

关于胞质分裂*

顾国彦

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

胞质分裂(Cytokinesis)一般是指一个细胞分成二个或二个以上的过程,是细胞分裂的一个阶段。一百多年来的研究已积累了大量资料,但内容庞杂,对资料的解释不尽一致,有的甚至相互矛盾。近二十年来,许多作者利用海胆、青蛙等卵球的许多优点,譬如蛙卵体积较大,容易操作,有自发的连续分裂节奏,海胆卵比较透明等等,在分裂沟的建立和收缩等方面取得了较快的进展,得到了许多一致的意见,在细胞运动研究的某些方面处于领先地位。本文就多细胞动物中常见的胞质分裂形式按(1)引起胞质分裂的物体和物质,(2)细胞表面(包括细胞膜和皮质)的反应,(3)新膜的来源和(4)子细胞的分离四个部分作一简单介绍。

I、引起胞质分裂的物体和物质

动物细胞的胞质分裂是借分裂沟或细胞表面收缩来进行的。早先的细胞学家经过细心观察指出,胞质分裂的收缩面垂直于分裂沟的长轴。六七十年前,有人将正在分裂的卵球离心以改变分裂器的位置,发现收缩面的位置总是垂直于相当坚实的分裂器。1965年,Rappaport做了移动海胆卵分裂器以改变分裂沟出现的位置的实验^[1]:他将未受精的海胆(*Paracentrotus lividus*)卵挤过毛细管,使卵变成长柱形后立刻授精。受精卵产生坚实的受精膜使卵长久地保持长柱形。卵裂前分裂器与卵长轴平行。用玻璃棒每隔一分钟挤压长柱形卵,使分裂器移动至另一位置。这样,一个卵表面可以先后出现近十条分裂沟。这些沟总是垂直于分裂器的长轴。

A. 分裂器是由染色体、中心体、星体、纺锤体和附着于其上的一些物质组成。究竟那些物体在起作用?看来与星体或纺锤体的关系最大。

1. 星体 在星体很大的细胞如棘皮动物的受精卵,星体在起作用。去掉两个星体,就不出现分裂沟。去掉纺锤体,仍可出现分裂沟。最令人信服的实验是在卵裂前将一个小玻璃珠压在沙海胆(*Echinarachinius parma*)的受精卵上,此后出现的分裂器被挤到卵的一边(图1a),卵裂后,形成马蹄形卵(图1b)。第二次卵裂前,二个核各自照常分裂,各自引起二条分裂沟;有趣的是在两个分裂器之间,即在无染色体和纺锤体,仅由两个星体散射出来的星射线交会处也出现了分裂沟^[2]。

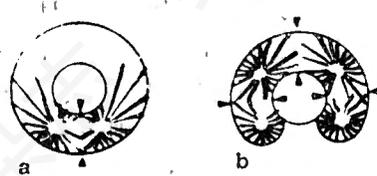


图 1a. 沙海胆卵第一次卵裂

图 1b. 第二次卵裂

马蹄形卵的卵裂

中央为小玻璃珠

▲ 分裂沟即将形成处

2. 纺锤体 绝大多数成体细胞的星体较小,它们的分裂沟取决于纺锤体。用显微操作仪将细胞膜推到纺锤体旁边,分裂沟先在靠近纺锤体的地方出现。用玻璃针将蝗虫神经母细

* 1985年在生物膜讨论会第三次会议上的发言。

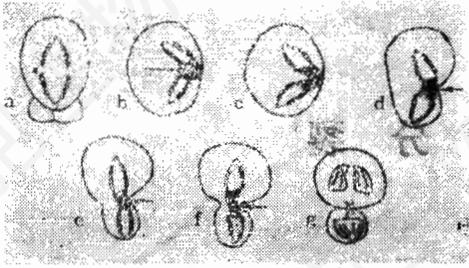


图2 蝗虫神经母细胞分裂时纺锤体决定分裂沟的形成

1. 染色体, · 玻璃针。
长箭头, 玻璃针移动的方向。
短箭头, 分裂沟形成处。

胞纺锤体的中央部分推到细胞的二侧, 该处先出现分裂沟(图2)。在沙海胆卵的纺锤体二侧, 用玻璃针穿两个小洞, 则在小洞之间先出现分裂沟。所以, 分裂沟的位置, 在这里, 又取决于纺锤体。

星体和纺锤体主要由微管蛋白组成, 它们都能引起细胞收缩形成分裂沟, 这是容易理解的。但它们在决定分裂沟位置的重要性上在各种细胞中是不同的。

B. 上述一些结果已暗示分裂沟的位置同分裂器在空间和时间上有一定关系。

1. 空间关系 卵裂前30—40分钟, 将沙海胆卵压扁, 分裂器在卵的一侧出现。当分裂器与赤道处的细胞表面相距较远时——100—110 μm , 分裂沟向前伸长较慢, 约5 μm /分钟。距离较近时——65—75 μm , 则较快, 约10 μm /分钟。这提示我们好像有促使收缩环形成的物质从分裂器释放出来。分裂器与细胞表面较近时, 该物质到达细胞表面的时间较短, 浓度也可能较高, 分裂沟伸长亦快。反之则较慢。在自然条件下, 这种卵的分裂沟伸延速度约7 μm /分钟。这一数值比细胞质的自由扩散和流动慢, 而与微管的伸延相似。

2. 时间关系 首先要知道的是从分裂器来的那种物质的作用在什么时候最强? 从移动蝗虫神经母细胞分裂器的实验知道, 这种作用是从进入中晚期(Mid anaphase)开始, 至晚晚

期(Late anaphase)结束, 作用最强的时间是中晚期。次之要知道作用多长时间才能引起分裂沟的出现? 在沙海胆卵分裂沟出现前5分钟去掉分裂器, 就不出现卵裂; 4分钟前去掉就出现。所以需作用1分钟。前面提到的先后引起近十条分裂沟的实验, 如果在分裂器停留1分钟时就将其移至别处, 原先显现的分裂沟就退缩回去(这种现象在别的细胞中亦表现出来)。停留一分钟以上再移去, 分裂沟能继续发展下去而不消退。在两栖类卵上, 甚至将一块带有预定分裂沟的细胞表面像嘴唇那样割离开来, 原先存在于这块上的分裂沟仍会引起沟前端的细胞表面收缩, 原先的分裂沟便继续向前伸延。所以细胞表面一旦受到足够的刺激以后, 就可不再依赖分裂器而能独立完成自己的使命。

C. 促使细胞表面收缩的物质来自分裂器的那种物质是什么? 两栖类卵的第一次分裂沟是从动物极逐渐向植物极延伸的。将靠近分裂沟前端的细胞表面下的一小块细胞质吸掉, 该处的分裂沟就不能继续向前伸延。如果将这一小块细胞质注射至裂球的靠近细胞表面的下方, 该处便出现类似于分裂沟那样的收缩。我们从林蛙桑椹期胚胎中已分离出能引起细胞表面收缩的物质。经初步纯化, 认为它是可溶性物质, 但不是钙离子和多胺等小分子, 也不大可能是肌动蛋白。

II、细胞表面的反应

细胞表面对来自分裂器物质起反应以前, 需要“准备”。注射两栖类精子至同种长足的但尚未成熟的卵母细胞中, 看不到分裂沟的出现。但注射至成熟的卵母细胞, 就能看到。说明卵子在成熟过程中细胞表面在作“准备”。蛙受精卵最初几次卵裂时, 在每次卵裂前不久, 裂球表面都出现收缩波(图3)。有人认为这也是一种“准备”。海胆卵表面与分裂器接触一分钟以后还需经过二分半钟才出现分裂沟。这也可算是一种“准备”。

细胞表面接受刺激以后如何形成分裂沟?



图3 卵裂前蛙卵表面的二个收缩波

- a 收缩波未出现前的卵表面
 b 第一个收缩波，从动物极开始扩展到半个半球(浅色部分)。
 c 第一个收缩波继续向外扩展，第二个波(深色部分)从动物极出现。
 d 第二个收缩波继续向外扩展，分裂沟在收缩波发出的地方开始出现。
 e 第二个收缩波继续向外扩展。

超微结构的变化是：海胆卵分裂至后期，整个皮质中都有由微丝组成的网状结构。在整个后期，微丝密度增加。分裂沟开始出现前，预定分裂沟处的网状结构增厚。分裂沟出现时，整个皮质中的网状结构消失，而分裂沟处的微丝排列成束，方向与纺锤体垂直，形成收缩环。开始时，环较宽，约 $15\mu\text{m}$ ；以后变狭，约 $5-6\mu\text{m}$ ；厚约 $0.1-0.2\mu\text{m}$ 。收缩环的横截面中有 $5,000$ 根微丝。一根微丝能产生 10^{-7} 达因的力，这已足够将沟两旁的细胞质分开^[3]。

皮质中的微丝收缩时如何带动细胞膜一起内陷？换言之，微丝与细胞膜在分子水平上是如何相连的？1983年的一次关于细胞运动的国际会议上，有几篇报告都谈到在几种动物细胞中已分离出与人红血球相似的纽带蛋白(spectrin)，因此认为红血球中膜与骨架的关系可能是一种模式。另一种意见认为不要过早地下结论，因为生物现象是多种多样的。不管这个问题最后怎样，至少已经有了一些眉目。

III、新膜的来源

一个圆球分成二个体积相等的圆球，面积增加26%。胞质分裂时，细胞膜面积必然增加。增加的面积是从哪里来的？细胞膜是有弹性和粘性的。两栖类受精卵的受精膜经孵化酶消化后，受精膜上出现小洞，由于膜内压力较大，一部分细胞膜连同卵质很快地被挤出洞外，细胞变成葫芦形，细胞膜面积在几秒钟内就大大增加。因此推测卵裂过程中增加的膜面积可以

来自原先的细胞膜。海胆卵在卵裂前，卵表面的微绒毛有爆发式的伸长，这时细胞面积每分钟可增加1—4%。其它细胞亦有类似现象，这好象在为卵割时增加膜面积作准备。分裂沟处微绒毛的变化更有兴趣。鱿鱼卵分裂沟前端膜上聚集着许多微绒毛，以后它们褶皱起来排列在分裂沟二侧，当分裂沟收缩时，褶皱摊平。据计算，这一变化所增加的面积可占卵裂时增加膜总面积的3/4。

两栖类卵卵裂时，分裂沟二旁有新膜出现(新膜与原先存在的膜在形态和生理上确有不同)。新膜从哪里来？电镜照片显示分裂沟旁有小泡，有的小泡正在和细胞膜融合。有人认为这是新膜产生的方式。以后发现这种图象可能是制片引起的假象。在照片中还可看到分裂沟二侧有髓样图形(Myelin figure)，这是磷脂类物质在制片过程中形成的，是磷脂渗入细胞膜使细胞膜增大的佐证^[4]。我们将蛙卵浸在去垢剂溶液中，看到新膜的面积比对照组的明显增加，有利于掺入的假设。鸡胚囊胚层细胞的分裂沟壁旁有从沟底体(Furrow base body)发出的许多不规则的长长突起。推测沟底体可能是新膜的源泉。

IV、子细胞的分离

收缩环的收缩不能使子细胞分离，因为它不能无限制的收缩。子细胞的分离，在培养细胞，可以在远心端伸出伪足以爬行的方式将细胞拉开。在组织中，必然是另一种方式。胞质分裂将要完成时，纺锤体的残留部分形成中体(Mid-body)。中体消失时，子细胞间还是相通的(线粒体可以通过)。以后，通道被阻塞，子细胞也就相互分离了。

V、展 望

二十年来，人们对分裂沟的引起和收缩环的结构和功能有了较多的了解，这二方面的工作必然还要深入下去。近年来对能引起细胞表面产生像收缩环那样收缩的物质的纯化及其作

用机理的研究,可能会将上述二方面联系起来。收缩环或微丝在分子水平上如何与膜相连,这正是目前许多人在积极探索的问题,估计不久就会有较一致的意见。细胞表面如何获得对分裂器产生反应的能力?对这一问题的研究还仅仅开始。胞质分裂将要结束时,收缩环如何进行去组装的问题,几乎还没有人问津。近十年来,新的物理手段正在迅速地被应用到细胞领域中来。这必然使人们能看到一些新现象,解决一些问题,提出一些问题,使我们对胞质分裂有进一步的了解。

参 考 文 献

[1] Rappaport, R., 1975, in "Molecules and

Cell Movement." (Edited by Inoue, S. and R. E. Stephens), 30: 287—304. Raven Press.

[2] Conrad, G. W. and R. Rappaport, 1981, in "mitosis/Cytokinesis", (Edited by Zimmerman, A. M. and A. Forer), 365—396. Academic Press, Inc.

[3] Schroeder, T. E., 1975, in "Molecules and Cell Movement." (Edited by Inoue, S. and R. E. Stephens), 30: 305—332. Raven Press.

[4] Bluemink, J. G. and S. W. de Laat, 1977, in "The Synthesis, Assembly and Turnover of Cell Surface Components". (Edited by Poste, G. and G. L. Nicolson), 4: 403—461. North-Holland publishing Co.

地钱(*Marchantia polymorpha* L.)

培养物及其叶绿体 DNA 的研究*

徐 产 兴

(中国科学院上海植物生理研究所)

自从地钱(*Marchantia polymorpha* L.)雌配子体愈伤组织培养成功以来(Ono, K. 1973)^[1],日本一些实验室相继利用它作为研究材料,但报道较少。有关工作可分四个方面:一,地钱雌配子体愈伤组织培养;二,地钱悬浮培养物的研究;三,地钱原生质体培养;四,地钱叶绿体 DNA 基因组结构及其复制机制的研究。

下面按上述四方面逐一介绍。

一、地钱雌配子体愈伤组织培养

地钱雌配子体愈伤组织生长受培养基中生长素类及细胞分裂素类激素促进,在培养过程中染色体数目发生变异,起因有二:一,继代培养;二,生长素及细胞分裂素类激素,如表 1^{[18],[19]}。

M 4 培养基上的愈伤组织继代到 Knop 液或 Miller 无机矿质液(稀释 1 倍),能再生叶状

表 1 愈伤组织培养基组成,愈伤组织生长速率及单倍体细胞的百分含量的比较

培养基	培养基组成	愈伤组织生长速率	愈伤组织单倍体细胞的百分率
M 1	稀释 1 倍的 Knop 液(1 l) + GA ₃ (6 ppm) + IAA (4 ppm) + 蔗糖(2%)	最慢	最高
M 2	改良 Miller 培养基(1 l) + 蔗糖(2%)	慢	高
M 3	改良 Miller 培养基(1 l) + 酪蛋白氨基酸(500 ppm) + 蔗糖(2%)	快	低
M 4	改良 Miller 培养基(1 l) + 椰子乳汁(10%) + 蔗糖(2%)	最快	最低 ¹⁾

* 本文承导师罗士韦教授、李文安老师指导与审阅,谨致谢意。