

## 植物细胞基因工程研究的现况和问题

罗士韦 许智宏 白永延

(中国科学院上海植物生理所细胞生理研究室)

现代生物学无论在理论上和方法上所取得的突飞猛进发展正给植物科学以巨大的推动。由于植物细胞培养、突变体选择、原生质体和细胞融合等方面的研究迅速进展<sup>[1]</sup>, 以及DNA分子体外重组和基因无性繁殖等技术的引入<sup>[2,3]</sup>, 已使利用培养的原生质体或细胞作为实验系统, 来进行植物细胞的遗传操作成为植物细胞生物学中一个十分活跃的生长点<sup>[4]</sup>。人们期望通过体细胞融合克服种、属间杂交的不亲和性, 而DNA重组技术则使更大范围内进行基因转移成为可能, 培养的植物细胞具有的全能性更使这类工作具有吸引力, 未来将这些技术与常规的遗传育种方法配合可望有效地在分子和细胞水平上进行作物改良的实验研究。

植物细胞的基因工程研究是指用分子生物学和细胞生物学的方法, 通过特定的载体(质粒、病毒、噬菌体等)或技术(如用脂质体)引入受体细胞使之发生遗传转化。由于最后希望获得的是转化了的植物, 所以植物细胞的基因工程与微生物的基因工程有所不同, 它包括了从分子、细胞到整体水平等方面的工作。其研究的内容可概括为: (1) 寻找和发展适合于进行植物细胞转化的载体系统; (2) 特定基因的分离, 然后用DNA体外重组技术将外源DNA(目的基因)引入合适的载体, 进行基因的无性繁殖(gene cloning); 和(3) 选择合适的受体系统(如培养的细胞或原生质体), 引入外源遗传物质, 选择转化了的细胞, 并使之再生成植株。下面分别就这几方面的研究作简单介绍。

## 植物细胞转化的潜在载体

把外源DNA及其他大分子直接引入植物的幼苗、种子和培养细胞, 以获得转化的植物

细胞的早期工作已受到非议。这多半是由于技术和方法上的问题以及选用了不适当的受体系统所引起的。然而, 用外源DNA转化真核生物细胞的研究在培养的动物细胞和酵母中均已成功的例子。病毒、质粒、噬菌体、细胞器DNA和细菌等可能作为植物细胞的基因载体。一个有功效的理想载体, 应带有易于鉴别的遗传标记, 必须能够把外源遗传物质带入受体细胞, 并以某种形式使之在受体细胞内复制; 使外源DNA插入受体细胞的基因组, 或使之能单独地在受体细胞中自主地增殖。在这方面, 根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)的Ti质粒和若干植物DNA病毒(如CaMV-花椰菜花叶病毒等)受到人们极大的关注。

早在1911年就已知根癌农杆菌与冠瘿瘤(crown gall)的形成有关。在植物组织培养研究的历史上, 冠瘿组织一直是一个重要的实验材料。根癌农杆菌可以使大多数双子叶植物和多种裸子植物形成肿瘤。在植物冠瘿瘤研究上的一个突破是发现了该菌所含的一个大的质粒(致瘤质粒—Ti plasmid)与肿瘤形成有关, 该质粒的分子量为 $95-156 \times 10^6$ 道尔顿。致瘤菌株失去此质粒时即失去致瘤性。冠瘿组织形成一类特殊的化合物opine: 章鱼碱(octopine)、胭脂碱(nopaline)、或农杆菌碱(agropine)。冠瘿组织的生长通常不需要外源激素。决定这些特性的基因均为Ti质粒所携带<sup>[5]</sup>。通过DNA分子杂交进一步证实了Ti质粒DNA的一部分即T-DNA(transferred DNA)整合进入植物细胞核的基因组, 而不是进入细胞器(叶绿体和线粒体)的DNA中, 而且合成何种特异的opine化合物即由T-DNA决定。

上述一系列重要的发现使这一质粒成了植物基因工程中引人注目的潜在载体。用根癌农杆菌感染培养的细胞或由原生质体再生的细胞<sup>[6,7]</sup>,或在PEG(或PVA)作用下,把用溶菌酶处理后形成的根癌农杆菌的原生质球体(spheroplast)引入原生质体<sup>[8]</sup>,或在聚L-鸟氨酸存在下或是在高pH/Ca<sup>++</sup>条件下直接把Ti质粒引入原生质体<sup>[9,10]</sup>,以引起植物细胞的转化均已经成功。由此,用引入Ti质粒以进行植物细胞转化研究时,原则上可以考虑用两种方法,即(1)将外源DNA(目的基因)插入Ti质粒,然后用之直接引入植物细胞(原生质体);和(2)将含有改建了的质粒的根癌杆菌感染植物组织或细胞。植物肿瘤组织,无论是由不同种间染色体组的相互作用或由Ti质粒引起的,在培养时均无需外加激素,这一特性在第一个植物体细胞杂种的选择系统中早就得到了应用<sup>[11]</sup>。除此之外,Ti质粒所致的肿瘤的其他特征,如催化opine合成的酶(LpDH—lyso-pine脱氢酶等)的活性和产生的opine化合物本身均可用作遗传标记<sup>[12,13]</sup>。用Ti质粒作为基因载体尚有几个问题有待解决。首先是在大多数情况下,由octopine型的肿瘤很难诱导形成植株,有限的再生能力通常仅限于形成nopaline的畸形瘤(teratoma)。其次是T-DNA在有性过程中的稳定性问题。早先的报道表明转化组织再生的植株的后代或由这种再生植株的花药培养形成的单倍体中,无论在肿瘤病理上或生化上均未见有冠瘿组织的特性<sup>[14]</sup>。但新近的一些报道显示了希望,即T-DNA至少在部分植株中可以通得过减数分裂<sup>[15,16]</sup>。通过活体内重组技术在遗传上改变Ti质粒,然后再用整体细菌感染细胞以引入改变了的质粒,可能是解决上述问题的一条途径。已有试验证明能够转移到具有广泛寄生范围的质粒pRP4上的转座子Tn7可以嵌入nopaline型菌株T37的Ti质粒的T-DNA片段中<sup>[17]</sup>。由于Tn7带有耐链霉素、spectinomycin和三甲氧苄二氨嘧啶(trimethoprim)

等抗菌素的遗传标记,所以可以根据这些特性选择出转接合子(transconjugant),即带有Tn7 DNA顺序的Ti质粒。后者仍可诱导烟草形成肿瘤,但不形成nopaline。DNA分子杂交表明在植物肿瘤细胞中存在着完整的Tn7,至于转座子上的基因在肿瘤细胞中是否被转录或进而被翻译仍有待观察。用不同的转座子插入octopine型质粒的T-DNA以得到不同的Ti质粒的变种,也已有报道<sup>[18,19]</sup>。有意思的是由Tn7插入octopine型Ti质粒B6S3的T-DNA片段中所产生的一些pTi变种,仅具有弱的致瘤性,但其T-DNA插入植物细胞基因组的特性不变<sup>[18]</sup>。用其中一个变种pGV2100诱导形成的烟草肿瘤可以再生大量的苗,观察到其中一株具有LpDH活性,并可以形成正常的开花植株。再生的苗及由之营养繁殖形成的植株群体均含有T-DNA和LpDH活性。对由花药培养形成的小植物进行LpDH活性试验表明41%的植物呈阳性反应。通过自交,或与正常的烟草杂交发现LpDH特性可以通过花粉和卵细胞两者传递,是一符合孟德尔分离律的显性因子<sup>[16]</sup>。用Ti质粒进行细胞转化的一个颇为轰动的消息来自美国威斯康星大学T.Hall的实验室,他们与美农业部研究室的Kemp合作,宣称已把菜豆的贮藏蛋白——云扁豆蛋白(phaseolin)的基因插入T-DNA,由带有该基因的根癌农杆菌诱导形成的向日葵肿瘤组织中发现有云扁豆蛋白基因的转录产物,但没有被翻译,“向日葵”(sunbean)的名称由此产生<sup>[20]</sup>。尽管不少人对此仍持怀疑,但这方面的研究无疑地正在打开一个新的局面。Ti质粒的另一个缺点是它至少在整体植物上不能诱导禾谷类植物形成肿瘤。这是由于禾谷类植物缺少双子叶植物典型的伤害反应,还是由于其细胞壁上缺少特定的细菌结合位点仍不清楚。将分离的Ti质粒直接引入禾谷类植物的原生质体,可否引起转化也有待证实。

新近,关于发根农杆菌(*Agrobacterium*

*rhizogenes*)的 Ri 质粒(诱根质粒—Root-inducing plasmid)发表了一篇引人兴趣的报告<sup>[21]</sup>。早就知道此菌可以引起多种植物再生形成大量根。由于在这种根中发现也有 opine, 说明其质粒可能也有 T-DNA。用这种菌感染胡萝卜的组织切块诱导形成的根中已发现有 T-DNA, 说明 Ri 质粒也可将其 T-DNA 插入植物基因组。因 Ri 质粒的 T-DNA 与 Ti 质粒的 T-DNA 几无同源性, 故它们可能代表着不同的致病因子, 从而也扩大了 T-DNA 的概念。由 Ri 质粒转化形成的根可以形成愈伤组织, 随后通过胚胎发生的途径重新形成植株, 在被检查的再生植株中均含大量的 mannopine(一种 opine)<sup>[21]</sup>。由于由 Ri 质粒转化的细胞再生苗比 Ti 质粒的容易, 它可能成为另一个十分吸引人的基因载体。

植物病毒为另一类潜在的基因载体, 其中双链 DNA 病毒 caulimovirus, 其典型代表是花椰菜花叶病毒(CaMV)以及单链环形 DNA 病毒 geminivirus, 如菜豆金黄色花叶病毒(bean golden mosaic virus)最为人所注意。用病毒作为基因载体的一个特别吸引人的地方是它可以扩散到植物体的所有细胞之中。同时, 已建立的原生质体/病毒增殖系统也为进一步深入研究病毒与寄主细胞的相互关系创造了条件。问题在于需要在病毒的 DNA 上寻找出一个合适的位点让外源 DNA 插入, 而又不影响其感染力及在植物细胞中增殖。已有证据说明 CaMV 的 DNA 的一些部分可以去除而不影响其功能, 如 CM4-184 有一缺失, 约相当于完整 DNA 的 5%, 而其功能仍正常, 所以可望对此病毒进行改造。CaMV 的复制在细胞质中进行, 至今没有证据表明 CaMV 的 DNA 整合进寄主细胞的基因组, 同时 CaMV 的感染范围仅限于十字花科植物, 这也是一个局限性。对于 gemini 类型的 DNA 病毒, 主要的问题是病毒的产量通常很低, 并且其分布常局限于韧皮部细胞中。当然, 直接运用原核细胞中的基因载体, 如大肠杆菌的质粒和噬菌

体也是值得进一步研究尝试的。

在理论上, 植物的细胞器(如线粒体和叶绿体)的 DNA 也可能作为基因的载体。它们之所以引起人们注意乃是由于它们作为高等细胞的一种天然的染色体外的遗传物质, 具有复制起点、启动子部位以及翻译产物的信号肽(signal peptide)的先导顺序。遗憾的是在这方面研究得还很不够。在高等植物中, 可转移因子(transposable element)在基因表达中的作用究竟如何, 仍是一个谜。但至少已知有几种玉米的遗传变异肯定是在可转移因子的调控下发生的, 玉米的蔗糖合成酶基因的活性也受它的影响<sup>[22]</sup>。如果植物本身的这类可转移因子与细菌的转座子类似的话, 则可望利用它们插入植物的基因组以利于与之相接的外源遗传物质的复制和转录。诚然, 这类因子易于自发地脱落, 也可能将成为它的一个严重的缺点。

除了使用上述的载体系统外, 有人试验将外源 DNA 用微量注射的方法引入原生质体或细胞核。将动物的腺病毒(adenovirus)的 DNA(Ad2DNA)微量注入从伞藻(*Acetabularia major*)分离的核中, 随后将此等核移植到无核的伞藻中, 用免疫的方法测得在伞藻的细胞质中出现腺病毒的蛋白质, 说明动物的腺病毒可以在植物细胞中转录和翻译<sup>[23]</sup>。由于已证实从植物细胞分离的核可以吸收 DNA, 将这种吸取了外源 DNA 的核引入原生质体的试验也可望进行。近年来发展起来的另一技术是利用脂质体(liposome)将外源 DNA、质粒、病毒(如 TMV)引入原生质体, 以避开内源核酸酶的作用, 这一技术已获相当的进展<sup>[24,25]</sup>。也有用病毒外壳蛋白(如 TMV 的外壳蛋白)将 DNA 包起来后形成假病毒(pseudovirus)而引入植物细胞的尝试。总的说来, 不管以何种手段引入外源遗传物质, 以引起植物细胞的遗传转化, 作为第一步必须使它们能在新的环境中站住脚。至于它们在植物细胞中能否复制、转录以至翻译, 则涉及到受体细胞本身的一系列遗传上和生理上的调控机制。它可以如同

T-DNA 插入植物细胞核的基因组, 这是最为理想的, 但也可以采取在核外如同病毒增殖的方式复制。

### 基因的无性繁殖和目的基因的选择

基因的无性繁殖技术是近几年来迅速发展起来的一项纯化和扩增基因顺序的新技术。它已成为研究基因结构和功能的有用工具, 也是基因工程的基本内容之一。这一技术包括两个基本步骤, 即(1)DNA 分子的体外重组, 即将需无性繁殖的基因或 DNA 片段连接到一个能自主复制的载体(质粒或噬菌体)的 DNA 分子上; 和(2)将重组的 DNA 通过转化或转染引入受体细胞(如大肠杆菌)进行复制而获得无性繁殖系(clone)。

在七十年代, 已有三十多种真核生物的基因分子无性繁殖获得成功, 其中又以胰岛素、干扰素和若干生长激素的基因最为人所注意, 因为它们在医药生产上有着不言而喻的重要性。随后, 这场风暴正在从医药迅速扩展到农业方面<sup>[20,26]</sup>。由固氮基因转移引起的幻想曲以及越来越多种植物原生质体再生植株的成功, 也成为这方面研究的一种推动力。过去一个时期, 不少工作集中在多拷贝的核糖体 RNA 基因或 DNA 中的其他重复顺序上。目前不少实验室正在分离各种植物的单拷贝基因, 因为不少重要的植物蛋白质的基因都是单拷贝的。至今相应于多种植物蛋白质的 C-DNA 已经合成出来, 并进行了无性繁殖<sup>[2]</sup>。这些基因编码的蛋白质, 包括与共生固氮密切有关的豆血红蛋白, 光合作用中的 RuBP 羧化酶的小亚基, 不少种子的贮藏蛋白(如玉米醇溶蛋白、菜豆种子的 G<sub>1</sub> 蛋白、蚕豆和豌豆贮藏蛋白的前体)、蔗糖合成酶等。

在研究植物细胞转化时, 为建立模式系统最好选择一些在受体细胞中没有的单基因控制的酶或蛋白质作为标记, 如在动物细胞中常用胸腺苷激酶等作为标记。但建立植物转化系统的困难和动物方面相似, 缺少大量不同的缺陷

型可供利用。至今已获得的高等植物的缺陷型很少。近年来利用细胞培养技术筛选缺陷型已取得了一些进展。其中最引人注意的是硝酸还原酶缺陷型(NR<sup>-</sup>)<sup>[27]</sup>。用烟草的不同的硝酸还原酶缺陷型间进行原生质体融合已获得正常的野生型体细胞杂种。由于 NR 直接与植物利用硝酸盐的效率以及氮代谢有关, 所以如最终能从不同的植物以至从微生物中分离出 NR 基因, 然后引入 NR<sup>-</sup> 的原生质体中去, 也许可以获得氮代谢效率不同的作物类型。

从作物改良的角度考虑, 提高光合作用的效率可能是最为重要的, 而其中一条途径可以考虑改变 RuBP 羧化酶/加氧酶对氧的亲性和, 以减低光呼吸。但困难在于 RuBP 羧化酶的大亚基是叶绿体编码的, 如何把改变的叶绿体基因放回叶绿体, 目前尚无可行的技术。关于固氮基因的转移, 在原核细胞之间已经成功, 转移进真核细胞应该说也是可能的。但由于 nif 基因群的复杂性, 表达遇到障碍, 如有人将 nif 基因由克氏肺炎杆菌转移进了酵母细胞, 但没有观察到表达。由于根瘤菌与豆科植物之间存在共生固氮关系, 作为固氮基因工程方面的第一步可以考虑用遗传工程的方法来改变根瘤菌的感染范围。在植物方面, 可以考虑将豆科植物中与根瘤菌共生有关的基因转移到非豆科植物中去, 以使非豆科植物可以感染根瘤菌结瘤, 这方面的研究正在取得进展。如上所述, 豆血红蛋白的基因已经可以无性繁殖, 一些实验室正在准备制备其它与结瘤有关的基因的 C-DNA。由于贮藏蛋白在种子的一定发育阶段是优势蛋白, 用与之相应的丰富的 m-RNA 来分离其基因比较容易。通过改变这些基因, 最终有可能提高作物的必需氨基酸的含量。有人试图把富含甲硫氨酸的豆类植物的尿素酶的结构基因引入禾谷类作物以提高其营养价值。直接控制植株形态方面的一个有趣现象是在亚麻上发现的, 即由于水肥条件不同而引起的植株高矮不同的形态变化竟可以通过种子传递多代, 这种不同的营养条件转化型(genotr-

oph)具有数目明显不同的 r-RNA 基因<sup>[28]</sup>。或许人们可以通过操纵 r-RNA 基因的数目,有朝一日来控制植物的若干数量性状。当然,在考虑植物的基因工程时,抗逆性也是一个十分重要的方面。总的说来在这方面,大量基础研究仍有待进行。人们必须对有关的植物生理过程、代谢和生长发育的遗传调节的不少细节有深刻的了解,才能为这方面的研究奠定扎实的基础。

### 培养的植物细胞和原生质体——一个理想的外来基因的受体系统

要有效地把在微生物和动物细胞中发展起来的一套现代生物学技术搬到植物科学的研究中来,对所选择的系统必须作周密的考虑。当用根癌农杆菌在整体植物上做诱导肿瘤的试验时,分离得到的冠瘿瘤可能含有很高比例的正常细胞,即为一个嵌合体。这必然带来二个缺点:(1)在做 DNA 分子杂交时,使 T-DNA 稀释,和(2)当由之再生植株时,不清楚它们究竟是由其中转化的细胞还是正常的细胞形成的。如上所述,用细菌直接感染悬浮培养的细胞或由原生质体再生的细胞,通常可获得很高的转化频率,并可克服上述缺点。

培养的植物细胞,尤其是分离的原生质体,由于去除了细胞壁,并可再生,是进行遗传操作的一个理想的受体系统<sup>[29,30]</sup>。迄今为止的研究已证明,原生质体可以摄取病毒、质粒、噬菌体和细菌等,也可以用于进行叶绿体和细胞核移植等研究,并可通过细胞融合获得不同类型的体细胞杂种(可参看近年的评述<sup>[31,32]</sup>)。这些技术可用于整个基因组或有限数目基因的转移,后者如胞质雄性不育因子通过细胞融合转移已有一些成功的报道。植物细胞融合中核的行为与动物和人的细胞杂交中的情况十分相似,如在远缘融合时,大多数情况下发生一方染色体的消除。但已有一些例子表明最后仍可保持被消除一方的少量染色体或片段,或虽然只有一方的染色体,但出现了另一方所特有的

酶或其它生理生化特征。这说明双方染色体已发生过部分的交换。也有染色体并没有明显丢失的个别情形。如在拟南芥菜(*Arabidopsis*)和油菜(*Brassica campestris*)的原生质体融合形成的杂种“*Arabidobrassica*”中即是如此。总的说来在植物的细胞融合中并未比动物的细胞融合提出更多的新的原则来,但是植物的细胞杂交有两个特点,一是植物有比动物广泛得多的可用于融合的材料来源:不同的种或不同的器官、组织;二是植物细胞的全能性。显然,这也是使用植物细胞进行遗传操作试验具有吸引力的重要原因之一。关于动、植物间的细胞融合的研究也已在一些实验室开展了。在动物方面,通过秋水仙碱或乙酰甲基秋水仙碱(colcemid)中止细胞分裂可以获得大量中期染色体,用引入这种染色体进行单功能基因转移的频率可达 $10^{-6}$ — $10^{-7}$ <sup>[33]</sup>。用原生质体吸入染色体的研究也已有报道<sup>[34]</sup>,没有理由认为在动植物之间会有重大的原则差异,问题是如何大量制备中期染色体,并用合适的方法引入原生质体。

做为理想的受体,或融合亲本,带有各种遗传标记的突变体是合适的材料,它们可以用来建立合适的选择系统。在这方面仍有待筛选出大量的变种,尤其是营养缺陷型。利用单倍体细胞系(包括花粉单倍体以及若干低等植物)有可能加速这方面的进展。同时对受体细胞本身的生理特性的深入了解也是十分重要的,如由于不同植物原生质体的核酸内切酶的活性有很大的差异,选择具有低活性核酸内切酶的材料,引入外源 DNA 可能易于取得成功。

在受体细胞方面的另一个问题是至今能够培养成功的原生质体种类仍相当有限,在禾谷类和豆科植物中尤其如此。选用分生活性强的组织或器官作为游离原生质体的材料,可能是解决问题方法之一。用处于活跃分裂的悬浮培养细胞分离的原生质体培养,在禾谷类作物上已取得不少进展<sup>[35,36]</sup>。同样,用萌发种子或幼苗的根分离的原生质体培养在豆科和十字

花科植物上也获得相当的成功<sup>[37]</sup>。在用营养繁殖的植物进行原生质体培养研究时,必须考虑到长期无性繁殖常会引起的体细胞变异。另外,培养本身也可能引起若干变异<sup>[38]</sup>。就此而言,原生质体培养技术本身就有相当的实用价值,因为它可以把各种类型的细胞从一混杂的细胞群体中区分出来,这一优点在马铃薯育种上正在显示出来<sup>[39]</sup>。有了合适的原生质体或细胞系统和合适的选择条件,我们才可能有效地选择出转化的细胞或杂种。进一步的问题是如何使转化的细胞或杂种细胞再生成植株。这些是在受体细胞系统方面要解决的问题。

利用培养的植物细胞或原生质体进行高等植物的遗传修饰,虽然目前尚处于实验阶段,但有着广阔的前景。国际上在这方面投资的公司正在迅速增加,仅美国就有五十多家公司,西欧有三十多家公司已设立了专门的研究机构或参与了这方面的研究。由于这工作需要生物学各方面的知识和技术,特别是分子生物学、遗传学、植物生理学和生物化学、以及细胞生物学,所以需要各方面研究人员的密切配合。它是一门新兴的植物科学分支,又是一门别具一格的艺术。

### 参 考 文 献

- [1] 罗士韦, 1978, 植物生理学报 4, 91—112.
- [2] Redbrook, J. et al., 1980. In: Genetic Improvement of Crops. (Eds. I. Rubenstein et al.) pp. 93—114. Univ. of Minnesota Press, Minneapolis.
- [3] Old, R. W. & S. B. Primross, 1980, Principles of Gene Manipulation. Blackwell Sci. Pub.
- [4] 唐惕, 1982, 植物生理学通讯 (1) 17—21.
- [5] Schell, J., 1979, In: Nucleic Acids in Plants, Vol. 2, (Eds. T. C. Hall & J. W. Davies) pp. 195—210. CRC Press.
- [6] Smith, V. A. & J. Hindley, 1978, Nature 276, 498—500.
- [7] Marton, L. et al., 1979, Nature 277, 129—131.
- [8] Hasezawa, S. et al., 1981, MGG 182, 206—210.
- [9] Davey, M. R. et al., 1980. Plant Sci. Lett. 18, 307—313.
- [10] Wullems, G. J. et al., 1980, In: Advances in Protoplast Research. (Eds. L. Ferenczy & G. L. Farkas) pp. 407—424. Oxford: Pergamon press.
- [11] Carlson, P. S. et al., 1972, PNAS (USA) 69, 2293—2294.
- [12] Wullems, G. J. et al., 1980, TAG 56, 203—208.
- [13] 李向辉等, 1982, 中国科学 B(3), 223—228.
- [14] Yang, F. et al., 1980, MGG 177, 707—714.
- [15] Wullems, G. J. et al., 1981, Cell 24, 719—727.
- [16] Otten, L. et al., 1981, MGG 183, 209—213.
- [17] Hernalsteens, J-P. et al., 1980, Nature 287, 654—656.
- [18] De Greve, H. et al., 1981, Plasmid 6, 235—248.
- [19] Ooms, G. et al., 1981, Gene 14, 33—50.
- [20] Fox, J. L., 1981, Chem. & Engineer. News 59, 33—44.
- [21] Chilton, M-D. et al., 1982, Nature 295, 432—434.
- [22] Döring, H. P. et al., 1981, MGG 184, 377—380.
- [23] Cairns, E. et al., 1978, FEBS Lett. 96, 255—297.
- [24] Nagata, T. et al., 1981, MGG 184, 161—165.
- [25] Uchimiya, H. & H. Harada, 1981, Plant Physiol. 68, 1027—1030.
- [26] Walsh, J., 1981, Science 213, 1339—1341
- [27] Muller, A. J. & R. Grafe, 1978, MGG 161, 67—76.
- [28] Cullis, C. A. 1979, Heredity 43, 237—246.
- [29] Cocking, E. C., 1981, Phil. Trans. R. Soc. Lond. B292, 557—568.
- [30] Cocking E. C. et al., 1981, Nature 293, 265—269.
- [31] 夏镇澳, 1979, 植物生理学通讯 (3), 58—65.
- [32] Schieder, O. & I. K. Vasil, 1980, Intern. Rev. Cytol. Suppl. 11B, 21—46.
- [33] McBride, O. W. & R. S. Athwal, 1977, Brookhaven Symp. Biol. 29, 116—126.

- [34] Szabados, L. et al., 1981, *Planta* 151, 141—145.
- [35] 中国科学院北京植物所细胞杂交组、细胞生化组, 1978, 中国科学(6) 602—605.
- [36] Lu, C-Y. et al., 1981, *Z. Pflanzenphysiol.* 104, 311—318.
- [37] Xu, Z-H. et al., 1981, *Z. Pflanzenphysiol.* 104, 289—298.
- [38] Larkin, P. J. & W. R. Scowcroft, 1981, *TAG* 60, 197—214.
- [39] Shepard, J. F. et al., 1980, *Science*, N. Y. 208, 17—24.

## 细胞骨架结构及其功能(上)\*

报告人: T.G.Clark 博士

细胞质具有许多凝胶的理化性质。早在四十年代后期, Wyssling 就提出细胞质含有细丝组成的网架。细丝数目及细丝间相互作用的强弱决定细胞质的结构状态。细丝数目愈多, 细丝间相互作用愈强, 细胞就愈呈凝胶状。细胞质的这种网状结构, 就是现在人们所谓的细胞骨架。正是这种网架结构, 使细胞具有一定结构和形状, 并能产生运动。

### 细胞骨架研究概况

#### (一) 细胞骨架的基本结构

对一些培养细胞所进行的透射和扫描电镜研究揭示整个细胞质里含有错综复杂的纤维网结构。根据纤维的大小和形态学特点, 大致可分成三类。

1. 微丝 直径为6—8毫微米。在微绒毛、褶皱膜和微嵴等细胞的伸展部分尤为显著。它们能形成杂乱的网状结构或像微绒毛和培养细胞里的应力纤维那样有规则地成束排列。肌肉纤维的主要成分——肌动蛋白也是构成非肌肉细胞微丝的主要蛋白质。肌动蛋白的分子量为43,000, 具有形成长纤维的能力。肌动蛋白能以未聚合的球状(G-肌动蛋白)和聚合的纤维状(F-肌动蛋白)两种状态出现。在后者中, 肌动蛋白形成双螺旋。

2. 微管 直径约25毫微米。典型的微管是由13根原纤维形成的一个空管, 常延伸到像纤毛、鞭毛或某些原生动物的轴伪足这样一

些长细胞突起中, 形成有规则构型的复合物。在许多细胞中, 它们常以单根微管形式出现。在正在分裂的细胞中, 微管也是纺锤体的主要成分。微管通常由一些称做结构中心的特殊部位——中心粒、基体以及其他一些不太固定的细胞质致密区产生, 主要由微管蛋白二聚体组成。微管蛋白单体分子量为55,000, 可在体外进行装配或解装配, 因而可以分离微管并进行研究。还可对与微管紧密结合的其他蛋白质进行鉴定, 其中包括几种分子量为300,000, 称做微管结合蛋白(MAP)的高分子量多肽、分子量为60,000的装饰蛋白(Tau)以及与HeLa细胞微管相结合的分量为210,000和125,000的多肽。这些结合蛋白的确切功能还不清楚, 然而在体外能促进微管的装配, 因而在细胞内也可能在微管的装配上起着某种作用。

3. 中等纤维 除微丝和微管外, 在高等生物细胞中通常还能观察到第三类纤维——中等纤维。其直径介于微丝和微管之间, 约为8—12毫微米。多种细胞中都具有这类纤维, 名称各不相同, 例如张力原纤维、神经原纤维和前角质蛋白纤维等。虽然它们具有相似的基本

\* 本文为美国耶鲁大学生物系 Clark 博士1981年8月在中国科学院上海细胞生物研究所演讲的摘译稿。为便于阅读, 由译者添加文内标题。