

互作用来调节的最好例子。细胞分化,细胞迁移,胚胎诱导,胚层、组织和器官的形成等都与细胞-细胞的相互作用有关。

作为细胞间相互作用渠道之一的间隙连接已在各种发育系统,如鸡、两栖类、软体动物和棘皮类的早期胚胎中普遍发现,但研究其与发育关系首先是在哺乳类进行的。小白鼠胚胎早在8细胞期就已发现分裂球之间有间隙连接存在。有人检验小白鼠胚胎在着床前和着床后的通讯^[10]。把荧光素和辣根过氧化物酶注入小白鼠着床前胚胎,然后监测其离子传递以检验

通讯的开始,发现在2、4和8细胞阶段的胚胎,姐妹分裂球存在离子传递和被注射物的转移,但相反,来自不同姐妹对的分裂球之间没有这种通讯。至胚泡期,胚泡的滋养层细胞通过连接与其它滋养层细胞及内细胞团的细胞连接,着床后鼠胚的体外观察表明,这些细胞都有离子传递和染料的转移,但后来,离子传递虽然继续着,染料的转移却变得有限。这表明随着胚胎的发育,间隙连接的通讯也跟着发生了。

(下转第6页)

植物离体培养中染色体的变异

商效民

(北京农业大学农学系)

随着植物细胞和组织培养的迅速发展,不断发现植物离体培养细胞中的染色体数目和组型与供体植物不同^[1-3]。这些变化包括染色体数目变异、结构变异和有丝分裂异常,与长期培养的动物细胞、动植物肿瘤细胞中染色体的各种变异类似^[1,4]。这意味着植物细胞和组织在离体培养期间,基因型发生了突变。目前,这些变异现象已受到普遍重视。现将有关在离体培养中植物染色体变异的普遍性;变异发生的原因及演化趋向等研究近况和有关利用这些变异的一些成果和展望,简介如下。

一、变异发生的普遍性

据报道,至少有近60种植物经离体培养后发生了染色体变异(见表1、表2)。

1、不同外植体来源的培养物的染色体变异

烟草是组织培养中常用的植物之一,有关它在离体培养中染色体研究的报道已有20多篇。无论是用髓薄壁细胞^[6]、叶柄细胞^[1]、叶肉原生质体培养^[9],还是用花药培养,所发生

的愈伤组织品系中^[7],均产生了大量多倍化和非整倍化的细胞。在 *Nicotiana glauca* 根尖细胞分裂间期的异染色质中心是中期近端着丝点染色体长臂的异染色质区,但在叶肉细胞原生质体产生的6周龄愈伤组织中,染色体加倍为四倍体,而染色中心数则是混倍的。培养时间较长的愈伤组织中也观察到类似变化。因此, Banks 等^[7]提出染色体数目尽管能显示分裂细胞的染色体构成,但并不是以反映离体培养中整个核的变异情况。显然,这个种在组织培养中产生了多倍体和混倍体。

Guerri 等^[8]报道了烟草组织培养未去分化和去分化过程中染色质的变化情况。在未去分化的外植体髓中,染色质模板活性很低,而在愈伤组织中,染色质模板活性变得相当高。

用蚕豆未成熟的子叶、种子、胚和根瘤等不同来源的外植体进行培养,愈伤组织中均出现了多倍体、混倍体和染色体结构发生了变异的细胞。而且,核碎片或无丝分裂产生了各种DNA含量非整倍性的突变细胞^[9]。

在马铃薯叶愈伤组织^[10]和茎原生质体培

表 1 在离体培养中发生染色体变异的植物

(国外)

植 物 名 (包括学名和中文名)	染色体数	培养方式	染色体变异情况				作者(按年代先后)
			多倍性	非整倍性	结构变异	有丝分裂异常	
田旋花	24	S	+	+	0	0	Torrey 等 1962
白云杉	24	C	+	+	0	0	De Torok 等 1962
苜蓿	16	C	+	+	+	0	Clement 1964
<i>Tradescantia paludosa</i>	12	C	+	+	+	0	Yamada 等 1964
水稻	24	C	+	+	0	0	Yamada 等 1967
柠檬	18	C	+	+	0	0	Murashige 等 1968
天竺葵	9	C	-	+	0	0	Bennici 等 1968
赤桉	22	C	-	-	-	+	Piton 1969
黑麦草	21	C	+	+	+	0	Norstog 等 1969
牡丹	10	C	+	-	0	0	Demoise 等 1969
甘蔗	112—122	S	+	+	0	0	Heintz 等 1969
一粒小麦	14	S	+	+	+	0	Kao 等 1970
二粒小麦	28	C	+	+	0	0	Shimada 1971
大金鸡菊	24	S	+	+	+	+	Gupta 等 1972
家黑种草	12	C/S	+	+	+	+	Gupta 1972
蜀葵	42	C/S	+	+	+	+	Gupta 等 1973

(上接第 5 页)

连接通讯也可能与胚胎发育早期的构型形成有关。有人认为构型形成是通过一种叫“位置信息”的机制,即细胞首先得到关于它的身分的信息,然后根据细胞本身遗传信息的内容和发育史来“扮演”这种身分,所以,细胞的行为主要是由它们的位置决定的。关于位置信息如何产生,细胞如何得到,目前还只是理论上的推测,但这些位置信息看来很可能是要通过这种连接来扩散才能起作用的。

参 考 文 献

- [1] Branton, D. et al. 1975 *Science*, 190, 54—56.
- [2] Staehelin, L. A. and Hull, B. E. 1978 *Scientific American*, 238, 140—152.
- [3] Dewey, M. M. and Barr, T. 1962 *Science*, 137, 670—672.
- [4] Revel, J. P. and Karnovsky, M. J. 1976 *J. Cell Biol.*, 33, C7—C12.
- [5] Goodenough, D. A. 1974 *J. Cell Biol.*, 61, 557—563.
- [6] Staehelin, L. A. 1974 *Int. Rev. Cytol.*, 39, 191—283.
- [7] Johnson, R. G. et al. 1973 *J. Ultrastruct. Res.*, 43, 298—312.
- [8] Henderson, D. et al. 1979 *J. Mol. Biol.*, 132, 193—218.
- [9] Johnson, R. et al. 1974 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71, 4536—4540.
- [10] Smets, L. A. et al. 1979 *Exp. Cell Res.*, 123, 87—94.
- [11] Smets, L. A. et al. 1982 *Exp. Cell Res.*, 139, 181—189.
- [12] Epstein, M. L. and Gilula, N. B. 1977 *J. Cell Biol.*, 75, 769—789.
- [13] Fentiman, I. S. et al. 1976 *Nature*, 264, 760—762.
- [14] Simpson, I. et al. 1977 *Science*, 195, 294—296.
- [15] Sheridan, J. D. et al. 1979 *Exp. Cell Res.*, 123, 111—117.
- [16] Gilula, N. B. et al. 1976 *Dev. Biol.*, 50, 142—168.
- [17] Loewenstein, W. R. 1979 *Biochem. Biophys. Acta*, 560, 1—65.
- [18] Lawrence, T. S. et al. 1978 *Nature*, 272, 501—506.
- [19] Moor, R. M. et al., 1980 *Exp. Cell Biol.*, 78, 58—75.

续表 1

植物名 (包括学名和中文名)	染色体数	培养方式	染色体变异情况				作者(按年代先后)
			多倍性	非整倍性	结构变异	有丝分裂异常	
<i>Malus sylvestris</i>	34	C	+	+	+	0	Ravkin 等 1973
葫芦巴	16	C	+	+	+	0	Gupta 1973
<i>Datura innoxia</i>	24	C	+	+	0	0	Hiraoka 等 1974
香豌豆	14	C	+	+	0	0	Frolova 等 1974
<i>Lillium longiflorum</i>	24	C	-	-	+	0	Sheridan 1974
<i>Nicotiana sylvestris</i>	24	S	+	0	0	0	Dix 1974
天蓝绣球	14	C	+	+	0	0	Matsuzawa 1974
豌豆	14	C	+	+	+	0	Frolova 等 1974
扁桃	16	C	+	+	0	0	Mehra 等 1974
胡萝卜	18	C/S	+	+	+	+	Bayliss 1975
麝香石竹	30	C	+	+	0	0	Hauzinska 1975
向日葵	34	C	+	0	0	0	Butcher 等 1975
瑞士五针松	24	C	+	0	0	0	Salmia 1975
小麦	42	C/S	+	+	+	0	Asami 1975
蚕豆	12	C	+	+	+	+	Asami 1975
<i>Vicia hajastana</i>	10	S	+	+	+	+	Singh 1975
<i>Cerasus avium</i>	16	C	+	+	+	0	Legeida 等 1976
<i>Nicotiana otophora</i>	24	C	+	+	0	0	Banks 等 1976
菜豆	22	C	+	0	0	0	Haddon 等 1976
黑豆	14	C	+	+	+	0	Asami 等 1976
<i>Zingiber biebersteiniana</i>	4	C	+	+	+	+	Levenko 等 1976
假挪威槭	52	S	+	+	0	0	Rembur 1977
洋葱	16	C	+	+	+	+	Nandi 等 1977
甜菜	27	C	+	+	0	0	Maljuk 等 1977
大豆	40	S	+	+	0	0	Kao 1977
<i>Lycopersium peruvianum</i>	24	C	+	0	0	0	Ancora 等 1977
玉米	30	C	+	+	+	+	Balzan 1978
<i>Crepis capillaris</i>	6	C	+	+	+	0	Bayliss 1980
<i>Haplopappus gracilis</i>	4	C/S	+	+	+	+	Bayliss 1980
烟草	48	C	+	+	+	+	Bayliss 1980
大麦	14	C	+	+	0	0	Orton 1980
大蒜	16	C	+	+	+	+	Navak 1981
<i>Haworthia setata</i>	14	C	+	+	+	+	Ogihara 1981
马铃薯	48	S	+	+	0	0	Karp 等 1982
大麦	14	C	+	+	0	0	Ruiz 等 1982
豇豆	22	C	+	+	0	0	Jha 等 1982

注: 1* 甘蔗供体植物的正常染色体数分别为112、114、122。

2、各种符号: C表示愈伤组织经固体培养基培养; S表示悬浮液培养; +表示存在这种类型的变异; -表示不存在这种类型的变异; 0表示未报道这种类型的变异。

表2 在离体培养中发生染色体变异的植物

(国内)

植物名	染色体数	培养方式	染色体变异情况				作者(按年代先后)
			多倍性	非整倍性	结构变异	有丝分裂异常	
小麦	42	C	+	+	+	+	胡含 1978
苹果	51	C	+	+	0	0	母锡金等 1979
大麦	14	C	+	+	0	0	孙敬三等 1981
百合	24	C	+	+	0	+	贾敬芬等 1981
玉米	10	C	+	+	0	0	黄娇香等 1981
石刁柏	20	C	+	+	0	+	本文作者等 1982

注:符号说明见表 I。

养^[11]以及苹果胚乳^[12]、石刁柏芽段、豌豆幼苗根段^[13]等愈伤组织和玉米花粉胚状体中^[14],也都观察到染色体数目的变化。在百合花丝的愈伤组织中,细胞核的形状、大小和染色体的数目等有很大变化,而且薄壁细胞间存在染色质穿壁运动^[15]。而苹果胚乳愈伤组织中的染色体数的变化范围是37—200^[12]。在洋葱二倍体愈伤组织的核型中,染色体的总长度和着丝点位置也都发生了突变^[16]。

所以,似乎可以得出结论:不同植物种类或同一植物的不同组织、器官,经离体培养后,都可能发生染色体的变异。

2、不同培养条件下染色体的变异

许多研究者发现 *Haplopappus gracilis* 无论是固体培养还是液体培养,染色体大多表现出多倍体、非整倍体以及结构变异。在分别含有2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D,2ppm)、萘乙酸(NAA,2ppm)、吲哚乙酸(IAA,2ppm)、激动素(0.1ppm)等植物激素的培养基中,其愈伤组织内均分布有各种染色体异常的细胞。但在含有2,4-D+激动素的培养基中,多倍体细胞的频率要比仅含2,4-D、NAA、激动素等单一激素培养基中的高^[18,17,25]。在豇豆下胚轴愈伤组织、*Haworthia setata* 花芽愈伤组织以及其他许多种植物的愈伤组织中,尽管不同的研究者使用了各种不同的培养方法,但都观察到类似的结果^[18,19]。

染色体变异还与培养时间的长短有密切关

系。源于烟草髓外植体的愈伤组织培养1年后,由50%的四倍体细胞和50%的八倍体细胞组成;当培养6年后,几乎全是非整倍体,并且丧失了再生能力^[13]。还阳参属中的 *Crepis capillaris* 的愈伤组织培养12个月后,仍保持为二倍体,但培养到17个月后,愈伤组织中就混杂了四倍体、八倍体细胞^[1]。

Novak^[20]研究了由大蒜叶子和分生组织起源的2个愈伤组织品系,也发现培养时间越长,高于4n的多倍化细胞的比例越大,2n—4n之间的非整倍细胞的频率明显增加。除数目变化外,典型的结构变异包括:环形染色体、大段的染色单体缺失、具末端着丝点和一个随体的染色体断片、无着丝点断片、粉碎状染色体、后期和末期形成1—3个双着丝点染色体桥、间期相邻细胞间形成染色质桥等。

3、再生植株中的染色体变异

最近的研究已经证明,不仅细胞和组织的培养物有染色体变异,而且再生植株也有。在大麦胚乳愈伤组织再生的植株中,染色体数目的整倍性变化范围是2n=7,14,21,28;非整倍性变化范围为2n=8,9,10,13^[21]。在马铃薯叶愈伤组织和 *H. setata* 花芽愈伤组织的再生植株中也发现四倍体、非整倍体、混倍的亚四倍体等数目变异的细胞^[10,18]。在 *H. setata* 的再生植株中,还有染色体倒位、易位,缺失等结构变异的细胞,而且,在再生植株的减数分裂中,染色体行为异常^[18]。

由小孢子培养的部分再生植株中,染色体也是高度变异的。在烟草属的许多种中,尽管许多再生植株确是单倍体,但也存在二倍体和非整倍体的再生植株,尤其在由较老的花药培养的再生植株中,染色体变异更大。在曼陀罗属中,已观察到了单倍体至六倍体的再生植株。小麦再生植株的染色体数目变化范围是11—77。而稻属则有单倍体到十倍体的再生植株,大麦有单倍体到四倍体的再生植株。在矮牵牛属、毛地黄和天仙子的再生植株中,二、三、四倍体细胞占优势,而单倍体细胞却很少。燕麦再生植株与亲本植物相比,基因型和

表现型均有较大变异,而且存在一些不育的再生植株^[2,22,23]。

4、一些例外的情况

在若干种植物的组织和细胞培养材料中,其染色体未发生种种变异的报道也有,如:Kao等在已建立的 *H. gracilis* 悬浮液培养细胞品系中,未观察到染色体发生变异。谷明光等报道了有关玉米花粉愈伤组织中染色体数目的稳定性:培养12个月后,仍有90%的细胞为单倍体($2n = 10$),但已有10%的细胞为亚单倍体、亚二倍体和二倍体。

有关离体培养中染色体未发生变异的植物

表3 在离体培养中未发生染色体变异的植物

植 物 名 (包括学名和中文名)	染色体数	培养方式	培养持续时间	统计细胞数	作者(按年代先后)
苜蓿	16	C	2年	0	Clement 1964
赤桉	22	C	3年	0	Sussex 1965
<i>Crepis capillaris</i>	6	C	1年	0	Reinert 等 1966
赤桉	22	C	10年?	31	Piton 1969
澳洲火树	24	C	21个月	2000	Nag 等 1969
<i>Haplopappus gracilis</i>	4	S	0	0	Kao 等 1970
<i>Pinus gerardiana</i>	24	C	4—10星期	40	Konar 等 1972
咖啡	44	C	0	0	Sharp 等 1973
黑麦草杂种	21	C	1.5年	25	Ahloowalia 1975
牡丹	10	S	0	0	Gildow 等 1977
<i>Pseudosuga menzies</i>	26	C	8个月	0	Venketeswaran 等 1978
<i>Brachycome linearilobe</i>	4	C	14个月	0	Gould 1978
玉米	10	C	1年	1539	谷明光等 1982

注:符号说明见表1。

总结为表3。

二、染色体变异发生的原因

离体培养产生染色体变异的机制,可以追溯到DNA结构和DNA复制顺序的改变,以及有丝分裂本身机制的改变。

1、内多倍体细胞导致染色体多倍性变异

关于多倍性变异,目前一种解释是,由于植物组织内已经具有内多倍体细胞(指植物体正在分化的组织中,由于DNA不断的周期性复制,而不进入有丝分裂,结果产生了内多倍

体细胞。这些细胞在正常情况下不分裂)。因此,在离体培养条件下诱导这些细胞分裂就导致染色体多倍化变异。在烟草中,用放射自显影标记法似乎证明,在生长素和细胞分裂素诱导髓形成愈伤组织的条件下,髓薄壁组织中原有的内多倍体细胞开始分裂。然而,问题是这种试验所用的愈伤组织内,大部分的分裂细胞是二倍体,因此,并没有真正解决是否进入分裂的内多倍体细胞或多线染色体,能直接产生相应的多倍体细胞的问题。迄今仍然不能肯定,有关烟草髓外植体早期培养所观察到的多

倍体分裂细胞是直接起源于髓外植体的内多倍体细胞。但玉米胚乳培养在缺乏合成生长调节剂的培养基中,却肯定了内多倍体细胞产生多倍体细胞这一现象。在葱属和豌豆属中用放射自显影术也显示出原外植体内的内多倍体细胞开始有丝分裂。

然而,用粉蓝烟草髓、红花菜豆叶柄和蚕豆未成熟子叶为材料证明离体培养初期,诱导形成愈伤组织的条件将导致内多倍体细胞进行无丝分裂。而且,直接启动无丝分裂进入有丝分裂并不存在事先的DNA合成期^[1,2,24]。显然,由内多倍体细胞产生染色体多倍化变异的机制是非常复杂的。

2、外源激素诱导染色体多倍性变异

尽管离体培养早期出现的多倍体细胞很可能由外植体的内多倍体细胞产生。但是,用实际上不存在内多倍体细胞的外植体进行培养,染色体也能发生多倍性变化。很多证据表明,这些变异与天然的或合成的生长素和细胞分裂素有关^[18]。很可能是因这些生长调节物质破坏了细胞纺锤体形成,并改变有丝分裂各个时期的正常比,即后期或末期的频率减少,而导致染色体数发生变化。

多数试验证明^[14,17,25],当培养基中含有多种激素时,其诱变率要大于含单一激素者,而含2,4-D的复合激素培养基的诱变率又大于不含该种激素培养基的诱变率。在只含一种激素的培养基中,含2,4-D的培养基要比分别含IAA、NAA、激动素的培养基有更强的诱变作用。

3、基因型与环境因素相互作用导致变异发生

许多作者认为,染色体的不稳定性是由基因型和培养条件之间的相互作用所引起的。*C. capillaris*在同样的培养条件下单倍体组织变成多倍体要比二倍体组织快得多^[6]。这可能与彼此间的基因型有关。豌豆根段至少由两种细胞组成,诱导细胞分裂和染色体变异需要不同的培养基条件^[13]。马铃薯不同品种间及其源

于茎、叶的不同愈伤组织间,以及大麦、菜豆等多种植物外植体的培养也都显示出染色体变异与基因型和培养环境间的这种关系^[10,11,24]。

4、有丝分裂异常导致产生非整倍体细胞

正如表1、2所列的许多种植物的组织或细胞经离体培养后常导致多极纺锤体、落后染色体、桥、断片以及无丝分裂等,这些异常现象能直接产生非整倍体的子细胞。

然而,有丝分裂异常本身似乎又可由2,4-D等各种激素诱发产生。但目前还没有充分证据证明,2,4-D等是导致有丝分裂异常的直接原因。很可能是这些激素干扰了细胞分裂、分化和生长等一系列正常顺序,从而间接地导致有丝分裂异常。Singh(1982)认为IAA(25ppm、50ppm)或因抑制过氧化氢酶和过氧化物酶的活性,或因抑制糖酵解过程,而导致有丝分裂异常^[26]。

三、染色体变异后的演化趋向

离体培养的植物细胞染色体发生变异后,必然存在各种演化趋向,并受各种因素的制约。

演化的主要趋向有:1、累积趋向——培养的组织或细胞中,各种染色体变异的频率随培养时间的增加而增加。2、选择效应——实际上,并不是在所有情况下,染色体的各种变异都有相同的生存机会。这是由于具某些特殊染色体数目和组型的细胞在培养中死亡,或由于“遗传飘变”、或由于某一类型的变异细胞具有选择优势,即各种染色体变异的细胞间存在生存竞争,最终具某一核型的细胞繁殖最快,出现的频率最高。染色体演化中的选择效应见图1^[27]。3、染色体演化中的营养因素——培养基中的营养成分,如氮、磷等对选择变异细胞中的某一基因型起一定作用。4、染色体演化中的激素效应——各类激素对各种染色体变异的筛选作用。5、染色体变异细胞演化为再生植株——这类再生植株大多为混倍体,但小麦花药培养已获得了具新核型的5X的再生植

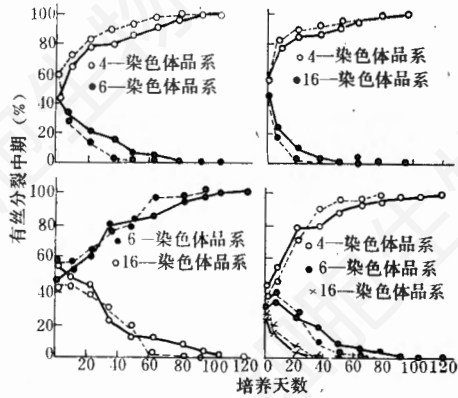


图1 *H. gracilis* 三个具不同染色体数目的细胞品系在混合培养期间的演化

实线为间隔2天,虚线为间隔4天的继代培养。(Singh等,1975 临Bayliss 1980)

株^[23]。*H. setata* 离体培养也获得了整条染色体丢失(7L+6S),染色体部分缺失(7L+1M+6S)和(14L+2M+12S)等具新核型的再生植株^[18]。

四、在离体培养中植物染色体变异的意义和展望

从理论上讲,离体培养的愈伤组织和再生植物中染色体所发生的各种变异将使人们对植物生长、分化、发育、遗传变异等生物学问题有更深入的了解。今后的研究方向可能有以下几个方面:1.进一步探讨有关植物离体培养中染色体变异发生、发展的最本质的原因。2.通常假定染色体的变异性导致丧失全能性,但这方面仍需进行大量研究,探索既要染色体变异,又保持全能性的可能途径,以便获得具新基因型的再生植株。3.离体培养中,有关外植体内的内多倍体细胞或多线染色体能直接产生多倍体细胞,以及无丝分裂能产生存活的非整倍体细胞品系等,将会有进一步的证明。4.更多地应用染色体分带技术,如C带、N带、Q带和银染方法等,研究植物离体培养中染色体的变异情况。目前,这方面除 Ashmore^[4,28]以及其他少数作者应用C带带型分析,研

究了植物离体培养中染色体的演化外,其他方面的报道还很少。至于常规组型的分析,如染色体臂比等,都还缺乏定量的资料,预计今后将会有不少工作。5.由于动物组织培养中对染色体变异的研究要比植物至少早15年,有关这方面的资料也较丰富。因此,必需对培养中的动物细胞和植物细胞的染色体行为进行比较。事实上,在植物中利用细胞克隆技术,结合再生植物的遗传学分析,有可能获得比动物更详细的染色体资料,并对染色体变异机制和意义有更多的了解。

在应用方面,已有实验证明,离体培养物不经诱变剂处理,其染色体就会发生各种突变,因而可以从中选择各种有用的突变细胞品系,并获得更多具新核型的、改良了的再生植物。这将是染色体或染色体组工程中的一个重要方面,具有广阔的前景。

参 考 文 献

- [1] Bayliss, M. W. 1980 *Int. Rev. Cytol., Suppl.* 11A, 113—114.
- [2] Constantin, M. J. 1981 *Environ. Exp. Bot.* 21: 359—368.
- [3] Larkin, P. J. et al. 1981 *Theor. Appl. Genet.*, 60: 197—214.
- [4] Ashmore, S. E et al. 1981 *Protoplasma*, 106: 297—308.
- [5] Sacristán, M. D. et al. 1977 *Mol. Gen. Genet.*, 105: 111—117.
- [6] Banks, M. S. et al. 1976 *Plant Sci. Lett.*, 7: 417—427.
- [7] Niizeki, M. 1974 *J. Fac. Agric., Hokkaido Univ.* 57: 357—367.
- [8] Guerri, K. et al. 1982 *Planta* 155:273—280.
- [9] Cionini, P. G. 1978 *Protoplasma* 96:101—112.
- [10] Jacobsen, E. 1981 *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 1: 77—84.
- [11] Karp, A. et al. 1982 *Theor. Appl. Genet.* 63: 265—272.
- [12] 母锡金等,1979,植物学报,21:309—313。
- [13] Yeoman, M. M. et al. 1980 *Int. Rev. Cytol., Suppl.* 11A, 1—21.
- [14] 黄娇香等,1981,遗传,3:31—32。
- [15] 贾敬芬等,1981,植物学报,23:17—21。

- [16] Sekerka, V. 1977b *Acta. Fac. Rer. Natur. Univ. Comeniana, Physiol. Plant* (Bratislava) 13: 43—47.
- [17] Singh, B. D. 1976a *Nucleus* (Calcutta) 19: 74—79.
- [18] Ogihara, Y. 1981 *Theor. Appl. Genet.* 60: 353—363.
- [19] Jha, T. B. et al. 1982 *Plant Sci. Lett.* 24: 219—224.
- [20] Novak, F. J. 1981 *Cytologia* 46: 371—380.
- [21] 孙敬三等, 1981, *植物学报*, 23: 262—265.
- [22] Vasil, I. K. 1980 *Int. Rev. Cytol., Suppl.* 11A, 195—217.
- [23] 胡含, 1978, *遗传学报*, 5: 23—30.
- [24] Ruiz, M. L. et al. 1982 *Protoplasma* 111: 83—86.
- [25] Singh, B. D. 1976b *Caryologia* 29: 447—455.
- [26] Singh, M. R. 1982 *Cytologia* 47: 419—426.
- [27] Singh, B. D. 1975 *Can. J. Genet. Cytol.* 17: 109—116.
- [28] Ashmore, S. E. 1981 *Proc. Int. Bot. Congr.* 13: 276.

培养的哺乳动物细胞的辐射生物学

赵季英

(中国科学院生物物理研究所)

近年来, 细胞培养的方法在细胞学、生理学和生化学等方面已开展了大量工作, 特别是结合辐照, 利用同位素标记, 研究体外培养细胞的核酸和蛋白的变化, 更使细胞培养方法独树一帜。在辐射生物学领域内, 由于辐射损伤是多方面的(如分裂延缓、DNA 链断裂、碱基损伤、染色体畸变等), 而且不同辐照源及不同剂量对细胞的损伤效应又各不相同。因此, 整体水平的研究远不能解释辐射细胞学和辐射分子生物学中出现的诸多问题。而利用离体培养的细胞进行研究, 可以排除体内的各种因素的干扰, 对细胞增殖和因辐照引起的分裂延缓之间的关系以及不同环境条件下的细胞辐射敏感性的变化作出较为合理的解释, 而且还能为辐射所致的核酸—蛋白的变化(如 DNA 合成和蛋白合成关系、核酸—蛋白交联、核酸的转录活性等)提供实验依据, 有助于进一步分析辐射损伤的机理。

在离体, 一般都惯用细胞增殖, 生长抑制和克隆形成作为细胞辐射损伤的标志, 结合细胞生化学的测定, 反映辐射损伤的生物学效应。因此, 本文首先谈及细胞增殖与辐射引起的分裂延缓关系, 进而对不同培养条件下细胞辐射敏感性的问题略作粗浅讨论。

一、细胞周期与辐射效应

细胞分裂的整个过程受到一定基因的控制, 细胞周期的各个时期(G_1 , S , G_2 和 M 期)都有一定的时限, 以中国仓鼠卵巢成纤维细胞为例, 每代时间为 13 小时左右^[1], 其中 $G_1 = 4$ 小时, $S = 7$ 小时, $G_2 = 15$ 小时, $M = 0.7$ 小时。经 X-线, γ -线或疏密不同的离子辐照会使细胞周期的各个时相发生变化, 引起 S 期和分裂期的延缓, 特别是 S 期的延缓。任何引起染色体畸变的辐照都会抑制局部 DNA 的复制, 结果产生有缺陷的子细胞, 最后引起细胞的死亡^[2]。

研究哺乳动物细胞周期的方法很多, 这里只简单地介绍四种:

1、显微镜直观非同步的或同步的细胞, 能测定辐照的细胞进入有丝分裂的时间与对照细胞进行比较^[1,3,4]。尽管这种方法能精确地测定延缓, 但只能限制在一定时间内追踪有限的细胞。

2、重复计数悬液培养或单层培养的细胞。这种方法能分析大量细胞。但是, 非有丝分裂细胞的本底往往干涉了有丝分裂细胞的计数使结果有波动^[1]。

3、流动式细胞荧光束。根据细胞内 DNA