

体倍性的调节,体细胞的全能性,以及雄性不育机理,远缘杂交的遗传机制等。杂交瘤技术方面还有待方法学上的突破,如人-人B淋巴细胞杂交瘤、致敏淋巴细胞的体外转化为瘤细胞等探索性研究。合成含有特定遗传信息和能分裂的染色体用于高等生物遗传工程是国内外已受到重视的,长期的努力目标。

总之,从胡克发现细胞三百二十年来,细胞学经历了古典细胞学时期、实验细胞学时期演变成细胞生物学后,前进的步伐越来越快了。目前国外细胞生物学的研究非常活跃,发展非常迅速。联合国科教组织曾经选择细胞和大脑这两项课题作为生命科学中要特别注意发展的领域,足以见其重要。我国细胞生物学基础理论研究十分薄弱,研究水平、规模和设备条件和国外先进水平相比,差距都很大。很多重要领域,特别是分子细胞学工作几乎还是空白。

原来较有基础的工作,如卵球的成熟、受精,胚胎诱导和细胞分化,细胞核穿壁和核更新等长期中断后,正在逐渐恢复。不过近年来在细胞核移植,癌细胞培养,胚胎表皮传导,单倍体育种等方面仍取得了一定进展。中国科学院和不少大学建立了专门的研究所、实验室并设置了细胞生物学专业培养专门人才。过去从事遗传学和胚胎学研究的许多人也转到细胞生物学方面来,新培养出来的青年人才也不断参加细胞生物学的行列。只要我们准确地把握着细胞生物学发展的主要趋向,集中力量狠抓关键问题的研究,同时大力开展细胞及细胞器结构与功能以及细胞工程方面的基础性问题的研究,就有可能较快地提高我国细胞生物学水平,加快整个生命科学前进的步伐。

(1985年11月14日)

高等植物细胞突变体

何卓培

(中国科学院上海植物生理研究所)

引言

植物细胞和组织培养研究的是人工控制的、无菌的条件下培养植物的离体部分,它的培养和繁殖,及其有关的生物学问题。利用植物组织培养材料遗传的保守性,有:种质库、无性系快速繁殖(试管苗)和生产有用化合物等方面的研究与应用。利用其遗传的变异性,则有:体细胞无性系变异(somaclonal variation)、体细胞杂交、突变体和基因工程等方面的研究与利用;后三者也属于遗传操作的范畴。突变所涉及的遗传操作对象,可以从基因内的一个突变子到染色体组或细胞质基因组、质体基因

组。用植物组织培养作突变研究的有利之处是:可以用单倍体、二倍体以至多倍体细胞,在比田间试验小得多的空间和较短的时间,于人工控制的环境中操纵大量的基因组,在植株水平回收所发生的遗传修饰(性状)。其不利之处是:在细胞水平上选择出的变异不一定都在再生植株水平上表达;与微生物相比,植物细胞的群体倍增时间(一般约2天)慢得多,和难以得到单细胞(除非是原生质体)的材料。

1959年Melchers和Bergmann首先报告

本文部分内容曾在植物分子遗传和基因工程研究工作会议(1984年12月上海)上报告。

了从金鱼草悬浮培养筛选温度突变体的尝试。**Carlson**(1970)从单倍体(占60~85%)烟草细胞悬浮培养经甲基磺酸乙酯诱变,选择出渗漏的营养缺陷型。**Heimer**等(1970)以硝酸盐作唯一氮源时,分离出抗苏氨酸的烟草细胞系。**Binding**等(1970)从单倍体矮牵牛愈伤组织,分离出抗链霉素细胞系。此后的一系列工作,把植物细胞培养领进遗传学的领域。到1980年以前的进展,已有详细的综述^[1,2]。

到1984年春,至少已有得到145个变异细胞系的报道,它们分别属于从20个不同的植物种(species)选择出的53种表现型。不过,其中只有一小部分已确证是真正的突变体。这就涉及称作为突变体的工作标准问题。鉴于突变的定义是DNA一级结构中不能遗传的变化,这些变化不是由于遗传分离或遗传重组所引起的。其表现型就是与野生型不同的突变体细胞或突变个体。可是,直接分析比较高等植物细胞DNA一级结构目前在实验上难以实施。**Maliga**认为,证明变异的表现型再生能育的植株,并把其变异的特性传递给子代,这样,该变异的表现型才一定是突变的结果。若从变异的细胞不能再生植株或再生植株不育,可先实行体细胞杂交使其能再生或可育^[3];或者是能证明在变异的细胞中有变化了的基因产物,例如有与野生型不同的氨基酸顺序的酶,也是突变的证据。把不具备遗传的或分子的证据的变异细胞系,称为变异体(variant)^[8]。**Flick**提出了四个特征来给一突变体下定义:(1)突变体是以低频率发生。(2)离开选择压力后,突变体应当是稳定的。下面的标准就需要再生植株;(3)植株再生以后,突变细胞系应当保持稳定;从再生植株所发生的愈伤组织培养,应当表达其被选择出的表现型。(4)一种选择出的表现型能通过有性传递保证它是突变^[4]。目前,国际上未有统一定论。鉴于到1983年,与遗传改变的表现型形成对照,由后生变化(epigenetic change)所致的表现型,是倾向于在再生植株或其后代不表达的^[5],笔者认为,

具备第(3)证据的,可认定是突变体,具备第(4)证据的,确证它是突变体。

还值得一提的是,生物界的千差万别和对事物认识的发展告诫我们,不应当仓促抱住任何绝对标准。例如,非整倍性就可以不是通过配子传递。故对上述工作上可使用的标准,不应该太刻板地使用^[6]。此外,植物组织培养物的突变不一定在其再生植株中表达。例如,有被挑选出来的变异特征仅在细胞水平表达而在其植株水平不表达的事例。象:抗5-甲基色氨酸(5 MT)的烟草细胞系生产色氨酸多于正常,并有改变了的邻-氨基苯甲酸合成酶,但这些特征在再生植株的叶片中不表达,而从再生植株发生的培养物中表达^[6]。抗异烟肼(INH)的烟草愈伤组织培养物,再生植株和其自花受精后代植株叶片,三者线粒体中的甘氨酸脱羧酶都对INH较相应的正常型表现不敏感,但只是愈伤组织才抗INH。即抗INH细胞系再生植株有性后代幼苗的生长,对INH表现与正常幼苗一样敏感,但从这些抗INH细胞系再生植株所建立的愈伤组织培养物,则是抗INH的。可见,此例中INH抗性有其遗传基础,而抗性的表达则仅限于细胞水平^[7]。与之类似,抗羧基脲的烟草愈伤组织突变体,从其再生植株和其有性杂交后代所建立的愈伤组织都表现抗羧基脲,但其植株水平则不抗羧基脲^[8]。自然,也有被挑选出来的全部变异特征,既能在细胞水平又能在植株水平表达的事例^[9]。例如,抗5 MT的南洋金花细胞系和其再生植株叶片都能表达:抗5 MT,改变了的反馈控制酶邻-氨基苯甲酸合成酶(对色氨酸反馈抑制不敏感)和积累游离色氨酸三项变异特征^[10]。故由此可见,为检查变异的表现型能否通过有性传递,有时需要从植株再发生组织培养物,在细胞、组织水平进行检查。

筛选出的一些突变体和变异体

营养缺陷型 DNA转化的受体、体细胞杂交和代谢研究都对营养缺陷型有需要。不过,

目前难于得到单倍性的、大量的和植板率高的原生质体,并能再生可育植株的实验材料,致筛选得到的营养缺陷型很少。已得到的有:需泛酸的、需腺嘌呤的、需异亮氨酸+缬氨酸的南洋金花,需组氨酸的、需色氨酸的、需烟酸的钝叶天仙子(*Hyoscyamus muticus*)和需异亮氨酸的、需亮氨酸的和需尿嘧啶的白花丹烟草(*Nicotiana plumbaginifolia*)。

抗氯酸盐 氯酸盐可被硝酸还原酶作为底物而转变为次氯酸盐,次氯酸盐毒害细胞。硝酸还原酶缺陷的细胞表现抗氯酸盐。也选择得到含硝酸还原酶活力的抗氯酸盐烟草细胞系。但只对硝酸还原酶缺陷型烟草突变体作了详细研究。

抗氨基酸或氨基酸类似物的 这类选择剂因其抑制合成对应的天然氨基酸致细胞饥饿,或因类似物掺入蛋白质而发生毒力。对选择剂表现抗性的原因,可以有:氨基酸生物合成途径的关键酶对反馈抑制不敏感,于是超过常额地生产对应的天然氨基酸;并且这种过量的氨基酸能稀释类似物而阻止其掺入蛋白质发生毒力。也可以有并不导致氨基酸积累的原因,例如是减少或拒不摄入,或者是摄入后把选择剂分解和转化而解毒。这类选择剂集中于人类营养必需的氨基酸或其类似物。七十年代这方面工作较多,八十年代转到侧重对植株再生及其游离氨基酸积累的研究。已经遗传鉴定的突变体有:抗S-亚氨基甲亚磺酰丁氨酸(MS)并积累游离蛋氨酸的烟草,抗缬氨酸的烟草,抗氨基乙基半胱氨酸(AEC)并改变了二氢吡啶二羧酸合酶和积累游离赖氨酸的野生烟草。还有抗(赖氨酸+苏氨酸)并在其籽粒增加苏氨酸的玉米和大麦。

Hibberd和Green(1982)用玉米未成熟胚发生愈伤组织,转培到第3代,用 N_2N_2 对约20mg鲜重的愈伤组织小块进行诱变处理。培养8天以后,用赖氨酸+苏氨酸(各2mM)选择。有再生植株。抗性既能在从抗性的胚发生的组织培养水平表达抗性,又能在抗性植株的根和地

上部表达抗性。游离苏氨酸含量:在抗性的胚发生的培养物中增加6倍,在纯合的Ltr^{*}-19植株的籽粒中增加75~100倍。总的苏氨酸含量在该种籽粒中增加33~59%。突变体Ltr^{*}-19的粒重,每粒的蛋白质含量及蛋白质中的苏氨酸含量都与对照相似。其对赖氨酸+苏氨酸的抗性是单一核基因以显性传递^[11]。

抗抗菌素药物的 有抗林肯霉素的白花丹烟草突变体,而研究得最透的是抗链霉素烟草突变体。低浓度(250~500 μgml^{-1})的链霉素(str)抑制愈伤组织使它不能变成绿色,这是由于抑制了叶绿体类囊体的形成。较高浓度的str抑制愈伤组织的生长,这与这类抗菌素抑制线粒体和叶绿体内的蛋白质合成有关。

最早是Maliga等(1973)取烟草和野生烟草的单倍体,用愈伤组织块于含str的培养基上选择,所用str浓度是抑制愈伤组织转绿色、也抑制生芽和细胞分裂的浓度,愈伤组织无论切成50mg的小块还是250mg的大块,都可以分离得到抗str突变体。抗str的烟草突变体是细胞质遗传的。以后,他们进一步的工作证明,抗str烟草突变体之抗str的决定因子在叶绿体,发现至少有一种改变了的叶绿体核糖体蛋白质。

而抗str野生烟草一突变体对str的抗性,则是按孟德尔遗传的方式以隐性传递的。

抗除草剂的 较详细研究的头一例是抗picloram(4-氨基-3,5,6-三氯吡啶羧酸)的烟草。Chaleff和Parsons(1978)把培养的细胞植板在补加有除草剂的培养基上,分离出抗picloram的几株烟草突变体。从5个分离出的系再生出植株,其中之3个(PmR 1, PmR 2和PmR 3)的抗性是归因于单个核基因的显性突变,而另外两个(PmR 6和PmR 85)则是半显性突变。试管苗及其发生的愈伤组织都表达抗性。PmR突变没有降低生活力。还有,他们发现,5个抗picloram突变体中,有3个还带有抗羟基脲的显性等位基因。未经故意选择就得到对羟基脲的抗性,而且它没有与对picloram抗

表 1 有再生植株的突变体和变异体(此表参考 Flick[4] 增补后编成)

机制: F = 酶对反馈抑制不敏感, P = 增加了天然产物, U = 改变了摄取。

遗传方式: D = 显性性状的, S = 半显性性状的, R = 隐性性状的, M = 母性遗传, -- = 未见报告。

植物种名	诱变剂	选择剂	机制	遗传方式	文献(仅列出第一作者和起始页码)
<i>Nicotiana tabacum</i> (烟草)	EMS	MS	P	S 或 R	Carlson, PS, 1973, Science, 180:1366
() (单倍体)	无	thr	U	—	Heimer, YM, 1970, Biochim, Biophys. Acta 215:152
<i>Arabidopsis thaliana</i>	UV	JaI	P, U	D 或 S	Bourgin, JP, 1978, Mol. Gen. Genet., 161: 225
(拟南芥菜)	EMS	AEC	—	—	Negrutiu, I, 1978
<i>Oryza sativa</i> (水稻)	无	AEC	F, P	D	Schaeffer, GW, 1981,
<i>Nicotiana sylvestris</i>	无	AEC	—	—	Negrutiu, I, 1981, Arch. Intl. Physiol. Biochim., 89(5): B 188
(野生烟草)	NaN ₃	AEC	根摄取 AEC	R	Bright, SWJ, 1983, Plant Physiol., 72:821;
<i>Hordeum vulgare</i>	NaN ₃	lys + thr	减少	—	1979, Theor. Appl. Genet. 55:1,
(大麦)	NaN ₃	lys + thr	P, F	—	Bright, SWJ, 1982, Nature, 299:278
<i>Zea mays</i> (玉米)	NaN ₃	lys + thr	F, P	D	Hibberd, KA, 1982, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79:559
(大麦)	NaN ₃	OHpro	P	S	1980, Planta, 148:183
<i>Datura innoxia</i> (南洋金花)	无	对-氟苯丙氨酸	—	—	Kuch, JSH, 1981, Planta, 153:166
烟草	无	—	—	—	Evans, 1979
<i>Dauca carota</i> (胡萝卜)	无	—	—	—	Flick, 1981
胡萝卜	无	5 MT	F	—	Widholm, JM, 1974
烟草	无	5 MT	P	—	Sung, ZR, 1979,
南洋金花	MNNG	5 MT	—	—	Widholm, JM, 1978[6]
烟草	UV	氧脂酸甘氨酸	F, P	—	Ranch, JP, 1983[10]
烟草	EMS	氧脂酸甘氨酸	P	—	Lawyer, AL, 1980, Plant Physiol., 66:334
南洋金花(单倍体)	无	氧脂酸甘氨酸	P	—	罗士韦, 1982, 中国科学 B(7):423
烟草	无	—	—	—	Mastrangelo, 1977,
烟草	无	—	—	—	Marton, L, 1975, Plant Sci, Lett., 5:77
烟草	无	BUDr	—	D	Maliga, P, 1973
烟草(单倍体)	无	BUDr	掺入 DNA	S	Marton, L, 1978, Plant Sci. Lett., 12:233
烟草(单倍体)	无	BUDr	—	—	Maisuryan, 1981
胡萝卜	无	SFU	—	—	Sung, ZR, 1980
烟草	无	Pictoram	—	D 抗羟脲	Chaleff, RS, 1981[12], Keil, RL, 1983, MGG 192:218

(续表)

植物种名	诱变剂	选择剂	机制	遗传方式	文献(仅列出第一作者和起始页码)
烟草	无	carboxin	甘氨酸脱羧酶	R	Polocco, 1977, Ann. N. Y. Acad. Sci., 287:385
烟草	UV	INH	对INH不敏感	D	Berlyn, MB, 1980, Theor. Appl. Genet., 58:19
胡萝卜	无	放射菌酮	解毒	—, R	Zelitch, I, 1982[7]
野生烟草(单倍体)	无	氯霉素	改变叶绿体	—	Sung, ZR, 1981; Lazar, GB, 1981, Genetics 98:347
野生烟草(单倍体)	无	卡那霉素	核糖体蛋白	—	Dix, PJ, 1981
烟草(单倍体)	无	链霉素	核糖体蛋白	M	Dix, PJ, 1977
烟草(单倍体)	无	链霉素	核糖体	M	Maliga, P, 1975, Nature 255:401
烟草(单倍体)	无	链霉素	核糖体	M	Umiel, N, 1979, Z. Pflanzenphysiol., 92:295
烟草(单倍体)	无	链霉素	核糖体	M	Bourque, 1977, Plant physiol., 59:Suppl. 110
野生烟草(单倍体)	无	链霉素	—	R	Maliga, P, 1981, TAG 60:1
野生烟草	无	链霉素	—	可能是易位	" 1979, MGG 172:13
白花丹烟草	NEU	林肯霉素	—	M	Cseplo, A, 1982, Curt. Genet., 6:105
烟草	无	amitrole	用叶片选择	—	Barg, R, 1977, Z. pflanzenphysiol., 83:437
烟草	无	amitrole	双亲	双亲	Singer, SR, 1984, TAG
烟草	无	asulam	—	—	Merrick, 1982,
烟草(单倍体)	X射线	bentazone	用叶片选择	R	Radin, DN, 1978, Genet. Res., 32:85
烟草(单倍体)	X射线	phenmedifarm	—	R	Radin, DN, 1978, Genet. Res., 32:85
烟草(单倍体)	无	chlorosulfuron, sulfometuron methyl 2,4-D	改变乙酰乳酸合酶	D, S	Chaleff, RS, 1984, Science 223:1184; Genetics, 107, 3, PT. 2, 51
烟草	无	paraquat	—	—	Swanson, EB, 1980,
烟草	X射线	paraquat	—	D	Miller, OK, 1980, In Vitro, 16:1085;
烟草	无	paraquat	—	D	Hughes, KW, 1984, Environ. Exp. Bot.
烟草	无	picloram	—	D	Thomas, BR, 1982, TAG, 63:169
玉米 T-cms	无	Helminthosporium	—	D, S	Chaleff, RS, 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75:5104
				M	Gengenbach, BG, 1977, PNAS, USA, 74:5113

(续表)

植物种名	诱变剂	选择剂	机制	遗传方式	文献(仅列出第一作者和起始页码)
玉米 T-cms	无	maydis 毒素		M	Brettel, R.S., 1980, [13]
Solanum tuberosum (马铃薯)	无	phytophthora infestans		—	Behnke, M., 1980, TAG, 56:151
Brassica napus (油菜), (单倍体)	无	Fusarium oxysporum		—	Behnke, M., 1980, Z. pflanzenzücht., 85:254
Kickxia ramosissima (燕麦)	EMS 或 MNNG	Phoma lingam		—	Sacristan, M.D., 1982, TAG, 61:193
Avena sativa (燕麦)	无	NaCl		—	Mathur, 1980, Z. pflanzenphysiol., 99:287
烟草 (单倍体)	NEU	NaCl	硝酸还原酶缺陷(NR ⁻)	R	Nabors, M.W., 1983, In: Curr. Topics Plant Biochem. Physiol., (Randall, D.D., ed.), 2:165
烟草 (单倍体)	NEU	NaCl	氯酸钾	R	Muller, A.J., 1983, MGG, 192:275
烟草 (单倍体)	NEU	氯酸盐	氯酸盐	R	Evola, S.V., 1983, MGG, 189:447
白花丹烟草	NEU	氯酸盐	氯酸盐	R	Negrutiu, I., 1983, TAG, 66:341

表 2 有再生植株的营养或温度敏感突变体

植物种名	诱变剂	必需条件(补加物)	机制	遗传方式	文献(仅列出第一作者和起始页码)
烟草	无	甘油为唯一碳源		D	Chaleff, R.S., 1978, Genetics, 89:723
南洋金花(单倍体占62%)	EMS	泛酸		D	Savage, A.D., 1979, Plant Sci. Lett., 16:367
Nicotiana plumbaginifolia (白花丹烟草), (单倍体)	γ射线	ileu	thr 脱氨酶缺陷	R	Sidorov, V.A., 1981, Nature 294:87
Hyoscyamus muticus (钝叶天仙子)(单倍体)	MNNG	his		R	Gebhardt, C., 1983, Planta, 159:18
白花丹烟草(单倍体)	UV, BUdR 富集	frp		R	Negrutiu, I., 1983, In: Protoplasts 1983 (Potrykus, I. et al. eds.)p. 158
烟草(单倍体)	BUdR 选择	his	鸟氨酸脱羧酶减少	—	Malmberg, R.L., 1980, Cell 22:603
Hyoscyamus muticus (钝叶天仙子)	NTG	ts	NR ⁻	—	Gebhardt, C., 1982, In: Plant Tissue Culture 1982, (Fujiwara, A. ed.), pp. 463

性的位点连锁这种现象, 颇值得注意^[12]。

近来, Chaleff 等(1984)还用花药培养得的单倍体烟草幼叶发生愈伤组织培养物, 从它筛选得到抗两种磺酰基脲类除草剂(chlorsulfuron 和 sulfometuron methyl)的烟草突变体。再生植株也抗该除草剂。抗性都是以单个显性或半显性突变遗传。那两种磺酰基脲除草剂都强烈抑制正常细胞提出物中乙酰乳酸合酶(ALS)活力。但抗 chlorsulfuron 的 S 4 突变纯合植株则含有对那除草剂不敏感的 ALS, 而且, 在杂交中它与抗性表现型一起分离(cosegregate)^[9, 12a]; 从而证实, 产生了一改变了的酶是 S 4 突变体抗性的基础。

这方面工作, 在实用上是希望得到能够用价廉、高效除草剂的新的栽培品系。不过, 目前尚未见有在大田试验抗性的报道。

抗病的 最早是 Carlson(1973)筛选得到抗 MS, 抗野火病(尽管抗性不及另一栽培品系 Burley 21)和增加游离氨基酸含量的烟草突变体。后来, 有抗玉米小斑病长孢菌 T 宗病毒素(一种对寄主专一的毒素)的玉米(雄性能育的); Brettel 等(1980)证实了这事例, 并指出有相当一部分抗 T 毒素的再生植株是来自体细胞无性系变异的^[13]。伴随着对 T 毒素抗性和雄性能育的变异表型, 有线粒体 DNA 的变化^[14, 15]。还有抗茎点霉病的油菜植株, 及抗马铃薯疫霉培养滤液的马铃薯愈伤组织培养, 其再生植株抗晚疫病病原等。

此外, 还有: 利用甘油作唯一碳源的烟草突变植株; 抗核酸碱基类似物的突变体; 耐盐、耐旱等环境胁迫的变异体; 抗重金属离子的变异体和发育改变的变异体以及温度敏感的变异体等等。

到 1984 年春, 至少有 68 个细胞系已有再生植株, 它们分别属于从 18 个植物种选择出来的 43 种表现型。其中只有十余例作了遗传分析(绝大多数是烟草), 稍多的变异体有些生化分析, 可参看附表 1, 2。近几年的显著进展是: 一、用单倍体材料分离出一些营养缺陷

型; 二、得到期望有实用价值的突变体数目增多了。对再生有困难的材料, 则用能再生的愈伤组织或胚培养来进行筛选; 三、把组织培养诱导得到的遗传变化, 不再认为仅仅是不希望有的结果, 而视之为得到有价值的遗传变异的机会^[3]。

细胞突变体的利用

主要有三方面:

1. 是遗传学和遗传工程研究的好材料

可能有下列诸方面

1-1 提供细胞遗传操作适用的选择标志突变体可作为遗传标志或通过遗传互补来选择体细胞杂种。体细胞杂交的两个原始材料, 其一抗 A, 另一抗 B, 两原生质体融合得的杂种细胞具有双抗性(抗 A + B), 从而能够选出体细胞杂种^[16, 17]。

1-2 分析控制性状的突变基因和帮助作染色体图^[18] 若表现型相同的两个突变体, 杂交以后恢复了正常的代谢功能时, 这表明两者的表现型变化, 是彼此不同的基因突变的结果。例如, 抗硝酸盐的两类硝酸还原酶缺陷型突变体: cnx 和 nia。当硝酸盐诱导的 cnx 与硝酸盐诱导的或无诱导的 nia 一起匀浆, 在提出物中可以检出 NADH-硝酸还原酶, 即此两突变体之硝酸还原酶可以在体外互补重组恢复(Mendel 等, 1978)。从这两突变体制备原生质体, 彼此融合后产生的一些愈伤组织, 在含硝酸盐作唯一氮源的培养基上能够生长。这表明形成了杂种细胞, 它是两个突变体的互补, 也重组恢复了硝酸还原酶活力^[19]。

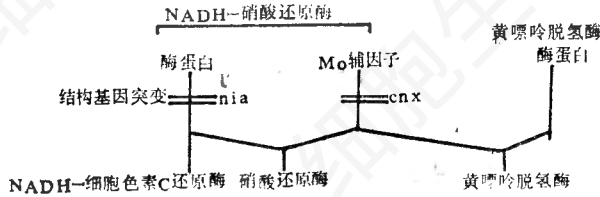
1-3 用抗抗菌素的细胞质基因研究细胞器遗传学。

1-4 识别特定的基因 用 Ti 质粒把 DNA 整合入突变体细胞, 基于互补来识别特定的基因^[20]。

1-5 试验把 DNA 顺序插入整合作定向诱变^[20]。

2. 了解代谢和发育过程及其调节 例如,

Mendel 等(1980)对两类缺硝酸还原酶烟草突变体, *cnx* 和 *nia*, 作进一步的生化鉴定, 阐明, 烟草有活力的硝酸还原酶至少由 NADH-硝酸还原酶蛋白和含钼辅因子两部分组成, 如图示:



又例如, 上述的抗除草剂 *chlorsulfuron* 的 S4 突变纯合烟草, 有对该除草剂不敏感的乙酰乳酸合酶, 它与抗性表现型在杂交中一起分离, 这确定了该除草剂作用原理是抑制乙酰乳酸合酶^[12a]。还有, 温度敏感的胡萝卜变异体改变了体细胞的胚胎发生^[21]。

3. 筛选有益突变, 获得有实用价值的新品系 抗赖氨酸和苏氨酸并增加籽粒苏氨酸含量的玉米和大麦^[11,22]和抗除草剂的烟草, 以及用⁶⁰Co γ 射线照射处理后筛选出的薰衣草 (*Lavandula vera*) 细胞系, 其游离生物素含量增加较多, 可比亲本植株叶中含量多6倍^[23]。这些工作都提示, 筛选突变体有可能改良农业或药物生产产品系。获得有实用价值的新品系之最大限制, 看来有: (1) 在细胞水平上筛选出的特性, 能否在所需要的特定部位表达出来? 从上述介绍的事例可知^[5-11,22], 目前还不清楚基因的组织特异性表达影响到何种程度。(2) 即使获得所需某一特定性状的突变个体, 还要不损害其他优良的经济性状^[22]。这就要求大量工作和提高设计选择系统的技巧, 当充分结合分子生物学的成就、大大发挥植物组织培养的潜力和提高设计技巧时, 改良生产产品系的机会也一定不断增加。

参 考 文 献

[1] Chaleff, R. S., 1981, *Genetics of Higher Plants. Applications of cell cultures.* Cambridge Univ. Press.

- [2] 罗士韦、何卓培, 1982, *细胞生物学杂志* 4(2):1~9.
- [3] Maliga, P., 1984, *Ann. Rev. Plant Physiol.* 35: 519.
- [4] Flick, C. E., 1983, In: *Handbook of Plant Cell Culture Vol. 1. Techniques for Propagation and Breeding*, (Evans, D. A. et al. eds.), pp. 393.
- [5] Chaleff, R S, 1983, *Science* 219: 676.
- [6] Widholm, J M, 1978, 4th Intl. Congress Plant Tissue Cell Cult. Abstr. No. 1609 pp. 138, Calgary.
- [7] Zelitch, I & Berlyn, M B, 1982, *Plant Physiol.* 69: 198.
- [8] Keil, R L & Chaleff, R S, 1983, *MGG* 192: 218.
- [10] Ranch, J P et al., 1983, *Plant Physiol.* 71: 136.
- [13] Brettell, R I S et al., 1980, *TAG* 58: 55.
- [14] Gengenbach, B G et al., 1981, *TAG* 59: 161.
- [12] Chaleff, R S & Keil, R L, 1981, *MGG* 181: 254.
- [11] Hibberd, K A & Green, C E, 1982, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 79: 559
- [9] Chaleff, R S & Ray, T B, 1984, *Science*, 223 (4641): 1148.
- [12 a] Chaleff, R S et al., 1984, *Genetics* 107, 3, PT. 2, s18.
- [15] Umbeck, P F & Gengenback, B G, 1983, *Crop Sci.*, 23: 584.
- [16] White, D W R et al., 1979, *Theor. Appl. Genet.*, 55: 107.
- [17] Evola, S V et al., 1983, *Mol. Gen. Genet.*, 189: 447.
- [18] Roth, E J et al., 1982, *Plant Cell Report* 1: 205.
- [19] Glimelius, K et al., 1978, *Physiol. Plant.*, 44: 273.
- [20] Holsters, M et al., 1982, In: *Molecular Biology of Plant Tumors* (Kahl, G & Schell, J eds.), pp. 269-298, N. Y., Academic.
- [21] Breton, A M & Sung, Z R, 1982, *Dev. Biol.*, 90: 58.
- [22] Mifflin, B J et al., 1983, In: *Genetic Engineering of Plants* (Kosuge, T et al., eds.), pp. 391, N. Y., Plenum.
- [23] Watanabe, K & Yamada, Y, 1982, In: *Plant Tissue Culture 1982* (Fujiwara, A. ed.), pp. 357-358, JAPTC, Tokyo.