

- [14] Berg, D. et al., 1983, *Stud. Biophys.*, 94: 101.  
[15] Hoffmann, F. et al., 1994, *Bioelectrochem. Bioenergetics.*, 34.

- [16] Augsten, K. et al., 1987, *Stud. Biophys.*, 119: 105.  
[17] Berg, H., 1989, *Stud. Biophys.*, 130: 219.

## 植物细胞红光信号转导研究进展

马力耕 孙大业

(河北师范大学生物系 石家庄 050016)

光作为重要的环境信号,对植物的生长发育起着广泛的调节作用。它的作用方式是光首先被植物细胞中的受体接受,然后通过信号转导形成胞内第二信使,并通过各信使系统的级联传递,最后调节细胞的生理生化反应和遗传性状的表达。植物细胞中负责接受红光信号的光敏分子是光敏色素。目前已知光敏色素参与调控的信号转导是植物细胞信号转导研究进展最快速的部分,所以有必要对这部分内容做专门的介绍。

### 一、G-蛋白

在动物细胞中,质膜上的受体通过G-蛋白(GTP结合蛋白)与其效应因子如腺苷酸环化酶、磷脂酶C和离子通道<sup>[1]</sup>等相偶联,所以G-蛋白在跨膜信号转导中发挥着非常重要的作用。Gilman和Rodbell也因他们在G-蛋白及细胞信号转导方面出色的研究工作获得了1994年诺贝尔生理学奖。在植物细胞中,Hasunuma等<sup>[2]</sup>首先发现GTP $\gamma$ S能与浮萍(*Lemna*)膜提取物中的某种蛋白结合,红光和远红光均能抑制GTP与上述蛋白结合,暗示G-蛋白可能参与了红光调节的反应,但令人不解的是红光和远红光在抑制GTP与蛋白结合方面具有相同的效果;随后Bossen等<sup>[3]</sup>发现G-蛋白抑制剂GDP $\beta$ S可以抑制红光诱导的小麦原生质体膨大,而G-蛋白激活剂GTP $\gamma$ S可以在暗中模拟红光的效果诱导原生质体膨大,Romero等<sup>[4]</sup>以黄化燕麦幼苗为材料发

现红光(5 min)可以促进GTP与幼苗蛋白提取物的结合,而红光后立即照射远红光(5 min)可以完全逆转红光的效果;以后他们又进一步证实G-蛋白激活剂霍乱毒素(*Cholera toxin*)可以模拟红光的效果在暗中诱导光自氧的大豆悬浮培养细胞中*cab*基因的表达<sup>[5]</sup>;Clark等<sup>[6]</sup>则进一步证实了上述结果,发现红光(2 min)促进GTP与豌豆核膜的结合,随后用远红光(4 min)处理可逆转红光的效果;最近Neuhaus等<sup>[7]</sup>利用显微注射的手段发现向蕃茄光敏色素突变体细胞中注入G-蛋白激活剂霍乱毒素,GTP $\gamma$ S(30—100  $\mu$ mol/L)或GMP-PNP[鸟苷酰( $\beta$ - $\gamma$ -亚氨基)三磷酸,50—100  $\mu$ mol/L]可引起受光敏色素调控的*cab-gus*报告基因的表达和花色素苷的合成,而向细胞中注入G-蛋白的抑制剂百日咳毒素(*Pertussis toxin*)或GDP $\beta$ S(1  $\mu$ mol/L)则可抑制上述基因的表达;在随后的研究中他们进一步发现向细胞中注入霍乱毒素或GTP $\gamma$ S(50  $\mu$ mol/L)还可以引起*chs-gus*和*fmr-gus*报告基因的表达<sup>[8]</sup>。上述大量工作的结果表明G-蛋白确实参与了光敏色素调节反应中光信号的转导,并且由于百日咳毒素可以抑制光敏色素调节的*cab-gus*报告基因的表达<sup>[7]</sup>,说明参与这一信号转导过程的G-蛋白为异三聚体G-蛋白而非小G-蛋白。然而最近Sommer和Song<sup>[9]</sup>从黄化的燕麦幼苗中分离纯化了一种小分子量(24 kd)的G-蛋白,Clark等<sup>[8]</sup>也发现被光活化的光敏色素可以明显促进结合在豌豆核膜上的小G-蛋白结合GTP的

活性,说明植物细胞中除异三聚体G蛋白以外,小G-蛋白可能也参与光信号的转导过程。

目前虽然可以肯定G-蛋白参与了植物细胞中红光信号的转导,但红光激活G-蛋白的作用方式仍是一个谜。在动物细胞中,受体和G-蛋白定位于质膜上,受体直接作用于G-蛋白将其活化<sup>[10]</sup>。在植物细胞中,光敏色素很可能主要以可溶性方式存在于胞质中<sup>[11]</sup>,因此G-蛋白参与的红光信号转导反应中Pfr激活G-蛋白可能通过下列两种方式,其一为可溶性的光敏色素直接调节G-蛋白的活性。其二为光敏色素与另一种跨膜的蛋白质发生相互作用,然后由后者去调节G-蛋白<sup>[12]</sup>;然而Pfr不管以上述哪种方式调节G-蛋白的活性,都将与现已知的动物细胞中受体与G-蛋白的作用方式有所不同,所以对植物细胞中光信号转导的研究将进一步丰富人们对G-蛋白调节方式及功能的认识。

## 二、Ca<sup>2+</sup> 和 CaM

1978年Anderson等首次证实植物细胞中存在钙调素(CaM)以后,人们认识到Ca<sup>2+</sup>可以作为第二信使调节植物细胞的多种生理过程和遗传性状的表达。在自己和他人研究工作的基础上,Roux等<sup>[13]</sup>提出了钙信使系统参与红光信号转导的假说。该假说首先在球子蕨孢子需光萌发和转板藻叶绿体向光旋转两实验体系中得到初步证实。近来Shocklock等<sup>[14]</sup>利用Confocal显微镜,结合Fluo-3和Indo-1染色方法取到直接证据,即观察到照射红光后小麦原生质体内游离Ca<sup>2+</sup>浓度迅速由250 nmol/L增加到1 μmol/L左右,并引起原生质体膨大;红光后立即照射远红光原生质体内的游离Ca<sup>2+</sup>浓度没有增高,原生质体也没有膨大;加入IP<sub>3</sub>的前体紫外光解后引起胞内Ca<sup>2+</sup>浓度增加(大于1 μmol/L)同样可以引起原生质体的膨大。国内龙程等<sup>[15]</sup>以双子叶植物绿豆下胚轴原生质体为材料,发现照射红光使原生质体对

<sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup>吸收增加并引起原生质体的膨大;红光后立即照射远红光可逆转红光的效果;钙通道阻断剂和CaM拮抗剂可以抑制红光的效果,同时Ca<sup>2+</sup>载体A 23187在暗中能够模拟红光效果引起原生质体膨大。Sharma等<sup>[16]</sup>发现红光促进玉米原生质体对<sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup>的吸收,外加Ca<sup>2+</sup>可以模拟红光的作用诱导NR(硝酸还原酶)的合成;几乎同时,Bergareche等<sup>[17]</sup>用黄瓜幼苗为材料发现红光诱导的NR活性增加需要胞内游离Ca<sup>2+</sup>参与,Ca<sup>2+</sup>载体A 23187可模拟红光的效果,在暗中引起NR活性增加;Lam等<sup>[18]</sup>证实光敏色素活化的cab基因表达能被CaM的抑制剂W<sub>7</sub>所抑制,而W<sub>7</sub>的结构类似物,同时也是一种比W<sub>7</sub>弱得多的CaM抑制剂W<sub>6</sub>。对上述基因表达的抑制作用则很弱,表明CaM参与了红光调节的cab基因表达过程中光信号的转导;最近Neuhaus等<sup>[7]</sup>利用显微注射的方法取得更为直接的证据,他们发现向蕃茄光敏色素突变体的细胞中注入Ca<sup>2+</sup>(500 nmol/L-5 μmol/L)或被Ca<sup>2+</sup>活化的CaM(每一细胞中不少于5000个分子)可引起cab-gus报告基因的表达和叶绿体的不完全发育;在随后的研究中他们进一步发现向上述细胞中注入Ca<sup>2+</sup>(1 μmol/L)或被Ca<sup>2+</sup>活化的CaM(每一细胞中不少于5000分子)可诱导受光敏色素调控的LHC II(聚光色素复合体)、OEE 1(放氧酶)、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>、ATP合成酶的α、γ亚基和RbcS(RuBP羧化酶小亚基)的合成,但不能诱导花色素苷、PSI、Cytb<sub>6</sub>f复合体蛋白的合成<sup>[8]</sup>;最近我们的研究表明红光诱导的尾穗苋苋红素合成能被钙螯合剂、钙通道阻断剂和CaM拮剂所抑制,并发现照红光后细胞内活性CaM水平明显提高,但Ca<sup>2+</sup>载体A 23187并不能完全模拟红光的效果<sup>[23]</sup>,表明在这一过程中除钙信使系统以外,可能还有其他信使系统参与了红光信号的转导,进一步的研究正在进行中。

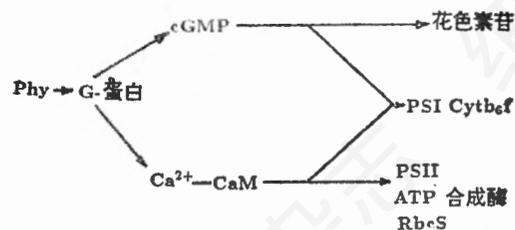
上述大量工作的结果表明钙信使系统确实参与了一些光敏色素调节的反应。并且研究内

容已由钙信使系统对一些生理现象(如原生质体的膨大)的影响深入到对基因表达的调控。无疑钙信使系统对植物细胞基因表达的调控是令人感兴趣的课题。在动物细胞中,已知钙信使系统通过下列两种方式调节基因的表达:一种为间接方式,通过  $\text{Ca}^{2+}$ /CaM 依赖的蛋白激酶将转录因子磷酸化以增强转录活性<sup>[20-22]</sup>;另一种为直接方式,被  $\text{Ca}^{2+}$  活化的 CaM 直接与具有螺旋-环-螺旋(Basic-helix-loop-helix)超二级结构(Motif)的转录因子相结合,进而抑制这些转录因子与 DNA 的结合<sup>[23]</sup>。但是在植物细胞中虽然已有结果表明钙信使系统参与了某些基因表达的调控,对其作用方式还远没有搞清楚。

### 三、cGMP

cGMP 在脊椎和无脊椎动物视觉细胞光信号转导中的作用已引起了人们普遍关注,并已发现虽然在上述两类动物视觉细胞中 cGMP 均参与了光信号的转导,但它们信号传递链的组成不同,脊椎动物视觉细胞信号转导的方式为:细胞中的视紫红质被光激活后,可活化转导素(Transducin Gt, 为一种异三聚体 G-蛋白),然后 Gt 激活 cGMP-PDE(cGMP 依赖的磷酸二酯酶)将 cGMP 水解,降低胞质中 cGMP 的浓度,导致 cGMP 控制的离子通道关闭和胞质  $\text{Ca}^{2+}$  浓度降低。无脊椎动物视觉细胞信号转导的方式为:被光激活的视紫红质激活另一种 G-蛋白(Gq), Gq 激活 PLC(磷脂酶 C)催化形成 DAG 和  $\text{IP}_3$ , 前者激活 PKC, 后者导致胞质中  $\text{Ca}^{2+}$  浓度增加,  $\text{Ca}^{2+}$  浓度增加导致胞质 cGMP 浓度增加,并导致 cGMP 控制的离子通道开放<sup>[24]</sup>。在植物细胞中, cGMP 在细胞信号转导中的作用一直未能引起人们足够的重视,直到最近才由 Bowler 等<sup>[8]</sup>首次证实 cGMP 参与了植物细胞红光信号的转导。他们发现向蕃茄光敏色素突变体细胞中注入 cGMP (30—80  $\mu\text{mol/L}$ ) 可以诱导 花色素苷的合成, 并诱

导花色素苷合成过程中的关键酶-CHS(查儿酮合成酶)基因的表达; 而 cGMP 作用的抑制剂 Rp-cGMPS (50—80  $\mu\text{mol/L}$ ) 则可抑制光敏色素调节的花色素苷的合成和 *chs-gus* 报告基因的表达; 但是单独注入 cGMP 对 PSI、Cytb<sub>6</sub>f、PS II、ATP 合成酶和 RbcS 蛋白的合成没有诱导作用, 如向上述细胞中同时注入 cGMP (70  $\mu\text{mol/L}$ ) 和  $\text{Ca}^{2+}$  (1  $\mu\text{mol/L}$ ) 或被  $\text{Ca}^{2+}$  活化的 CaM (每一细胞中不少于 5000 分子), 除能诱导花色素苷合成、*chs-gus* 报告基因表达 (cGMP 单独作用结果)、PS II、ATP 合成酶、RbcS 合成 ( $\text{Ca}^{2+}$ 、CaM 单独作用结果) 以外, 还可诱导与 PSI 有关的蛋白[Fd(铁氧还蛋白)、PC(质体蓝素)、PsaD、PsaF(光系统 I 叶绿素蛋白)和 LHCl] 和 Cytb<sub>6</sub>f 复合体 (Cytb<sub>6</sub>, Rieske 和 Cytf) 蛋白质合成和 *fnr-gus* 报告基因的表达, 并能诱导叶绿体的完全发育, 同时注入 RpcG-MPS 和  $\text{Ca}^{2+}$  或被  $\text{Ca}^{2+}$  活化的 CaM, 可以抑制花色素苷, PSI 和 Cytb<sub>6</sub>f 复合体蛋白合成, 但对 PS II、ATP 合成酶、RbcS 蛋白合成没有抑制作用。上述结果表明对于光敏色素调节的叶绿体发育和花色素苷的合成反应, 共有钙信使和 cGMP 两个信使系统参与了光信号的转导, 这两个信使系统在不同过程有时单独完成信号转导过程, 有时又相互配合共同起作用。结合 G-蛋白在其中所起的作用可将光调节蕃茄细胞叶绿体发育和花色素苷合成过程中红光信号转导的途径概括如下:



上述结果表明 cGMP 确实参与了植物细胞中光信号的转导, 但是在动物视觉细胞中

cGMP系统和钙信使系统是偶联在一起共同参与光信号的转导<sup>[24]</sup>,而在植物细胞中二信使系统既可独立参与光信号转导又可偶联在一起共同完成光信号转导<sup>[8]</sup>。另外,从现有结果可知,在植物细胞中,即使cGMP信使系统和钙信使系统偶联在一起,其光信号转换和传递的方式与脊椎动物视觉信号转换和传递的方式也有所不同,也没有充分证据表明它的作用方式与无脊椎动物视觉信号转导方式相同。虽然如此,上述植物细胞研究的结果仍可以说明在光信号转导方面植物细胞和动物细胞具有某些相似的机制,同时已有证据表明cGMP参与了网柄菌(*Dictyostelium discoideum*)细胞光信号的转导<sup>[25]</sup>,这些结果表明依赖于G-蛋白、cGMP和Ca<sup>2+</sup>的光信号转导方式在生物进化过程中相当保守,预示着G-蛋白、cGMP和Ca<sup>2+</sup>在生物细胞光信号转导过程中可能具有非常重要的功能。

#### 四、DAG和IP<sub>3</sub>

已有证据表明植物细胞中存在DAG和IP<sub>3</sub>,并且在光调节的气孔开闭过程中IP<sub>3</sub>起信号转导作用<sup>[26]</sup>。在植物细胞红光信号转导方面, Das和Sopory<sup>[27]</sup>早在1985年就发现红光诱导的玉米原生质体对<sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup>的吸收受DAG和IP<sub>3</sub>的调节;以后他们又进一步证实光敏色素可以调节黄化玉米叶片中肌醇磷脂的代谢,在开始照射红光的15 S内,PIP<sub>2</sub>的含量增加3—6倍,5 min后,PIP<sub>2</sub>含量有所降低但仍高于对照<sup>[28]</sup>;另外他们还发现PKC的激活剂佛波豆冠酸乙酯(PMA)可以模拟红光的效应,在暗中诱导黄化玉米叶片中硝酸还原酶(NR)的合成<sup>[29]</sup>和NR专一性的mRNA的积累<sup>[16]</sup>。上述结果表明在红光诱导的玉米NR合成和基因表达过程中DAG和IP<sub>3</sub>可能参与了光信号的转导。除上述工作以外,其它有关的实验还不多。

#### 五、参与光信号转导的一些独立的蛋白因子

这里所指的蛋白因子并不是上述各信号系统中已知的蛋白因子,而是一些参与光信号转导的独立的蛋白因子。

植物的发育受光的调控,在光下进行光形态建成,暗中进行暗形态建成形成黄化苗,其表型为下胚轴较长,幼苗顶端弯曲,子叶未展开,并且子叶颜色为黄色。最近对拟南芥突变体的研究发现有些突变体在暗中发育表现出光形态建成反应的一些特性,如下胚轴缩短、子叶伸展开等,通过遗传分析发现这是由于某些基因发生突变所致。与此有关的基因共有两类,一类为DET (Deetiolated)基因,一类为COP(Constitutively Photomorphogenic)基因,目前已发现的DET基因至少有3个,COP基因至少有8个<sup>[30-34]</sup>。通过转基因手段使COP<sub>1</sub>基因在拟南芥中超表达可部分抑制该植物在光下的形态建成反应,并且抑制程度与COP<sub>1</sub>的含量成正比,而其突变体在暗中可发生类似于光下的形态建成反应,表明COP和DET这些基因的产物在光信号转导中的功能是做为抑制因子参与光信号传递链<sup>[35,36]</sup>。将COP<sub>1</sub>启动子与GUS结构基因构建成嵌合基因研究COP<sub>1</sub>在细胞中分布的研究结果表明暗中COP<sub>1</sub>大量存在于细胞核中,而在光下COP<sub>1</sub>分布于细胞质中,由此推测这些抑制因子的作用方式为暗中存在于细胞核中抑制光形态建成反应,在光下这些抑制因子在细胞内部再分配,由核中转移到细胞质中从而解除抑制<sup>[37]</sup>。鉴于有些DET/COP基因突变体如DET<sub>1</sub>、COP<sub>1</sub>、COP<sub>8</sub>、COP<sub>9</sub>、COP<sub>10</sub>和COP<sub>11</sub>等在暗中的表型很相似,推测这些基因产物在光信号转导方面的功能非常相近<sup>[38]</sup>。对COP<sub>9</sub>基因产物研究发现它是一种22 kd的蛋白,该基因的表达不受光的调控,但在信号传递链中该蛋白存在于一种分子量大于560 kd的稳定的大分子复合体中,该

大分子复合体的形成和稳定必需 COP<sub>8</sub> 和 COP<sub>11</sub> 基因的产物参与, 这三个基因的产物组成一个大分子复合体, 其共同做为信号传递链的组分, 在一个信号系统中起作用<sup>[34]</sup>。同时由于 DET<sub>1</sub>、COP<sub>1</sub>、COP<sub>8</sub>、COP<sub>9</sub>、COP<sub>10</sub> 和 COP<sub>11</sub> 突变体暗中形态建成反应的多个特征(包括多种光调节基因在暗中表达)而不是某一个特征与光形态建成反应相似<sup>[36]</sup>, 而且这些蛋白因子可以组成复合体共同在一个信号系统中起信号转导作用<sup>[34]</sup>, 说明这几种蛋白因子在光信号转导中应定位于信号传递链的上游, 在分枝控制单个反应(如缩短下胚轴、子叶伸展或光调控的基因表达等)之前它们就参与了信号系统的组成。而另外几种突变体, 如 DET<sub>2</sub>、COP<sub>2</sub>、COP<sub>3</sub>、COP<sub>4</sub> 和 DET<sub>3</sub> 突变体, 在暗中虽然也表现出某个共同特征如细胞中具有正常的白色体, 但不同突变体的暗形态建成反应有所差异, 如 COP<sub>2</sub>、COP<sub>3</sub> 和 COP<sub>4</sub> 基因突变体有长的下胚轴, COP<sub>2</sub>、COP<sub>3</sub> 和 DET<sub>3</sub> 基因突变体中受光调节的基因在暗中不表达, 并且这些突变体的不同组合在暗中可引发不同的光形态建成反应<sup>[34,36,38,39]</sup>, 表明这些基因的产物可能定位在信号系统的下游, 并且不同的基因产物可以参与不同的信号分枝系统, 在暗中抑制不同的光形态建成反应。

对拟南芥 DET/COP 基因产物分子结构的研究对解释它们在细胞光信号转导中的功能和作用方式会有所启示。研究发现 COP<sub>1</sub> 的 N-末端有一个结合 Zn<sup>2+</sup> 的超二级结构, C-末端有 WD-40 (Try-Asp 多次重复, 近 40 个氨基酸长), 这一结构与异三聚体 G-蛋白的 β-亚基同源, 并与果蝇 RNA 聚合酶 II 中的一个组分——TF 11 D 及酵母基因表达抑制因子 TUP<sub>1</sub> 同源, 在分子中部具有 Coiled-coil helix (暂译为螺旋的螺旋)结构<sup>[40]</sup>。COP<sub>1</sub> 分子结构的上述特点表明该分子中结合 Zn<sup>2+</sup> 的超二级结构具有结合核酸的能力, 与 G β 同源的结构域和分子中部的螺旋的螺旋能与一些蛋白因子相结合, 同时由于它与 TF 11 D 和 TUP<sub>1</sub> 同源,

暗示 COP<sub>1</sub> 可能具有调节基因表达的功能<sup>[40]</sup>。然而目前的研究发现 COP<sub>1</sub> 并不能与 DNA 直接结合<sup>[40]</sup>。DET<sub>1</sub> 基因产物为一种定位于细胞核中的蛋白质, 它的氨基酸序列与目前数据库中的蛋白序列无明显同源性, 并且它也不能直接与 DNA 结合<sup>[41]</sup>, 所以目前这些因子调控基因表达的方式尚不清楚。

自 1994 年以来, 利用拟南芥突变体研究光信号转导中蛋白组分的工作进展很快, 并且工作也越来越深入, 这些工作的结果说明拟南芥中 DET/COP 基因产物确实参与了光信号转导, 它们做为暗中抑制光形态建成反应的蛋白因子参与了光信号系统的组成<sup>[34-41]</sup>。这种研究光信号转导的方法与常用的直接测定信号系统各组分含量和动态变化以及间接地借助药理学方法抑制或激活各个信号系统来观察信号传递结果的方法不同<sup>[42]</sup>, 这种研究思路正如该系列工作的主要作者 Deng 指出的那样, 是一种研究“植物细胞光信号转导的新思路”<sup>[32]</sup>。它的新奇之处也就在于利用突变体来研究参与光信号转导的一些未知的蛋白组分(当然如果对该蛋白分子结构研究的结果表明它是目前已知的信号系统的某种蛋白也是可能的), 通过对这些蛋白分子结构和功能的研究来阐明光信号系统的组成及其调节光形态建成反应的作用方式。那么, 既然这些蛋白因子是光信号系统的组分, 它们与已知的信号系统的组分如 G-蛋白、第二信使、CaM 和 PK 等有什么对应关系呢? 从仅有的一些结果看它们不可能是第二信使分子, 也不是 CaM 及已知的几种 PK[如 PKA、PKC、PKG 和 CamK(依赖于 CaM 的蛋白激酶等)], 根据它们暗中定位于细胞核中的特点推测它们在信号传递链中的位置可能在 CaM 和 PK 之后, 做为二者的靶蛋白起作用, 光处理后它们在细胞中的再分配受 CaM 或 PK 的调控。当然, 这仅仅是一种推测, 对这些基因产物在光信号转导中的作用及其作用方式的认识还有赖于对它们结构和功能更深入地了解。

## 六、结论和展望

Roux等<sup>[13]</sup>提出的钙信使系统参与红光信号转导的假说对植物细胞红光信号转导的研究起了很大的推动作用,这一假说已在多种实验体系中不同程度得到证实,但从目前的研究进展看,植物细胞红光信号的转导系统比Roux等提出的假说要复杂得多,除钙信使系统以外,cGMP信使系统、双信使系统均参与了红光信号的转导,G-蛋白在光受体与效应因子之间起偶联信号转导的作用,通过突变体的研究对参与光信号转导的一些蛋白组分及它们的作用方式也已有了一定的了解。虽然如此,植物细胞红光信号转导方面的研究工作也还是刚刚开始,许多问题还远没有搞清楚<sup>[43]</sup>,仍有大量的工作需要做,而其中以下几方面的工作对进一步认识光信号转导的过程及其作用方式可能会有较大的意义:

1. 光敏色素活化G-蛋白的方式及G-蛋白在红光信号转导中的作用;
2. cGMP信使系统的调节,主要是cGMP-PDE和PKG的调节特性及各信使系统间的相互作用;
3. 信号系统调节植物细胞基因表达的方式;
4. 参与信号系统的蛋白因子如DET、COP等的结构特点及其在信号系统中的功能;

## 摘 要

本文介绍了参与植物细胞红光信号转导的三个信使系统(钙信使系统、cGMP信使系统和双信使系统),以及G-蛋白在红光信号转导中的作用,并对不同于上述三信使系统的一些独立的蛋白因子的结构及它们在光信号转导中的功能做了简单介绍。

## 参 考 文 献

[1] Federman, AD, et al., 1992, *Nature*,

356: 159—161.

- [2] Hasunuma, KK, et al., 1987, *Photochem. Photobiol.*, 46: 531—535
- [3] Bossen, MG. et al., 1990, *Physiol. Plant.*, 80: 55—62.
- [4] Romero, LC. et al., 1991, *FEBS Lett.*, 282: 341—346.
- [5] Romero LC and E. Lam, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 90: 1465—1469.
- [6] Clark, GB. et al., 1993, *Plant J.*, 4: 399—402.
- [7] Neuhaus, G. et al., 1993, *Cell*, 73: 937—952.
- [8] Bowler, C. et al., 1994, *Cell*, 77: 73—81
- [9] Sommer D and P. S. Song, 1994, *Protein Expression and Purification*, 5: 402—408.
- [10] Conkin BR and H. R. Bourne 1993, *Cell*, 73: 631—641.
- [11] Quail, PH., 1991, *Ann. Rev. Genet.*, 25: 389—409.
- [12] Ma, H., 1994, *Plant Molecular Biology*, 26: 1611—1636.
- [13] Roux, SJ. et al., 1986, *Physiol. Plant.*, 66: 344—348.
- [14] Shacklock PS. et al., 1993, *Nature*, 358: 753—755.
- [15] 龙程等, 植物学报, 1994, 36: 765—772.
- [16] Sharma, Ak. et al., 1994, *J. Exp. Botany*, 45: 485—490.
- [17] Bergareche, C. et al., 1994, *Physiol. Plant.*, 91: 257—262.
- [18] Lam, E. et al., 1989, *Molecular and Cellular Biology*, 9: 4819—4823.
- [19] 马力耕等, 1995, 科学通报, 40: 944—946.
- [20] Dash, PK. et al., 1991, *Proc Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 88: 5061—5065.
- [21] Kapiloff, MS. et al., 1991, *Proc Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88: 3710—3714.
- [22] Wegner, M. et al, 1992, *Science*, 256: 370—373.
- [23] Comeliussen, B. et al., 1994, *Nature*, 364: 760—764.
- [24] Pugh, EN. et al., 1993, *Nature*, 364: 389—390.
- [25] Darcy, PK. et al., 1994, *Microbiology*, 40: 1619—1632.
- [26] Cote G G and R. C. Crain, 1994, *Bio-Essays*, 16: 39—46.
- [27] Das R and S; K Sopory, 1985, *Biochem*,

- Biophys. Res. Commu.*, 128:1455—1460.
- [28] Guron, K. et al., 1992, *Photochem. Photobiol.*, 56: 691—695.
- [29] Chandok MR and S. K. Sopory, 1992, *Phytochemistry*, 31: 2255—2258.
- [30] Deng, XW. et al., 1991, *Genes. Dev.*, 5: 1172—1182.
- [31] Wei N and X. W. Deng, 1992, *Plant Cell*, 4: 1507—1518.
- [32] Deng, X. W., 1994, *Cell*, 76: 423—426
- [33] Duckett CM and J. C. Gray, 1995, *BioEssays*, 17: 101—103.
- [34] Wei, N. et al., 1994, *Cell*, 78: 117—124.
- [35] McNellis, TW. et al., 1994, *Plant Cell*, 6: 1391—1400.
- [36] Wei, N. et al., 1994, *Plant Cell*, 6: 629—643.
- [37] von Arnim A G and X. W. Deng 1994, *Cell*, 79: 1035—1045.
- [38] Ang L H and X. W. Deng, 1994, *Plant Cell*, 6: 613—628.
- [39] Hou, Y. et al., 1993, *Plant Cell*, 5: 329—339.
- [40] McNellis, TW. et al., 1994, *Plant Cell*, 6: 487—500.
- [41] Pepper, A. et al., 1994, *Cell*, 78: 109—116.
- [42] 孙大业、郭艳林, 1993, 细胞信号系统, 科学出版社, 北京.
- [43] Elich TD and J. Chory, 1994, *Plant Molecular Biology*, 26: 1315—1327.

## 研究工作

### C57 BL/6 J 小鼠 ES 细胞系的建立及其特性分析\*

柴桂莹 韩 嵘 尚克刚

(北京大学生命科学学院细胞生物学与遗传学系 100871)

自从1981年首次从小鼠的囊胚中分离出可在体外连续培养的ES细胞(Embryonic Stem Cell)<sup>[1,2]</sup>以来,ES细胞的研究与应用已成为生物学领域的热点研究课题之一。在细胞生物学、反向遗传学、发育生物学、神经生物学和医学等领域的研究中,发挥着愈来愈重要的作用。国内近年来有关小鼠ES细胞方面的研究报道日益增多<sup>[3-10]</sup>。目前国内外常用的ES细胞系几乎都是从129小鼠品系中建立的,如能从小鼠其它品系中建系,将扩大ES细胞的来源品系,为充分利用其他品系的优良遗传背景提供了前提条件。

自交系C57 BL/6 J小鼠,由于具有致癌性不敏感和对鼠痘病毒有良好的抗性等优点,在我国生物学、医学研究中使用十分广泛。从C57 BL/6 J小鼠中建立ES细胞系有可能获得C57 BL/6 J的基因工程小鼠,这对我国生物学和医学的研究有着重要的意义。此外,C57 BL/6 J小鼠的毛色为黑色,如以白化小鼠胚胎为受体,ES细胞嵌合体可以从毛色上清晰地判断,因此从C57 BL/6 J小鼠建系是一项

十分必要的工作。Ledermann<sup>[11]</sup>曾报道从C57 BL/6 J小鼠中建立了ES细胞系,囊胚注射产生了嵌合体,并可进入种系。本文报道采用了与其有所不同的方法建成了三个细胞系,并得到与其有所不同的结果,为今后从C57 BL/6 J品系中建立ES细胞系提供了有益的参考资料。

## 材料与方 法

### 一、动物及胚胎来源

C57 BL/6 J, BALB/c, 昆明鼠购自北京医科大学实验动物中心和中国医学科学院实验动物中心。雌雄小鼠按2:1合笼,次日晨发现阴道栓时记为受孕的第一天。在怀孕的第三天14时和第四天14时,用补加5%的新生牛血清(天津生化制品厂)的PBS分别从输卵管或子宫中冲胚,分别获得处于8细胞期和囊胚的胚胎。

### 二、建立ES细胞系的方法

收集C57 BL/6 J小鼠的囊胚,移入含有小鼠胚胎原代成纤维细胞(简称ME)的饲养层上,培养基为DMEM(高糖)培养基(GIBCO, 4,500 mg/l 葡萄糖,

\* 本研究是863计划资助项目。