

- [39] Riggs, A. D. & Pfeifer, G. P., 1992, *Trends Genet.*, 8: 169—174.
- [40] Russell, L. B., 1983, *Cytogenetics of the Mammalian X Chromosome (Part A)* (Sandberg, A. 著, ed.), pp. 203—250. Alam R. Liss.
- [41] Lyon, M. F., 1993, *Trends Genet.*, 9(4), 123—128.
- [42] Short, R. V., 1993, *The Differences Between the Sexs*. Cambridge University Press.

转化生长因子- β (TGF- β) 的结构

虞冠华 葛锡锐 姚鑫

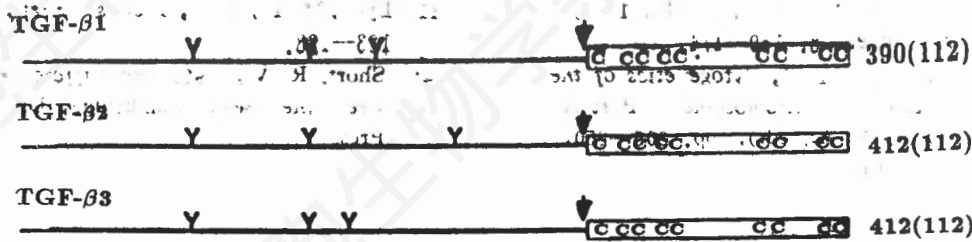
(中国科学院上海细胞生物学研究所 200031)

1978年, Delarco 和 Todar^[1]首先发现病毒转化的细胞能分泌一种具有使正常大鼠肾成纤维细胞表型发生转化能力的因子, 它在表皮生长因子(EGF)存在的情况下使贴壁生长的细胞特性发生改变, 获得在软琼脂培养基上生长形成克隆的能力, 并失去生长密度依赖的抑制作用。因此, 这种细胞因子被命名为转化生长因子- β (TGF- β)。在过去的10年中, 发现 TGF- β 实际上是一种具有多种生物学功能的细胞因子, 依据其每一种功能的发现, 它就得到一个全新的名称, 这些名称包括: '软骨诱导因子 A'^[2](cartilage-inducing factor A, CIF-A)、软骨诱导因子 B'^[3](CIF- β)、分化抑制因子^[4](differentiation-inhibiting factor, DIF)、EB病毒诱导因子^[4](Epstein-Barr virus inducing factor, EIF)、BSC-细胞生长抑制剂^[5,6](BSC-I cell growth inhibitor, -GI)、组织来源的生长抑制剂^[7](tissue-derived growth inhibitor, TGI)、多能素^[8](polyergin)、泛调素^[4](pan-regulin), 现统一命名为 TGF- β 。归纳起来, TGF- β 的生物功能包括: 对多种正常的和转化的(内皮、表皮、角质、造血、淋巴)细胞的增殖具有可逆性的显著抑制作用; 对某些间质细胞有促细胞分裂素样作用; 具有诱导或抑制细胞分化的双重功能; 促进细胞外基质形成; 促进伤口愈合; 诱导纤维母细胞和单核细胞的趋化

移动; 抑制免疫功能等等。本文就 TGF- β 的结构作一综述。

一、成熟 TGF- β s 的一级结构

TGF- β s 有五种异构体, 分别称为 TGF- β 1^[8]、TGF- β 2^[9]、TGF- β 3^[10]、TGF- β 4^[11]、TGF- β 5^[12]。TGF- β 1—3 存在于哺乳动物中, 而 TGF- β 4 的 mRNA 只在小鸡的软骨细胞中被发现^[11], TGF- β 5 的 mRNA 也仅在爪蟾 *Xenopus laevis* 中被确定^[12]。成熟的、有生物学功能的 TGF- β 都由二聚体组成, 目前除了从猪血小板中分离到少量 TGF- β 1, 2 和从牛骨髓中分离到少量 TGF- β 1, 2、TGF- β 2, 3 异型二聚体外^[14,15], 其他均为同型二聚体。人和其它哺乳动物基因组中至少有三个基因编码 TGF- β 前体分子, 分别称为 TGF- β 1, β 2, β 3 基因。哺乳动物 TGF- β s 的前体结构见图 1。人三种 TGF- β 基因染色体分别定位于 19q13、1q41、14q24^[13], 鼠分别位于 7、2、12 号染色体。尽管各个 TGF- β 基因在人和鼠染色体上的定位是分开的, 但 7 个类似的外显子结构以及高度的序列保守性表明它们来源于一个共同的祖先。TGF- β s 的一级结构具有相似性, 特别是在 C-末端富含 Cys 区, 5 个 TGF- β 都有 9 个保守 Cys。TGF- β 1、2、3 的同源性见图 1。另外, 不同哺乳动物来源的成熟 TGF-



生物活性区

同源区 (β-TGF) β-因子氨基酸

β1:β2	71%	TGF-β1(人:鸡)	100%
β1:β3	72%	TGF-β2(人:猴)	100%
β2:β3	76%	TGF-β3(人:鸡)	99%

图1 哺乳动物 TGF-βs 的前体结构和同源性^[13]

TGF-β 前体长度为 390—412 个氨基酸, 生物活性区(框中)在前体的 C-末端, 前体分子含有氨基端信号序列(细线)、三个潜在 N-连结糖基化位点(Y)和一个碱性残基断裂位点(箭头)。生物活性区中 9 个 Cys 的大致位置用 C 表示。

	1	20	40
Hu TGF-β1	ALDTNYCFSSSTEKNC	CVRQLYIDFRKDLG	WKWIHEPKGYPH
Hu TGF-β2	ALDAA-----RNVQD-----	LRP-----D-KR-----	G-----I-----N
Hu TGF-β3	ALDTN-----RNLEE-----	VRP-----D-RQ-----	G-----V-----Y
CK TGF-β4	DLDTD-----GGTDEK-----	VRP-----D-RK-----	Q-----I-----E
Fg TGF-β5	GVGQE-----TQNGP-----	VKP-----N-RK-----	G-----I-----E
	41	60	80
Hu TGF-β1	ANFCLGPCPYIWSLDTQYSK	VLALYNQHNP	GPASAAPCCVP
Hu TGF-β2	---F-A-A---LW---	QHSR---S---	TI---E---AS---
Hu TGF-β3	---F-S-P---LR-A---	THST---G---	TL---E---AS---
CK TGF-β4	---F-M-P---IW-A---	QYTK---A---	QH---G---AA---
Fg TGF-β5	---Y-L-N---IW-M---	QYSK---S---	QN---G---IS---
	81	100	112
Hu TGF-β1	QALEPLPIVYYVGRKPKVEQL	SHMIVRSGKCS-	COOH
Hu TGF-β2	QD-E---T-L---I-KTPKI	-----I-KS-K---	
Hu TGF-β3	QD-E---T-L---V-RTPKV	-----V-KS-K---	
CK TGF-β4	QT-D---LP-I---V-RNVRV	-----V-R-A-K---	
Fg TGF-β5	DV-E---P-L---V-RTAKV	-----V-RS-N---	

图2 五种 TGF-β 异构体亚基的一级结构

短横表示五种异构体在此位置上有相同的氨基酸。九个 Cys 用星号(*)标明。TGF-β4 在 N 末端附近插入了两个氨基酸^[13]。

β 具有高度的保守性, 例如人、猪、猴、牛来源的 TGF-β1 完全相同, 并且与鼠的 TGF-β1 只有 4 个氨基酸残基的差异。曾经称为软骨诱导因子的实际上就是 TGF-β1^[3], BSC-1 细胞生长抑制因子和软骨诱导因子 B 就是 TGF-

β2^[5,9]。各种 TGF-β 异构体在许多生物反应中表现相似的能力, 但在另一些反应中表现出 100 倍之多的差异, 如 TGF-β2 对血管内皮细胞和造血祖细胞的生长抑制作用仅仅是 TGF-β1、TGF-β3 的 1%^[10]。5 种 TGF-β 的一级

结构见图2。

二、无活性 TGF- β 复合物的结构

大多数类型的细胞和组织以及培养细胞合成和分泌的 TGF- β 以无生物活性或潜在生物活性的复合物形式出现,包括小分子量的无活性复合物 (small latent TGF- β complex), 大分子量的无活性的复合物 (large latent TGF- β Complex) 和 TGF- β - α_2 -巨球蛋白的复合物 (TGF- β - α_2 M)。通常大、小无活性 TGF- β 复合物是由细胞分泌的,并能在激活后释放出成熟 TGF- β , 而血清中的成熟 TGF- β 与 α_2 M 结合在一起。

1. 分子量小的无活性 TGF- β 复合物

分子量小的无活性 TGF- β 复合物 (105 kD) 由单个基因产物组成^[8]; TGF- β 前体分子的氨基末端 (残基 30—278) 和 TGF- β 前体分子的羧基末端部分 (残基 279—390)。氨基末端部分为前肽段或无活性结合肽段 (latency associated peptide, LAP, 75—80 kD), 羧基末端部分即为成熟 TGF- β (25 kD), 两者各自以二硫键相连形成同型二聚体, LAP 通过非共价键与成熟 TGF- β 相结合, 见图 3^[17]。在生物合成过程中, 信号肽 (残基 1—29) 从前体分子上被去除, 成熟 TGF- β 肽段在两个碱性残基 (Arg 278—Arg 279) 位点通过蛋白水解作用与 LAP 分离, 然后成熟 TGF- β 与 LAP 结合形成复合体^[18]。在哺乳动物细胞中表达的重组 TGF- β ^[19,20] 以及许多类型培养细胞包括 BSC-40 猴肾细胞^[21]、人红白血病 (HEL) 细胞株^[22]、人恶性胶质瘤细胞株^[23] 产生的 TGF- β 都以此种无活性复合物形式存在, 复合物中的 TGF- β 可以是 TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3。

LAP 至少有三个功能: ① 使复合体中 TGF- β 无生物活性。Gentry 等^[19] 发现, 纯化的 LAP 能够重新与成熟 TGF- β 结合, 而被结合的 TGF- β 则丧失生物活性。失活机理目前还不清楚, 从与 LAP 结合的重组 TGF- β 仅有

不到 1% 能为抗成熟 TGF- β 单抗所识别这一点推测, LAP 可能象罩子一样罩住了成熟 TGF- β 分子, 阻碍它与特异性受体相结合。

② LAP 为小无活性复合物的分泌所必需, 单独表达的成熟 TGF- β (不含 LAP) 不能被分泌^[24]。用点突变方法研究表明 LAP 中与小复合物加工、折叠、结构稳定、分泌有关的区域是富含碱性残基的氨基末端, 它通过静电作用与成熟 TGF- β 结合, 这段区域内产生缺失会阻碍 LAP 与成熟 TGF- β 结合^[25]。另外, 在纤维蛋白酶水溶解 LAP 氨基末端之后, 重组无活性复合物的激活才发生^[26]。这也证明了此区域在小复合物稳定性中的作用。③ LAP 中的糖基化残基有重要作用。TGF- β cDNA 分析表明, LAP 中存在三个 N-糖基化位点^[9], 重组表达的多肽在这三个位点 (82、136、176) 均被糖基化, 并且前两个糖链中还含有甘露糖-6-磷酸残基^[27], N-糖基化和甘露糖-6-磷酸残基为小复合物的分泌所必需, 并在复合物的激活中起作用。

2. 分子量大的无活性 TGF- β 复合物

血小板中的 TGF- β 以一种更高分子量 (~235 kD) 而无活性的 TGF- β 复合物形式存在^[28,29]。在 HEL 细胞株^[22]、人恶性胶质瘤细胞株^[23]、骨^[30]、牛平滑肌和内皮细胞^[31] 培养液中也发现了这种复合物, TGF- β 1、 β 2、 β 3 均有大复合物。它有两个不同的基因产物组成: 小无活性 TGF- β 复合物和无活性 TGF- β 结合蛋白 (latent TGF- β binding protein, LTBP, 125—160 kD)。LTBP 通过二硫键连接到小复合物的一个单体上, 见图 3。大复合物中的 LAP 也含有 N-连接糖基和甘露糖-6-磷酸残基, 它们与大复合物的激活有关^[32]。

已有一些研究揭示了 LTBP 的作用^[22]:

① LTBP 与大无活性复合物装配有关。缺少容易分泌的大无活性复合物, 在 LAP 和成熟 TGF- β 之间就会产生错误折叠和异常二硫键, 使复合体成为不能被激活的复合体。② LTBP 与大无活性复合物的分泌有关, 仅仅依靠小无活性

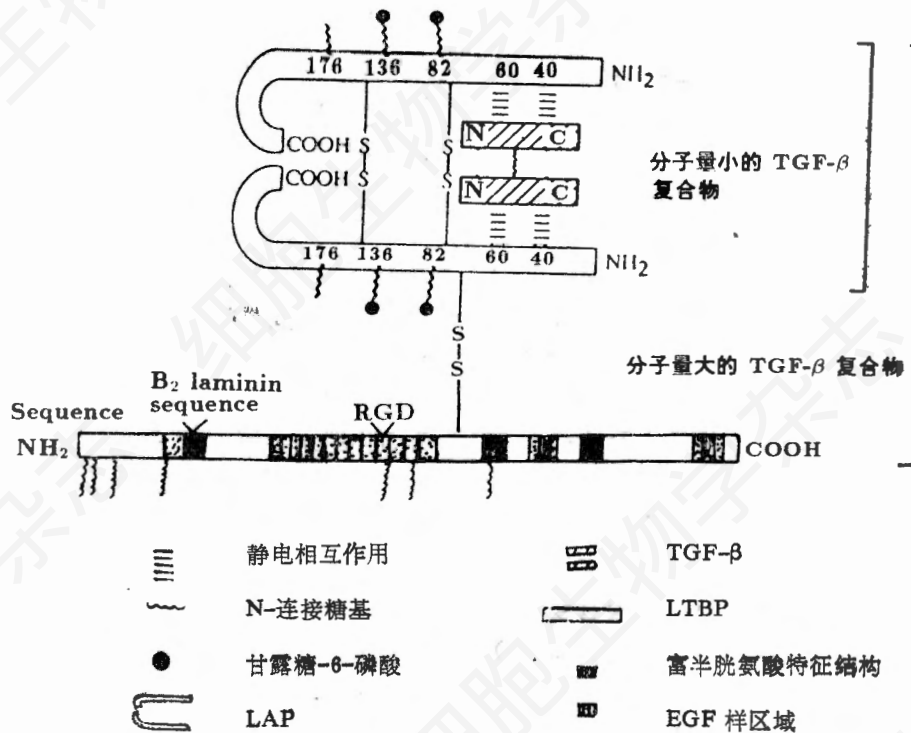


图3 大小无活性 TGF- β 复合物的结构^[17]

本文作者根据 Daopin^[37] 的空间结构在图上对 TGF- β 链间二硫键的数目作了修改。

TGF- β 复合物还不足以分泌。③ LTBP 在激活无活性复合体中起作用。另一方面,从 LTP 的结构推测了 LTBP 的可能作用^[32]; LTBP 的 16 个表皮生长因子(EGF)样重复序列中的两个含 β -羟化精氨酸残基,这是一种罕见的转录后加工修饰,该结构可能行使 Ca^{2+} 结合功能; LTBP 的三个富含 Cys 残基特征区域中的一个含有由 8 个氨基酸残基组成的顺序,它和层粘连蛋白 B 2 链上可能与细胞结合的功能区相同。是否 LTBP 确能行使这两项功能还有待于实验证实。

3. α_2 -巨球蛋白-TGF- β 复合物

基本上所有从无活性复合物中释放出来的成熟 TGF- β 在血浆中均与 $\alpha_2\text{M}$ 结合^[33]。 $\alpha_2\text{M}$ 是一种丰富的血清糖蛋白,含量大约为 2 mg/ml,它与一些血清酶有非特异的结合位点,还能与其它生长因子如碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、血小板衍生生长因子(PDGF)、IL-1 β 、IL-2、IL-6 等结合^[34]。

$\alpha_2\text{M}$ 与 TGF- β 的作用方式还不清楚,但它只与成熟 TGF- β 结合,并且 TGF- β 一旦与 $\alpha_2\text{M}$ 结合即不能被抗成熟 TGF- β 单抗识别^[33]。这种结合可能有两个方面的作用:①能够在产地清除活化 TGF- β 。例如,在炎症期间巨噬细胞分泌的 $\alpha_2\text{M}$ 可以结合多余的成熟 TGF- β ,阻止它与细胞表面受体的无限制结合^[35]。②可以传递活化 TGF- β 到肝脏和其他缺少 TGF- β 受体的组织。小鼠实验表明,与 $\alpha_2\text{M}$ 结合的放射标记 TGF- β 90% 以上的放射活性可在肝脏被回收^[36]。

三、成熟 TGF- β 的高级结构

TGF- β 家族中 TGF- β 2 的高级结构已被阐明,研究工作在瑞士和美国的两家实验室同时进行,论文几乎同时分别在《Science》和《Nature》杂志上发表^[37,38]。X-射线衍射表明在晶体状态 TGF- β 2 的每个亚基是一个扁平、伸长、略微变曲的非球形蛋白,直径大约为 60 Å × 20 Å

$\times 15 \text{ \AA}$ 。亚基的二级结构含 9 个 β 折叠, 分别是 $\beta(1): 15-18$; $\beta(2): 20-23$; $\beta(3): 37-40$; $\beta(4): 42-46$; $\beta(5): 77-80$; $\beta(6): 82-91$; $\beta(7): 96-102$; $\beta(8): 104-106$; $\beta(9): 109-112$ 。这些 β 折叠形成许多短的双股反平行片层, 其中 $\beta 8$ 和 $\beta 9$ 形成最长的反平行片层。二级结构中还有 3 个 α 螺旋, 分别是 $\alpha 1: 4-8$; $\alpha 2: 24-28$; $\alpha 3: 58-68$ 。亚基总的形状有点象带有手指的卷曲左手, 手指由成对伸展的 β 折叠和环构成。 $\beta(6)$ 、 $\beta(7)$ 、 $\beta(8)$ 片层形成第 3 和第 4 个手指; $\beta(2)$ 、 $\beta(3)$ 片层的一部分及 $\beta(2)$ 、 $\beta(3)$ 之间的长环形成第 1 和第 2 个手指; 螺旋 3 的三个圈形成掌跟, 在同一区域的氨基末端和羧基末端紧靠在一起形成手掌; 氨基末端的 10 个氨基酸残基形成姆指, 见图 4^[37]。亚基分子中没有明显的疏水核, 这导致了分子的形状为伸展状, 同时也提示分子在溶液状态唯一的稳定形式为二聚体。

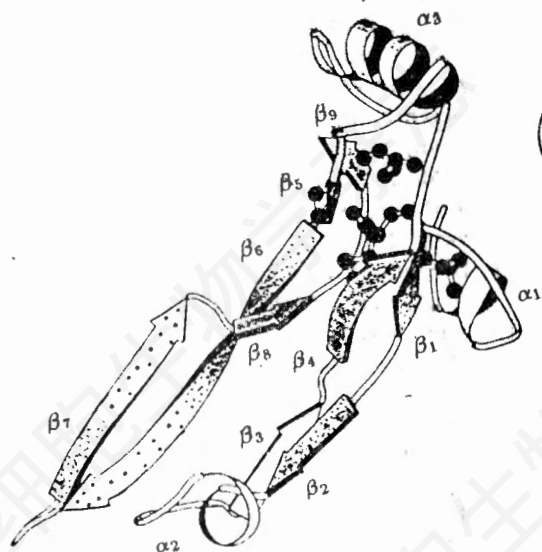


图 4 单个 TGF- $\beta 2$ 亚基的拓扑结构^[37]

TGF- $\beta 2$ 序列中 9 个极其保守的 Cys 对其结构和功能具有重要意义。晶体结构中, 所有 Cys 均形成二硫键, 8 个 Cys 形成四对链内二硫键, 分别在残基 7 和 16、15 和 78、44 和 109、48 和 111 之间, 一个亚基的 Cys 77 和另一个亚基的 Cys 77 形成链间二硫键, 见图 5^[37]。

四个链内二硫键形成一个溶剂基本上不可接近的核区, 此核区的晶体衍射 B 因子很低。四个链内二硫键可接近的侧链 ($C\beta-S-S-C\beta$) 区域在二聚体中测量分别为 0.1、1.9、2.4、0.8 \AA^2 , 平均侧链 B 因子为 20.1、17.2、18.4、17.2 \AA^2 。相反, 链间二硫键则相当暴露, 具有较大的变动性, 其侧链溶剂可接近面积为 58 \AA^2 , 平均侧链 B 因子为 27 \AA^2 。与上述结果相一致, 化学研究已经表明, 两个亚基能在温和还原下被分离。在二聚体的亚基之间存在由大量疏水残基组成的界面, 双重对称性使得在链间二硫键的每一侧产生一个疏水核, 核区内的疏水残基包括 α 螺旋 3 的 Val⁶¹、Leu⁶²、Leu⁶⁴、Tyr⁶⁵、Ile⁶⁸ 和 β 片层的 Ile²²、phe²⁴、Leu²⁸、Trp³⁰、Trp³²、Ile³³、phe⁴³、Ile⁴³、Ile⁸⁸、Leu¹⁰¹、Met¹⁻⁴。在链间二硫键和界面区域疏水核之间有两个溶剂可接近腔, 每一腔中有四个水分子。

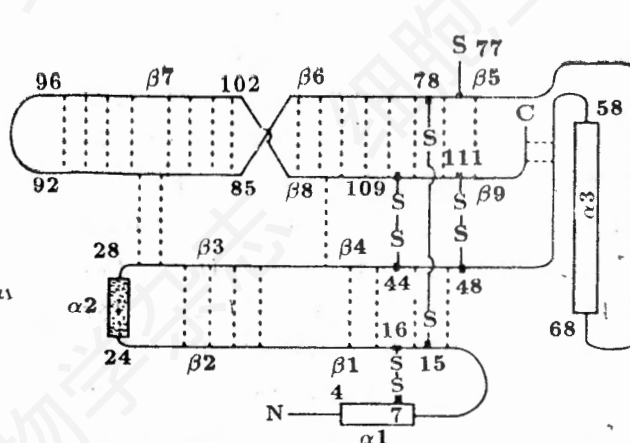


图 5 单个 TGF- $\beta 2$ 亚基一、二级结构示意图, 虚线表示在 β 片层和环中的氢键^[37]

TGF- $\beta 2$ 三维结构的阐明对了解 TGF- β 家族其它成员的结构提供了基础。用 TGF- $\beta 2$ 建立的模型在结构骨架上同样适合于 TGF- $\beta 1$ 序列, 除了在疏水界面上的残基 58 外 (在 TGF- $\beta 2$ 中为 His, TGF- $\beta 1$ 中为 Tyr), 所有的不同处均在表面残基^[37]。这强烈地表明 TGF- $\beta 2$ 和 $\beta 1$ 生物功能上的差异依赖于表面侧链的不同, 而与三维结构无关。TGF- $\beta 2$ 三维结构的

阐明也对了解 TGF- β 结构和功能的关系,尤其是了解与受体结合的部位提供了信息。嵌合 TGF- β 1、 β 2 研究表明,与受体结合专一性方面的差异与残基 40—82 有关^[39]。42 个残基中, TGF- β 1 和 β 2 之间有 14 个残基不同,在用内皮细胞进行的 TGF- β 生长抑制分析中,这 14 个残基与受体介导的不同活性有关,它们在 TGF- β 2 结构中大多数位于亚基掌跟,除了一个残基(His 58)外,所有残基均是表面残基,并且由两个亚基在这一区域的氨基酸残基组成形成了一个表面通道,此通道参与了与受体的反应。Michael^[38]等也指出,可能的受体结合位点可能包括位于凸出环上的侧链表面残基。在这些区域中 TGF- β 1- β 5 序列中的可变性和它们与不同受体类型的亲和性有关。沿双重轴观察有生物活性的 TGF- β 2 可以发现 3—4 个这样的区域,第 1 个区域在 N-末端 Alal-Asp 13,这一区域内集中了 TGF- β 1- β 5 的许多非保守氨基酸。第 2 个区域为 β 片层 A 和 B[即图 4 中的 β (2) 和 β (3)], 25、26、31、35 这些变化残基,极性残基暴露于溶剂中,残基 23、25、26 在 TGF- β 1- β 5 中序列不一致。第 3 个区域是长的 α -螺旋 3 的 C-末端, Thr 67—Ser 73, 其中溶剂可接近的残基 71 是 Glu 或 Gly。第 4 个区域是与 β 片层 C 和 D [图 4 中的 β (6)、 β (7)] 相连的最易弯曲的 β -转角 (Tyr 91—Pro 96)。TGF- β 与受体结合的结合常数在 Pg 摩尔水平^[40], 因此 TGF- β 分子与受体反应必须是非常特异的,目前还不太清楚这些区域是一个还是几个参加结合。天然来源 TGF- β 1, 2 和 TGF- β 2, 3 异型二聚体的发现可以肯定,一个 TGF- β 二聚体能够同时与两个不同的受体(TGF- β R II、TGF- β R III)相结合^[41]。最近 Archer 等^[42,43]用核磁共振对溶液状态 TGF- β 1 二级结构的研究结果表明, TGF- β 1 有三个 α -螺旋区,其氨基酸残基为 Y 58—H 68, F 24—G 29, N 5—F 8, 另外还有一些成对的双链及平行 β 片层,基本上与 TGF- β 2 的晶体衍射结果一致。

参 考 文 献

- [1] Delarco, J. E., Todaro, G. J. 1978, *Proc Natl Acad Sci USA*, 75: 4001—4005.
- [2] Seydin, S. M., Thompson, A. Y., Bentz, H. et al. 1986, *J Biol Chem.* 261: 5693—5695.
- [3] Seyedin, S. M., Segarini, P. R., Rosen, D. M., et al., 1987, *J Biol Chem.* 262: 1496—1499.
- [4] Anita B. Roberts and Michael B. Sporn. Transforming Growth Factor β . In: Bharat B. Aggarwal and Jordan U. Gutterman ed. *Human Cytokines, Handbook for Basic and Clinical Research.* Boston Blackwell Scientific Publications, 1992, 399—417.
- [5] Tucker, R. F., Branum, E. L., Shipley, G. D. et al., *Science*, 1984, 226: 705—707.
- [6] Hanks, S. K. Armour, R., Baldwin, J. H. et al., 1988, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 85: 79—82.
- [7] Holley, R. W., Bohlen, P., Fava, R., et al., 1980, *Proc Natl Acad Sci USA*, 77: 5989—5992.
- [8] Derynck, R., Jarret, J. A., Chen, E. Y., et al., 1985, *Nature*, 316: 701—705.
- [9] DeMartin, R., Haendler, B., Hoeffler-warbinek, K, et al. 1987, *EMBO J.*, 6: 3673—3677.
- [10] Derynck, R., Lindquist, P. B., Lee, A., et al., 1988, *EMBO J.*, 7: 3737; 3743.
- [11] Jakowlew, S. B., Dillard, P. J., Sporn, M. B., et al., 1988, *Mol. Endocrinol.* 2: 1186—1195.
- [12] Kondaiah, P., Sands, M. J., Smith, J. M., et al., 1990, *J. Biol. Chem.*, 265: 1089—1093.
- [13] Joan Massague, 1990, *Annu. Rev. Cell Biol.*, 6: 597—641.
- [14] Cheifetz, S., Weatherbee, J. A., Tsang, M. L. S., 1987, et al., *Cell*, 48: 409—415.
- [15] Dgawa, Y., Schmidt, D. K., Dash, J. R., et al., 1992, *J. Biol. Chem.*, 267, 2325—2328.
- [16] J. Massague, Scheifetz, Laiho., et al., 1992, *Cancer Surveys V 12. Tumor Suppressor Genes, the cell cycle and cancer.*
- [17] John G. et al., *Progress in Growth Fac-*

- tor Research, 1992, 4: 321—335.
- [18] Gentry LE, Lioubin MN, Purchio AF, et al., 1988, *Mol. Cell Biol.*, 8: 4162—4168.
- [19] Gentry LE, Webb NR, Lim GJ, et al., 1987, *Mol. Cell Biol.*, 7: 3418—3427.
- [20] Wakafeld LM, Smith DM, Broz S, et al., 1989, *Growth Factor*, 1: 203—218.
- [21] Lioubin N, Madisen L, Roth RA, et al., 1991, *Endocrinology*, 128: 2291—2296.
- [22] Miyazono K, Olofsson A, Colosetti P, et al., 1991, *EMBO J.*, 10: 1091—1101.
- [23] Olofsson A, Miyazono K, Kanzaki T, et al., 1992, *J. Biol. Chem.*, 267: 19482—19488.
- [24] Gray AM, Mason AJ, 1990, *Science*, 247: 1328—1330.
- [25] Sha X, Yang L, Gentry LE, 1990, *J Cell Biol.*, 110: 1361—1367.
- [26] Lyons RM, Gentry LE, Purchio AF, et al., 1990, *J. Cell Biol.*, 110: 1361—1367.
- [27] Purcho AF, Cooper JA, Brunner AM, et al., 1988, *J Biol. Chem.*, 263: 14211—14215.
- [28] Wakefield LM., Smith DM, Flanders KC, et al., 1988, *J Biol. Chem.*, 263: 7646—7654.
- [29] Pircher R, Jullien J, Lawrence DA, 1986, *Biochem Biophys Res Commcen*, 136: 30—37.
- [30] Jennings JC, Mohan, S, 1990, *Endocrinology*, 126: 1014—1021.
- [31] Flaumenhaft R, Abe M, Sato Y, et al., 1993, *J Cell Biol.*, 120: 995—1002.
- [32] Kazaki T, Olofsson A, Moren A, et al., 1990, *Cell*, 61: 1051—1061.
- [33] O'Connor-McCourt M and Wakefield LM, 1987, *J Biol Chem.*, 262: 14090—14099.
- [34] James K., 1990, *Immun, Today*, 11: 163—166.
- [35] La Marre J, Wollenberg GK, Gonias SL, et al., 1991, *Lab Invest.*, 65: 3—14.
- [36] Lamarre J, Hayes MA, Wollenberg GK, et al., 1991, *J Clin Invest.*, 87: 39—414.
- [37] Sun Daopin, Kand A, Piez, Yasushi Ogawa, et al., 1992, *Science*, 257: 369—373.
- [38] Michael P, Schlunegger and Markus G, Grutter, 1992, *Nature*, 358: 430—434.
- [39] Su Wan Qian, James K. Burmester, June R. Merwin, et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 89: 6290—6294.
- [40] Sela Cheifetz and Joan Massague, 1991, *J. Biol. Chem.*, 266: 20767—20772.
- [41] Xiao-Fam Wang, Herbert Y. Lin, Elinor Ng-Eaton, et al., 1991, *Cell*, 67: 797—805.
- [42] A Sharon J. Archer, Ad Bax, Auita B. Robert. et al., 1993, *Biochemstony*, 32: 1152—1163.
- [43] Archer, S. J., A. Bax, A. B. Roberts et al., 1993, *Biochemistry*, 32: 1164—1171.

1

植物组织和细胞的玻璃化冻存研究

严庆丰* 黄纯农

(杭州大学生物科学与技术系 杭州 310012)

利用液氮超低温(-196℃)冻存是进行植物组织和细胞长期、稳定保存的有效方法。它不仅在日常育种中可以克服各种珍稀、濒危植物资源自然繁衍的困难,而且能在现代生物技术研究中保存各种培养细胞和优良中间实验材料,从而为实验细胞库的建立创造条件。

自从1973年Nag和Street^[1]首次成功地

超低温保存了胡萝卜悬浮细胞以来,已对100多种植物材料进行过超低温保存的尝试,并且发展了快速冷冻法、缓慢降温法、分步降温法、干燥冷冻法等多种降温冷冻的方法^[2-4]。然而目前还没有找到一种能适合所有植物材料

* 现为浙江大学生物医学工程研究所博士生,杭州 310027。