

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。

体,其中大部分为单倍体叶状体(正常的叶状体),少数为二倍体或非整倍体。再生叶状体及愈伤组织的非整倍性可以分为三类:一类具有一个X染色体,第二类具2个X染色体,第三类没有X染色体(X染色体为微小染色体)。对于产生这种变异的机理还不了解。

二、地钱悬浮培养物的研究

地钱悬浮培养物在不同的培养基上营养方式可分两类:一,光混合营养(photomixotrophic)^[3,4],二,光自养(photoautotrophic)。行光混合营养的细胞系在改良MS培养基(2,4-D作为唯一有机成分)上培养可转化为光自养生长^[5,6]。

1. 光混合营养培养物的研究 在两种改良MS培养基MSK-1^[6],MSK-2^[3,7],地钱悬浮培养细胞叶绿体发育好,叶绿素含量高,其中在MSK-1上培养的地钱悬浮培养物叶绿素含量的2倍。MSK-1、MSK-2的地钱细胞的生长依赖于光,暗中停止生长^[3,6]。

MSK-2上地钱细胞营养方式是光混合营养的。地钱细胞系HYH-2F在MSK-2上光照(140 $\mu\text{E M}^{-2}\text{S}^{-1}$, 400-700 nm)培养,整个生长过程中,每消耗培养基中单位毫克的葡萄糖,细胞干重增加0.32毫克^[3],该值1.6-2.0倍于其它培养细胞(胡萝卜, Nishi et al. 1970; 烟草, Kato et al. 1977; 胡萝卜, Verma, et al. 1977)^[8,9,10,8]。同样的培养条件下,早指数期细胞碳原子净增量为26.8 $\mu\text{摩尔毫升}^{-1}\text{天}^{-1}$,而这期间消耗培养基中的碳原子为18 $\mu\text{摩尔毫升}^{-1}\text{天}^{-1}$,假设消耗碳原子全部转化为细胞干物质,那么余下8.8 $\mu\text{摩尔毫升}^{-1}\text{天}^{-1}$ 很可能是光合作用固定 CO_2 形成的。同位素试验表明 $^{14}\text{CO}_2$ 在细胞里光下积累是暗中积累的20倍^[3]。因此,地钱是光混合营养的。

在MSK-2中,地钱细胞所需能量主要来自非循环光合磷酸化,其细胞线粒体的作用主要是提供进一步生化反应的底物,而不是主要提供能量^[3]。

地钱细胞培养过程中,离子吸收分为二个

步骤:第一步处在生长的最早期,另一步则在指数期与稳定期间的过渡期。而在生长迅速的指数期,细胞几乎不吸收离子;pH的变化却在早期下降,指数期维持一个较稳定的酸性pH值之后pH逐渐增大至碱性值^[7]。可见pH与离子浓度的变化对悬浮培养物的生长很有关系。

培养在MSK-2培养基上的地钱细胞分泌一种水解酶,即多聚半乳糖醛酸酶(polygalacturonase),分子量为76,000道尔顿,最适pH 3.6-3.8,不受阳离子激活,比活力随着生长周期而不断增加^[3]。这个酶可能与指数期细胞分裂有关。

2. 光自养培养物研究 有机化合物仅为2,4-D的改良MS培养基上,地钱细胞能单一地利用大气中 CO_2 作为碳源,行光自养生长^[5,6]。

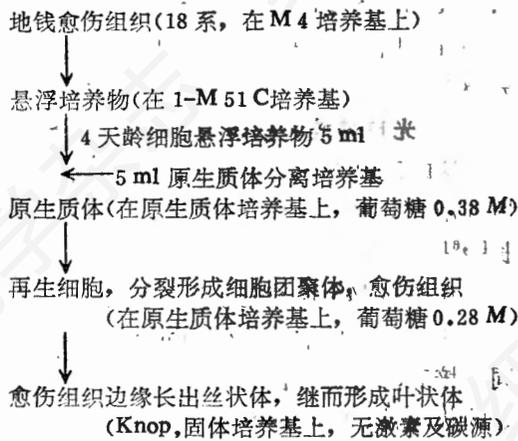
在改良MS培养基上光下培养,地钱细胞生长速度快,倍增时间(doubling time)短,能同步培养,与高等植物的培养细胞相比具有明显的优越性。*Cheopodium rubrum*与烟草培养细胞尽管其叶绿体发育较好,高光合作用,但比生长速率仅为0.015-0.03 天^{-1} ,倍增时间为10-20天。Kato & Hirose 1982^[12]报道在一种改良MS培养基上(有机成分为2,4-D (4.5 μM)),细胞系HYH-2在最适培养条件下(光165 $\mu\text{EM}^{-2}\text{S}^{-1}$, 1% CO_2 , 25 $^{\circ}\text{C}$),比生长速率达0.64 天^{-1} ,倍增加时间为1.08天,叶绿素最高含量达24毫克(克细胞干重) $^{-1}$,光合作用强度为0.77 $\mu\text{摩尔CO}_2$ (毫克细胞干重 $^{-1}$) 小时^{-1} 。该细胞系已能同步培养。将培养细胞7天暗培养,然后连续用18小时光照,9小时暗处理,细胞就逐步向同一个模式分裂。在第9小时,细胞进行第一次分裂,第30小时,进行第二次分裂,这两次分裂的同步化程度分别为82%与70%。同步只能连续二代细胞。

三、地钱原生质体的培养

文献记载,目前只有三种苔类(liverworts)植物能获得原生质体。Schieder与Wenzel 1972从培养在无机培养基上的*Sphaerocarpos donn-*

ellii 获得原生质体^[13]。Thomas & Silcox 1983 利用激素处理获得 *Lunularia cruiata* 单倍体的原生质体。以上二种植物原生质体都不是通过水解酶水解细胞壁获得的^[14]。Ono, et al. (1979) 成功地利用酶法从地钱培养细胞中获得原生质体, 地钱是苔类植物中第一个用酶法获得原生质体的植物^[15]。

地钱原生质体的发生, 培养, 再生的过程如下:



原生质体再生细胞过程中, 原生质体培养基中的葡萄糖的浓度必须从 0.38 M 降低至 0.28 M, 这是因为 0.38 M 的葡萄糖的高渗透性能防止原生质体的“胀裂”, 但抑制了细胞的生长。另外把 0.38 M 葡萄糖原生质体培养基中的再生细胞直接转移到 Knop 固定培养基上, 细胞也不能生长, 说明最初从原生质体再生出来的细胞的生长需要碳源来维持^[16]。原生质体有关培养基见参考文献^[16]。

Sugawara (1983) 报道地钱原生质体在加有活性碳的培养基中培养, 细胞分裂被促进^[18]。其作用机理可能是活性碳吸附了抑制细胞分裂的物质或富集了有用营养物质。

经过 4—6 个月冷冻贮藏的地钱原生质体能再生叶状体^[14]。

地钱原生质体细胞壁的再生的研究已有报道^[4], 其再生作用是粗面内质网显著发育的结果。

四、地钱悬浮培养物叶绿体 DNA 的研究
地钱悬浮培养物叶绿体 DNA 的研究工作刚开始^[17,18,19,20], 都是利用在 1-M 51 C 培养基上的细胞系作为研究材料的。

Ohyama et al. (1982, 1983) 分离纯化了地钱培养物叶绿体 DNA 并作出了物理图谱, 如图 2: 叶绿体 DNA 长度为 121+1.0 Kbp^[17,19]。约有 115 个基因。

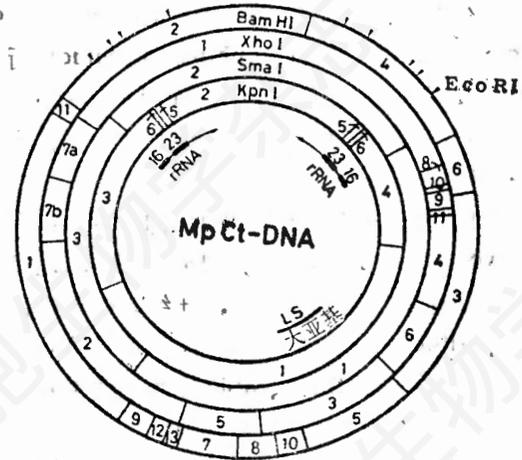


图 2 地钱叶绿体 DNA 物理图谱

Tanaka et al. (1984) 报道了地钱叶绿体裂解产物 (Lysate) 体外 DNA 合成的研究, 发现其中具有类似于 V 类 DNA 聚合酶的活性, 但该酶以单链 DNA 作模板, 不利用引物 poly(rA)-dT(12-8); 其活性受高浓度 K^+ (100-200 mM) 抑制, 在 Mg^{2+} 或 Mn^{2+} 存在下活性较大, 活化型的小牛胸腺 DNA 不能使 H^3 -dTTP 参入到 DNA 中去^[19,20]。不同于线粒体中的 V 类 DNA 聚合酶。目前该酶还未被分离出来。

地钱叶绿体 DNA 复制方式与动物线粒体复制相似; 即通过链置换进行复制^[19,20]。

结 语

地钱培养物叶绿体发育好, 叶绿素含量高, 将成为研究细胞生理生化特别是光合作用的一种很好的材料。地钱细胞生长速度快, 倍增时间短, 可同步培养, 而且是单倍体细胞, 可以作为研究遗传特别是研究基因表达、调控的十分有用的材料。

然而,目前对地钱培养细胞的生物学性质了解得还很肤浅,需要深入研究。目前急需解决的问题如下:一,细胞倍性变异。解决这个问题有两种可能的途径,一种是直接从地钱雌配子体产生分离细胞,进行悬浮培养。另一种直接从雌配子体产生原生质体。这样可避免经过易引起染色体变化的愈伤组织培养阶段。二,探索一个pH、离子浓度及其组成处于最适培养条件,以获得生长速度快、高度同步化生长的细胞系。三,对地钱及其培养细胞进行系统的生物学研究,以获得尽可能多的背景知识。

参 考 文 献

- [1] Ono, K., 1973, *Japan. J. Genetics* 48 (1): 69-70.
- [2] Ono, K., 1976, *Japan. J. Genetics*, 51(1): 11-18.
- [3] Katoh, K. et al., 1983, *Physiol. Plant*, 57: 67-74.
- [4] Mori, K. et al., 1982, Proc. 5th Inter. Cong. Plant Tissue and Cell Culture, Plant Tissue Culture. p. 45-46.
- [5] Katoh, K. et al., 1979, *Planta* 144: p 509-510.
- [6] Ohta, Y. et al., 1977, *Planta* 136: 229-232.
- [7] Katoh, K. et al., 1980, *Physiol. Plant*. 49: p 241-247.
- [8] Nishi, A. et al., 1970, *Plant Cell Physiol.* 11: 757-763.
- [9] Kato, A. et al., 1977, *J. Ferment Technol.* 55: p 207-212.
- [10] Ohyama, K. et al., 1983, *MGG*, 189(11): 1-9.
- [11] Konno, H. et al., 1983, *Plant Physiol.* 73(2). p 216-2222.
- [12] Katoh, K. et al., 1982, Proc. 5th Inter. Cong. Plant Tissue and Cell Culture, Plant Tissue Culture. p 55-56.
- [13] Granham, D. and Chapman, E. A., 1979, *Encyclopedia of Plant Physiol.*, Springer, Berlin, p 150-160.
- [14] Martha, D. B., 1983, *Inter. Rev. of Cytol. Suppl.* 18: 21-31.
- [15] Ono, K., 1979, *Plant Science Letter* 14: 225-229.
- [16] Sugawara, Y. et al., 1983, *Z. Pflanzenphysiol.* 109(3): 275-278.
- [17] Ohyama, K. et al., 1982, *Agric. Biol. Chem.* 46(1): 237-242.
- [18] Ohyama, K. et al., 1982, Proc. 5th Inter. Cong. Plant Tissue and Cell Culture. Plant Tissue Culture. p 519.
- [19] Tanaka, A. et al., 1984, *Agric. Biol. Chem.*, 48(5): 1239-1244.
- [20] Tanaka, A. et al., 1984, *Agric. Biol. Chem.*, 48(5): 1244-1248.

IgE 免疫应答的调节*

顾 华

(中国科学院细胞生物学研究所)

自从发现 IgE 抗体就是速发型过敏性疾病的介导物质以后^[1],对这种抗体的生理、生化性质进行了大量的研究。特别是最近几年来有关 IgE 抗体应答调节的研究进展迅速,从而为最终解决由 IgE 抗体介导的过敏性疾病的治疗问题提供了必不可少的知识。本文拟就变应原的性质, IgE 抗体应答中独特型网络的调节, T-B 细胞的相互作用,以及可溶性因子参

与的调节这几方面,对 IgE 免疫应答调节的研究作一概要综述。

IgE 抗体应答的特点

众所周知,在五类免疫球蛋白中 IgE 有其

* 本文承姚鑫、叶敏教授提出许多宝贵意见,谨致衷心感谢。