

escu 等^[3]曾指出, 使用鞣酸的浓度及处理时间应根据样品的特性和大小而决定, G. Takahashi^[5]报道, 延长处理时间会使组织受到损伤。因此我们设想, 本文所述的缺点在降低鞣酸浓度或缩短处理时间后有可能避免。

另外在现今的生物透射电镜术中, 有人在常规醛类和铀酸固定之后脱水之前, 再用醋酸铀固定和染色, 使细胞的细微结构保存得更好, 反差也有所增加。但醋酸铀具有放射性和化学毒性^[6], 操作时务必小心, 否则会有损工作人员的健康或污染环境。实验表明, 鞣酸处理不仅具有优于醋酸铀处理的效果, 而且对人体无害。因此我们认为, 在常规双固定之后脱水之前增加一道鞣酸处理, 对保存植物细胞膜系统是良好效果的。

参 考 文 献

[1] Mizuhira, V., and Y. Futaesaku. 1971.

Proc. 29th Ann. Meeting EMSA. 494.

[2] LaFountin, J. R. Jr. and H. R. Tomas. 1975. Proc. 33th Ann. Meeting EMSA. 628—629.

[3] Simionescu, N., and M. Simionescu. 1976. *J. Cell Biol.*, 70, 608—621.

[4] Simionescu, N., and M. Simionescu. 1976. *J. Cell Biol.*, 70, 622—633.

[5] Takahashi, G. 1978. *J. Electron Microsc.* 27, 1:66.

[6] Lewis, P. R. and D. P. Knight. 1977. in *Staining Methods for Sectioned Material* (Glauert, A. M., ed.) North-Holland, Amsterdam. p.45.

图 版 说 明

图 1,3 大米草种子胚细胞, 对照组。

图 2,4 大米草种子胚细胞, 处理组。

以上图 1—4 皆系荷兰 Philips EM-400 型电镜拍摄, 总放大 17,000×。

图注字说明: ER—粗面内质网; L—脂滴; M—线粒体; N—细胞核; P—质体; R—核糖体。

凝 集 素 与 细 胞 凝 集

II 细胞膜在凝集反应中的作用

朱正美 顾天爵

(上海第一医学院生物化学教研室)

凝集素对细胞的凝集作用可被秋水仙碱、长春新碱和松胞素 B 所抑制^[1,2]; 已知前两种药物能破坏微管, 而松胞素 B 可分解微丝。因此认为凝集作用是和微丝、微管相关。此外, 用荧光素、酶、铁蛋白或血蓝蛋白标记的凝集素与细胞作用, 发现凝集素在正常细胞表面是随机分布的; 在肿瘤细胞表面则是成簇分布的。许多实验证明细胞表面受体的成簇或成帽需要有完整的微丝及微管。这就是说凝集素在微丝和微管的作用下, 使表面受体成簇, 造成局部受体的浓聚, 终于发生细胞凝集。这些观察结

果, 支持微丝与微管在细胞凝集中起主导作用的观点。但是, 另有一些报道则认为: 细胞膜本身的组成或其理化性能是最关键的^[3-7]。

为了研究细胞凝集作用的机理, 我们通过实验对上述两类不同见解进行比较。

材 料 和 方 法

(一) 试剂 伴刀豆球蛋白 ConA (Pharmacia 产品), 植物血凝素 PHA (盐水提取粗制品), 秋水仙碱 (昆明制药厂产品), 松胞素 B (CalBiochem 产品)。

(二) 材料 细胞来源同前文^[8]。

细胞膜的制备——组织经灌洗去血, 剪碎, 每克组

织加入 10 毫升冷介质液 (含 0.1mMNaHCO_3 及 0.5mM CaCl_2)。用玻璃匀浆器反复研磨直至相差镜下见细胞基本破碎, 于 $0-4^\circ\text{C}$ 600g 离心 10—15 分钟, 吸出上清液, 沉淀加约 10 倍体积的介质液再匀浆, 离心。合并两次上清液, 再于 0°C 3000g 离心 10—15 分钟, 去上清液, 沉淀再洗两次, 即得粗制细胞膜, 适当稀释制成悬液。细胞膜悬液浓度以涂片在相差镜下见膜片均匀致密分布为度。

反应体系及结果判断: 反应体系同前文^[8]。判断标准根据细胞膜形成凝块的大小及分散存在的细胞膜碎片的多少, 用 +、- 号表示(表 1)。

表 1 细胞膜凝集反应判断标准

凝集反应强度	相差镜下所见
-	颗粒基本均匀分散
±	颗粒基本分散, 有少量凝集小块
+	有较多凝集小块, 但仍多分散颗粒
++	多量凝集小块, 有少量大块, 分散颗粒减少
+++	明显凝集, 团块大, 分散颗粒减少
++++	各凝块间相连成网, 几无分散颗粒

结果与讨论

(一) 细胞膜与其相应细胞凝集效应的比较

组织匀浆及反复离心和洗涤获得细胞膜粗制品, 此时膜下骨架结构已基本破坏, 用此细胞膜粗制品观察凝集效应, 应能初步排除膜下结构作用的影响。表 2 是平行观察细胞膜及其相应细胞对凝集素的凝集效应。结果表明, 两者凝集效应相仿, 细胞凝集则膜亦凝, 细胞不凝, 其膜也不凝。只是在凝集程度上, 细胞膜较弱。这可能是在细胞膜制备过程中溶酶体内的一些蛋白酶及糖苷水解酶释放出来, 破坏了膜上的一些组分所致。

(二) 细胞膜与细胞凝集效应与凝集素浓度及保温时间的关系

图 1 及图 2 为胎肝细胞及其细胞膜在不同浓度 ConA 中的凝集强度曲线, 随着凝集素浓度的增加及保温时间的延长, 两者都表现出凝集程度加强。结果提示凝集素浓度及保温时间对细胞膜与细胞凝集效应的影响是相同的。

表 2 完整细胞及细胞膜凝集性能的比较

细胞类型	Con A			PHA		
	浓度 $\mu\text{g/ml}$	保温时间 (分)	凝集强度	浓度 $\mu\text{g/ml}$	保温时间 (分)	凝集强度
胎肝细胞 (6月) ^a	30	30	+	30	30	+~++
	60	30	+	30	30	+
胎肝细胞膜 (5月) ^a	30	30	++	30	15	+++
	60	60	+	30	30	+
胎肾细胞 (7月) ^a	30	15	++	30	15	++
	30	15	+	30	15	++
胎胸腺细胞 (6月) ^a	30	15	++			未测
	30	15	++			未测
S ₁₅₀ 细胞 (10天) ^b	30	30	+	30	30	++
	30	45	+	30	45	+
正常小鼠肝细胞	60	30	-	60	30	-
	60	45	-	60	45	-

a 胎月龄。 b 肿瘤接种后时间。

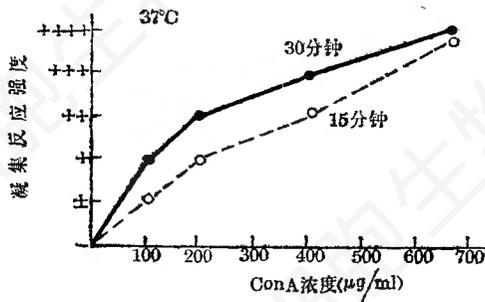


图1 ConA浓度及保温时间对胎肝细胞凝集效应的影响

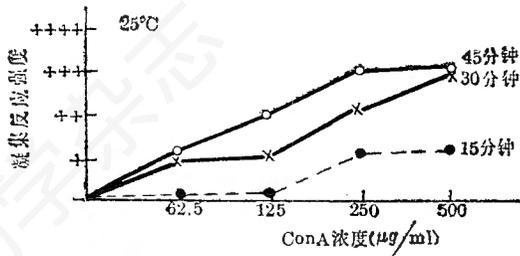


图2 ConA浓度及保温时间对胎肝细胞膜凝集效应的影响

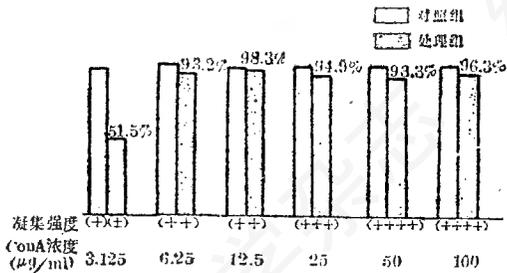


图3 秋水仙碱对HepA凝集效应的影响

反应体系: HepA 细胞 $2.5 \times 10^6/ml$

对照管不加秋水仙碱; 处理管加 $10^{-4}M$ 秋水仙碱。两组试管在 $37^\circ C$ 预保温 30 分钟后冰浴停止反应。细胞再加入不同浓度 ConA, $37^\circ C$ 保温 15 分钟后观察凝集反应。除 ConA 浓度为 $3.125\mu g/ml$ 对照和处理凝集强度有差异外, 其余浓度对照和处理凝集强度都相同

(三) 秋水仙碱及松胞素 B 对腹水型肝癌细胞(HepA)ConA 凝集效应的影响

1. 秋水仙碱对 HepA 凝集效应的影响

如图 3 所示, 秋水仙碱处理前后的两组结果对比, 经 $10^{-4}M$ 秋水仙碱处理后, 仅在低浓度 ConA 液(大约 3 微克/毫升)中对 HepA 的凝

集反应有一定抑制作用, 其它各管无明显差别。延长 HepA 与秋水仙碱预保温时间至 60 分钟, 其结果亦相同。上述结果表明仅在 ConA 浓度极低时, 微管对凝集效应有一定影响, 当 ConA 浓度稍高时, 微管的影响作用就完全消失。

2. 松胞素 B 对 HepA 凝集效应的影响

如图 4 表明 HepA 细胞经 10 微克/毫升松胞素 B 预保温 30 分钟, 在 $6.25-25$ 微克/毫升 ConA 中, 细胞的凝集效应与未处理前相同, 未见抑制作用。

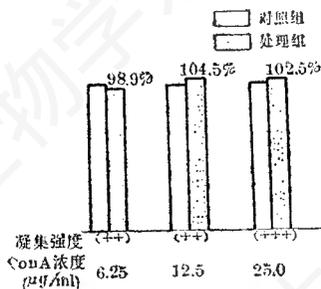


图4 松胞素 B 对 HepA 凝集效应的影响

反应体系: 同图 1, 加入松胞素 B 浓度为 $10\mu g/ml$

3. 秋水仙碱与松胞素 B 同时作用时对 HepA 凝集效应的影响

由图 5 可见 HepA 在同时加入微丝与微管破坏剂后, 在大约 3 微克/毫升 ConA 中对细胞凝集有一定抑制, 但 ConA 浓度自 6.25 微克/毫升至 25 微克/毫升

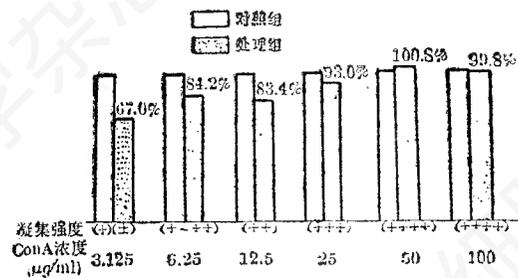


图5 秋水仙碱与松胞素 B 对 HepA 凝集效应的影响

反应体系: HepA 细胞 $2 \times 10^6/ml$

对照管不加秋水仙碱及松胞素 B; 处理管加 $5 \times 10^{-5}M$ 秋水仙碱 $5\mu g/ml$ 松胞素 B, 于 $37^\circ C$ 预保温 60 分钟后冰浴停止反应, 细胞加入不同浓度 ConA 液中 $37^\circ C$ 保温 15 分钟观察凝集反应

范围内,其抑制作用甚微。

综上所述,不论是细胞膜或者完整细胞经秋水仙硷及松胞素 B 处理后所观察到的结果,都证明膜下骨架结构对凝集效应虽有一定影响,但其影响程度甚微,而提示细胞对凝集素发生凝集作用的决定因素应是细胞膜本身的性质。考虑到凝集素与糖特异性结合的特性,同时已有许多资料表明细胞癌变后细胞膜上的糖蛋白或糖脂有明显的变化^[9-12],因此我们认为细胞表面膜上含糖组分的变化与凝集效应之间的关系,应是更值得关注的问题。

小 结

(1) 细胞膜与完整细胞对 ConA 的凝集效应相似; HepA 细胞经秋水仙硷、松胞素 B 等处理后和处理前与 ConA 的凝集效应亦相类同。

(2) 细胞膜本身的性质是细胞对凝集素发生凝集效应的决定因素。

参 考 文 献

- [1] Madyastha, K. R., et al., 1977. *Exp. Cell Res.* 110: 127.
- [2] Loor, F., 1973. *Exp. Cell Res.* 82: 415.
- [3] Hynes, R. O., 1973. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70: 3170.
- [4] Pearlstein, E., 1977. *Exp. Cell Res.* 109: 95.
- [5] Mintz, G., and Glasser, L., 1977. *J. Cell Biol.* 79: 132.
- [6] Hannah, Ben-Bassat., 1977. *Cancer Res.* 37: 1307.
- [7] Allan, F. H., et al. 1974. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71: 3115.
- [8] 朱正美, 顾天爵, 细胞生物学杂志(印刷中)。
- [9] Hakomori, S-I., and Murakami, W. T., 1968 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 59: 254.
- [10] Pearlstein, E., 1977. *Exp. Cell Res.* 109: 95.
- [11] Bromwell, M. E. and Harris, H. 1978. *Proc. R. Soc. Lond. B* 201: 87.
- [12] Bromwell, M. E. and Harris, H. 1980 *Proc. R. Soc. Lond. B* 203: 93.

稗草(*Echinochloa crus-galli* L)叶片、 叶鞘、幼穗和茎再生植株的诱导*

戚秀芳 赵成章

(浙江省农业科学院水稻所生理组)

稗草(*Echinochloa crus-galli* L)是稻田的主要杂草之一,也是畜牧业的优良饲料和酿酒工业原料。过去人们往往把稗草作为稻田的除莠对象进行研究^[1],而忽视了对稗草本身所具备的许多优异特性的研究和利用。实践证明,稗草具有光合效率高(为 C₄ 植物)、早熟、抗性强、适应性广、长势旺、根系发达、吸肥力强等特点。因此,人们早有利用这些特性的想法和研究^[1]。例如,有人利用稗草与水稻杂交以获得抗性强(特别是抗病性),适应性广的水稻新品种,但由于遗传等方面的原因,收效不

大。本文主要通过对稗草各器官的组织培养,特别是叶片、叶鞘外植体的组织培养,以探索它的潜在利用可能性和实用价值。试验结果表明,稗草各器官外植体都能迅速地形成愈伤组织,继而分化产生大量完整植株,这可能对禾本科作物的叶肉细胞原生质体培养和细胞杂交及作物育种具有一定的意义。现将试验结果报道于下。

* 郑康乐同志参加部分工作。