

的过程,目前神经发育生物学正在逐渐揭示它们在前脑发育中的功能。

四、结 语

胚胎发育过程中,中枢神经系统特别是前脑的发生、发育和分化经历了一个非常复杂的过程,是神经发育生物学极为广阔和丰富多彩的研究领域。目前对前脑的研究,无论从形态结构、细胞分化、基因表达和神经网络特定功能的建立等都还只处于起始阶段。尽管近年来已有深入、迅速的发展,但目前的研究主要集中在阐述发育中形态结构变迁和基因表达域变化等方面,尚处于资料和认识的积累阶段,较少涉及前脑结构形成与功能建立之间的关系,对中枢神经系统整个发育的认识仍然是肤浅和残缺不全的。今后将在研究基因表达域及其产物的基础上探讨神经发育中各种调控基因和管家基因的功能,寻找更多的促进细胞分化(和编程死亡)的诱导因子,研究不同脑区内神经元的生长发育和神经网络的建立,为进一步研究高级神经活动打下基础。

参 考 文 献

[1] Kessler DS, Melton DA., 1994, *Science*, 266: 596.

- [2] Storey KG, et al., 1995, *Development*, 121: 417.
- [3] Gulthrie S., 1995, *TINS*, 18: 74.
- [4] Boncinelli E. 1994, *Curr. Opi. Neurobiol.*, 4: 29.
- [5] Kelly OG, Melton DA., 1995, *TIG*, 11: 273.
- [6] Smith WC, Harland RM., 1992, *Cell*, 70: 829.
- [7] Hammati-Brivanlou A, et al., 1994, *Cell*, 77: 283.
- [8] Bulfone A, et al., 1993, *J. Neurosci*, 13: 3155.
- [9] Rubenstein JLR, et al., 1994, *Science*, 266: 578.
- [10] Cohen-Tannoudji M, et al., 1994, *Nature*, 368: 460.
- [11] Puelles L, Rubenstein JLR, 1993, *TINS*, 16: 472.
- [12] Price M, et al., 1992, *Neuron*, 8: 241.
- [13] Price M, et al., 1991, *Nature*, 351: 748.
- [14] Simeone A, et al., 1992, *Nature*, 358: 687.
- [15] Simeone A, et al., 1993, *EMBO J.*, 12: 2735.
- [16] Pannese A, et al., 1995, *Development*, 121: 707.
- [17] Blitz IL, Cho K W Y., 1995, *Development*, 121: 993.
- [18] Ang S-L, et al., 1994, *Development*, 120: 2979.

生长素结合蛋白研究进展

张洪霞 白永延 许智宏

(中国科学院上海植物生理研究所植物分子遗传国家重点实验室 200032)

生长素(auxin)是植物体内普遍存在的一类植物激素,它对植物的生长发育起着多方面的调节作用,如促进细胞伸长,诱导细胞分化,促进生根和单性果实(parthenocarpic fruit)的发育等,同时生长素还抑制芽的发生及果实的衰老。生长素作用机理的研究表明,生长素可以诱导一些特殊基因的快速表达,促进RNA和蛋白质的合成。因此,生长素可能是通过调

节基因的表达来发挥作用^[1]。“酸生长理论”(acid growth theory)则认为,在细胞膜上存在着生长素的受体,生长素与之结合后激活了细胞质膜上的质子泵,破除了细胞壁纤维结构间的交织点,细胞壁的可塑性增加,从而使细胞伸长^[2]。尽管对“酸生长理论”一直存在争议,但植物体内存在生长素受体的证据在不断积累。70年代末,关于生长素受体的研究工作虽已全

面展开,但只是到近10年才取得了巨大进展。

一、寻找生长素受体

在哺乳动物中,靶细胞(target cell)具有一系列感受化学信号的特定受体,当其同激素结合后,受体才转变为活化态,从而启动一系列的特性反应,受体蛋白既是信号的感受者又是信号的传导者。同时,动物激素还可以通过细胞内的调节蛋白调节基因的表达,改变原有蛋白的合成速度或诱导新的特种蛋白的合成。受哺乳动物激素受体定义的启示,作为植物激素生长素的受体须具备以下两种功能:能和生长素结合,并调节该生长素引起的生理生化作用。所以寻找生长素受体的工作开始于生长素结合实验的研究。早在1971年,Lembi等人就曾在实验中观察到萘乙酸(NAA)可以结合在玉米胚芽鞘(coleoptile)的细胞膜上。此后,Hertel等用同样的方法以玉米为材料检测到了生长素的结合,并了解到生长素的结合具有饱和性。进一步的工作由Normand等人进行,发现生长素的最大结合量同内质网有关。Batt等人经过研究证实,至少有两种生长素结合位点,Site I位于内质网和高尔基体,可以和不同种类的生长素结合,而Site II位于细胞膜,只能同特定的生长素结合^[3]。1978年Dohrmann从玉米中分离出三种生长素结合位点,分别称为Site I, Site II和Site III。其中Site I位于内质网,原始分子量为40KD; Site II可能位于液泡膜(tonoplast); Site III位于细胞质膜。而Cross和Briggs只发现了一种同生长素具有高亲和性的结合位点,它可能位于内质网和细胞质膜^[4]。

Shimomura等以玉米胚芽鞘为材料研究了Site I和Site II的生物特性。Site I为一约21KD的蛋白,出现于胚芽鞘发育的早期阶段,当胚芽鞘生长到2天和4天时,其含量分别有所提高;而Site II的含量在此时期却很低,直到胚芽鞘快速生长期(3—4天),其含量才持续升高。4天后,两类结合位点的含量同时下

降,胚芽鞘的生长速度也随之降低。另外,两者具有不同的免疫学特性。当剥去胚芽鞘的外表皮时,Site I的活力降低,暗示该类结合位点主要集中于胚芽鞘的外表皮,相反,Site II仍保持着同样的活力。所有这些结果说明Site I并非Site II的前体,两者分别参与不同的细胞生理过程。Hertel等对Site III的生物功能进行了大量的研究,认为它同生长素的运输有关。

Vreugdenhil等研究了烟草叶肉原生质体外结合NAA的情况。刚分离制备的原生质体,检测不到NAA的特异结合,认为NAA的结合位点可能位于细胞膜的外表面,在用纤维素酶和果胶酶分离原生质体的过程中遭到了蛋白水解酶的破坏,将原生质体培养3—4天后,细胞出现第一次分裂,这时才检测到NAA的特异结合,在随后的培养过程中,结合位点的数量也随之增加^[5]。Maan等人以烟草髓愈伤组织细胞为材料,对生长素的结合进行了动力学分析,发现在0℃,结合位点不结合生长素;在25℃结合活力最大。他们进一步发现,生长素的结合并非是一个位点结合一个激素分子,实际情况要复杂得多,一个受体分子至少由两个结合成分组成,每个受体分子结合四个激素分子。

二、生长素结合蛋白(auxin binding protein 或 ABP)的研究

激素受体必须具有同激素结合的能力以及诱发激素反应的分子特性。如前所述,无论是天然生长素还是合成的生长素类似物,都观察到了其在玉米微粒体膜中的结合^[6,7],并且,生长素在某一组织中的结合活性与它在该组织中促进植物体生长的能力相应。如:玉米胚芽鞘及初生叶受生长素的作用而伸长,生长素结合位点主要集中于由该类组织制备的微粒体中。尚未发现生长素诱导胚芽鞘节生长的反应,同时也观察不到同生长素的结合。所有这些结果说明,这些膜中存在的结合位点很可能作为生长素受体参与生长素的作用过程。由于生长素结

合位点位于膜上,欲获得纯化制剂以进行研究,首先要从膜上将其分离下来。Dohrmann和Ray用非离子去污剂Triton X-100分离了生长素结合位点。随后,Venis用缓冲液抽提和丙酮沉淀微粒体的方法进行了分离。1978年Cross和Briggs采用上述两种方法均从玉米微粒体膜上分离到一种可溶性的生长素结合蛋白,并研究了两种方法所分离的结合蛋白的特性。两种方法制备的结合蛋白经凝胶过滤测定具有相同的分子量(80 KD),在低离子强度下均发生聚合,因此,它们似乎为同一类活性分子,其结合活性可以被胰蛋白酶、链霉菌蛋白酶(pronase)或对-氯汞苯甲酸所破坏,但磷酸酯酶C、DNA酶、RNA酶或二硫赤藓糖醇对其结合活性无大的影响。由于饱和量的NAA可以保护该蛋白不受对-氯汞苯甲酸的抑制,所以推测在其结合中心含有一硫氢基团,其他的生物活性也与完整膜上的结合位点相同,说明结合蛋白在从膜上溶解下来的过程中其特性变化不大。

1979年该小组用不连续蔗糖梯度分离的方法进一步研究了玉米胚芽鞘及初生叶微粒体膜上可溶性生长素结合蛋白的特性。芳香族化合物的羟基化是发生于植物细胞内质网的一种典型酶促反应,而电子传递抑制剂 NaN_3 可以强烈抑制NAA的结合,因此推测该类蛋白可能位于内质网。另外,玉米幼苗中分离的上清液中含有抑制NAA同完整膜及Site I可溶性生长素结合蛋白结合的因子,发现这些上清因子只是NAA的竞争性抑制剂,但不影响IAA、2,4-D的结合。应用去污剂和丙酮抽提的方法得以将生长素结合蛋白从膜上溶解下来,并对其结合特性进行研究。但要了解结合蛋白的结构和功能,尚需分离高纯度的结合蛋白。随着实验技术的提高和方法的不断改进,已从植物细胞中分离到多种高纯度的ABP并对它们的生物特性、结构和功能等进行了深入的研究。

1. 内膜系统中的生长素结合蛋白

(1) ABP 1的鉴定和纯化 70年代以

玉米为材料进行的生长素结合活性的研究为进一步纯化该类具有结合特性的蛋白打下了良好的基础。1985年,Klamt研究小组应用免疫亲和层析技术,首次从玉米膜组分中纯化出一20 KD的生长素结合蛋白亚基^[8],该蛋白可能为二聚体。每摩尔二聚体结合1—2摩尔NAA,其分子大小、最适pH值、同NAA的结合特性等,皆类似于Site I,该蛋白被命名为ABP1。其他小组应用传统的方法,也纯化到ABP1。Shimomura等用离子交换和亲和层析的方法纯化到一21 KD的ABP亚基,该ABP原始分子量为42 KD,圆二色谱分析表明其二级结构主要为 β -折叠片和 β -转曲,小部分为 α -螺旋结构。他们的资料表明该蛋白具有Site I的结合特性。Napier等用离子交换层析分离到纯度10%—60%的22-KD的ABP亚基,并制备了该ABP的多克隆和单克隆抗体^[9]。大多数实验室都采用离子交换同PAA亲和层析相结合的方法纯化ABP1^[10,11],这些纯化方法都基于Venis的发现,即丙酮可以将生长素结合蛋白从微粒体膜上溶解下来。

70年代末,Nelson Leonard发展了非平衡结合技术(non-equilibrium binding technique),对ABP进行光亲和标记(photoaffinity labeling),应用该项技术首次证明所纯化的组分中结合生长素的活性来自20—22 KD亚基蛋白^[40]。Jones和Venis^[12]采用Napier等人的方法制备光亲和标记的样品,分离纯化到三种IAA的结合蛋白亚基,分子量分别为22,24和43 KD。其中,22 KD和24 KD ABP可能皆为二聚体。

如前所述,ABP1和Site I具有相似的结合特性(见表1),因此生长素同ABP1的结合被认为实际上是同Site I的结合。因此,通过对Site I进行研究,可以了解ABP1的特性,如玉米胚芽鞘中,每克材料含10—100 pmoles的Site I,同时ABP1的含量也最高,由此推测,ABP1在该组织中大约占细胞总蛋白的0.01%—0.1%。

段作探针,克隆到拟南芥菜内质网ABP的cDNA,该ABP基因由600个碱基组成,编码199个氨基酸残基的22 kD ABP,其N-端为33个氨基酸的疏水信号肽序列。成熟的ABP由165个氨基酸残基组成,含有两个糖基化位点(Asn⁴⁶-Ile-Ser和Asn¹³⁰-Ser-Thr),C-端同样含有一内质网定位的信号序列(Lys¹⁹⁶-Asp-Glu-Leu)。

ABP1可以用有机溶剂从微粒体膜上分离出来,说明其并非膜固有蛋白,圆二色谱分析表明其二级结构中几乎不含 α -螺旋结构,可能主要由 β -折叠片和转曲(β -sheets and turns)组成。另外,ABP1中还含有较多的脯氨酸和组氨酸。巯基乙醇对其四级结构无明显影响,暗示如果分子内存在二硫键,在二聚体形成的过程中,二硫键不提供相互作用力^[12]。Shimomura和Watanabe^[22]用圆二色谱分析了激素诱导后ABP1构象的变化(conformational changes)。NAA和IAA结合于ABP1后引起240—290 nm 色谱区的改变,应用ABP1羧基端抗原决定部位(epitope)的单克隆抗体MAC 256,亦检测到了激素引起的ABP1构象的变化^[23]。

从三种双子叶植物和一种单子叶植物中纯化的成熟ABP1的氨基酸顺序具有高度的同源保守区。玉米和拟南芥菜的ABP1氨基酸顺序具有63%同源。ABP1具有两个高度保守区(图1),命名为Box A和Box B。Box A位于T 54-G 70,Box B位于E113—P 127,两者均富含带电荷氨基酸。资料表明Box A参与生长素的结合。Venis等人亦认为Box A含有生长素结合位点的结构^[24]。另外ABP1中还含有两个保守性较弱的区域,分别称为1区和2区,在2区中富含脯氨酸,单一的糖基化位点亦位于2区内。Napier和Venis^[25]的研究结果表明,2区可能处于蛋白分子的外表面。

(3) ABP在植物器官、组织和细胞中的分布 ABP1具有几种异构体(isoforms),Hesse^[18]认为ABP基因家族中至少有三个表达

成员^[26]。Tillmann等人^[15]的实验结果亦暗示可能存在着多种形式的ABP1。Jones和Venis^[12]应用光亲和标记方法检测到两种ABP,它们具有相同的亚基分子量。Feldwisch等人^[27]采用同样的方法分离到一种比ABP1稍大的ABP,并提供了其位于细胞膜上的证据。Napier和Venis利用ABP1的抗血清对不同植物中的ABP进行Western分析,通过比较ABP亚基的大小和丰度,发现不同植物中ABP的大小和种类具有多样性^[26]。所有这些观察说明在植物中存在着几种ABP1的异构体,它们具有相似的抗原活性,但可能具有不同的功能和亚细胞分布。

ABP1的丰度同植物的生长部位相关,如在玉米黄化苗中,ABP1在中胚轴的顶端、胚芽鞘的下端及卷形幼叶(rolled young leaves)中含量最高,所有这些都是植物体快速生长的区域。另外,ABP1的丰度还受红光的调节^[28]。在成熟的玉米植株中,ABP1 mRNA的含量在雌穗和花柱中较高,在根中相对较低^[29]。ABP1 mRNA在雌穗(maize ears)中的丰度比雄穗(tassels)中大约高两倍^[13],相反ABP 4 mRNA在雌穗中的丰度比雄穗中大约低两倍。ABP 4为该基因家族的另一成员,和ABP1具有86%的同源序列。在红光下生长的玉米苗中,叶、胚芽鞘、中胚轴和根中都能检测到ABP1的存在。Shimomura等人测得胚芽鞘外表皮中ABP1的水平要比胚芽鞘其它组织中高七倍。Lobler和Klambt^[30]采用免疫组织化学的方法也得到了相同的结果。

在玉米根中,Radermacher和Klambt^[10]检测到一种较小分子量的ABP,根据它同NAA的结合活性和相对丰度,他们认为该类ABP为胚芽鞘中ABP的异构体,两者以大约相等的含量存在,这些器官特异的ABP异构体可能导致在不同器官中生长素作用的不同。

应用等密度梯度离心(isopycnic centrifugation)技术对免疫化学等方法分离的ABP1在细胞中的分布进行的研究表明,40%的微粒

体 ABP1 位于内质网 (ER)。Jones 和 Herman 通过研究认为大部分 ABP 位于内膜系统 (endomembrane system) 而不是细胞核、液泡或质体及相应的细胞器膜上。一些 ABP1 发现于高尔基体 (Golgi apparatus) 紧贴于细胞质膜及细胞壁空间内, 说明一些 ABP1 通过正常的途径被分泌到细胞外, 亦暗示在细胞质外可能存在一些生长素的作用位点。

生长素同 ABP1 结合的最适 pH 为 5.5, 在此酸性环境中 ABP1 极不稳定, 因此, ABP1 必须在呈酸性的细胞区如细胞壁空间内摄取生长素并在其失活之前立即发挥作用。Shimomura 等人^[22]则认为由于 ABP1 在酸性环境下不稳定, ABP1 必须在中性 pH 的细胞区域内发挥作用。

(4) ABP1 的生物功能 根据药理学标准, 可以说 ABP1 具有受体的功能, 它同多种生长素均有亲和性, 在生长素的靶组织 (auxin-targeted tissue) 中为低丰度蛋白 (low abundance protein), 但是 ABP1 作为生长素的受体尚需要更充分的证据。根据“酸生长理论”, 生长素的结合激活了质膜上的 $H^+-ATPase$ ^[31,32], 通过测量跨膜势能的变化可以研究生长素诱导的超极化 (hyperpolarization) 特性^[33]。当加入 ABP 的抗体时, 生长素诱导的超极化作用受到抑制^[34,35]。利用生长素抗性烟草突变体及 Ri 质粒转化烟草原生质体对超极化现象进行了研究^[36], 其中转化植株对生长素的敏感性增高, 要加入更多的 ABP 抗体才能抑制生长素诱导的超极化作用, 暗示其对生长素的敏感性同 ABP1 或其异构体的含量相关。用 ABP1 中 Box A 的抗体进行的研究发现 Box A 可能为 ABP1 中激素的结合位点。所有这些结果暗示 ABP1 通过在细胞膜的外表面或细胞壁空间内同生长素结合, 引起膜的超极化。这类类似于原核细胞的某些系统。John Cross^[37]则认为 ABP1 在细胞内外循环发生作用, 并且以某种方式调节细胞壁的疏松以及生长过程中的快速胞吐作用 (exocytosis)。Gerhard Thiel 等人发

现外源 ABP1 的 C-端可以引起蚕豆叶片气孔保卫细胞内 K^+ 离子浓度的变化, 后者引起气孔的关闭和开放^[38]。

2. 细胞质膜上的生长素结合蛋白

Terri Lomax 等人应用相分配法 (phase partition method) 纯化到分子量分别为 40 和 42 KD 的细胞膜 ABP, 它们可能为生长素的吸收载体 (uptake carrier)。在裸子植物、双子叶植物及禾谷类植物和玉米中都检测到 40/42 KD ABP 的存在。

Hick 等人采用同样的方法对蕃茄抗生长素变种 (*dgt*) 进行了研究, 该隐性突变体具有正常的生长素水平, 但对外源生长素不敏感^[39], 因此可能为一种生长素受体突变体, 在野生型蕃茄幼苗和根中均检测到 40/42 KD 双体的存在, 但在 *dgt* 突变体中只在根中检测到了 40/42 KD 双体蛋白, 推测突变苗可能缺少这些 ABP 或者其 ABP 的功能发生了突变。*dgt* 的表型表明其生长素运输系统发生了变化, 但发生突变的本质尚不清楚, 可能同其他的激素如乙烯和细胞分裂素有关。野生型蕃茄经外源细胞分裂素处理可以模拟该突变体的表型, 因此, 可能存在激素间的相互作用, 同时也说明该遗传缺陷并非编码 40/42 KD ABP 的基因发生了变化。

Klaus Palme 研究小组从玉米胚芽鞘细胞膜上检测到四种 ABP, 大小分别为 60, 58, 24 和 23 KD, 但未发现 40/42 KD ABP。24/23 KD ABP 同 40/42 KD ABP 一样, 在用 Triton X-114 抽提时分配于水相。23 KD ABP 同 ABP1 具有一定的序列同源性, 但 23/24-KD ABP 同 Jacobi 和 Venis^[12] 报道的 24 KD 蛋白之间有何关系尚不清楚。Jacobi 等人^[40]在大豆根瘤中发现一种特性类似于玉米细胞膜上 23/24 KD ABP 的蛋白。生长素运输抑制剂如 NPA 能够诱导假瘤 (pseudonodules) 的形成, 据此推测 23/24 KD ABP 的作用之一是在根瘤形成过程中运输生长素。

3. 细胞核中的生长素结合蛋白

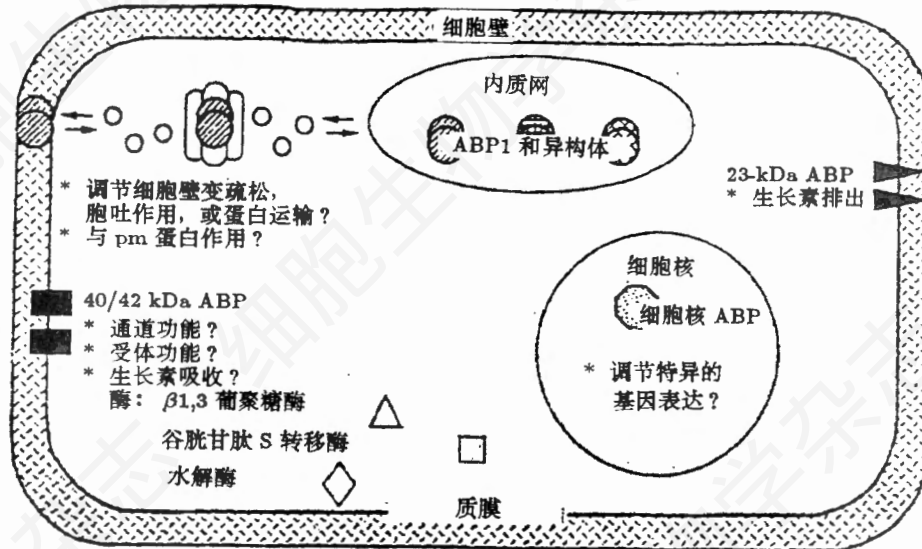


图 2 各种生长素结合蛋白在植物生长发育中可能的生物学作用

表 2 生长素结合蛋白

细胞中位置	亚基分子量	鉴定方法	文献
内膜	22 KD	免疫亲和层析	8
	22/24/43 KD	亲和层析	9,20
	22	光亲和标记	12
质膜	22	cDNA 克隆	13,15
	40/42 KD	光亲和标记	29
	60/58 kD, 24/23 KD	光亲和标记	27
细胞核	65 KD	抗特异基因型抗体	28
	47/15 KD	亲和层析	75
可溶部分	60-KD 水解酶	光亲和标记	1
	31-KD β -葡聚糖酶	光亲和标记	41
	25-KD GST	光亲和标记	1

多年来, Kees Libbenga 研究小组借鉴动物甾类激素研究的范例, 推测在植物体中必定存在着配体(ligand)调节的转录因子。Libbenga 等人研究了一 50 KD 亚基蛋白的特性, 认为细胞核内存在一种生长素的受体。

Shingo Sakai 实验室从绿豆下胚轴中纯化到两种具生长素结合活性的 ABP(ABP I 和 ABP II), 它们可能在细胞核内起作用。Sakai 认为两种 ABP 的微小差异导致 RNA 聚合酶 II 活性的差异。Prasad 和 Tone 利用抗体从 8 种植物中分离到一 65 KD 的蛋白, 发现该蛋白同抗体的结合可以被 2,4-D 或 IAA 抑制。

4. 可溶性的生长素结合蛋白

Pat King 研究小组应用光亲和标记技术从野生型天仙子属的 *Hyoscyamus muticus* 培养细胞可溶性组份中检测到了三种生长素结合蛋白, 大小分别为 24, 25 和 31KD。Macdonald 等人发现 31/24 和 25 KD ABP 分别为 β -1, 3-葡聚糖酶和谷胱甘肽巯基转移酶的原形, 有趣的是这两种酶的表达亦受生长素的调节^[41,42]。一些以生长素为底物或产物的酶类亦被认为具有结合生长素的能力。Palme 等人从玉米中分离到一 60 KD 的水解酶^[43], 该蛋白不同于他们从细胞膜上分离的 60 KD ABP, 它同根中细胞分

裂素和生长素之间的相互作用有关。最近从生长的桃树幼苗中纯化到—20 KD 的具生长素低亲和活性的糖蛋白^[44], 玉米 ABP1 的抗体同该蛋白不发生交叉反应。

如前所述, 大量存在于 ER 的 ABP 可能在细胞伸长反应中具有重要作用, ABP1 可能同细胞质膜蛋白相互作用引起一系列反应, 并可能如细菌中小分子运输一样, 参与生长素的运输。在细胞质膜上至少有两种 ABP, 它们可能参与生长素的吸收、排放等过程。细胞核中含有一65 KD 的 ABP 或其他的 ABP, 它们可能同生长素调节的基因转录有关。各类 ABP 在细胞中的分布及可能的生物学功能见图 2 和表 2。

三、展 望

生长素促进细胞伸长及诱导细胞超极化的研究结果均表明细胞膜的外表面存在着生长素的受体, 而大量的 ABP 却位于内质网, 二者之间的相互关系尚待进一步研究。利用遗传转化技术, 将 ABP 基因的正义和反义表达载体导入植物体内, 使内源 ABP 的表达水平发生变化, 对转基因植株进行观察和遗传分析, 将有助于了解 ABP 的生物功能, 对于阐明生长素调节植物体生长发育的生理机制, 并通过调控 ABP 基因的表达, 进而控制植物的生长有着重要的理论意义和应用前景。

参 考 文 献

- [1] Baulcombe, D. C. et al., 1980, in *Genome Organization and Expression in Plants*, (ed, C. J. Leaver) Plenum Press, New York.
- [2] Hager, A. et al., 1971, *Planta*, 100: 45.
- [3] Batt, S. et al., 1976, *Planta*, 130: 15.
- [4] Cross, J. W. et al., 1978, *Plant Physiol.*, 62: 152.
- [5] Vreugdenhil, D. et al., 1980, *Planta*, 150: 9.
- [6] Ray, P. M. 1977, *Plant Physiol.*, 59: 594.
- [7] Ray, P. M. 1977, *Plant Physiol.*, 60: 585.
- [8] Lobler, M. et al., 1985 *J. Biol. Chem.*, 260: 9848.
- [9] Napier, R. M. et al., 1988, *Planta*, 176: 519.
- [10] Radermacher, E. et al., 1993, *J. Plant Physiol.*, 141: 689.
- [11] Viola, G., 1991, Diss. thesis Uiv. Bonn.
- [12] Jones, A. M. et al., 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 86: 6153.
- [13] Hesse, T. et al., 1989, *EMBO J.*, 8: 2453.
- [14] Inohara, N. et al., 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 86: 3564.
- [15] Tillmann, U. et al., et al., 1989, *EMBO J.*, 8: 2463.
- [16] Venis, M. A., 1985, *Hormon Binding Sites in Plants*, London, Longman pp 191.
- [17] Lobler, M. et al., 1990, *Plant Mol Biol.*, 15: 513.
- [18] Yu, L-X. et al., 1991, *Plant Mol Biol.*, 16: 925.
- [19] Palme, K. et al., 1992, *Plant Cell*, 4: 193.
- [20] Shimomura, S. et al., 1993, *Plant Cell Physiol.*, 34: 633.
- [21] Munro, S. et al., 1987, *Cell*, 48: 899.
- [22] Shimomura, S. et al., 1993, *Membrane*, 18: 34.
- [23] Napier, R. M. et al., 1992, *J. Cell Sci.*, 102: 261.
- [24] Venis, M. A. et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 89: 7208.
- [25] Napier, R. M. et al., 1992, *Biochem. J.*, 284: 841.
- [26] Schwob, E. et al., 1993, *Plant J.*, 4: 423.
- [27] Feldwisch, J. et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 89: 475.
- [28] Jones, A. M. et al., 1991, *Plant Physiol.*, 97: 352.
- [29] Hesse, T. et al., 1993, *Plant Mol. Biol.*, 23: 57.
- [30] Lobler, M. et al., 1985, *J. Biol. Chem.*, 260: 9854.
- [31] Senn, A. P. et al., 1988, *Plant Physiol.*, 88: 131.
- [32] Ruck, A. et al., 1993, *Plant J.*, 4: 41.
- [33] Hager, A. et al., 1991, *Planta*, 185: 527.
- [34] Barbier-Brygoo, H. et al., 1991, *Plant J.*, 1: 83.

- [35] Barbier-Brygoo, H. et al., 1989, in *Plant Gene Transfer, UCLA Symp. Mol. Cell. Biol. (NS)* ed. C. Lamb, R. Beachy 129: 165-173, New York, Liss.
- [36] Maurel, C. et al., 1991, *Plant Physiol.*, 97: 212.
- [37] Cross, J. W. 1991, *New Biol.*, 8: 813.
- [38] Thiel, G. et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 11493.
- [39] Kelly, M. O. et al., 1986, *Plant Physiol.*, 82: 713.
- [40] Jacobi, A. et al., 1993, *Z. Naturforsch Teil C*, 48: 35.
- [41] Droog, F. N. et al., 1993, *Plant Mol. Biol.*, 21: 965.
- [42] Mohnen, D. et al., 1985, *EMBO J.*, 4: 1631.
- [43] Campos, N. et al., 1992, *Plant J.*, 2: 675.
- [44] Ohmiya, A. et al., 1993, *Plant Cell Physiol.*, 34: 177.

研究工作

秋水仙碱(COM)诱发小鼠骨髓细胞C-有丝分裂效应的研究

史庆华* I.-D. Adler* G. Schriever-schwemmer* 张锡然 陈宜峰

(南京师范大学生物系 南京 210097)

非整倍体是人类出生缺陷、死胎和自发流产的主要因素。约2%成活出生的婴儿和30—50%自发流产的胎儿都具有染色体数目异常^[1,2]。在体细胞中,越来越多的证据表明,染色体数目异常与肿瘤尤其是白血病有着非常密切的关系^[3,4]。非整倍体是细胞分裂时,染色体分离紊乱造成的。因此,影响细胞分裂的因素,如纺锤体毒剂,也很可能是非整倍体诱导因子^[5-7]。C-有丝分裂是Levan(1938)发现的,又称秋水仙素效应。Miller和Adler首次对10余种化合物的C-有丝分裂效应进行了定量分析,并与它们诱发非整倍体的能力作了比较,结果表明两者之间有良好的 consistency^[8]。而且C-有丝分裂分析简便快速,因此被欧共体非整倍体研究委员会推荐为环境化合物中非整倍体诱导剂的初筛方法^[9]。

秋水仙碱(colcemid, COM)是化学合成的秋水仙素(Colchicine, COL)的衍生物。和COL一样,COM也被非常广泛地用于细胞遗传学研究中。但对其本身的细胞遗传学效应则缺乏

应有的了解,对它们的生物活性尚存在一些误解,因此,我们对COM诱导小鼠骨髓和生殖细胞(另文报道)的遗传学效应进行了比较系统的研究,并对COM诱发小鼠骨髓细胞C-有丝分裂效应和有丝分裂指数(Mitotic index, MI)升高的生物学机制等进行了讨论。

材料与方 法

一、动物

实验小鼠为两种纯系101/E1和C3H/E1的杂交第一代,体重24—29克,年龄10—14周,由德国GSF研究中心动物中心提供。

二、药物及动物处理

COM和COL均由欧州共同体非整倍体项目协调人Parry教授(School of Biological Sciences, University College of Swansea, UK)提供。用双蒸水溶解,一次性腹腔注射给药后,分别于第2, 6, 10, 14和18小时取材。每个取材时间点设8只动物,随

* GSF-Institute of Genetics, D-85758 Germany