

网腔内G 6 P酶定位相一致,所以心肌细胞的肌浆网在能量提供上也起了很重要的作用。

摘 要

大白鼠心肌细胞的特殊结构——偶联是由肌浆网小管和肌膜或横管所组成。G 6 P酶作为肌浆网的标志酶可以显示偶联的肌浆网小管。在Z线处的偶联有多种形态:二联管、三联管、四联管等。此外,还有横管分支小管和肌浆网小管也组成偶联,平行于肌原纤维,它能连接一个肌节二侧的Z线处偶联,形成了一个立体交织的偶联网。丰富的偶联网是心脏肌肉收缩同步化的物质基础。另外,G 6 P酶在肌浆网上定位,表明肌浆网与糖原分解有着密切的关系。

图 版 说 明

- 图 1 常规染色的切片,高倍放大。由横管(t),连接肌浆网(s)和间隙内电子致密物质(←)共同组成的偶联。× 80000
- 图 2—8 肌浆网(s)均有G 6 P酶反应,有高密度电子产物沉淀。
- 图 2 由肌膜凹入细胞内形成的横管(t)和其旁连接肌浆网(s)形成偶联,糖原(←)分布在偶联周围,在左下角横管(t)旁有肌浆网组成的二联管。× 24000
- 图 3 切片正好和肌浆网呈切线方向,显示

肌浆网(s)呈网状分布,在横管(t)旁有连接肌浆网附着,肌浆网小管之间是相通的。在肌浆网小管间有许多糖原(←)。× 20000

- 图 4 二条横管(t)和一条连接肌浆网(s)组成的三联管,有糖原颗粒在其周围。其旁为线粒体(m)。× 580000
- 图 5 二条横管(t)和二条连接肌浆网(s)相互间隔的四联管。× 58000
- 图 6 横管分支小管由粗变细,细的和肌浆网小管(s)一样粗,分布到A带。左上方为二联管(t)。× 24000
- 图 7 此横管分支小管(t)直通二端E线,其旁有连接肌浆网(s)。× 20000
- 图 8 横管分支小管(t)和肌浆网组成偶联,直通肌节二侧Z线处偶联。× 20000

参 考 文 献

- [1] Sommer, J. R. and Johnson, E. A., 1968, *J. Cell Biol.* 36: 497.
- [2] Sommer, J. R. and Johnson, E. A., 1970, *Amer. J. Cardiol.* 25: 184.
- [3] Rayns, D. G. et al., 1975, *J. Ultrastruct. Res.* 50: 306.
- [4] Forbes, M. S. et al., 1977, *J. Ultrastruct. Res.* 58: 50.
- [5] 叶世隽等, 1986, *解剖学报* 17: 416.
- [6] 汤雪明, 1985, *细胞生物学杂志* 7 (增刊): 3.
- [7] Forssmann, W. G. et al., 1970, *J. Cell Biol.* 44: 1.
- [8] Watanabe, J. et al., 1986, *Anat. Rec.* 214: 25.

向日葵生活胚囊中受精现象的荧光显微观察

周 埏

(武汉大学生物系)

迄今被子植物受精过程的观察主要依靠固定材料获得。直接观察生活材料的受精现象无疑地可从另一角度提供新的资料,有助于认识和控制这一重要过程。然而由于技术困难,文献中仅有个别报道。Poddubnaya-Arnoldi 在兰科植物的生活胚珠中观察过受精过程^[1]。Erdelska 以菊头桔梗和雪花莲的胚珠为材料,用显微电影记录受精的动态变化^[2]。他们的经验

在于选择特殊的植物材料,利用珠被透明的有利特点,透过胚珠组织观察受精的形态变化。显然,这不可能适用于大多数植物。

当前,胚囊与胚囊原生质体分离的工作已有相当进展^[3-8]。我们用酶法分离出生活胚囊

* 中国科学院科学基金资助课题。

** 承 Y. Yamada 教授惠赠所需的酶,谨致谢忱。

时即推测这一实验系统的建立将有助于开展过去难以实现的生活胚囊的研究与操作。观察生活状态下的受精现象应是其发挥作用的一个方面。为此,本实验从正在受精的新鲜胚珠中分离胚囊,结合荧光超活染色技术,首次在生活胚囊中观察到受精过程各阶段的图象。

实验材料是向日葵(*Helianthus annuus* L.)将授粉后的胚珠定期分批进行胚囊酶法分离。酶解流程与前文^[4]相似,略有修改:酶液含3%果胶酶、2%纤维素酶、2%蜗牛酶、1%果胶溶酶 Y-23、10%蔗糖、200 $\mu\text{g/ml}$ KH_2PO_4 、83 $\mu\text{g/ml}$ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 20 $\mu\text{g/ml}$ 荧光染料 Hoechst 33258(H 33258), pH 5.8。酶解约4—5小时。同上浓度的 KH_2PO_4 、 CaCl_2 和蔗糖溶液作洗液,洗涤和离心各三次,将富集的细胞液制作临时制片。在 AO FLUORESTAR 110 型落射式荧光显微镜的 2073 滤光组合条件下观察与摄影。

用相差或干涉差显微术作胚囊活体观察,无法区分精子和胚囊与花粉管的内含颗粒。而用荧光显微术达到了在生活胚囊中观察受精现象的目的。荧光染料 H 33258 适于活体染色,与 DNA 分子作专一性结合,呈现特有的绿色荧光,所以突出显现细胞核。胚囊细胞质只有微弱的黄色自发荧光,起了背景衬托作用,便于观察精子在胚囊中的位置。

胚囊细胞形成的早期,所有成员细胞核均有明亮荧光,如图 1 中卵核与次生核(助细胞核不在此光学切面)。成熟胚囊内助细胞核仍具荧光,但雌性核均为 H 33258 负反应(图 2、3)。花粉管进入胚囊后,在助细胞中可见具明亮荧光的一对精子(图 2)。图 3 示另一胚囊中的一对精子。它们上下重叠,必须调节焦距才能分辨。精子进入雌性核内进行融合,由于后者仍为 H 33258 负反应,可以看到雄性染色体正在雌性核一侧逐渐松散,荧光已不如前集中明亮(图 4、5)。此外,不止一次看到附加精子进入已受精的胚囊。先进入的精子正与雌性核融合,荧光弱而分散,附加精子荧光强而

集中(图 6)。精卵融合后,合子核开始有弱的荧光反应,荧光颗粒大多分布在核膜内侧(图 7)。合子开始第一次横分裂,处于分裂后期的两群染色体荧光反应增强(图 9)。初生胚乳核很快开始分裂。当合子刚刚形成,一对胚乳核已进入新的分裂(图 7)。以后胚乳核逐渐增多。图 8 示 4 个胚乳核处于分裂间期。图 10 示多个胚乳核正在分裂。胚乳核集中分布在中央细胞的珠孔端,合点端细胞质稀薄。以后进一步增殖,胚乳核才充满胚囊。

图版说明

向日葵分离生活胚囊的 H33258 荧光显微摄影。各图均按照珠孔端朝上,合点端朝下排列。放大倍数除图 10 为 $\times 350$ 外,其余均为 $\times 450$ 。

a: 附加精子; e: 卵核; en: 胚乳核; m: 精核; s: 助细胞核; se: 次生核; z: 合子核。

图 1 胚囊形成初期,卵细胞核与次生核具荧光。

图 2 授粉后的成熟胚囊,卵核和次生核无荧光,一对精子在助细胞内。

图 3 与图 2 相似的另一胚囊,在助细胞内的一对精子上下重叠,显示强烈荧光。

图 4 一对精子正在分别与卵细胞核和次生核融合,精子物质正在逐渐分散。

图 5 与图 4 相似的另一胚囊。

图 6 胚囊内有一对附加精子,先进入的另一对精子正在与雌性细胞核融合。

图 7 合子核有弱荧光反应,一对胚乳核正在分裂,有强烈荧光。

图 8 合子核有弱荧光,4 个胚乳核处于间期。

图 9 合子第一次分裂后期,4 个胚乳核在不同光学平面。

图 10 多个胚乳核正在分裂,有很明亮的荧光。

参考文献

- [1] Poddubnaya-Arnoldi V. A., 1960, *Phytomorphology*. 10: 185-198.
- [2] Erdelska O., 1983, *Microcinematographical investigation of the female gametophyte, fertilization and early embryo and endosperm development*. In: *Fertilization and Embryogenesis in ovulated Plants*. pp. 49-51. VEDA, Bratislava, Czechoslovakia.
- [3] 周 嫦、杨弘远, 1984, *实验生物学报*, 17: 141-144.
- [4] 周 嫦, 1985, *植物学报*, 27: 258-262.

- [5] Zhou C. ane H. Y. Yang, 1985, *Planta*. 165: 225—231.
 [6] 胡适宜、李乐工、朱 激, 1985, *植物学报*, 27: 337—344.

- [7] 李乐工、胡适宜, 1986, *实验生物学报*, 19: 255—259.
 [8] Mol R, 1986, *Plant Cell Reports*. 3: 202—206.

白细胞介素的检测

劳 红 刘国良

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

白细胞介素(Interleukins, 简称 ILs)是一类在淋巴细胞间传递信息, 刺激淋巴细胞或其它前体细胞增殖分化的介质, 主要来源于白细胞。

到目前为止, 正式命名的白细胞介素有四类, 分别为白细胞介素-1(IL-1)、白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-3(IL-3)以及由第六届国际免疫学会定名的 T 细胞来源的有关 B 细胞增殖分化的因子——白细胞介素-4(IL-4)^[1]。

随着白细胞介素研究工作的日趋深入, 其相应的检测手段则显得愈为重要, 且在不断地完善和提高。现将其简介如下:

一、白细胞介素-1 的检测

IL-1 的来源较为广泛, 主要由活化巨噬细胞分泌。在体外, 它能直接杀伤某些肿瘤细胞, 同时还能增强单核细胞、NK 细胞、细胞毒性 T 细胞的肿瘤杀伤活性, 诱导 T 细胞分泌 IL-2, 从而引起 T 细胞的增殖, 调节 B 细胞的分化。此外, IL-1 还能作用于其它多种组织细胞, 因而具有广泛的生物学效应^[2]。

IL-1 能单独或与低剂量的致分裂原一起协同刺激胸腺细胞的增殖, 也可刺激某些 T 细胞株释放 IL-2, 从而维持 IL-2 依赖的细胞株的生长。其作用机理是: G_0 期(休止状态) T 细胞在低剂量的致分裂原作用下活化进入 G_1 前期, G_1 前期 T 细胞又在 IL-1 作用下进入 G_1

后期, 同时增加了细胞表面 IL-2 受体的表达以及 IL-2 的分泌, IL-2 再与 T 细胞表面 IL-2 受体相互作用从而使 T 细胞由 G_1 后期进入 S 期, 引起 T 细胞的增殖^[3]。

(一) 胸腺细胞增殖检测^[4]

1. 胸腺细胞悬液的制备

取 6—10 周龄 C_3H/HeJ 小鼠的胸腺, 制备胸腺细胞, 洗涤三次, 用培液将细胞浓度调为 1.5×10^7 细胞/ml, 培液含 5% 小牛血清, 2.5×10^{-5} mol/L-巯基乙醇。

2. Con A 的亚适剂量

在低剂量致分裂原(Con A 等)与 IL-1 协同刺激胸腺细胞增殖检测中, 必须作一 Con A 剂量曲线, 观察其对胸腺细胞增殖影响, 从而选取 Con A 作用的亚适剂量, 即能够激活胸腺细胞但不引起它明显增殖的 Con A 浓度。

取 96 孔微量细胞培养板, 在小孔中加入 100 μ l Con A, 最终浓度分别为 0.5 μ g/ml, 1 μ g/ml, 2 μ g/ml, 5 μ g/ml, 10 μ g/ml, 复孔三个, 并不加 Con A 的培液作对照, 随后于上述各孔内加入 100 μ l 的胸腺细胞(1.5×10^6), 37°C , 5% CO_2 温育 72 小时, 收获前 12 小时每孔加入 50 μ l 0.5 μ Ci 的 $^3\text{H-TdR}$, 到时用半自动微量细胞收集仪收集细胞于玻璃纤维滤纸上, 用液闪计数仪测定 $^3\text{H-TdR}$ 掺入量。数据(CPM)以三个复孔的平均值士标准差表示, 据此选择 Con A 作用的亚适剂量, 通常为 0.5 μ g—1.0 μ g/ml。

3. 样品检测

96 孔微量细胞培养板的培养小孔内加入 100 μ l 的胸腺细胞(1.5×10^6), 50 μ l 亚适剂量的 Con A, 50 μ l 各种稀释度的待测样品, 总体积 200 μ l, 同时以单独