

2类蛋白、CED-4及Caspase,但也能被Bax和Bak杀死。这提供了一种早于Caspase作用的死亡形式。甚至当Caspase抑制子存在时,Bax类蛋白的过表达或二聚化,也能引起哺乳动物细胞凋亡<sup>[27]</sup>。因此认为Bax及同类蛋白的离子通道活性可能介导非依赖Caspase的死亡,但其机制未知。

## 五、展 望

关于Bcl-2家族有许多关键的问题尚未解决,如:CED-9/4/3复合物之间是物理性连接,还是需要其他蛋白搭桥?Bax类蛋白的结构与Bcl-2类蛋白有众多相同点,为何又具有相反的功能?BH3亚族迥异的序列,是否意味各成员反应不同的凋亡信号?由于细胞凋亡机制的异常与癌症、艾滋病以及许多遗传病的形成直接相关,如阿尔茨海默症(AD)及Huntington舞蹈病等,因此是目前生物医学研究的热门课题。其中关键元件的分子机制研究仍待进一步突破。

## 摘 要

Bcl-2蛋白家族是调节PCD的关键元件,它们受自身基因表达量的高低及蛋白质磷酸化的调控。可分为Bcl-2、Bax及BH3三个亚族。Bcl-2类蛋白阻遏PCD,Bax及BH3类蛋白则促进PCD。它们通过形成同源或异源二聚体,以及与胞内蛋白因子的相互作用来调节PCD。对其分子机制的阐明,有助于众多遗传病研究的突破。

## 参 考 文 献

[1] Raff, M., 1998, *Nature*, **396**:119-122.

- [2] Chao, D T. et al., 1998, *Annu. Rev. Immunol.*, **16**:395-399.
- [3] Reed, J. C., 1997, *Nature*, **387**:773-776.
- [4] Schendel, S. L., 1997, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **94**:5113-5118.
- [5] Adams, J M. et al., 1998, *Science*, **281**: 1322-1326.
- [6] Inohara, N. et al., 1998, *J. Biol. Chem.*, **273**:8705-8710.
- [7] Connor, L O. et al., 1998, *EMBO J.*, **17**: 384-388.
- [8] Jurgensmeier, J M. et al., 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**:4997-5002.
- [9] Yang, J. et al., 1997, *Science*, **275**:1129-1132.
- [10] Hengartner, M. O., 1998, *Nature*, **391**:441-442.
- [11] Green, D R. et al., 1998, *Science*, **281**: 1309-1312.
- [12] Lam, M. et al., 1998, *J. Biol. Chem.*, **273**:7307-17312.
- [13] Ashkenazi, A. et al., 1998, *Science*, **281**: 1305-1308.
- [14] Scaffidi, C. et al., 1998, *EMBO J.*, **17**: 1675-1677.
- [15] Zhang, J. et al., 1998, *Nature*, **392**:296-298.
- [16] Zornig, M. et al., 1998, *Curr. Biol.*, **8**:467-471.
- [17] Newton, K. et al., 1998, *EMBO J.*, **17**:706-708.
- [18] Chang, B S. et al., 1997, *EMBO J.*, **16**:968-972.
- [19] Chao, J. R., 1998, *Mol. Cell Biol.*, **18**: 4883-4886.
- [20] Datta, S. R., 1997, *Cell*, **91**:231-237.
- [21] Ling, Y H. et al., 1998, *J. Biol. Chem.*, **273**:18984-18986.
- [22] Ip, Y T. et al., 1998, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **10**: 205-209.
- [23] Huang, D C S. et al., 1998, *EMBO J.*, **17**:1029-1031.
- [24] Hengartner, M O., 1997, *Nature*, **388**:714-715.
- [25] Chaudhary, D. et al., 1998, *J. Biol. Chem.*, **273**: 17708-17713.
- [26] Conradt, B. et al., 1998, *Cell*, **93**:519-529.
- [27] Gross, A. et al., 1998, *EMBO J.*, **17**:3878-3880.
- [28] Jackson, G R. et al., 1998, *Neuron*, **21**:633-642.

## 乙烯与植物离体培养外植体的器官发生

王鸿鹤 黄学林

(中山大学生命科学学院生物系 广州 510275)

乙烯是一种以气态存在的植物激素,几乎所有高等植物的器官、组织和细胞都具有产生

乙烯的能力。它对植物的不同生长发育过程起着重要的调节作用。离体的植物细胞和组织也能产生乙烯<sup>[1]</sup>。培养物在代谢过程中积累的乙烯对其愈伤组织的诱导,增殖,不定芽,不定根以及体细胞胚的诱导等过程都会产生不可忽视的影响。本文仅就乙烯对外植体器官发生影响的研究进展作一综述。

## 一、乙烯与外植体不定芽发生

早在1951年 Skoog 和 Miller 就提出了激素平衡假说,即培养基中的生长素和细胞分裂素的比例可以控制芽和根的分化。而生长素和细胞分裂素的比例就会影响到乙烯的合成。乙烯在培养细胞的分化中起着重要的作用,但乙烯对组织培养物不定芽的诱导和形成却表现为促进和抑制两种截然相反的作用。大多数研究表明,乙烯抑制芽的生成,使用乙烯生物合成抑制剂 AVG (aminoethoxyvinylglycine 氨基羟乙基乙烯基甘氨酸),  $\text{CoCl}_2$  和作用抑制剂  $\text{AgNO}_3$  等有利于芽的生成<sup>[2-15]</sup>。但也有少数研究表明乙烯促进不定芽的再生<sup>[16-18]</sup>。

抑制乙烯合成可以促进不定芽分化的例子有很多,如:乙烯合成前体 SAM (S-adenosylmethionone, S-腺苷甲硫氨酸) 或 ACC 可以促进油菜胚轴外植体的细胞扩增,同时伴随乙烯水平的增加。使用 AVG,  $\text{CoCl}_2$  或  $\text{AgNO}_3$  在降低了乙烯水平同时诱导高频的芽分化<sup>[2]</sup>。AVG 或  $\text{AgNO}_3$  能显著促进芸薹属八个品种的子叶和胚轴外植体的不定芽发生<sup>[3]</sup>。用乙烯作用抑制剂 2,5-NBD (2,5-norbornadine, 2,5-降冰片二烯) 和  $\text{AgNO}_3$  处理玉米近亲系 Pa91, H99 愈伤组织使每克鲜重愈伤组织再生植株数提高了12倍<sup>[4]</sup>。通过  $\text{AgNO}_3$  处理调节乙烯的合成还能显著提高马铃薯叶片<sup>[5]</sup>、难于再生的野油菜 (*Brassia Campestris*)<sup>[6]</sup> 子叶和甘蓝愈伤组织<sup>[7]</sup> 等的不定芽再生频率,在愈伤组织诱导阶段还可以刺激马铃薯叶片芽的直接生成<sup>[5]</sup>。

有的研究指出,  $\text{AgNO}_3$  和 AVG 等对 ACC 合成酶、ACC 及乙烯生成会产生不同的影响。

Chi 等<sup>[8]</sup> 的研究表明: AVG 抑制 *Brassia Campestris* 内源 ACC 合成酶活力、减少 ACC 积累及乙烯合成;  $\text{AgNO}_3$  的作用正好相反,它提高 ACC 合成酶活力、增加 ACC 积累同时促进乙烯的合成,但它们对不定芽的发生均有促进作用。AVG 对不定芽发生的促进作用可被 CEPA (乙烯利) 抑制,而  $\text{AgNO}_3$  的作用却不受其影响。Pua 等<sup>[9]</sup> 也发现  $\text{AgNO}_3$  或 AVG 存在时同样促进芥菜叶片或叶柄的不定芽发生,但  $\text{AgNO}_3$  却大大促进了乙烯的合成。乙烯作用抑制剂  $\text{AgNO}_3$ 、合成抑制剂  $\text{CoCl}_2$ 、 $\text{NiCl}_2$  和 SA (salicylic acid, 水杨酸) 等可提高珍珠粟植株再生能力并显著延迟其再生能力的丧失,在这些化合物存在时,培养瓶中的乙烯水平低于对照<sup>[10]</sup>。

$\text{AgNO}_3$  和 AVG 等对 ACC 合成酶, ACC 及乙烯生成的不同影响,以及它们对不定芽再生起同样的促进作用的可能机制到底是什么呢? 一般认为  $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$  等金属离子是乙烯合成或作用的抑制剂,这些重金属离子在许多研究中都表现出这两种作用。但是它们在离体培养过程中还可能诱导逆境效应。植物对逆境的反应之一就是增加乙烯的生物合成,产生“应激乙烯”。不同的反应就可能引起不同的结果。而有的研究者指出:  $\text{AgNO}_3$  在其中并不是通过抑制乙烯的作用而起作用的,而是由于  $\text{Ag}^+$  的存在可以解除乙烯对多胺合成的干扰,还使 ADC (arginine decarboxylase, 精氨酸脱羧酶) 的活性增加了 45% - 54%<sup>[11]</sup>。对于中国小萝卜的胚轴外植体, AVG、Put 单独存在时减少乙烯的生成,而在 Put 与  $\text{AgNO}_3$  同时存在时,外植体放出高水平的乙烯。施加外源 Put、CEPA、ACC 等对不定芽再生没有影响,但 Put 与  $\text{AgNO}_3$  或 AVG 同时存在时却能极大地促进芽再生<sup>[12]</sup>。那么这些作用是否与多胺的代谢有关呢? 目前还没有合理的解释。

许多研究表明,在光下培养的外植体比黑暗中的外植体释放的乙烯要少,光在不定芽再

生中的作用也可能与乙烯相关<sup>[13,14]</sup>。向日葵胚轴愈伤组织在光下可以再生出非常多的再生植株。在该研究中,黑暗下 AVG 处理苗的再生率高于光下处理的苗。AVG 可以抑制黑暗中生长的苗的乙烯合成,对不定芽发生起到一定的影响。AVG 引起的再生率提高可被添加 ACC 所逆转。光下生长的烟草愈伤组织乙烯释放减少,同时观察到有不定芽发生。在培养的最初几天乙烯抑制不定芽发生,而后期可以提高芽原基的发生率,使芽发生的更快更同步。

乙烯对不定芽再生的作用还和植物本身的生理特性和品种有关。Power(1987)发现 AVG 抑制向日葵子叶的芽再生<sup>[16]</sup>。CoCl<sub>2</sub> 可以抑制再生能力弱的向日葵品种 E8206R 的乙烯生成,使再生率提高了 30%,CoCl<sub>2</sub> 在 CEPA 存在时不起作用。AgNO<sub>3</sub> 显著刺激不定芽再生,但 CEPA 不能降低 AgNO<sub>3</sub> 引起的不定芽再生率提高<sup>[15]</sup>。

乙烯和二氧化碳的相互作用对芽诱导的影响也较大。10ppm 乙烯可促进水稻愈伤组织芽的形成;乙烯与二氧化碳一起处理也有利于芽的形成。最佳组合为 5ppm 乙烯与 2% 二氧化碳<sup>[17]</sup>。在辐射松 (*Pinus radiata*) 幼苗子叶外植体培养的头 5 天,通入 5 - 8 $\mu$ l/L 乙烯和 10% 的二氧化碳,每个子叶外植体形成的芽最多,当从培养瓶中除去这两种气体时,培养物的细胞分裂完全被抑制。在培养的头 10 天内,乙烯对形态发生的作用可能是通过影响细胞分裂的过程实现的。而培养 15 天后,若积累过量的这两种气体,会引起芽的脱分化<sup>[18]</sup>。

乙烯对不定芽再生起什么作用,除了与供体植株种类、外植体类型、物理、化学因素及作用时间等条件的有关外,还与不同激素之间、内源和外源激素之间的相互作用以及外植体在不同阶段对激素的敏感性不同有关<sup>[19]</sup>。

## 二、乙烯与根再生

离体植物根再生包括生根 (rooting) 和根发生 (rhizogenesis) 两种过程,即包括从插条 (茎、

枝条、叶等) 以及组织培养所得的无根苗形成不定根的过程和从愈伤组织中的拟分生组织分化出根原基进一步发育成根的过程<sup>[20]</sup>。这里我们只讨论乙烯对组织培养无根苗形成不定根和从愈伤组织进一步发育成根过程的影响。

乙烯对根的发生也具有促进和抑制两种作用。Brondi 等<sup>[21]</sup>研究了乙烯和多胺在野樱桃无根苗不定根形成中的作用,指出乙烯合成前体 ACC 显著抑制生根率。AVG 可以使每个苗形成大量的根,但抑制它们的进一步生长。同时使用两种化合物生根率和根量都受到影响。在此研究中,AVG 显著地抑制乙烯的生成,而 IBA (吲哚丁酸) 促进乙烯的合成 (3 - 5 倍),但却都促进根的形成。因此生长素在根诱导方面的作用可能并不与它促进乙烯合成的能力直接相关。在苹果无根苗不定根形成中观察到: ACC 抑制根的形成,而 AgNO<sub>3</sub>、AVG 可提高其生根率,CoCl<sub>2</sub> 只稍微提高了根量和生根率<sup>[22]</sup>。但 AgNO<sub>3</sub> 在小麦和小黑麦 (triticale) 离体培养时却抑制根的发生<sup>[23]</sup>。烟草薄层培养实验中银离子也干扰从芽向根的转变<sup>[24]</sup>。乙烯存在时还可以促进榛子离体子叶外植体的不定根发生<sup>[25]</sup>。这表明在某些植物种类中诱导细胞形成根需要乙烯。番茄不能成熟型突变体 (*Never ripe* Mutant, *Nr* 突变体) 对乙烯不敏感。乙烯合成的增加能够刺激野生型番茄不定根形成,而在 *Nr* 突变体上没有观察到相同的现象<sup>[26]</sup>。这为乙烯促进不定根根原基的形成提供了一个佐证。

其他激素与乙烯的相互作用也影响根的形成:毛地黄 (*Digitalis obscura*) 下胚轴培养物在无其他激素存在的情况下,乙烯促进其根的形成。但如果外加 IAA 和 KT 时,乙烯则促进其芽的形成<sup>[27]</sup>。

不同品种和外植体的不同部位对乙烯的反应也不相同。在芸薹属八个品种不定根发生研究中发现,AgNO<sub>3</sub> 对印度芥菜的生根有抑制作用。AVG 显著抑制其根的伸长,而 AgNO<sub>3</sub> 及 AVG 对其他品种根的发生率无影响,对根量也

无影响<sup>[3]</sup>。向日葵幼苗胚轴受伤后3小时内可以看到创伤乙烯的增加,这是根原基形成的关键因子,当这种乙烯的增加作用于胚轴的较下部时,可以刺激根的形成。相反,胚轴上部的高浓度乙烯会抑制生根<sup>[28]</sup>。

### 三、乙烯与花芽分化及性别表达

非离体植物开花研究表明,乙烯可以影响花芽分化及性别转化。在组织培养中,乙烯也表现出同样的作用。施加外源乙烯促进莖菜菜(*endive*)根段的花芽形成<sup>[29]</sup>。乙烯也可以促进薄层培养烟草外植体的花芽形成<sup>[30]</sup>。乙烯的作用时间对花芽分化也有一定的影响:Aartrijk等发现头3-7天培养物产生的乙烯可以增加预培养的百合鳞茎外植体花芽分化的数量<sup>[31]</sup>。

作为“雌性激素”,乙烯在离体培养时也表现出促进雌蕊发育的作用。CCC(矮壮素)和乙烯利处理均有利于离体 *Lemna gibba* 花芽和雌蕊的进一步发育,使之发育倾向于雌性化,CCC和乙烯利使离体 *L. Paucicostata* 花芽发育正常,而雌蕊发育受到促进<sup>[32]</sup>。

### 四、乙烯与原生质体培养

在原生质体培养时,原生质体的活力高低与其形成愈伤组织的能力及以后的再分化关系密切。因此在分离原生质体时,原生质体的活力与再生能力是人们关心的问题。

#### 1. 乙烯与原生质体活力

许多研究者对不同植物原生质分离时乙烯的释放水平做了研究,大多数研究表现原生质体的低活力及低再生能力与高乙烯水平有关。有的研究者认为乙烯的释放可以作为原生质体群体存活的指标。与原生质体产率和活力相关的几个因子如:酶液质量、叶龄、叶细胞的质壁分离程度和2,5-NBD等均对乙烯的释放有一定的影响。比如:不同酶混合液对燕麦叶片原生质体分离的效果不同,效果好的酶诱导产生的乙烯较少,而差些的酶则诱导较多的乙烯产

生<sup>[33]</sup>。Rethmeier等<sup>[34]</sup>观察到培养超过一年的番茄无根苗(I型植株)产生的原生质体要比培养不到五个月的无根苗(II型植株)少一些。比较两类植株的乙烯生成量发现,I型植株原生质体的低活力可能与高乙烯生成量有关。特别是当供体组织萌发培养在含STS(silver thio-sulfate 硫代硫酸银)的培养基上时(III型植株),乙烯作用抑制剂STS可提高原生质体产率及活力。另外,使用纤维素酶R10要比溶壁酶释放的乙烯显著降低,得到的原生质体活力也高些。当马铃薯无根苗在含STS(2mg/l)的培养基中预培养时,可明显提高每个苗的原生质体产率达8倍之多,但对其分裂和植板率影响却不大。在此过程中,STS促进了苗生长并抑制了原生质体分离过程中的乙烯生成。STS对PEG(聚乙二醇)处理过的原生质体形成愈伤组织的能力也有促进作用。当通过PEG法将CAT(氯霉素乙酰转移酶)报告基因导入原生质体时,STS处理可明显促进基因的瞬时表达<sup>[35]</sup>。

#### 2. 乙烯与原生质体的再生能力

使用乙烯作用抑制剂 $\text{AgNO}_3$ ,在29-118 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对甘蔗的细胞培养有毒害作用,通过逆境作用诱导乙烯生成,但能增加甘蔗杂合细胞悬浮培养原生质体产率,减少芽的再生。外源添加AVG或ACC没有改变分离的原生质体数。然而即使乙烯合成受到抑制,AVG和 $\text{AgNO}_3$ 共同使用也能分离到原生质体<sup>[36]</sup>。相反在水稻原生质体分离培养基中添加 $\text{AgNO}_3$ 减少原生质体产率,但是增加了培养的原生质体形成的集落数量<sup>[37]</sup>。这些结果表明 $\text{AgNO}_3$ 或许在原生质体形成过程中还有另外的作用,特别是对细胞壁或细胞代谢可能有直接作用。

### 五、乙烯与花药培养

这方面的研究不是很多,Reynolds的研究表明:在某种程度上,IAA通过调节乙烯合成来调节 *Solanum carolinense* L. 的胚胎发生。而

在 *Solanum carolinense* L. 花药培养时观察到 2,4-D 可以诱导花粉形成愈伤组织,去除 2,4-D 后,愈伤组织可以通过器官发生途径再生。在此过程中,分析培养时的乙烯浓度并没有发现显著的积累。乙烯利和乙烯也不能刺激花粉的雄核发育及花粉愈伤组织的再生<sup>[38]</sup>。这也进一步的支持了关于两种生长素在离体培养时通过独立的作用方式诱导花粉发育的不同途径这一观点。

## 六、结束语

对于乙烯在离体植物形态发生中生理作用的研究大多采用乙烯生物合成、作用抑制剂来进行的,这为确定乙烯的生理作用提供了一定的线索。但这些外源添加剂往往是非专一性的,或者其本身还有一些与乙烯无关的生理作用,如:AVG 抑制 ACC 合成酶的活性是通过酶的辅基磷酸吡哆醛而起作用的,因此凡与该辅基有关的酶都将受到影响。 $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Ag}^{+}$  等重金属离子既有抑制乙烯作用的效应,又能产生逆境效应。这些不同的生理作用往往产生不同的结果,有时还会互相矛盾,令人难以信服。

现在很多研究者都试图利用分子生物学手段从基因水平来调节乙烯的生物合成,从而找到乙烯在离体植物器官发生中起作用的直接证据。Pua 等<sup>[39]</sup>通过反义 RNA 手段在转基因芥菜中干扰乙烯的生物合成来研究乙烯在离体不定芽发生中的作用。利用编码 ACO(ACC 氧化酶)的反义 MEF5 基因(芥菜中催化 ACC 向乙烯转换的酶)转化芥菜,大多数转基因植株都观察到乙烯合成受到抑制,同时伴随着组织培养物不定芽再生能力的显著提高。在  $50\mu\text{mol/L}$  CEPA 存在时,高再生基因型的转化组织转变成再生能力很差的对照基因型。芽再生能力与乙烯合成之间的相关关系,在  $R_1$  代也有表现。在转基因烟草中表达反义 ACC 合成酶基因抑制了烟草内源乙烯的合成,同时也导致了转基因烟草在组织培养过程中芽的再生能力的增强<sup>[40]</sup>。

这些研究提供了有力证据,即乙烯在离体植物不定芽发生中可能起着重要的调控作用。只是这方面的研究还不是很多,难以从中找到一定的规律。在其他器官发生的研究中还没有看到这方面的报道。

利用反义基因表达的反义 RNA 抑制乙烯合成有关酶的表达,通过器官发生频率的变化以及 ACC,ACC 合成酶含量及乙烯水平的变化与未转化组织相比较,是否可以在分子水平上阐明乙烯在器官发生中的某些确定的生理作用呢? 乙烯生物合成的基本途径及其有关酶的透彻研究为深入和广泛地研究这一过程的本质提供了良好的基础。只有真正地了解乙烯影响不定芽发生的分子机制,才能对其进行有效的控制,达到理论和实践相结合的目的。

## 摘 要

本文综述了乙烯与离体培养外植体器官发生之间的关系,以及乙烯生物合成的调节对外植体不定芽,不定根,花芽分化,原生质体培养及花药培养等过程的影响。

## 参 考 文 献

- [1] Larue, T. A. G. and Gamborg, O. L., 1971, *Plant Physiol.*, **48**:394-398.
- [2] Sethi, U., Basu, A. and Guha-Mukherjee, S., 1990, *Plant Sci.*, **69**:225-229.
- [3] Chi, G. L., Barfield, D. G., Sim, G-Z, et al., 1990, *Plant Cell Rep.*, **9**:195-198.
- [4] Songstad, D. D., Durcan, D. R. and Widholm, J. M., 1988, *Plant Cell Rep.*, **7**:262-265.
- [5] 杨文玉, 白永延, 许智宏, 1998, *植物生理学报*, **24**(1):86-90.
- [6] Palmer, C. E., 1992, *Plant Cell Rep.*, **11**:541-545.
- [7] Williams, J., Pink, D. A. C. and Biddington, N. L., 1990, *Plant Cell, Tissue Organ Culture*, **21**:61-66.
- [8] Chi, G. L., Pua, E. C. and Goh, C. J., 1991, *Plant Physiol.*, **96**:178-183.
- [9] Pua, E. C. and Chi, G. L., 1993, *Physiol. Plant.*, **88**:467-474.
- [10] Pius, J., George, L., Eapen, S., et al., 1993, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **32**:91-96.

- [11] Roustan, J. P., et al., 1989, *Plant cell Rep.*, **8**: 182 - 185.
- [12] Pua, E. C., Sim, G. E., Chi G. L., et al., 1996, *Plant cell Rep.*, **15**(9): 685 - 690.
- [13] Robinson, K. E. P. and Adams, D. O., 1987, *Physiol. Plant.*, **71**: 151 - 156.
- [14] Huxter, T. J., Thorpe, T. A. and Reid, D. M., 1981, *Physiol. Plant.*, **53**: 319 - 326.
- [15] Khalid, M. and Chraibi, B., 1991, *Plant Cell Rep.*, **10**: 204 - 207.
- [16] Power, C. J., 1987, *Am. J. Bot.*, **74**(4): 497 - 503.
- [17] Cornejo-Martin, M. J., Mingo-Castel, A. M. and Primo-Millo, E., 1979, *Z. pflan.*, **94**: 117 - 123.
- [18] Thorpe, T. A., InRodriguez, R., et al., (eds). 1990, *Plant Aging: Basic and Applied Approached*, 191, Plenum Press, New York.
- [19] Lakshmanan, P., Ng, S. K., Loh C. S., 1997, *Plant cell Physiol.*, **38**(1): 59 - 64.
- [20] 黄学林、李筱菊, 1995, 高等植物组织离体培养的形态建成及其调控, 科学出版社, 北京.
- [21] Biondi, S., Diaz, T., Iglesias, L., et al., 1990, *Physiol. Plant.*, **78**: 474 - 483.
- [22] Ma, J. H., Yao, J. L. and Cohen, D., 1998, *Plant Cell Rep.*, **17**(3): 211 - 219.
- [23] Purnhauser, L. and Gyulai, G., 1993, *Plant cell, tissue and organ culture*, **35**: 131 - 139.
- [24] Guyader, L., 1987, HCR, Acad. Sci. Parist 305, Serie III, 591.
- [25] Gonzalez, A., Rodriguez, R. and Tames R. S., 1991, *Physiol. Plant.*, **81**: 227 - 233.
- [26] Aloni R., Wolf A., Feigenbaum P., et al, 1998, *Plant Physiology*, **117**: 841 - 849.
- [27] Perez-Bermudez, P., Cornejo, M. J., Segura, J., et al., 1985, *Plant Cell Rep.*, **4**(4): 188 - 190.
- [28] Liu, J. H., Mukherjee, I. and Reid, D. M., 1990, *Physiol. Plant.*, **78**: 268 - 276.
- [29] Bouriquet, R., 1972, C, R, Acad. Sci. (Pris) Ser. D., **275**: 33 - 34.
- [30] Smulders, M. J. M., Kemp, A. and Barendse, G. W. M., 1990, *Physiol. Plant.*, **78**: 167 - 172.
- [31] Van Aartrijk, J., Blom-Barnhoorn, G. J. and Bruinsma, J. 1985, *J. Plant Physiol.*, **117**: 401 - 410.
- [32] Pirson, A. and Seide, I. F., 1950, *Planta*, **38**: 431.
- [33] Mussell, H., Earle, E., Campbell, L., et al., 1986, *Plant Sci.*, **47**: 207.
- [34] Rethmeier, N. O. M., Jansen, C. E. and Snel, E. A. M., 1991, *Plant Cell Rep.*, **9**: 539 - 543.
- [35] Perl, A., Aviv, D. and Galun, E., 1988, *Plant Cell Rep.*, **7**: 403 - 406.
- [36] Taylor, P. W. J., 1994, *J. Exp. Bot.*, **277**(45): 1163 - 1168.
- [37] Ishii, S., 1988, *Plant Physiol.*, **88**: 26 - 19.
- [38] Reynolds, T. L., 1989, *Plant Sci.*, **61**: 131 - 136.
- [39] Pua, E. C. and Lee, J. E. E., 1995, *Planta*, **196**: 69 - 76.
- [40] 马庆虎, 宋艳茹, 1997, 植物学报, **39**(11): 1047 - 1052.

## 研究工作

### BALB/c 小鼠胚胎干细胞系的建立及其嵌合体小鼠的获得\*

黄冰 陈系古\*\* 邓新燕 林以理 陈颖青 黄春浓\*\*\* 梁英杰\*\*\*\*

(中山医科大学实验动物中心 广州 510089)

小鼠胚胎干细胞(ES细胞)嵌合体的构建是一项十分复杂的技术<sup>[1]</sup>。除了保持ES细胞体外扩增、未分化性及全能性的特点外,受体胚胎品系来源、注射方式的选择以及许多具体操作的技术性与非技术性等因素都将对嵌合体的形成造成深刻的影响。目前国内极少有基因剔除动物产生的报道,主要原因可能在于胚胎干

细胞分离培养和建系的技术未能真正过关,加

本文 2000 年 4 月 4 日收到, 11 月 13 日接受。

\* 本研究得到广东省科技创新百项工程项目(99B07801Q)以及国家科技部“九五”攻关课题(96-A23-06-02)资助。

\*\* 课题负责人。

\*\*\* 中山医科大学医学遗传教研室。

\*\*\*\* 中山医科大学病理教研室。