

# 细胞分裂阻滞剂对大蒜根尖细胞周期的影响

孙敬三 朱至清 朱颖氏

(中国科学院植物研究所)

植物的根尖具有分裂能力强、结构简单、取材方便、便于药剂处理等特点,因此成为研究细胞分裂、分化和离体培养的常用材料。秋水仙素和细胞松弛素 B 对细胞分裂过程中微管、微丝的作用以及对细胞核 DNA 复制的影响在动物细胞方面已有很多研究,但植物方面的资料很少。最近我们以大蒜根尖为材料,用<sup>3</sup>H-胸腺嘧啶核苷标记 DNA 而后进行放射自显影的方法,研究了秋水仙素和细胞松弛素 B 对细胞有丝分裂和核 DNA 合成的影响,实验结果报告如下

## 材料和方 法

将大蒜 (*Allium sativum*) 鳞瓣置清水中发根,当根长到 1.5 厘米时转入含有 16.5 微居/毫升的<sup>3</sup>H-胸腺嘧啶核苷的下列三种溶液中: ①水; ② 5 微克/毫升秋水仙素; 350 微克/毫升细胞松弛素 B,在 20℃ 下培养 15 小时,然后转入 10 微克/毫升的未氟化的胸腺嘧啶核苷中,于 4℃ 下清洗 1 小时。清洗过后的材料用卡诺液(酒精:醋酸 = 3:1)固定 24 小时,孚尔根整体染色后,制成石蜡切片(厚 5 微米),切片脱蜡后经过纯酒精,在空气中干燥,然后在 1% 火棉胶中浸蘸以增加一层保护膜,按平涂法<sup>[1]</sup>在材料上涂布用蒸馏水稀释 1 倍(1:1)的核 4 型核子乳胶,玻片在 25℃ 的烤片台上干燥后,置于放有硅胶的塑料暗盒中在 4℃ 下进行“曝光”(自显影) 2 天。然后用 D-19 显影液显影 3 分钟,定影、水洗之后经各级酒精脱水,0.5% 固绿(95% 酒精中)复染,二甲苯透明,封于加拿大树胶中。

## 结 果 和 讨 论

### 一、大蒜根尖细胞有丝分裂和核 DNA 复制的一般情况

大蒜根尖经饲喂 DNA 前体物质<sup>3</sup>H-胸腺

嘧啶核苷后,经放射自显影可以在根端的纵切面上清楚地显示出根端不同区域细胞核 DNA 的复制情况,结合观测到的各区域有丝分裂相出现的比率,可以了解根尖细胞有丝分裂和核 DNA 复制的关系。

1. 根冠 位于根尖最顶端的根冠,除邻接分生区的根冠原始细胞有被标记的细胞核和出现有丝分裂相外,其他大部分细胞既无有丝分裂相出现,也无核 DNA 合成,处于不活动状态(图版图 1),只有根冠原始细胞在进行着不断的细胞分裂。

2. 分生区 在根冠的里边是细胞形状规则、排列紧密的顶端分生组织,这类细胞具有大的细胞核而很少液泡化。过去认为这是一类分裂旺盛的细胞,后来 Clowes<sup>[3]</sup>发现,根尖的分生区细胞并不都具有旺盛的分裂能力,在分生组织的最前端,过去被看作是根的各种组织来源的原始细胞区(组织原区)的位置上有一个静止中心。嗣后用放射自显影等方法证明,在多种植物中都存在这种静止中心<sup>[2,4,5,6,8,10,12,13,15,17]</sup>。这一区域的细胞很少或根本不进行有丝分裂。根据我们的观察,大蒜根尖中也存在一个静止区域。这一区域的细胞核除了具有较低的 DNA 含量(席夫试剂染色淡)之外,最明显的特点是不被<sup>3</sup>H-胸腺嘧啶核苷所标记(图版图 1),说明这类细胞不进行 DNA 合成。与此形成鲜明对照的是,这一区域周围的细胞,不论是分生区细胞还是根冠原细胞,都有被强烈标记的细胞核,表明静止中心周围的细胞正在进行旺盛的 DNA 合成活动(图版图 1)。另外,在所观察过的所有制片中,从未在静止中心的细胞中看到有丝分裂相,而在稍离这一区

域的其他细胞中有丝分裂相的比率可达20—30%之多。Thompson和Clowes<sup>[17]</sup>曾测得大蒜根尖静止中心的细胞完成一个细胞周期约140小时,而其他分生细胞只需4小时。因此可以断言大蒜根尖静止区域中的细胞的有丝分裂,其频率是极其低的,它们不参加或很少参加根的建成。虽然已经查明在不少植物的根端存在着静止中心,并且对其DNA、RNA和蛋白质含量<sup>[7,12]</sup>、细胞器的数量和大小<sup>[9]</sup>有过报道,但对其生理作用的研究还十分欠缺。有人推测静止中心可能是激素合成的地方<sup>[18]</sup>,联系到根内的生长素含量的分布是越靠顶端越多的事实<sup>[16]</sup>,很可能静止中心细胞的有丝分裂受抑制是因为在这一区域内生长素含量过高的缘故。

3. 伸长区 伸长区的特点是伴随着中央大液泡的形成,细胞迅速伸长。可以看到这一区域的细胞核虽然不少可以被<sup>3</sup>H-胸腺嘧啶核苷标记,但很少出现有丝分裂相(图版图3)。显然,在这里核的DNA复制并不接着发生核的分裂,结果导致多倍性核的产生。在伸长区特别是维管柱中经常出现巨核,它们的体积有时可达周围二倍性细胞核的几倍(图版图4)。有些巨核仍在进行DNA复制(图版图5)。

## 二、细胞松弛素B对大蒜根尖细胞周期的影响

经细胞松弛素B处理之后,大蒜根尖细胞周期的绝大部分进程并没有受到明显的影响。从根尖的纵切面可以观察到,细胞核的DNA复制是比较正常的。除了静止中心看不到被标记的细胞核和有丝分裂相之外,其他部位的细胞和对照组一样,很多在进行着强烈的DNA合成(图版图2)。有丝分裂的前期、中期、后期也都能顺利通过,甚至当染色体到达两极进入末期后,子核的核膜也可以正常形成(图版图6),但由细胞板发育成新壁的过程受到了阻碍,结果出现了不少双核细胞(图版图7)。已经知道细胞松弛素B对细胞的微丝系统有特殊的破坏作用,它可阻碍动物细胞胞质分裂过

程中收缩环的活动,致使胞质分裂不能完成,形成双核细胞<sup>[14]</sup>。看来细胞松弛素B对植物细胞分裂过程中新壁的形成也有类似的抑制作用。双核细胞中的两个核或者同时都被<sup>3</sup>H-胸腺嘧啶核苷标记或者都不被标记。说明具有同一胞质的两个核其S期的启动是严格同步的,这和用咖啡因诱导洋葱根细胞产生多核的现象是类似的<sup>[11]</sup>。

此外,不论在对照组还是在处理组,大蒜根尖细胞中经常有微核出现(图版图8),这些微核产生的原因和生理作用尚不清楚。它们和大核一样,可以进行DNA复制,并且启动DNA复制的时间两者也是一致的。

## 三、秋水仙素对大蒜根尖细胞周期的影响

用秋水仙素处理植物的分生组织以诱导多倍体产生,是人们早已熟知的事实。在本试验中看到,秋水仙素对细胞核DNA复制并无明显的抑制作用,很多根尖细胞核在秋水仙素溶液中可以正常地被<sup>3</sup>H-胸腺嘧啶核苷所标记。DNA复制之后也可正常地进入有丝分裂期,但被阻滞在中期。看来秋水仙素对大蒜根尖细胞的作用和动物细胞中是一样的,它妨碍了微管蛋白的聚合,使组成纺锤体的微管不能正常形成。这样,当有丝分裂达到中期以后,染色体无法向两极运动,被滞留在赤道板上。但是秋水仙素并不能破坏业已形成的微管,因而也就不能影响那些已进入中期和后期的细胞,这些细胞可以正常地进入后期和末期,完成有丝分裂的全过程。这就是虽经秋水仙素处理,仍可看到少数后期和末期分裂相的原因。

从上述观察可以看出,和很多植物一样在大蒜根尖分生组织的顶端存在着一个静止中心,这一中心的细胞处于静止状态,它们很少进行有丝分裂和DNA合成;其他分生组织细胞的DNA合成是和有丝分裂密切相关的,因此细胞保持在二倍体状态;伸长区细胞的有丝分裂已经停止,但DNA的合成仍在继续,致使细胞核DNA数量增加,出现多倍性的巨大细胞核。细胞松弛素B并不干扰有丝分裂中核

分裂的进程,只是阻止新壁形成,因此有诱导双核产生的效能。秋水仙素作为一种常用的有丝分裂阻滞剂,并不影响核的DNA复制,其作用主要是阻止纺锤体微管的形成,使染色体停留在赤道板不能向两极移动。大蒜根尖细胞中常常出现微核,这种微核可以和大核同步地进行DNA复制。

### 参 考 文 献

- [1] 郑若玄 1980, 实用细胞学技术, 科学出版社, 249-271页。
- [2] Byrne J. and C. Heimsch, 1970, *Amer. J. Bot.* 57:1179.
- [3] Clowes F. A. L. 1954, *New Phytol.* 53: 108.
- [4] Clowes F. A. L. 1956, *New Phytol.* 55: 29.
- [5] Clowes F. A. L. 1956, *J. Exp. Bot.* 7: 307.
- [6] Clowes F. A. L. 1958, *New Phytol.* 57: 85.
- [7] Clowes F. A. L. 1958, *J. Exp. Bot.* 9: 229.
- [8] Clowes F. A. L. 1959, *Biol. Rev.* 34: 501.
- [9] Clowes F. A. L. and B. E. Juniper 1964, *J. Exp. Bot.* 15:622.
- [10] Clowes F. A. L. 1967, *Phytomorphology*, 17:132.
- [11] Gonzalez-Fernandez A. et al. 1971, *Chromosoma*, 36:100.
- [12] Jensen W. A. 1958, *Exp. Cell Res.* 14: 575.
- [13] Miksche J. P. and Greenwood M. 1966, *New Phytol.* 65:1.
- [14] Prescott D. M. 1976, *Reproduction of Eukaryotic Cell*, Academic Press.
- [15] Seago J. L. 1971, *Amer. J. Bot.* 58:604.
- [16] Thimann K. V. 1934, *Gen. Physiol.* 18: 23.
- [17] Thompson J. and F. A. L. Clowes, 1968 *Ann. Bot. N. S.* 32:1.
- [18] Torrey J. G. 1963, *Symp. Soc. Exp. Biol.* 17:285.

## 大鼠心肌细胞色素氧化酶光镜和电镜定位观察

孟宪忠\* 李相忠\*\*  
(哈尔滨医科大学)

细胞色素氧化酶是线粒体呼吸链中的终末氧化酶,在电子传递过程中起着重要作用。以往有关细胞色素氧化酶的生物化学研究,为了解该酶在组织细胞的分布和活性提供了定量资料。1968年, Seligman等<sup>[1]</sup>建立了以3,3'-二氨基联苯胺四盐酸盐(3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride, 以下简称为DAB)为底物的细胞色素氧化酶细胞化学定位方法。此后,相继有人应用这种方法对不同动物的肝、肾和脑等组织的细胞色素氧化酶活性分布作了定位研究<sup>[2-4]</sup>,揭示了该酶在这些组织中的分布特点及在线粒体内的确切定位。本文实验以光镜和电镜对比观察的方法,探讨了大鼠心肌细胞色素氧化酶的分布特点。

### 材 料 和 方 法

实验用动物为体重150—200克的雄性大鼠。断头处死,立即开胸取出心脏。在3%解聚的多聚甲醛0.1M磷酸缓冲液(pH7.4,4℃)中将左室心尖部心内膜下层心肌切成约0.5mm<sup>3</sup>的小块,在其中浸泡固定1小时。用含有0.2M蔗糖的0.1M磷酸缓冲液(pH7.4,4℃)洗涤4小时,更换三次洗涤液。然后在参照Seligman方法<sup>[1]</sup>配制的温育液中温育1小时,37℃。

温育液配方:

|                 |      |
|-----------------|------|
| DAB(分析纯, Sigma) | 20毫克 |
| 细胞色素C(分析纯, 南非)  | 10毫克 |

\* 克山病研究所。 \*\* 中心实验室电镜组。