

遗传信使

棉花叶肉原生质体的分离初报¹⁾

李仁敬 张忠新 石玉瑚

(新疆农科院微生物研究所, 乌鲁木齐)

本文简要叙述了探寻棉花叶肉原生质体分离的适宜条件的实验结果。供试的棉花是海岛棉(Gossypium barbadense) 76-94、陆地棉(G. hirsutum) 新陆 201、草棉(G. herbaceum) 红壳草棉、中棉(G. arboreum) 常紫一号。将4个棉种分别播种于花盆中,置于室温(18-20℃)、自然光照条件下。苗龄7-10天,即幼苗两片叶子叶平展或第一片真叶露尖时,于花盆中大量灌水,使细胞充分膨胀,次日剪下子叶供脱壁用。酶液组成:不同浓度的纤维素酶 Onozuka R10(日本产)(7.0%、6.0%、5.0%、4.0%、3.0%)、果胶酶 Roch(英国产)(2.0%、1.5%、1.0%、0.4%)、渗透稳压剂:甘露醇(0.7 M、0.6 M、0.5 M)、附加物:硝酸铵(250mg/l)和氯化钙(780mg/l)加入酶液中或不加入。对酶液中各成份浓度进行了组合比较试验,各处理分别用4个棉种重复3次,每次重复镜检2-3次。

从试验中观察到所选用的纤维素酶、果胶酶、甘露醇的各浓度均能使棉花叶肉原生质体酶解,并有一定得率。但是,在高浓度的处理中,原生质体全部变形,细胞质浓缩,边缘凹凸不平,呈褐色,并有大量的碎片。只有当纤维素酶

和果胶酶的浓度分别下降至4.0%和0.4%,甘露醇的浓度为0.6 M时,绝大部分原生质体才呈圆球形,叶绿体呈鲜绿色。但它极不稳定,在很短时间内几乎全部破裂。当酶液中加入Ca⁺⁺与NH₄⁺时,增加了原生质体的稳定性,不再破裂。分离时间,在所有试验中均从第3小时开始少量脱落,至5.5-6.0小时大量脱落。

我们认为:分离棉花子叶叶肉原生质体的适宜酶液组成是:纤维素酶 R10 4.0%、果胶酶 0.4%、甘露醇 0.6 M、硝酸铵 250mg/l,氯化钙 780mg/l, pH 5.5-6.0, 28-30℃ 暗光静置保温5-6小时。用这种酶液成功地酶解了4个棉种的原生质体。

我们分离的棉花叶肉原生质体尚有少量的液泡化和半液泡化;另外,为了使分离的棉花原生质体在适宜的培养基上能再生细胞壁并进行分裂,还需对分离材料及条件等作进一步研究。

Li Renjing et al: A Preliminary Report on the Separation of Cotton Mesophyll Protoplasts

1) 本文蒙复旦大学遗传学研究所蔡以欣老师审阅,特此致谢。

* * * * *

um)。

在细菌中,广泛存在染色体外稳定遗传的复制子——细菌质粒(plasmids),它所携带的遗传信息五花八门,决定着细菌的许多特性。对质粒的研究与日俱增,成为分子遗传学研究的重要领域和遗传工程的有力工具。然而,在原核生物的另一大类群——蓝藻中是否存在细菌质粒的“伙伴”的问题,近年来引起人们的注意和兴趣。1973年 Asato 首次报道组囊藻中有共价闭环 DNA,之后,有关蓝藻的 CCC DNA 继续有所披露,至今,已有二个实验室对三种蓝

蓝藻质粒

蓝藻(Blue green algae)是分布最广泛、种类繁多的光合原核生物,由于它们具有藻类特有的色素和类似于植物的光合作用类型,因而历史上把它们作为藻类的一部分。但它们是典型的原核生物。它们的基因组的大小、核酸的生物化学、细微结构和细胞壁化学等等方面,越来越多的证据表明蓝藻与细菌是非常相象的。近年来,不少人把它们统称为蓝细菌(Cyanobacteri-

藻即雪松聚球藻(*Synechococcus cedroum*)、组囊藻(*Anacystis nidulans*)和海生的阿格门藻(*Agmenellum quadruplicatum*)的共价闭环 DNA 作了比较全面的物理学鉴定,蓝藻质粒初露新颜。

根据琼脂凝胶电泳和电镜观察,雪松聚球藻和组囊藻中存在二种分子量不同的质粒,在电镜下可观察到超盘旋的和松弛的环形分子。电泳测定和电镜下按松弛环周长度计算的分子量,大质粒为 30×10^6 道尔顿左右,小质粒为 5×10^6 道尔顿。氯化铯平衡离心时的浮标密度,大质粒为 1.712 克/厘米³(G + C 约为 53.1%),小质粒为 1.719 克/厘米³(G + C 约为 60.2%),而染色体 DNA 的密度为 1.714—1.715 克/厘米³。用五种内切酶分别处理时,雪松聚球藻和组囊藻 IU625 的质粒 DNA 片段的电泳图谱相同,暗示这二个藻株的质粒在大小和序列方面同源。然而组囊藻 WT 株中缺少 5×10^6 道

尔顿的小质粒,这可能是质粒自发脱落的一例。阿格门藻共价闭环 DNA 的分子量较大,为 $65-80 \times 10^6$ 道尔顿,但也可能存在小质粒。

蓝藻质粒所携带的遗传信息及其功能目前尚不清楚,但它们可能与蓝藻的抗菌素抗性、重金属抗性、毒素的产生、气腔等表型有关。已有报道指出了蓝藻可通过细胞接合传递基因以及组囊藻抗链霉素抗性的“消除”等现象。

蓝藻遗传学的研究由于技术上较困难,且未建立合适的基因转移系统,因而一直进展缓慢。蓝藻质粒的开发利用将会打开蓝藻遗传学研究的新局面,从而也可探索蓝藻基因的表达和调控,甚至可给遗传工程增添新的运载工具。

(业 勤 据 *Nature*, 244: 132—133, 1973; *The Genetics of Algae*, p. 7—28, 1976; *J. Bacteriol.*: 137: 648—652, 1979; *Cell*, 9: 551—557, 1976.)

线粒体具有不同的遗传密码

最近已陆续有证据表明真核生物(包括人)的线粒体可能并不完全遵循遗传密码的普遍性原则。首先令人惊奇的是酵母 ATP 酶的第 9 亚基的基因核苷酸顺序和蛋白质的氨基酸顺序并不一致。Hensgens 等发现此蛋白质第 46 位氨基酸是苏氨酸,而 DNA 顺序上相应的密码子却是 CUA。CUA 在平时是编码亮氨酸的,顺序测定的研究证明这种明显的差异既不是顺序排列的错误;也不是遗传多态性。Li 和 Tzagoloff 还发现在酵母线粒体 DNA 中,有能与线粒体 tRNA^{Thr} 杂交的单一的 tRNA 基因片段。这个片段的顺序与以前分析过的 tRNA 顺序不同,在它的反密码子环中含有 8 个而不是 7 个核苷酸,最靠近环中心的一个三联体与无义密码子 UAA 互补,另一个靠近环中心的三联体则与密码子 CUA 互补。因此,从此基因转录的线粒体 tRNA 可能携带苏氨酸而插入到 ATP 酶第 9 亚基的 mRNA 的 CUA 位置上,也能在线粒体的其它 mRNAs 的 CUA 位置上插入苏氨酸。通过类似的 DNA—蛋白质顺序分析的比较,Barrell

等发现了线粒体遗传密码的第二个例外现象。他们先获得编码人细胞色素氧化酶第二亚基(COII)的基因片段,把它的 DNA 核苷酸顺序和相应的蛋白质氨基酸顺序比较,在此 DNA 片段的阅读框中有三个 TGA 三联体,它们都编码色氨酸。这表示 UGA 从原来的终止密码子变成了有义密码子,在线粒体遗传密码的系统中编码色氨酸,同时还发现密码子 AUA 在线粒体中可能是编码甲硫氨酸而非编码异亮氨酸。

经济节俭地利用 DNA 的编码能力是原核生物较突出的特征,然而很难得出结论,究竟线粒体的遗传系统是类似于原核生物还是类似于真核生物。已知线粒体的基因但仅编码小部分的呼吸链蛋白和线粒体翻译系统的 tRNA 及 rRNA 分子。如果内共学说是正确的话,那么上述出现的遗传密码的例外现象就可能代表着一种“冻结”的、较原始的密码,或许可以认为线粒体的遗传密码是一种既不同于原核生物,也不同于真核生物的独立的遗传系统。

(任兆瑞 据 *Nature*, 282(1979)129, 189.)