



第二届国际细胞生物学会议简介

张 玉 砚

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

林 忠 平

(中国科学院北京植物学研究所)

由国际细胞生物学联盟组织的第二届国际细胞生物学会议于1980年8月31日至9月5日在德意志联邦共和国西柏林举行。

会议一般概况

有来自50个国家和地区,共3500名代表参加了这次会议。会议安排了五次全体代表参加的,反映当前细胞生物学进展和发展趋向的大型报告。即:(1)美国马里兰州国立卫生所分子遗传室P.Leder报告的“通过DNA无性繁殖和核苷酸顺序分析,研究免疫球蛋白基因的组织化(organization)和再组织化(reorganization)”。(2)瑞士日内瓦大学动物生物学部K.Illmensee报告的“胚胎的基因操作”,通过体细胞杂交技术,将异种染色体导入小鼠胚胎中;或者从小鼠卵中除掉基因信息以产生单亲代小鼠;或者用体细胞核导入小鼠卵,代替小鼠整个基因组。用这些技术可研究分化期间或恶性增生期间基因的表达,并分析外来基因在各种组织中的存在和作用。核移植后发育的个体可研究细胞特化期间基因的调控等问题。作者成功地将授体小鼠胚胎体细胞核导入到受体小鼠无核卵细胞内,产生能存活的正常小鼠。(3)美国耶鲁大学生物学和人类遗传学部F.H.Ruddle报告的“哺乳类细胞的基因图谱和基因导入”,介绍了两种体细胞遗传技术:细胞杂交技术和基因导入技术。基因克隆技术与Southern法相结合,可检测种间同种基因差别,以及同种异体基因的差别。作者把单纯疱疹病毒的胸腺嘧啶核苷激酶基因和人 β 珠蛋白基因导入到胸腺嘧啶核苷激酶呈阴性的小鼠细胞,当导致其表达胸腺嘧啶核苷激酶时,同时细胞吸取了更多的DNA。(4)美国麻省哈佛大学生物化学和分子生物学实验室W.Gilbert报告的“在原核细胞中的真核基因”,和(5)丹麦Carlsberg实验室生理室

D.von Wettstein报告的“叶绿体和细胞核——关于不同细胞器基因组间的相互作用”。报告指出,至少有30种不同的多肽与光合膜的光合功能有关。已知9种由叶绿体DNA编码,7种由核DNA编码。叶绿体上固定二氧化碳的RuDP羧化酶含有两种肽链,分别由叶绿体和核的基因编码。细胞质中核糖体转译的肽链被送入叶绿体,与叶绿体译出的多肽结合起来,即由核基因编码的小亚基和由叶绿体基因编码的大亚基装配成RuDP羧化酶。作者对这种多肽传递的机制作了评述。

按照专业范围分六个大组,进行了四天24个专题讨论会和工作报告会。基因组(G),着重基因顺序排列,基因导入和外来基因的表达,转录和转录后加工,染色质结构,细胞核非染色质蛋白质结构,线粒体和质体的基因组等。膜组(M),着重生物合成,膜组分的装配和移位,核蛋白体和蛋白质生物合成,膜内能量和信号转移,溶酶体、过氧化物酶体和乙二醛酶体,膜囊和脂质体作为膜研究的模型和工具,以及细胞识别和信息交通(Communication)。细胞骨架组(C),着重微管及其蛋白,微纤维、肌动蛋白、肌球蛋白,收缩和细胞骨架及其他细胞结构的关系,核分裂和胞浆移动,中等大小纤维的类似性和差别,细胞固着和移动,浸润生长和转移,收缩和细胞骨架的紊乱等。分化组(D),着重体外细胞分化,早期胚胎发育中的决定和分化,核和质类固醇激素受体,细胞和组织的极性和梯度等。特化细胞组(S),包括水和离子的运输和在细胞内的分布,减数分裂,染色体配对,生物时相律(生物钟问题),植物原生质融合等。细胞病理组(P),包括寄生原生动物的,宿主-霉菌相互作用,病毒细胞转化,基因缺损和补偿等。各大组均有壁报专栏,有近2000篇报告分两批展出。G组和M组壁报占46%。有一细胞生物学新方法专栏,包括细胞生物学分析方法,细胞和细胞器的分离,组

织培养,以及光学和电子显微镜的应用等。中午和晚上组织小型报告会,如灯刷染色体,原位杂交研究 RNA 特征和转录单位,杂交瘤和单克隆抗体在细胞生物学中的应用,以及糖脂的受体功能等方面。放映记录细胞内运动、细胞运动及细胞间的相互作用的影片。会议期间组织了显微镜历史发展过程的实物展览,以及新仪器设备和图书展览。

会议中确定了下一届国际细胞生物学会于1984年在日本举行,还确定了下届联盟的执行主席,并同意接纳中国细胞生物学会参加国际细胞生物学会联盟,正待办理正式申请和批准手续。

我国有14人参加这次会议。中国科学院系统有7人,高教系统有6人,中国医科院系统有1人。展出壁报10多张。遗传所胡含和植物所林忠平在植物原生质体融合的专题会上作了工作报告。

核基因组顺序排列

Moyzis, R.K.[美国]等认为在哺乳类 DNA 中,其大部分的“短”的重复顺序区是组织成杂乱的前后排列的簇状,而不是个别地与单一顺序间隔排列。Gourse, R.L.[美国]等用不同演化阶段的动物为材料,观察到爪蟾 rDNA 两侧的插入顺序,是演化过程中保存下来的,提示这些区在核蛋白体的生物合成和作用中是重要的。Farace, M.G.[意大利]等以无性繁殖系制备得各种珠蛋白基因的纯净 cDNA 探针,选择重组质粒。分析质粒 DNA 和纯化 cDNA 间在同源或异源反应中形成杂交分子的动力学,比较各种珠蛋白基因间结构差异程度。结果,10%的成年哺乳类细胞的 β -珠蛋白基因顺序,与哺乳类胚胎细胞类 β -珠蛋白 Z 基因顺序间有共同性。Weissman, C.[瑞士]等研究人白细胞干扰素 cDNA 的结构与表达。他们从产生干扰素的人白细胞抽提得 12S 多聚(A)RNA 作为模板,合成双链 cDNA。插入 pBR322 质粒上后导入细菌。用干扰素 mRNA 检测转化细菌。由转化细菌得到的干扰素对胰蛋白酶敏感,在 pH2 条件下稳定。能为人的白细胞干扰素抗体灭活,而对人的成纤维细胞干扰素抗体有抗性。Tonegawa, S.[瑞士]采用 DNA 重组技术研究体细胞重组指出,淋巴细胞及其前身细胞分化期间,免疫球蛋白的激活是一系列高度特化 DNA 重新排列的结果。

基因导入

基因导入技术发展很快。Gurdon, J.B.[英国]

等将爪蟾基因组克隆微量注入蛙卵内。这些克隆则按其正常组织中表达的强弱而分类。大多数克隆 DNA 在卵内能转录。当将体细胞核注入卵内后,原来在体细胞内无活性的,有的仍没有活性,有的活性被激活。原来在体细胞中是活性基因的,有的注入卵内后失去了表达活性。Etkin, L.D.[美国]将海胆组蛋白基因片段克隆微量注入爪蟾卵核内,观察分析其功能。检测产物的可靠性用三种手段,即将在卵内新合成的 RNA,与海胆组蛋白 mRNA 的 cDNA 进行杂交反应;观察卵内新合成的 RNA,与海胆组蛋白 mRNA 的共同迁移性;观察卵内新合成的蛋白质,与海胆组蛋白的共同迁移性。结合核苷酸顺序分析,有两个位于海胆组蛋白基因的上行间隔顺序内的核苷酸顺序(一个含 A-T 多,一个含 G-C 多)存在。在含有 H₁, H₄ 和 H₂B 组蛋白基因的真核 DNA 片段中,含有这两个顺序。注射含有编码 H₂B 蛋白顺序和有 115 个碱基对的上行间隔顺序后,没有检测到转录和翻译产物。含 H₂B 基因的 DNA 片段含 A-T 多,而只有小部分的 G-C 区。结果似乎表明,编码区上行富含 G-C 的顺序,对海胆组蛋白基因的转录起重要作用。Trendelenburg, M.F.[西德]将蛙卵微量注射技术和染色质铺展实验相结合,研究编码卵白蛋白基因转录单位的超微结构。

基因导入技术的进一步发展是以哺乳类细胞作为受体。Axel 等发展了一个共同转化系统,能使克隆基因导入培养细胞中,研究克隆基因在异体宿主细胞中的表达。已共同转化了四株不同的细胞,不但将病毒胸腺嘧啶核苷激酶基因导入这些细胞内,而且具表达病毒酶的活性。还分离到一类不稳定突变株,其表型开关可以从胸腺嘧啶核苷激酶阳性变为阴性,再由阴性变为阳性。Anderson, W.F.[美国]等将疱疹病毒 I 型胸腺嘧啶核苷激酶基因的 3.5kb BamHI 片段和人的 β 珠蛋白基因的 4.4PstI 片段分别插入到质粒 pBR322 上。在微量注射小室内,将带有胸腺嘧啶核苷激酶基因或 β 珠蛋白基因的质粒注射到培养的胸腺嘧啶核苷激酶阴性的小鼠细胞核内。在一定的培养基上生长 6 个月后,在所有细胞群中均有病毒胸腺嘧啶核苷激酶 DNA 的存在,也有人 β 珠蛋白 DNA 的存在。Lee, D.A.[美国]等采用磷酸钙转染感染手续,将带有完整的原核色氨酸操纵子的质粒(CoIE-kan)导入到 CV-1 猴细胞内。带原核基因的质粒在真核细胞内能维持一短时间,并整合到宿主基因组内。Grässman, A[西德]用一个尖端的直径为 0.5

微米的玻璃微滴管, 将具活性物质导入到组织培养细胞核或质中。每小时可注射 1000 只细胞。用于研究 SV₄₀ 病毒早期和晚期基因的表达。微量注射效果很好, 给 100 只小鼠或猴细胞注射完整的 SV₄₀ 病毒 DNA 后 24 小时, 全部都有病毒抗原的表达。注射 SV₄₀ 病毒 DNA 的大鼠细胞, 有 20% 可生长成稳定的转化克隆。另外, Galjaard, H. [荷兰] 等利用体细胞杂交技术, 在体外条件下, 纠正酶基因的缺损。

染色质结构

Allis, C.D. [美国] 等以一种原生动动物 *Tetrahymena* 为材料, 这种原生动动物含有两个核, 大核在转录上是活性的体细胞核, 小核在转录上是惰性的生殖细胞核。分析大、小核的组蛋白和染色质结构。大核组蛋白有 7 个初级顺序变异, 其 H4 组蛋白的初级顺序的进化变异, 较高等植物和动物的大。具转录活性的核内, 其组蛋白有快速的合成后的乙酰化。转录上惰性的核, 其 H₁ 组蛋白减少或缺少组蛋白乙酰化。H₁ 组蛋白的磷酸化在大、小核均存在, 而 H₃ 组蛋白的磷酸化仅在惰性细胞核有。Zentgraf, H. [西德] 用电镜观察到, 染色质的超核小体组织化中有球状单位的存在。凝集的染色质中, 这些球状单位紧密排列, 形成纤维状结构。Laskey, R.A. [英国] 将爪蟾卵匀浆分部获得一酸性的、热稳定的蛋白, 能促进核小体核心 (nucleosome cores) 在体外装配。这个蛋白位于爪蟾卵核内。在一定条件下, 核小体核心也可以不需装配因子的存在, 而由组蛋白和 DNA 自我装配。Subirana, J.A. [西班牙] 等观察了染色质纤维亚单位结构。认为染色质纤维组织成一堆圆盘状结构, 每一个圆盘由 5—7 个核小体间隔 DNA 排列而成, 每三个圆盘形成一个染色质纤维的重复单位。Hadlaczky, G. [匈牙利] 等, 用盐溶液抽提去除染色体蛋白质, 用电镜观察研究中国田鼠卵巢染色体结构。结果染色体呈粗糙的纤维骨架, 有无数 DNA 纤维散射着。在骨架上有时可以看到中央节和带状结构。骨架的呈现与所使用的去蛋白和分散染色体的方法有关。当染色体在电镜网上原位去蛋白, 则没有骨架出现。因此用盐抽提去除染色体蛋白质后出现的骨架, 可能是由于染色体蛋白质的团聚造成的人为现象。

转 录

Brown, D.D. [美国] 以“真核基因是如何工作的”为题, 谈 5S RNA 是如何转录的。从两种爪蟾

分离到 5S RNA 的 5 个不同的多基因家族, 其中 3 个是卵细胞专一的。这几个 DNA 的重组形式在无细胞系统中都能支持 5S RNA 的转录。当用酶删除两侧顺序和基因本身, 改变体细胞 5S DNA 的一个重复单位, 再测试克隆片段转录 5S RNA 的起点和终点能力。在介于基因 +50 到 +55 (5'端) 和 +80 到 +83 (3'端) 间有一个调控区, 对于转录的起始是必要的。起始点受其周围顺序的影响。转录终点需要有至少含 4 个 T 残基的簇。用改变的 5S DNA 和未改变的 5S DNA 转录的 5S RNA 进行竞争反应。介于基因顺序上行 -18 和调控区的 5' 边缘间的删除, 减弱其竞争强度。删除调控区则排除了竞争。已纯化得一种蛋白质, 能结合到调控区, 似乎对 5S RNA 的转录是必要的。蛋白质结合部位与其邻近调控区 5' 端的顺序相互作用, 启动 5S RNA 的转录。

Pöckl, E. [澳大利亚] 等用 SV₄₀ 病毒突变株感染细胞后, 认为大 T 抗原能增加早期 mRNA 的转录速度。Aller, P. [西班牙] 等的蛋白质抑制剂工作指出, 新合成的蛋白质在摇蚊唾液腺细胞的转录调节中起作用。Bélanger, L. [法国] 在研究类固醇激素对 α_1 -胚胎蛋白基因表达的调节作用中指出, 糖皮质激素对甲胎蛋白在胚胎肝中的产生起开关作用。他们用地塞米松处理不成熟的大鼠, 结果甲胎蛋白 mRNA 顺序很快地从肝中消失, 而白蛋白 mRNA 顺序的数目没有改变。当激素处理中断, 甲胎蛋白 mRNA 顺序的数目恢复到正常水平。Anderson, H.A. [丹麦] 等观察到, *Tetrahymena* 细胞产生和分泌一些多肽, 这些多肽的功能是作为染色质上的抑制分子, 能与基因水平上的抑制因子有竞争作用, 从而激活被抑制的基因。Hillar, M. [美国] 等从核 RNA、DNA 和多聚核蛋白体多聚(A)-mRNA 抽提到低分子量多肽类。从完整细胞核也能分离到这类多肽, 这类多肽在无细胞系统中能调节转录和翻译的始动, 并能稳定 DNA 双链结构。在肿瘤组织如 Novikoff 肝癌, 小鼠淋巴瘤, 小鼠纤维肉瘤中这类多肽水平减少。这类多肽的减少可能与肿瘤 DNA 的模板活性有关。

小分子的核 RNA 在调控中的作用引起了重视和兴趣。Benecke 等 [西德] 发现真核细胞中除去 5S RNA 和 tRNA 外, 有一些低分子量 RNA 与 hnRNA 的代谢有关。他们将纯化的 HeLa 细胞核超声破碎后蔗糖梯度离心, 发现至少有 5 种小分子的 RNA 与沉降速度和 hnRNP 相同的亚核结构有关。Ringuette, M. [加拿大] 等认为小分子的核 RNA 能刺激染色质

的转录。他们从 SV₄₀ 病毒转化的 W₁₃₈ 人成纤维细胞得到的具活性的小分子的 RNA, 能刺激 W₁₃₈ 人成纤维细胞核的转录达到转化细胞核的转录水平。具活性小分子 RNA 具种属和组织专一性。Finacsek, I. [匈牙利] 等认为 U₁, U₂, U₃, 8S 低分子量 RNA 基因位于 rRNA 基因上, 可能对 rRNA 的转录起调节作用。

有关高等植物方面, 主要研究豆科植物和共生根瘤菌之间基因及其转录产物的关系, 特别是根瘤菌的转录产物对宿主基因表达的关系。Verma, D.P.S. [加拿大] 等人认为, 在固氮酶诱导之前, 被感染的宿主除去转录豆血红蛋白 mRNA 外, 还转录一些与根瘤菌共生有关的 RNA 序列。

体外培养细胞的分化

Ringertz, N.R. [瑞典] 等利用两个系统研究细胞决定和分化机制。一是将已决定并已分化的鸡血红细胞和啮齿类动物成纤维细胞或髓母细胞融合, 血红细胞处于休止状态的核被活化, 再用免疫方法和双向电泳方法检测鸡细胞基因表达产物。另一系统是将从小鼠畸胎瘤得来的胚胎癌细胞, 与去核的髓母细胞融合, 融合后不久即可在单细胞水平上分析表型的表达。Paulin, D. [法国] 等从移植的畸胎瘤建立了两株胚胎癌细胞, 当用诱导物如维生素 A 酸或环六亚甲基双乙酰胺处理时, 细胞能分化。F₉ 细胞株诱导后特化为内胚层细胞。PCC3/A-1 细胞株用同样诱导物处理后, 特化为中胚层细胞。两株细胞的胶原蛋白的合成也有不同。用同样诱导物诱导出具有不同分化特征的细胞的事实说明, 胚胎瘤细胞具不同的特征和发育阶段。

Ben-Ze'ev, A. [以色列] 等将依赖于贴壁生长的成纤维细胞改变为悬浮生长, 其大分子的代谢受到抑制。当将其再改为粘附生长时, 很快恢复蛋白质的合成, 甚至在细胞还没有伸展生长前即开始恢复合成。如将悬浮生长的成纤维细胞铺于铺有一层有机化合物薄膜的培养皿上时, 细胞直径尽管有很大的改变, 但是蛋白质的合成速度没变化。相反, 核内 DNA 和 rRNA 的合成, 以及 mRNA 的产生则明显地受细胞形状影响。因此认为细胞表面接触和细胞形状能引起明显不同的调节反应。Yaoi, Y. [日本] 等从培养的鸡胚成纤维细胞抽提到一种抑制生长的蛋白质, 并纯化得电泳为一条带的纯化因子。每毫升培养液内加 100

微克纯化物质, 明显地减低培养的鸡胚成纤维母细胞的生长速度。抑制因子的有效成分是一种酸性糖肽。当细胞生长达到群集时, 这种糖肽的量就明显增加。表明这种细胞表面生长抑制因子对调节培养鸡胚成纤维母细胞的生长密度有关。

早期胚胎发育的决定和分化

Davidson, E.H. [美国] 用海胆胚胎的 cDNA 文库观察到, 原肠胚形成后, 大约 40% 的多聚(A) RNA 在细胞内仅只有几个拷贝, 较多的 RNA 在细胞内有 10 个到几百个拷贝。进一步发育则出现高度优势 mRNA。晚期胚胎所具有的 mRNA (>10³ 拷贝/细胞) 在卵细胞中均存在。至少有 65% 的多聚(A) RNA 分子含有重复顺序和单一顺序。Shepherd, G.M. [美] 等用代表高度丰富的囊胚期 mRNA 的 cDNA 观察到, 其中只有一半与原肠胚 mRNA 杂交。显然, 当从囊胚期发育到原肠胚时, 这些丰富的 mRNA 的浓度发生变化, 25% 仍是丰富的, 25% 减少了, 50% 则检测不出来。相反, 当将此 cDNA 与核 RNA 杂交时, 则所有的这些顺序均在原肠胚核内存在。核 RNA 在原肠胚多聚核蛋白体上的缺失是转录后调节过程发生变化, 可能在发育过程中起作用。

Gardner, R.L. [英国] 移植基因被标记的细胞到胚胎和卵裂胚胎, 分析小鼠胚胎的细胞决定。与内细胞团相对的滋养外胚层的决定, 在胚胎早期出现。而内细胞团的分化则在其后发生。细胞所处的部位对其分化可能起决定作用。从原始的内胚层分化为它的腔壁层和内脏层, 则不一定包括始动的决定步骤。Lehtonen, E. [英国] 指出, 在着床前小鼠发育时, 影响其细胞命运的主要因子是细胞在胚胎中与相对应的其他细胞的部位。从 2 个细胞阶段起始, 通过连续的细胞相互作用的结果, 细胞移动到它相应的部位。用缩时录象装置观察了 1 到 8 个细胞阶段的卵裂行为。在 2/2 和 2/4- 细胞对时, 两个子细胞间的接触没有变化, 而在 2/8- 和 2/16- 细胞对时, 则增加变化。认为小鼠细胞谱系的非基因型控制, 可能依赖于卵裂阶段细胞的空间和时间的相互关系。

微管、微纤维、中等纤维

Kirschner, M.W. [美国] 用鸡胚胎 α 和 β 微管蛋白 mRNA 制备 cDNA 后克隆, 用来研究微管蛋白基因的表达。 β 微管蛋白克隆有全部 β 微管蛋白的编码顺序; α 微管蛋白克隆有 85% 的 α 编码顺序。

α 与 β 间没有交叉杂交,但是都能与脊椎动物和许多无脊椎动物的 DNA 杂交,说明其是高度保守的。检测结果指出,有 4 个 α 和 4 个 β 微管基因分布于 3 个不同的染色体上。正在研究了解哪一个基因是可表达的。Little, M. 等 [美] 比较分析较低等和较高等真核细胞微管蛋白结果指出, β 微管蛋白亚单位在结构上比 α 亚单位更加保守。Ponstingl, H. [西德] 等则对微管蛋白的一级结构和氨基酸顺序进行了分析和比较。

Pollard, T. D. [美国] 提示收缩蛋白和微管的联系,它们可能参与依赖于微管的运动。肌动蛋白是有丝分裂纺垂体的组成成分。在许多情况下,肌动蛋白沿着含有微管的纺垂纤维浓集。肌球蛋白也分布于有丝分裂的纺垂体上,但是它不浓集,而是分散分布。纯化的肌动蛋白纤维和微管在溶液中可以形成稳定的网状结构,并具有凝胶生理性质。显然,肌动蛋白—微管相互作用参与肌肉和骨骼细胞运动。Weinert, T. [意大利] 等在研究为什么微管在粘菌 *Dictyostelium discoideum* 的抽提液中不能成功地自发装配时发现了一种抑制物质,能抑制猪脑微管蛋白的聚合。纯化得抑制因子,可直接作用于微管,而不作用于与微管有关的蛋白质。所以作者认为这个蛋白的功能为微管的负调节因子。

Spudich, J. A. [美] 指出, *Dictyostelium* 肌球蛋白的磷酸化对肌动蛋白和肌球蛋白的相互作用有影响。肌球蛋白尾部蛋白的磷酸化与肌球蛋白粗纤维形成的调节有关。Korn, E. D. [美国] 等对 *Acanthamoeba castellanii* 的三个肌球蛋白同功酶的化学、酶学特性,及其在细胞内的分布作了报告。Asano, A. [日本] 等从小鼠艾氏腹水癌细胞分离到一种新的蛋白质,称之为 Actinogelin, 与微纤维系统的 Ca^{++} 调节有关。用抗体检测法观察其在细胞和组织内的分布,骨骼肌中没有找到这种蛋白,但在小鼠巨噬细胞内有,而且随细胞运动的几个不同阶段荧光着色图式也是不同的。Isenberg, G. [美国] 等从 *Acanthamoeba* 提纯得一种蛋白质,称之为 Plasticin, 它能减低肌动蛋白纤维的低切变粘度。松胞菌素 B 与其一起则具加合抑制效应。当 Plasticin 抑制肌动蛋白低切变粘度达 90% 时,肌动蛋白聚合速度和程度只有微弱的减低,并且其纤维长度也没有明显变化。此外, Plasticin 对于肌动蛋白纤维也不引起构型的改变。Plasticin 与肌动蛋白纤维末端相结合,可能阻止纤维间的联合 (association)。

Condeelis, J. [美] 从 *Dictyostelium discoideum* 得到一种可溶性的与肌动蛋白结合的蛋白质,称为凝胶化因子。能与肌动蛋白共同装配形成各种各样为运动所需要的结构。又分离得到含有高浓度肌动蛋白的细胞膜碎片。研究结果指出,肌动蛋白纤维通过 ATP 与细胞膜的细胞质一面相结合;肌球蛋白则由于 ATP 与肌动蛋白不稳定的作用而与细胞膜相结合;与膜相联合的肌动蛋白和肌球蛋白构成膜的外周组成。可溶性的凝胶化因子并不连接肌动蛋白纤维到膜上,其与肌动蛋白纤维间的相互作用能为 μM 浓度 Ca^{++} 所抑制。在 μM 浓度 Ca^{++} 条件下,肌动蛋白纤维和膜间的附着保持稳定。这种稳定的联结与肌球蛋白相互作用而产生细胞运动。

Holtzer, H. [美] 等报告了有关分化时期中等大小纤维 (IF) 的变化。许多种细胞均含有中等大小纤维,根据其生化和免疫学特征,可以分为不同的类型。在 36 小时鸡胚细胞中如成纤维细胞,成软骨细胞,内皮细胞,巨噬细胞,色素细胞等均存在有一类中等纤维,称之为“组成” (constitutive) IF。其分子量和免疫学特征不同于有丝分裂后的成肌母细胞和成神经母细胞中的中等纤维。在预定成肌母细胞中,“组成” (分子量 58kd) IF 只占总细胞蛋白质的 5%,这类细胞不能合成肌肉专一的 IF 蛋白 (分子量 55kd)。其有丝分裂后的子细胞,即使仅几个小时的年龄,也能合成肌肉专一的 IF。在不成熟的肌管中,“组成” IF 和肌肉专一的 IF 延肌原纤维的纵轴平行排列;成熟后,IF 的数目减少。“组成” IF 检测不出,肌肉专一的 IF 只在肌原纤维的 I-Z 区可见。同样,预定成神经母细胞合成“组成” IF。有丝分裂后的子细胞合成分子量为 70kd、160kd 和 180kd 的神经专一的 IF。

植物细胞培养, 细胞杂交和育种

植物原生质体的培养越来越引起重视,特别是在育种上的应用。由于植物种类以及同一植物不同部位细胞之间存在有差异,因此选择最适培养条件和技术是重要的。Vonketeswurm, S. [美] 培养乌桕、合欢和 *Capaifera* 三种被子树木的原生质体,观察到壁的再生、细胞分裂和愈伤组织的形成。Jones, M. G. K. [英] 从数种禾本科和豆科牧草的原生质体获得愈伤组织。由禾本科叶肉得来的原生质体不能分裂,而从悬浮培养细胞得来的原生质体则能分裂。Batra, A. [西德] 等从葫芦藓原生质体也得到再生植株。

Hoffmann, F.[西德]与 Gleba, Y.Y.[苏联]合作,用体细胞杂交获得 *Arabidopsis thaliana* (拟南芥)和 *Brassica campestris* (野油菜)的体细胞杂种。对杂种细胞的染色体和叶绿体部分 I 蛋白亚基作了分析。观察到,有的株系里没有染色体排斥,有的株系里排斥了野油菜的标记染色体,然而两个株系里均有油菜叶绿体的存在。但是叶绿体部分 I 蛋白的小亚基,或为杂种小亚基,或纯系拟南芥的小亚基。Schieder, O.[西德]培养一种曼陀罗原生质体成再生植株,并且能和其他曼陀罗杂交,或与矮牵牛、烟草属间进行杂交。体细胞杂交后,如何识别和选择出杂种细胞是个难题,匈牙利生物研究中心植物生理研究所筛选了一个母系遗传的抗链霉素烟草 (*Nicotiana tabacum*) 突变系,用抗链霉素为标记选择杂种细胞。并用以研究异核融合中的核质关系。Potrykus, I.等人[瑞典]将烟草和胡萝卜进行体细胞杂交后,利用两种不同抗药细胞系之间的互补作用,选择出双抗性的杂种细胞。

体细胞杂交在绝大多数情况下导致染色体的排斥。有的人认为部分地置换细胞质实现 Cybrid 是可取的。高速离心,松胞素 B 处理能部分成功地获得无核胞质体。Cooking, E.C.[英]等发现,生长素诱导下的愈伤组织中有大量液胞化的、壁很薄的细胞。当这些细胞破裂后释放大亚细胞单位(2-20 μ),称之为微质体(micoplast)。每一细胞释放 1 个有核的微质体,其余数百个是无核的微质体。在一定培养条件下,许多微质体变大,用电镜和荧光增白剂观察,在其表面形成很薄的壁,甚至分裂。它类似于生命前期进行繁殖的类细胞系统。

利用原生质体可以进行遗传操作。Galum, E.[以色列]用一种烟草 *N. Sylvestris* 的原生质体,与普通烟草的一个雄性不育系的原生质体融合,并在对 *N. Sylvestris* 生长不适的含甘露醇的培养基上,选择雄性不育的体细胞杂种。大多数杂种细胞表现了 *N. Sylvestris* 核的特征,它们是雄性不育的。雄性不育可能和叶绿体组分无关,而与线粒体有关。Matagne, R.F.[比利时]利用单细胞的莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardi*) 不同的突变体间的原生质融合,研究叶绿体基因遗传。

细胞病理及遗传缺损

Erikson, R.L.[美]认为,与鸡肉瘤病毒转化基因产物 pp60^{src} 蛋白相比,正常的未感染的鸡和哺

乳类细胞内也有一个同源蛋白,名曰 pp60^{src},其抗原性与 pp60^{src} 相关,也是一种蛋白激酶,能使多肽上的酪氨酸残基磷酸化。细胞的 pp60^{src} 的含量水平一般比病毒的 pp60^{src} 少 30—50 倍,推测病毒感染后,可能只是由于细胞的酶生产过量,结果使细胞转化。Levine, A. J.[美]等观察到,SV₄₀ 病毒感染或转化的细胞中,SV₄₀ 病毒能刺激细胞内一种分子量为 54000 的蛋白质增加产量 50—100 倍。这种细胞蛋白质能与带 SV₄₀ 病毒的动物血清产生专一的免疫沉淀。3T3 细胞和幼鼠肾成纤维细胞产生这种蛋白的量只为转化细胞的 1—2%。从 SV₄₀ 病毒转化细胞和未感染的胚胎瘤细胞得来的分子量为 54000 的蛋白质,具有相同的多肽图谱。SV₄₀ 病毒大 T 抗原对于刺激分子量为 54000 的蛋白质的增加是必要的。大 T 抗原与这种蛋白质在溶液中可形成复合物。复合物的性质和意义正在探讨中。Bayliss, G. J.[西德]用来自 P3HR1 细胞的 EB 病毒感染 Raji 细胞,引起多核细胞的形成。作者认为,EB 病毒在组织培养条件下能诱使细胞融合,这个现象可能在 EB 病毒诱发鼻咽癌的病因上起重要的作用。

在植物方面的研究如 Valent, B. S.[美]研究大豆病原菌大雄疫霉的变种,简称 Pms。从其菌丝体细胞壁分离出一种葡聚糖,能刺激大豆子叶和培养的细胞合成植物抗毒素,以阻抑离体条件下微生物的生长。大豆植株对于 Pms 菌丝体壁的葡聚糖结构有识别和反应能力。Strobel, G. A.[美]研究了甘蔗长蠕孢 (*Helminthosporium sacchari*) 侵染甘蔗的分子机理是引起宿主产生特殊的毒素。

细胞生物学方法及其应用

原位杂交技术:会议期间有一个中午专题工作报告会,讨论有关“原位杂交技术用于研究 RNA 特征和转录单位”。Pardue, M. I.[美]和 Callan, H. G.[英]等在会上作了报告。工作内容大多有关卫星 DNA,重复顺序 DNA,以及 rDNA 在染色体上的转录单位。特别是 DNA 克隆和切口翻译标记技术的应用,使原位杂交技术的灵敏性和准确性均有提高。此外,Harper, M. E.[美]等在壁报专栏上介绍单拷贝基因在人染色体上原位杂交定位。采用无性繁殖手段得到 18kb 人的 DNA 片段,含 > 95% 的单拷贝 DNA,位于 1 号染色体的 p³⁶ 带上。切口翻译标记后用于原位杂交。在 57% 的有丝分裂细胞的 1 号染

毫米厚的有机玻璃粘合成型(图 1b)。把已镀制好的镜片用环氧树脂牢固地粘接在已制好的支架上,然后整体安装在超薄切片机刀架后面。

7. 调试及使用

调试使用前必须首先用新的锋利刀片把标本块顶端修成一光滑平面(如果用切片机或 LKB 修块机修整块面会更好)。粗糙的样块顶面不会得到满意的反射面。

反光镜安装好了以后,将切片机上的显微镜朝向操作者倾斜约 25° ,同时调节好标本块的高度,用 $40-80\times$ 的显微镜聚焦在刀口上,并前后滑动显微镜底座,使刀口和标本块处于显微镜的视野之内。把荧光灯调节在与垂直面倾斜 5° 的位置上。通过显微镜观察时,可看到刀口上有一亮线,亮线以内是暗区。同时调

节标本臂的高度,当标本臂上的样块升高到刀口以上的位置时,标本块面在暗灰色背景下显得很亮(图 3a)。在以上各个步骤的调节中,不管玻璃刀是否已装上胶带(或蜡坝)、水槽内是否已注满槽液,对各步调节均不会产生影响。

用切片机上之手动控制旋钮将标本块调节到被照明的高度上,把切片刀推进至标本块的底边缘,使看不到亮线为止。随着标本块底边稍稍高出刀口,就很容易调节刀口与样块底边的平行线了(图 3b)。当样品块顶面未完全升高到刀口以上时,所看到的样块顶面之亮区较窄(图 3c)。当样块顶面与刀口不平行时,就会出现(图 3d)的情况。这样就要重新调节,使之相平行。一切工作就绪后,就可进行切片了。

(上接第 40 页)

色体上的 p^{36} 带有颗粒。以 1000 倍过量的总的 DNA 进行竞争,对标记没有影响。用含有人 α -珠蛋白顺序的质粒 DNA 与染色体进行原位杂交,在 16 号染色体上有标记,表明 α -珠蛋白基因位于这个部位。作者认为这个方法是可以用来在哺乳类染色体上对任何克隆的单拷贝基因进行定位。

Ashihara, T. [日] 发展了一种细胞荧光光度计,可同时测定一个肝细胞中两种不同荧光反应的细胞组分,如 DNA 和 RNA,或 DNA 和蛋白质等。Bottiroli, G. 等 [意大利] 利用脉冲激光显微荧光测定技

术研究染色质的功能状态。Collard, J.G. [荷兰] 等建立了一种染色体分检技术,可以分离大量染色体,用于基因定位等研究 (Exp. Cell Res. 126:191, 1980)。Meistrich, M.L. [美] 实验室从 1974 年起始至今,建立方法将正常细胞和肿瘤细胞分开,将 G_1 期细胞与 S 期和 G_2 期细胞分离开。Reuter, W.O. 等 [西德] 发展建立了一套新的定量显微镜系统,用于细胞生物学研究。此外,有有关细胞培养的方法和条件,细胞融合等技术,以及光学和电子显微镜等方面的技术发展和应用等。

学术活动

Clark 博士来沪讲学

美国耶鲁大学 T.G. Clark 博士应中国科学院上海细胞生物学研究所的邀请,于 1981 年 8 月 16 日到 30 日在上海讲学和进行实验示范。第一讲的题目是细胞骨架概论。着重介绍了细胞骨架结构成分的分子性质及形态变化。第二讲的题目是非肌肉细胞中肌动蛋白和肌球蛋白装配及其相互作用的生物化学。第三讲是以色素颗粒在细胞内的移动为例,对细胞内颗粒的运动与细胞骨架结构之间的关系进行了探讨。报告内容正在整理并将在《细胞生物学杂志》上发表。

Clark 博士在沪期间做的示范实验包括:用双标记免疫荧光法作鼠胚和鸡胚细胞里微丝和中等纤维的定位;用肌球蛋白 FITC-S1 片段作微丝定位;利用他带来的四种抗血清在鸡胚细胞、小鼠胚胎细胞及 HeLa 细胞上作不同细胞骨架结构蛋白—结蛋白、微管蛋白、波形纤维蛋白及角质蛋白的定位;在相差显微镜下观察分离的肌原纤维的结构,并用 FITC-S1 做肌原纤维中肌动蛋白的定位。

(卫林祥)