河北大学生物系, 保定)

酵母与人类生活关系密切, 人们曾对酵母进行了大量研究。随着电镜、超薄切片及生化等技术的进展, 对酵母的结构及功能认识也更加深刻。下面将有关酵母细胞的分化及性接合的研究进展作一简介。

酵母细胞壁的形成

啤酒酵母的细胞壁是由碱可溶性葡聚糖、碱不可溶性葡聚糖、甘露聚糖、几丁质、蛋白质、磷酸及硫等交织而成。细胞壁的各个成分在增殖期间的合成速度不同(图1)。啤酒酵母细胞壁的碱可溶性葡聚糖主要是在细胞周期前半期增量显著, 而碱不可溶性葡聚糖在后半期增量

显著, 由此看来似乎前者是后者的前体。甘露聚糖在整个细胞周期中, 大体上是直线增加的, 只是细胞分裂时增加较缓慢。

很多酵母以出芽繁殖。出芽时, 原有的细胞壁一部分向外突出, 并逐渐增大成为子细胞。当子细胞长到一定大小后, 母子细胞间形成隔膜, 分裂成为两个细胞。用放射自显术和荧光标记法证明, 在这期间母细胞的细胞壁几乎不增加, 只看到子细胞细胞壁增加。随着子细胞的生长, 新细胞壁接连不断的形成, 其中部分原有细胞壁溶解, 而新细胞壁组分插入。实验证明细胞壁的溶解是由于 β -葡聚糖酶作用的结果。 β -葡聚糖酶有两种, 一种是非专一性的外切葡聚糖酶, 另一种是专一性的内切 β -葡聚糖酶。下田等指出在对数期二者向胞外大量分泌, 当进入稳定期时, 内切 β -葡聚糖酶活性完全消失。Matile 推测在细胞壁合成过程中, 内切 β -葡聚糖酶具有更重要的作用。

Moor 用冷冻蚀刻标本观察到啤酒酵母出芽时内质网特别发达。内质网的前端分裂成小泡(visicle)并集中在芽的尖端, 而且这些小泡和细胞膜融合。很多种酵母, 不管来自子囊菌纲、担子菌纲的酵母, 或是丝状菌都观察到了同样现象, 证明小泡与细胞壁形成有关。后来Matile 用密度梯度离心法研究 β -葡聚糖酶在细胞内的分布, 发现出芽时消长显著的部分是浮力密度为1.14gm/ml的小泡, 称这个小泡为葡聚糖酶囊(glucanase vesicle)。这部分的活性也是在出芽停止后的稳定期消失。用电镜观察这个葡聚糖酶囊, 发现其形态和大小与前述的内质网形成的小泡相同。此外还发现细胞膜也含

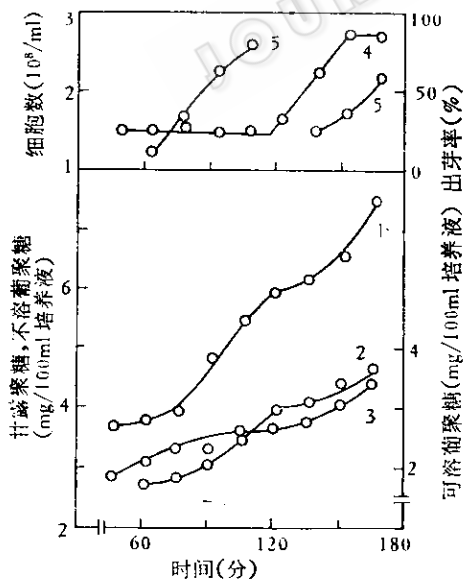


图1 同步培养过程中细胞壁多糖类的增加

1. 甘露聚糖, 2. 碱不溶葡聚糖, 3. 碱可溶葡聚糖, 4. 细胞数, 5. 出芽率

有 β -葡聚糖酶和多糖,并且附着很多颗粒,每个颗粒中含有甘露聚糖和蛋白质^[1]。

葡聚糖酶囊和细胞膜部分还含有甘露聚糖及甘露聚糖合成酶。Košinová 等根据放射自显术及生物化学的研究,推测甘露聚糖在细胞质的内质网中合成,由葡聚糖酶囊运出。关于酵母细胞壁形成过程见图 2。

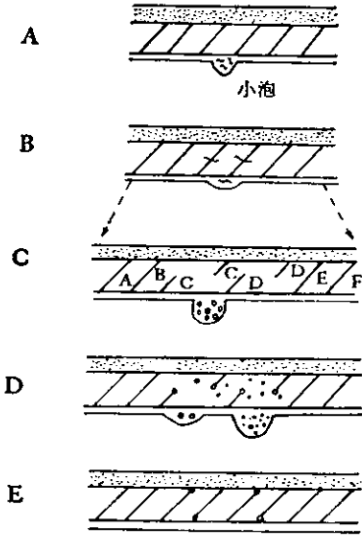


图 2 细胞壁构筑的模式图

~葡聚糖酶, ○用于葡聚糖合成的原料和酶
●甘露聚糖,甘露聚糖合成酶

啤酒酵母细胞壁中的几丁质虽只占细胞壁的 1—2%,但却是重要的细胞壁成分。在细胞分裂周期的某个阶段才形成几丁质。B. F. Sloat 等指出^[2],酵母细胞出芽时,在母细胞的细胞壁内侧的葡聚糖层上,生成牢固的几丁质的环状结构,由此长出子细胞。而缺乏合成几丁质能力的变异株,则看不到这种环状结构,也不能出芽。因此认为几丁质是支撑出芽的物质基础。但是裂殖酵母的细胞壁未发现几丁质,而含几丁质高的白假丝酵母及点滴复膜孢子酵母 (*Saccharomyopsis guttulata*) 又看不到芽痕。由此看来几丁质在细胞壁中的作用有待进一步研究。

最近 Cabib 和 Bowers 用精制的酵母细胞膜证明几丁质合成酶存在于细胞膜的许多部位上^[3,4]。不过多数是处于无活性的酶原状态。当

酵母形成几丁质隔膜时,部分酶原被活化,从而催化几丁质的合成。

核 分 裂

Robinow 和 Marak (1966) 报道电镜观察酵母细胞核的超微结构以来,许多人相继开展这方面的研究,关于核的超微结构现已比较清楚^[1,5]。

Robinow 等指出,在核膜上有一种电子密度高的圆盘状的结构,命名为中心粒小板 (centriolar plaque), 现在这个构造称为纺锤体小板 (即 spindle plaque 简称 SP 或 SPB)。由 SP 向核内外伸出微管(简称 MT),伸向细胞质的 MT 称为星丝;连系在核两极的 MT 称为纺锤体微管(连续丝);通过着丝点与染色体相连的 MT 称为染色体微管(染色体牵丝),见图 3。

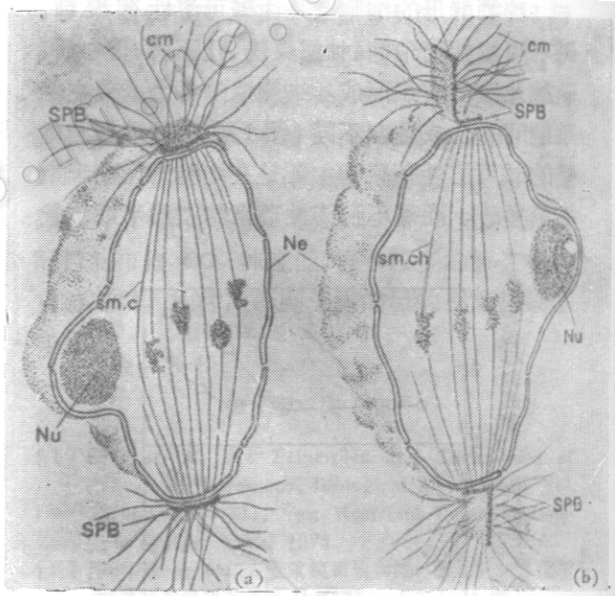


图 3 粪盎霉属 (a) 和柄孢壳属 (b) 的核结构图

SPB 纺锤体小板; Ne 核膜; Sm. ch 染色体微管;
Sm. c 连续微管; cm 细胞质的(星形射线)微管。

Peterson 和 Ris 用电镜观察啤酒酵母纺锤体的横断面,观察 MT 数目,了解到二倍体细胞中有 38 条 MT,其中连续 MT 有 9 条,不连续 MT 有 29 条,单倍体细胞中有 21 条 MT,其中连续 MT 有 7 条,不连续 MT 有 14 条。核分裂过程中连续的 MT 数目不变。减数分裂过程中

大概有 70 条 MT。每条不连续的 MT 和一条染色体相对应。

啤酒酵母、粟酒裂殖酵母、白冬孢酵母、红冬孢酵母及油脂酵母的有丝分裂过程和出芽几乎同时，SP 分裂为 2，横列在核膜上。此时 MT 开始伸长，这个状态称为双倍板 (double plaque, 简称 DP)。DP 时期在细胞周期中相当于出芽的细胞周期的 30%。然后 DP 间的核膜伸长，将二个 SP 分别推向两极。由两个 SP 伸出的 MT 的一部分和相对极的 SP 结合，形成核内纺锤体。这时核内纺锤体的长度大体上恒定在 $0.95 \pm 0.1 \mu\text{m}$ 。这一时期持续时间较长，占细胞周期的 65%。此时子细胞逐渐增大，当达到母细胞大小时，核移动到母子细胞间的狭窄部位，接着纺锤体急速伸长到 $6-8 \mu\text{m}$ ，从而把 SP 推向母子细胞的相对极。这期间很短，大体上是细胞周期的 5%。这时前述的小泡向狭窄部位集结并和细胞膜融合，当细胞质进行分裂时，核也分裂。核分裂是由染色体微管完成的。即从 SP 发出的不连续的 MT，其末端集结着染色体，染色体 MT 收缩，将染色体拉向两极，完成核分裂。

总之，酵母细胞在核分裂时，尽管核膜不消失，核小体仍然存在，染色体不凝缩，也看不到着丝点，但染色体被染色体 MT 分离这一点，从本质上说和高等生物细胞有丝分裂是相同的。

林部等人提出啤酒酵母细胞周期中两个相关的途径(图 4)。DP 分别支配出芽和 DNA 合成。两个途径各自进行，在细胞质分裂时汇合。

酵母菌的减数分裂过程：第一次进行减数分裂和有丝分裂过程大体相同。当核伸长时进

入第二次分裂，SP 再次分裂为二，排列在与核伸长方向相垂直的位置上，在这个阶段，在 SP 的细胞质侧，生成前孢子壁 (prospore wall) 或前孢子膜 (forespore membrane)，并逐渐成为叶状裂，把核包围起来，接着核分裂形成孢子壁 (spore wall)，这是酵母细胞减数分裂的特点。

酵母细胞的性接合

在啤酒酵母的生活史中，有同宗配合和异宗配合两个系统。同宗配合时，孢子发芽后发生接合型转换，转换了的细胞和未转换的细胞间进行接合。异宗配合时，只在 a, α 细胞间发生接合。以上统称为群体交配法，其过程大致区分为性凝集，细胞融合，接合子出芽等阶段^[5,6]。

性凝集，即许多 a 型和 α 型的单倍体细胞聚合在一起，组成凝集体。然后 a, α 细胞一对一地组对。细胞融合，即二个配对的细胞，其粘结部分的细胞壁变薄，接触面逐渐扩大，同时中央部分细胞壁溶解，然后二个细胞膜接触部分也溶解并形成通路。二个核相向移动到通路中央附近，在二个核的 SP 处进行融合，形成合子。在核融合的同时也开始合成 DNA。二倍体细胞通常从 a, α 细胞的通路中央附近出芽。

下面着重介绍一下性凝集物质、性外激素在性接合过程中的作用。

1. 性凝集物质

a, α 细胞间发生接合时，必须进行细胞识别，这种识别取决于细胞表面的一种特异的凝集物质，这类物质分为 a 型和 α 型，分别由 a 型细胞和 α 型细胞产生。当这两型细胞混合时，

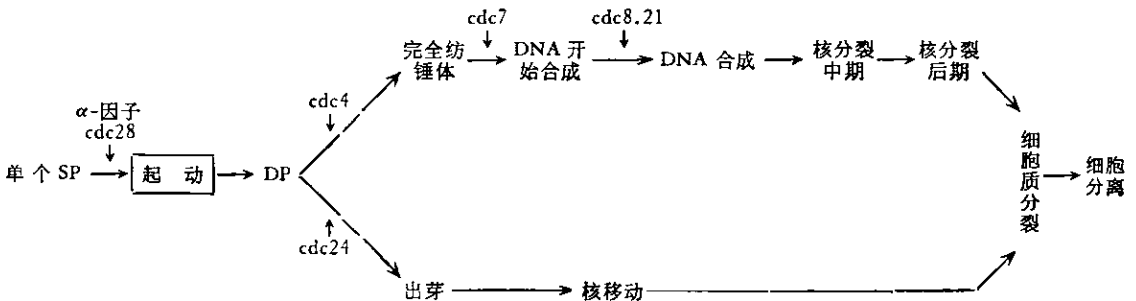


图 4 酵母细胞周期中二个相关的途径(↑↓表示主要的 cdc 变异株作用点)

由于这两种凝集物质进行互补结合而发生凝集现象。

吉田等将凝集物质精制后进行分析,证明 α 、 α 凝集物质都是糖蛋白, α 凝集物质的分子量为23,000, α 凝集物质的分子量为13,000。在试管内二者结合,变为无活性的结合体,把pH由5.5上升到9.5时,这种结合又分离开。

α , α 凝集物质可由某种处理而失去活性。例如, α 凝集物质的活性可用 β -巯基乙醇、L-半胱氨酸、蛋白酶C等处理而失活。但这些物质对 α 凝集物质却无作用。

2. 性外激素

在细胞识别中,除了依靠凝集物质外,性外激素也起着重要调节作用。

1970年,Duntze等发现 α 细胞可产生一种性外激素,称为 α 因子。它有四种,即 α -1, α -2, α -3, α -4,都是由12—13个氨基酸组成的肽。 α -1的氨基酸排列为H₂N-色-组-色-亮-谷氨酰胺-亮-赖-脯-甘-谷氨酰胺-脯-蛋-酪-COOH。 α -2只是缺少N末端的第二个色氨酸, α -3和 α -4分别是 α -1和 α -2的蛋氨酸亚砷。 α -2与樱井所说的 α 物质-1是同一物质。实验证明 α 因子对 α 细胞几乎无影响,它特异地抑制 α 细胞的DNA合成,而不抑制RNA和蛋白质合成。

1973年下田和柳岛发现 α 细胞可产生另一种性外激素,称为 α 物质-1,后来Wilkinson和Pringle把它称之为 α 因子。推测它可能也是肽类物质。 α 因子的作用是抑制 α 细胞DNA的合成。

当 α 、 α 细胞接合时,由于 α 因子和 α 因子的存在,使两个细胞的分裂同时受到抑制,即抑制SP分裂为二。这个发现很重要,因为 α 、 α 细胞核融合时,是在二个细胞核的SP处进行。 α 因子和 α 因子可使二个细胞停留在相同状态下,以利于接合。

1972年坂井和柳岛发现 α 细胞有两种类型,一种是当 α 、 α 细胞混合后,立即发生凝集,

这种菌株称为组成性 α 株(α^c)。另一种是在 α 、 α 细胞混合30—60分钟后才能发生凝集,这种菌株称为诱导性 α 株(α^i)。 α^i 株在用 α 因子诱导之前,细胞壁部分检查不出 α 凝集物质的活性。用0.2 μ g/ml的精制 α 因子诱导2小时后,便能检查出活性很高的 α 凝集物质。这证明 α 因子有诱导或激活 α 凝集物质合成的作用。柳岛等还发现 α 型细胞也有组成性(α^c)和诱导性(α^i)两类(表1)。 α 因子可以诱导 α^i 细胞的性凝集能力。

表1 诱导性和组成性菌株凝集能力的比较

菌株	性的凝集			
	热处理的细胞	放线菌酮存在下	分离的细胞壁	活细胞的凝集
诱导性	-	-	-	+ (有诱导期)
组成性	+	+	+	+ (无诱导期)

实验说明,性外激素有两个生理作用:①诱导或增加细胞的凝集能力;②抑制DNA合成。

总之,酵母细胞进行性接合时,首先由各对立交配型细胞分泌性外激素,提高 α 、 α 细胞性凝集能力,发生凝集作用,在凝集体内提高了 α 因子和 α 因子的浓度,使细胞内DNA合成受到抑制,使 α 、 α 细胞交配形成合子。所以性的凝集不仅造成 α 、 α 细胞接触的机会,而且在凝集体内造成一种内环境,使接合反应顺利进行。

参 考 文 献

- [1] 林部正也: 発酵と工業, 35(8): 645—657, 1977.
- [2] Sloat, B. F. and J. R. Pringle: *Science*, 200: 1171—1173, 1978.
- [3] Cabib, E. and B. Bowers: *J. Bacteriol.*, 124: 1586, 1975.
- [4] Duran, A. et al.: *Science*, 203: 363—365, 1979.
- [5] 大隅正子: 発酵と工業, 35(7): 542—544, 1977.
- [6] 柳島直彦: 発酵と工業, 35(9): 728—735, 1977.