

人参悬浮培养细胞的研究

Ⅲ. 悬浮细胞电子显微镜观察

丁葆祖 吴逸 杨静仪 李晋川

(山西生物研究所)

在光学显微镜下研究人参悬浮培养细胞的形态结构和繁殖时^[1],发现一些问题如,细胞质流动过程中一些比较大的颗粒状物质究竟是什么?在一个细胞范围内有时发现一个或几个不活动的“横格”,是不是细胞壁?这些问题,限于光镜的分辨率,不能给予确切的回答。需借助电子显微镜的观察。

直至目前,在植物方面,对悬浮培养细胞的细微结构研究的最详细的是假挪威槭^[2],而人参悬浮培养细胞的超微结构尚未见报道。本文是近年来我们对人参悬浮培养细胞超微结构的观察结果。

材 料 和 方 法

悬浮培养细胞来源于人参(*Panaxginseng* C. A. Mey)根、茎诱导的愈伤组织,经30次继代培养。培养基MS,分别补加2,4-D 0.5毫克/升,吲哚丁酸5毫克/升,转床速度25转/分。暗培养,温度24—26℃。

电镜制片,戊二醛锇酸双固定,Epon 812等为包埋剂,切片厚度500Å左右,醋酸双氧铀柠檬酸铅染色。

结 果 和 讨 论

一、人参悬浮培养细胞在静止期的形态结构与一般培养细胞相似^[3],为液泡化的薄壁细胞。除中央大液泡外,细胞质内还有许多小液泡。细胞核形状变化较大,有的具周缘圆裂,

有的呈变形虫状。核膜凹陷部份有线粒体、内质网等细胞器存在。凹陷部份的深度有时可达核的三分之二以上(图版图1)。细胞核的这种形态结构,增加了核膜与细胞质之间的接触面积,对核质间物质交换是有益的。细胞核在细胞中的位置不固定,多数细胞核靠近细胞壁,旺盛生长的细胞核被原生质带悬于细胞中央。核仁数目不等,通常1—2个,最多见到有5个。核仁结构不紧密,中央有电子透明区。质体变化较大,内含1至多个淀粉粒,偶有片层结构。悬浮培养的人参细胞质体一般比线粒体大10至20倍(图版图2)。在光镜下看到的比较大的颗粒状物质,可能就是在电镜下看到的质体。质体的形状一般呈圆形、椭圆形或棒状。分裂状态的质体为哑铃形或葫芦形。线粒体球形、有的呈棒状,偶有很长的线粒体存在。有的线粒体呈哑铃形,是处于分裂状态的线粒体。核糖体是游离的,也有成簇存在。有的核糖体附着于内质网上,形成粗糙形内质网。粗糙内质网往往和细胞壁平行排列(图版图3)。

处于分裂状态的细胞,可以清楚地看到子细胞壁与母细胞壁同时存在(图版图4)。在母细胞壁范围内形成1个或几个子细胞壁,每个子细胞壁被一个全新的细胞壁所包围。当子细胞生长到一定的时候,母细胞壁破裂水解,子

[3] Curry JA, Trentin JJ, 1967. *Devel. Biol.* 15: 395—413.

[4] Fliedner TM and Calvo W, 1978, Hematopoietic Stem Cell Seeding Of a Cellular Matrix: A Principle Of Initiation and Regeneration Of Hematopoiesis In: "Differentiation Of Normal and Neoplastic Hematopoietic Cells" Clarkson B, et al. p. 757—773, Cold Spring Harbor Laboratory.

[5] Block MH, 1976. Text-Atlas Of Hematology 2. Embryologic Basis Of Postnatal

Hematopoiesis, by Lea and Febiger, Copyright Under the International Copyright Union.

[6] Fukuda T, 1974. *Virchows Arch. Abt. B Cell Path.* 16: 249—270.

[7] La Pushin RW, Trentin JJ, 1977. *Exp. Hemat.* 5: 505—522.

[8] 刘永. 1981. 国外军事医学资料(放射医学) p. 180.

[9] Moore MAS and Metcalf D, 1970. *Br J. Hematol.* 18: 279.

细胞继续生长。母细胞壁破裂过程中常看到它们的微纤丝结构(图版图5)。人参细胞的这些细微结构与假挪威槭悬浮培养细胞的细微结构非常相似^[3]。

二、不同来源的悬浮细胞的超微结构。无论根、还是茎诱导的愈伤组织,其30代的悬浮培养细胞,外观生长一致,内部结构上也无明显差异。但是根的培养细胞偶尔见到有六边形的结晶体(图版图6),而在茎的培养细胞内没有发现。我们观察生长在固体培养基上的人参愈伤组织细胞超微结构时,注意到生长缓慢的愈伤组织晶体大,生长迅速的愈伤组织晶体小,或者几乎看不到晶体^[4]。悬浮培养细胞也有类似情况。由于来源不同,悬浮细胞的生长速度也不同。根的悬浮细胞比茎的悬浮细胞生长慢,因此观察到晶体的可能性就大。可见,晶体的消长与细胞生长速度及代谢活动有关。人参晶体属于哪一类物质,有待进一步研究。

三、不同补加物对悬浮细胞形态及超微结构的影响。补加2,4-D或者补加吲哚丁酸,悬浮细胞都能良好地生长。补加2,4-D的培养液,细胞容易分散,生长速度较快,收获的细胞含水量大,干重与鲜重的比值较小。补加吲哚丁酸的细胞生长速度略低,而收获细胞的含水量小,干重与鲜重的比值较大(图1)。两

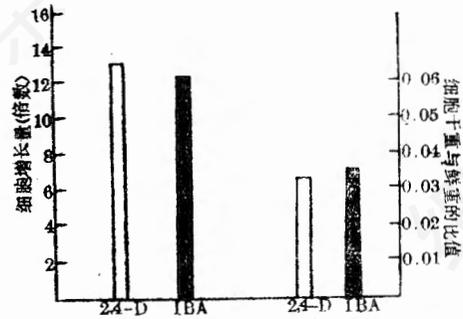


图1 补加2,4-D和补加IBA细胞生长量及干重与鲜重比值的比较

种处理细胞的总收获量接近,两种处理在细胞超微结构方面无显著差异。仅在补加吲哚丁酸的细胞中,观察到质体内含淀粉粒的数量比较多,淀粉粒之间排列紧密,形状不规则。质体的这种性质,可能影响细胞的含水量。这也许也是补加吲哚丁酸的细胞含水量小的原因之一。

参 考 文 献

- [1] 丁葆祖等, 1981. 细胞生物学杂志, 3(3): 27—30.
- [2] 中国科学院上海植物生理所细胞室编译, 1978. 植物组织和细胞培养. 上海科学技术出版社. 128—132.
- [3] Edited by H. E. Street., 1977. plant tissue and cell culture. Blackwell Scientific publication. 167—176.
- [4] 丁葆祖等, 1983. 植物学报, 25(3): 287—289.

产生抗人红细胞单克隆抗体杂交瘤细胞株的建立

卢伟成 马洁羽 沈建根

(浙江医科大学免疫研究室)

抗红细胞的单克隆抗体杂交瘤株已有不少报道。Kohler和Milstein^[1]首先制成抗绵羊红细胞的单克隆细胞株,嗣后Barnstale和Milstein等^[2]又报告了分泌抗人“A”型红细胞抗体的杂交瘤。Anstee等^[3]制备多株抗人红细胞单克隆杂交瘤株,并研究了红细胞表面分子结构。1981年葛锡锐等^[4]建立了抗北京鸭红血球单克隆抗体的杂交瘤细胞系,为我国单克隆抗

体的首篇报道。

本文采用淋巴细胞杂交瘤技术,以人红细胞为抗原,制备单克隆抗体,获得了持续分泌抗体的杂交瘤株,现将建株过程及与各类红细胞反应的初步结果作一报道。

材 料 和 方 法

1. 实验动物

采用BALB/C小鼠,6~12周龄,引自中国医科