

伞藻的人工培养*

唐 惕 毛慧珠 白永廷 曹湘玲

(中国科学院植物生理研究所细胞生理研究室)

伞藻(*Acetabularia*)属于伞藻科(*Dasycladaceae*)伞藻属的单细胞绿藻,生长在海洋的暖水区,如地中海沿岸、多米尼加的圣多明各、拉丁美洲的库拉索岛、日本沿海以及我国海南岛等地均可采集到。伞藻虽是单细胞有机体,但细胞形态上有明显的分化,基部为分枝状的假根,细胞核位于假根的一个分枝内,上部为轴状藻柄,上端逐渐长出数轮不育毛,生殖期开始时在顶端出现一个伞状的帽。帽不断长大,这时基部的核迅速分裂,形成数以千计的次生核,后者随细胞质流进入帽的射线体(帽由一定数量的射线体构成),在射线体内形成许多孢囊体(cyst)。细胞的长度和帽的大小因种而异,最大的细胞可长达10公分。伞藻体积大,藻体再生能力强,便于进行嫁接、核移植和分离细胞器(核和叶绿体)等试验,故是研究细胞生物学的理想的材料。国际上伞藻研究工作已有五十多年的历史^[1-3],近年来工作进展更为迅速,从1969年到1979年的十年内已举行了五次国际会议,而且在第二次会议之后,即1972年成立了专门研究伞藻的国际组织^[6]。研究内容明显地经历了三个发展阶段:用显微手术方法研究细胞质与核的关系;利用生物化学方法研究形态建成过程中核的作用;目前主要利用分子生物学方法研究形态建成物质的性质、各种蛋白质编码的位置以及基因表达等问题。

合成培养基的应用和伞藻无菌培养的成功^[4,6,7]可能是近期内工作进展迅速的重要原因。过去伞藻培养基是采用天然海水,并加入一定量的土壤提取液、硝酸盐和磷酸盐(Erd-Schreiber培养基)^[6]。这种培养基成份不确

定,进行大量培养较为困难,因此世界上开展伞藻研究的实验室为数不多。据我们了解,国内过去无人进行伞藻研究工作。

为进行有关的细胞学研究工作,我们采集和培养了伞藻,并取得了初步的结果。

方法和材料

1979年三月份在广东省湛江市硇州岛附近采集了一批伞藻,带回实验室进行人工培养。该藻经中科院青岛海洋所曾呈奎教授鉴定,属于*Acetabularia calyculus*种。利用Sh-ephard和Schweiger二种配方的培养基^[6,7]。伞藻培养在下述条件下:光强2000lux左右,每日照光10小时,温度18—20℃。由于伞藻生长缓慢,培养过程中要尽量减少其他藻类和原生动物的繁殖的可能性,为此我们采取了一些措施:首先将伞藻及其附着物小心洗净,清除杂藻,尽量分散放入玻璃缸内;为满足伞藻对营养元素的需要,每周更换一次培养液,对滋生杂藻严重的伞藻,要及时处理,防止杂藻“感染”扩大;器皿和培养液进行适当的灭菌处理。

结 果

伞藻在二种合成的培养基内均能生长,最后并形成了具有发育正常的配子囊的帽。伞藻高度约4公分,帽直径为0.4—0.6公分。

* 本工作是在罗士韦教授的建议和关心之下进行的。采藻过程中得到湛江市水产学院李维新老师和中国科学院南海海洋研究所庞景梁同志的帮助,谨此致谢。

从杂藻“污染”情况看, Shephard 配方优于 Schweiger 配方, 后者含有硅酸钠, 可能有利于硅藻的繁殖。在几组试验中, 发生了硅藻等严重“污染”, 伞藻几乎被附生的藻完全包裹, 最后由于光合作用能力丧失和细胞质解体而死亡。

当伞藻材料采集完后, 或其他藻类“感染”严重时, 我们用二种方法处理了贝壳:

一是将贝壳上的藻体先用棉花球擦除, 反复用培养基洗涤, 然后移入无菌室用灭菌的培养基和棉花球反复洗涤, 最后将贝壳放入培养基内。

二是将上法洗净的贝壳浸入 2% 甲醛溶液内 5 分钟和 5% 弱银蛋白(均用培养液配制) 1—2 小时(黑暗条件下), 然后取出贝壳用培养液洗净, 最后将盛放贝壳和培养液的玻璃缸放在恒温室内。

大约 2—3 周后, 这些贝壳上长出小伞藻, 密度高低不等, 最密情况时, 在一块不到六公分直径的贝壳上长出了近百株的伞藻, 这在自然条件下是罕见的(图 5)。新生长的小藻密度可能主要与贝壳上附着的合子数量有关。甲醛等处理后, 小藻密度明显降低, 这表明大多数合子丧失了活力, 但仍有部分合子能经受灭菌处理(图 1), 这种情况文献中未见有报道,

小藻生长 2—3 周后, 上部逐渐出现不育毛, 再经二个月左右, 顶端形成伞状的帽(图 2—4)。将成熟的帽采下, 在解剖镜下可观察到射线体内充满发育正常的绿色球形的孢囊体。在我们的实验条件下, 伞藻的生活周期长约 3—5 个月, 与文献报导的结果是一致的^[4,8]。

无菌条件下诱导孢囊体同步释放配子, 收集配子并使之融合等工作正在进行中。

参 考 文 献

- [1] V. K. Beth, 1953. *Z. Naturforsch*, **86**: 334—342.
- [2] J. Haemmerling, 1953. *Inter. Rev. Cytol.* Vol. 11, p. 475—498.
- [3] J. Haemmerling, 1963. *Ann. Rev. Physiol.* Vol. 14, p. 65—95.
- [4] K. Keck, 1964. *Methods in Cell Physiol.* Vol. 1, p. 189—213.
- [5] H. G. Schweiger, 1978. *Progress in Acetabularia research*, Ed. C. L. F. Woodcock, p. 1—4.
- [6] H. G. Schweiger, 1978. *Progress in Acetabularia research*, Ed. C. L. F. Woodcock, p. 319—330.
- [7] D. C. Shephard 1970. *Methods in Cell Physiol.* Vol. IV, p. 49—69.
- [8] В. И. Кефели и Э. М. Коф, 1978. *Успехи Современ. Биологии*, **1** (14): 73.



离体培养肝细胞的 分化和癌变讨论会

1979年10月9日至12日, 美国纽约科学院在纽约市罗斯维特饭店(Roosevet Hotel)曾主办过“离体培养肝细胞的分化和癌变”的讨论会。会议包括三大方面的内容:

- 一、离体培养的肝细胞的分离及建株。
- 二、离体培养肝细胞的特性及其代谢调节。
- 三、关于癌变研究成果的应用。

所讨论的专题有:

1. 作为研究代谢调节模型的悬浮培养。
2. 有关调节分化的维持、决定原始培养组织的存活及刺激生长的因子。
3. 长期上皮性培养与肝细胞的关系。

毛祖成摘自 *Cell* Vol. 16, № 4, 1979

第十一届“变态反应学和临床 免疫学欧洲学会”会议

第十一届“变态反应学和临床免疫学欧洲学会”会议, 将于1980年10月6日至10日在奥地利维也纳的霍夫伯格宫会议中心举行。会议将提出有关临床免疫学各专业包括临床实践与研究方面的综合性报道。这些报道将涉及目前临床免疫学的进展和未来的发展趋势。会议也将组织安排一定数量的单篇论文讨论会, 但重点放在介绍性的和综合性的论文方面以及讨论与办事机构有关的事宜。[如有问题可向本届会议的秘书长H·鲁德惠希(H. Ludwig)博士询问。

地址: C/o Wiener Medizinische A Kademie, Alser Strases 4, A-1090, Vienna, Austria]

毛祖成摘自 *Cell Differentiation* Vol. 8, № 4, 1979