

变形虫细胞生长和分裂过程的研究^{*}

薛开先^{**}

(江苏省肿瘤防治研究所)

摘 要

1. 应用单细胞分离培养和连续观察的方法, 研究了紫外辐射、切割细胞质对变形虫 *Amoeba discoides* 细胞生长和分裂过程的各种效应; 分裂延迟及随后的分裂加速现象, 巨细胞、小细胞和双核细胞的形成;

2. 根据本实验获得的种种细胞分裂的异常, 并结合文献讨论后认为, 细胞的分裂周期与生长周期, 是两个既可区分又相联结的生命过程; 当细胞分裂周期被阻断时, 在一定范围内细胞仍可继续生长; 一些细胞在没有或很少生长的情况下仍可通过分裂。细胞分裂周期的启动, 需要细胞生长达到临界体积; 而细胞可生长的最大体积, 受染色体的倍数性所控制。通常情况下, 细胞繁殖的限速因子是细胞的生长, 而细胞的重复生长有赖于细胞分裂周期的完成。

细胞分裂周期是一个顺次依赖程序, 然而各过程间又可相对的区别。当染色体复制或核分裂完毕, 而后一过程又被阻断, 有时可启动细胞周期的部分重复, 以至形成巨细胞和多核细胞。

近年来, 关于细胞生长与分裂过程及其调节的研究不断增多, 这不仅因为它是细胞学的基本课题之一, 而且因为它关系到细胞分化、组织再生和肿瘤发生等重大理论和实践问题(薛开先, 1978; Padilla, 1974; Prescott, 1976)。在这个研究领域中, 最常用的研究方法之一就是各种理化因子或温度敏感突变型, 干扰正常的细胞周期进程, 观察各种异常反应, 进而分析探讨(Howell, 1974)。以往的研究材料主要是细菌、酵母、组织培养细胞以及动植物组织等, 在这些实验材料中(包括应用单细胞株), 均不可能系统地观察个别细胞及其后代对上述处理的反应, 而做到这一点, 对一些实验是非常需要的(Johnston 1977)。同时已有的研究还表明, 在不同类型的细胞中, 细胞周期的进程及其调节机制也不完全相同(Padilla, 1974; Prescott, 1976; Johnston, 1977)。因此, 作者利用变形虫可进行单细胞追踪考察的特点, 研究了紫外辐射、细胞质切割对变形虫生长和细胞分裂的各种效应, 并讨论了细胞生长和分裂过程之间的相互关系。

^{*} 本文的实验工作是在武汉大学生物系完成的。

^{**} 作者的目前的通讯处是(南京)江苏省肿瘤防治研究所细胞室。
本文于1979年10月14日收到。

材料和方法

实验材料为武汉地区采得的盘核变形虫 *Amoeba discoides*。变形虫的培养按 Prescott (1956a) 报导的方法。所有实验用变形虫均为同一变形虫的后代。根据紫外光测定仪的测试, 在15W紫外光杀菌灯发射剂量稳定的一段时间内, 完成同一批实验。照射距离为100厘米。紫外光照射后, 在红光源的解剖镜下, 用微吸管将各实验组和对照组的变形虫(每组24~40个), 分别单个地移进被石蜡分隔的康维皿小室中去, 每个康维皿被分成8个小室, 并按序编号。在培养过程中观察记录辐射细胞及其子细胞的变化, 一经发现异常, 可按号追溯该细胞或细胞株的特点。必要时可重复作单细胞分离培养, 直至达到实验目的为止。由于培养器皿的改进, 使我们比以往同类研究应用了较多的个体。

变形虫细胞质的切割, 应用微细玻璃针尖, 并尽可能使有核与无核一半相等, 若体积明显差异, 则弃之不用, 这样可使切去的细胞质数量, 在各个变形虫间保持大致相等。

实验结果

一、对照组变形虫细胞周期的一般观察

盘核变形虫 *A. discoides* 是一个比较严格的单核细胞。正常生长的变形虫紧贴培养器皿的底壁, 活跃地变形运动, 积极捕食供饲的四膜虫, 并在细胞内形成食物泡, 很快地消化。变形虫处于有丝分裂状态时, 细胞呈圆球形, 四周有许多小伪足。在良好的培养条件下, 变形虫完成一次细胞周期约需30小时左右。

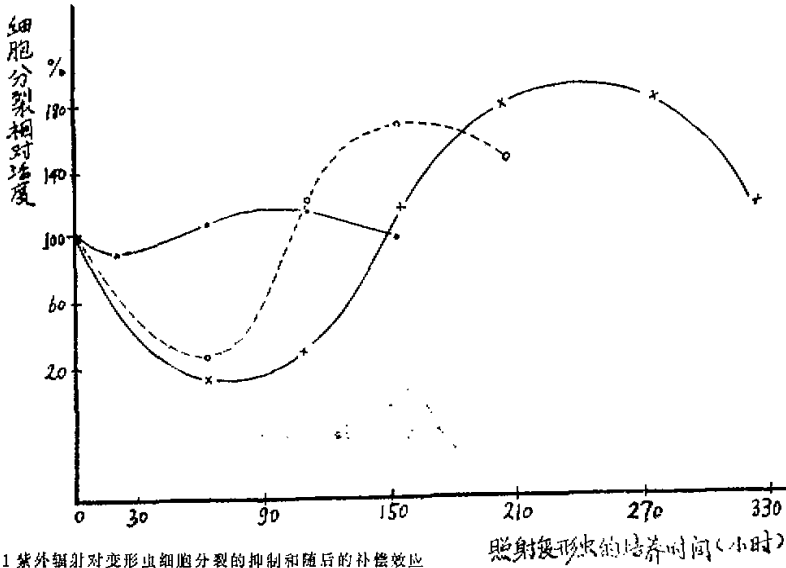


图1 紫外辐射对变形虫细胞分裂的抑制和随后的补偿效应

15W紫外光杀菌灯 照射距离100厘米

照射10秒钟——●—— 5分钟——○—— 15分钟——×——

纵座标表示在某一培养时间内, 实验组变形虫平均分裂的次数与对照组的比值, 即细胞分裂相对活性。

二、细胞分裂延迟与补偿效应

用低于半致死剂量的紫外光处理变形虫, 使照射后的第一次分裂被延迟。延迟的时间长短与剂量成正比。在第二次或第三次分裂后开始出现细胞分裂加速(细胞周期缩短), 持续 1~3 次分裂, 其结果使实验组单株平均变形虫总数与对照组接近, 即出现所谓补偿效应(图 1)。

用微细玻璃针尖切去一半细胞质的变形虫, 立即紧贴培养器皿的底壁, 活跃运动并捕食四膜虫, 其中大部分只有当细胞体积约增加到正常子细胞的两倍时才进入分裂。因此, 切割后的第一次分裂被延迟。在 5 次实验中, 148 个有核一半完成第一次分裂所需时间较对照组延长 37%。一般通过第一次分裂后即出现补偿效应, 持续 1—3 次分裂, 最终使实验组和对照组的单株平均变形虫数相接近。但在 5 次实验中, 有一个实验组未发现补偿效应。

三、“巨变形虫”的形成与转归

紫外光灯照射距离为 100 厘米, 照射 5—20 分钟的变形虫, 其中一部分变形虫的体积增加至通常变形虫的 8 倍左右, 个别甚至更大, 这样的特大变形虫称“巨变形虫”(参见图 2)。测量了 5 个巨变形虫核的长径为 50~63 μ , 平均是 57 μ , 而一般变形虫核的长径为 34 μ 。在上述剂量处理的 15 个实验组中, 获得了 100 个以上的巨变形虫, 根据连续单细胞分离培养、追踪考察的结果, 巨变形虫的形成与转归有如下特点:



图 2 “巨变形虫”、“小变形虫”与通常变形虫的比较(根据照片描绘, $\times 100$)

1. 巨变形虫形成的类型

第一, 由辐射后的变形虫直接形成。如无细胞生长的抑制, 处理后 3 天左右形成巨变形虫; 如有生长抑制, 变形虫活动减少, 有的浮起并呈分枝状, 然后恢复生长, 约在照射后 10 天左右形成巨变形虫。

第二, 由分裂后的子细胞形成。在我们的实验中, 多数是由第一次分裂的子细胞形成。

第三, 由巨变形虫分裂形成。这样的母细胞其中少数有更大的体积。

在本组实验所采用的剂量范围内, 10% 的巨变形虫直接由辐射细胞形成; 而 90% 的巨变形虫是由分裂的子细胞形成, 其中少数由巨变形虫分裂而来。

2. 巨变形虫的转归

77%的巨变形虫未经分裂而死亡，3%的巨变形虫分裂后死亡。余下的20%巨变形虫能形成正常的细胞株 (clone)。

死亡之巨变形虫中的少数，在存活短一段时间后突然自溶，但大部分存活较长的时间，有的长达一个月后才自溶。

图3表示巨变形虫形成及其转归的复杂情况。同一辐射变形虫的两个子细胞，仅其中之一形成巨细胞 (图3-5)；如果两个子细胞都形成巨变形虫，它们或两个都死亡 (图3-6)；或一个死亡，而另一个恢复正常的增殖能力 (图3-7)。图3-8表示，一个巨变形虫是由辐射细胞第一次分裂的一个子细胞形成，而另2个巨变形虫则是由第二次分裂的2个子细胞形成。它们的增殖能力有明显的区别：由第一次分裂子细胞形成的巨变形虫未经分裂即死亡。由第二次分裂子细胞形成的巨变形虫，其中一个分裂数次后死亡，另一个则形成正常的细胞株。

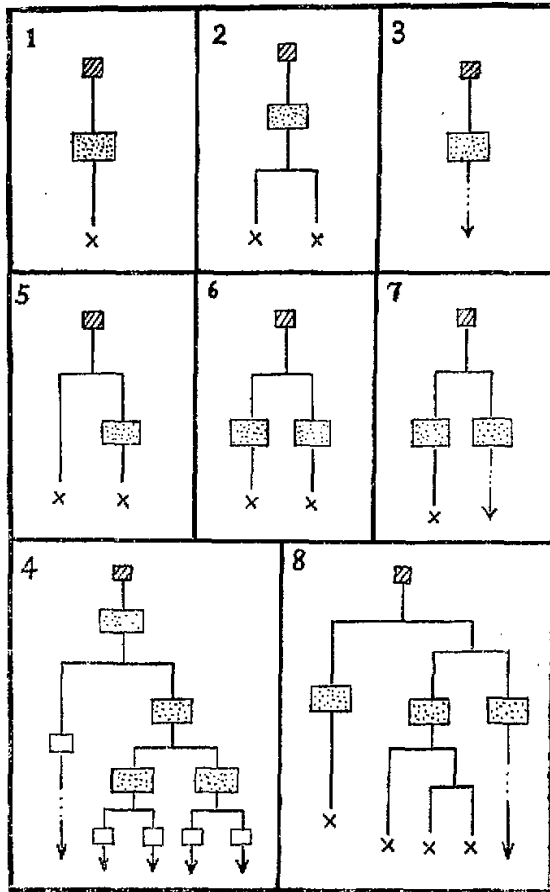


图3 巨变形虫形成及其转归的图解
 辐射变形虫 较大的变形虫 巨变形虫
 死亡 — X 继续分裂 —> 形成细胞株 —>

3. 巨细胞的形成与剂量的关系

巨细胞形成的类型与剂量有关。引起部分变形虫死亡及显著分裂延迟的剂量, 例如紫外光照射15分钟, 巨变形虫仅能由生长抑制的辐射变形虫及其子细胞形成; 在更低的剂量, 例如照射5分钟, 才能在生长不受抑制的情况下形成巨变形虫。

巨变形虫形成的百分率也与剂量有关。紫外光照射时间为5—10分钟, 巨细胞形成率低于5%; 若照射时间短于5分钟, 在实验用的数十个变形虫的范围内, 不能观察到巨细胞的形成; 照射时间在15分钟左右可能有最大的形成率, 最高接近40%; 当照射时间延长至20分钟时, 巨细胞形成率相反地下降, 两次实验都不超过10%。

4. 对照群体中巨变形虫的形成

对照群体中也有巨变形虫形成, 其出现率约为0.1%或更低。连续观察4个巨变形虫, 2个未分裂死亡, 1个分裂3次死亡, 另1个形成正常的细胞株。

5. 巨变形虫裂出细胞质团的现象。

我们观察到2个巨变形虫裂出细胞质团的现象。一个由对照群体中获得, 它在分裂时形成一个巨变形虫和一个通常大小的变形虫, 同时又裂出5小块细胞质团。这些细胞质团最初都能活跃运动, 约经5天后自溶。

四、“小变形虫”的形成

切去一半细胞质的变形虫, 其中少数差不多同时与对照变形虫进入分裂, 由于细胞质很少合成, 故形成两个异常小的子细胞, 即所谓“小变形虫”, 体积均是通常细胞的1/3。在紫外辐射处理的变形虫中, 少数可通过不等分裂形成小变形虫; 有的因最初分裂被延迟, 但一旦开始分裂, 几乎连续进行, 由于细胞质合成相对较少, 亦形成体积异常小的小变形虫(参见图Ⅰ)。在一个典型的细胞株, 辐射处理后分裂被延迟, 一旦开始分裂, 11小时内连续分裂3次, 产生7个异常小的子细胞(可能第二次分裂后的一个子细胞未进行分裂)。而对照组的细胞周期约为30小时左右。

五、双核变形虫的形成

辐射变形虫的后代中可观察到双核细胞的形成。其中一部分随后发生胞体分裂, 或在下一次核分裂时连续发生两次胞体分裂, 形成正常的细胞株。另一部分双核细胞则不能通过分裂而死亡。

对照群体中也可观察到个别双核细胞的存在。

讨 论

一、细胞生长和分裂的关系

细胞生长与分裂间的关系, 是长期来细胞学家所关心的问题, 可是至今其实质仍不清楚(Johnston, 1977)。前不久 Mitchison(1971, 1974)提出, 细胞周期由两个平行的周期组成, DNA—分裂周期(D—D周期)和生长周期。在真核细胞, 前者主要包括DNA合成、核分裂和胞体分裂(cytokinesis); 后者主要是与生长有关的蛋白质和RNA等大

分子的合成。我们用紫外辐射处理变形虫而形成的巨细胞,显然D—D周期被阻断在核分裂前,核酸、蛋白质等大分子的合成仍然继续进行,以致使细胞核和细胞的体积,较通常变形虫大许多倍。在其他广泛的细胞类型中如细菌、酵母、原生动物和一些动植物细胞等,如用各种因子使D—D周期阻滞在某一阶段,但细胞内蛋白质、RNA含量和细胞体积继续增加(Howell, 1974; Johnston, 1977; Mitchison, 1974; Prescott, 1976)。在酵母细胞周期温度敏感突变型的研究表明,在限制温度下,这些突变型的D—D周期可中止在DNA合成启动、DNA合成、核分裂和胞体分裂等重要过程前,此时细胞体积、干重和蛋白质含量继续增加(Hartwell等1970, 1974; Johnston等1977)。以上实验事实说明,细胞的继续生长并不取决于D—D周期的完成。

我们在变形虫获得的另一组实验结果表明,细胞在很少生长时,D—D周期的大部分阶段仍可完成,如变形虫切去一半细胞质后,其中少数不久就进入分裂期,由于细胞质很少合成,就形成了异常小的子细胞;又如处于补偿阶段个别辐射变形虫细胞株,细胞周期显著缩短,在几乎连续分裂时亦形成小变形虫,它的体积约是通常变形虫的1/3,显然细胞质也很少被合成。其他许多原核和真核细胞,在营养缺乏时可很少生长而通过D—D周期,并停留在G₁期,形成体积较通常为小的细胞群体(Johnston等1977)。这些实验又说明,D—D周期的完成似乎不完全依赖于细胞的生长过程。

上述的研究结果虽然提示,细胞的生长与分裂过程,在一定的实验条件下是可区分的,但还有研究表明,这两个过程又紧密关联着。例如在我们的实验中观察到,无论是切割还是补偿期形成的小变形虫,大多数要经过较长时间的生长,达到通常分裂前的体积时才进入D—D周期。在变形虫*A. proteus*也获得类似的结果,并且如每天切割细胞质,可使变形虫在4个月内不能分裂,此时对照变形虫已分裂65次(Prescott 1956, a, b; Нилова, 1965)。其他作者在小鼠成纤维细胞、酵母细胞中观察到,D—D周期早期过程的启动,依赖于细胞生长达到某一临界体积(critical size)。这样看来,细胞的生长通常控制了细胞增殖的速率,它有利于细胞适应变化着的环境,这对细胞的生存和进化都是有积极意义的(Johnston, 1977)。

细胞体积的增长与染色体倍数性相关,这是早已共知的事实(De Robertis, 1960)。我们在巨变形虫形成中观察到,细胞体积和核体积增长相适应,个别巨变形虫还可以通过裂出小原生质团,减少过于增大的体积。在*A. proteus*单个变形虫的称重研究也表明,细胞进入前有丝分裂期,实际上已停止了生长;并且细胞的体积和生长的特点,是受细胞核控制的(Prescott, 1955, 1956a)。这些基本事实和实验结果提示,细胞的生长虽有一个相对自主的范围,但某种类型细胞可生长的最大体积是受染色体倍数性(或DNA含量)所控制的。巨细胞和多核细胞的存在又说明,启动细胞的进一步生长,不一定需要D—D周期的全部完成,有时染色体复制成核分裂结束,而D—D周期的下一过程又被阻断时,亦可发出细胞重复生长的信号,尽管这一机制目前还不明确。

二、D—D周期过程的相对独立性问题

目前认为,在真核细胞D—D周期中的几个主要过程:DNA合成,核分裂和胞体分裂是一个依次依赖的程序,后一过程的启动,有赖前一过程的完成;并且在一般情况

下, D—D周期一经启动, 则序贯地完成整个周期 (Michison, 1974; Mazia, 1974)。我们在变形虫实验中诱发的种种细胞分裂异常, 结合有关资料的分析又表明, 这些序贯的依赖过程之间, 又是相对可区分的。例如紫外光诱发的巨变形虫, 核和细胞的体积均增加 8 倍左右, 这提示细胞在没有核分裂的情况下, 染色体 (或 DNA) 可能已经连续复制了 3 次。用 X—射线处理培养中的哺乳动物细胞, 也观察到巨细胞的形成。核型分析表明, 染色体确已复制, 在培养 72 小时形成的巨细胞中观察到, 一个着丝点连有 8 个染色体 (16 个染色单体), 显然染色体已复制了 3 次 (Yu 1964a, b)。

本实验用紫外光诱发了双核细胞的形成, 在 *A. proteus* 亦可用强可见光诱发双核细胞的形成 (Prescott 1956a), 这表明胞体分裂已被阻断。上述巨细胞和多核细胞在自然、病理及实验条件下均可存在 (Michison, 1974; Rose, 1974; Harva's, 1976; Lee, 1974)。而且, 我们单细胞株观察还表明, 巨变形虫和双核变形虫中的一部分仍可形成正常的细胞株。这证实, 一时被阻断的核分裂和胞体分裂又可重新被启动, 直至完成整个细胞周期。上述研究结果都说明, 细胞 D—D 周期中的 DNA 合成、核分裂和胞体分裂既是序贯的相依赖过程, 又各有相对的独立性, 每一个过程可能都有自己的启动机制, 这已成为活跃的研究对象 (Prescott, 1976; Mazia, 1974)。细胞周期调节的研究, 对控制细胞的增殖过程和肿瘤治疗带来了令人兴奋的前景 (薛开先 1978)。

总结以上讨论, 我们以如下简图概括细胞的生长与分裂过程以及相互间的关系。

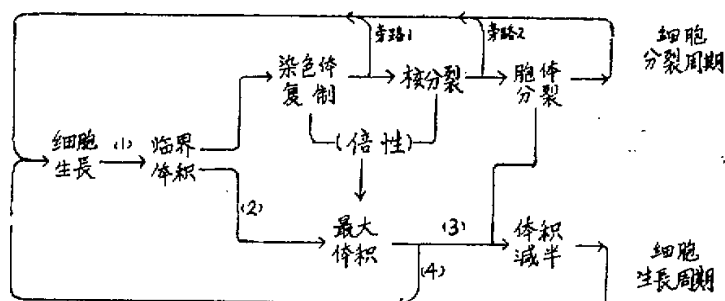


图 3 细胞生长与分裂关系的模式图

说明: (1) 在这个过程中, 最重要的可能是与启动分裂周期早期过程有关的物质合成, 并达到需要的浓度或量;

(2) 细胞继续生长至分裂前体积, 一般均低于该种细胞类型可达到的最大体积;

(3) 在整个有丝分裂过程中, 细胞很少生长;

(4) 如胞体分裂被阻断, 细胞的最大体积随染色体倍数性而相应增加。

三、巨细胞形成与转归的特点

辐射引起细胞体积的增大及巨细胞 (giant cell) 的形成, 在从细菌到人类的广泛细胞类型中均被发现 (Yu, 1964a; Lea, 1955; Deering, 1958; Puck, 1956)。目前, 对真核细胞的巨细胞发育 (Puck, 1956; Tolmach, 1960), 及其核型分析 (Yu, 1964a, b), 代谢特点 (Whitmore, 1958), 亚显微结构 (Rose, 1974), 与放射线治疗肿瘤效果间的关系 (Richards 等, 1960; Graham, 1963) 等方面已进行了不少的研究。但以往的研究

材料, 不可能进行个别细胞的追踪考察, 因此在巨细胞的形成与转归问题上仍有不同看法 (Puck, 1956; Tolmach等, 1960; Whitmore, 1958; Yu, 1964), 而本实验做到了这一点, 这样使我们有可能会对这一问题作出较为明确的讨论。

根据我们在变形虫方面考察, 辐射后巨细胞形成有以下三种类型: (1) 直接由辐射细胞形成。根据有无生长抑制, 巨细胞出现的时间而有不同。在变形虫由这一途径形成的巨细胞较少, 约占10%; (2) 由辐射细胞分裂的子细胞形成, 在我们的实验中多数来自第一代子细胞; (3) 巨细胞通过分裂形成巨细胞。在本实验中, 90%的巨细胞通过第二、三种途径形成。以上这三种途径, 可能在各类实验材料中均存在, 只是这些研究无法仔细区别而已。有人在哺乳动物的巨细胞中观察到有丝分裂象 (Yu, 1964, b,) 证实了在这类细胞中, 巨细胞可通过第三种途径形成的可能性。

从巨变形虫的实验结果来看, 真核细胞的巨细胞转归比较复杂: 巨变形虫不进行分裂, 存活一段时间自溶, 如分裂后仍形成巨变形虫, 在多数情况下仍然自溶; 部分巨变形虫 (约占20%) 分裂后体积逐渐减小, 最终形成正常的细胞株。因此有些作者认为, 巨细胞失去繁殖能力 (Puck 1956), 尚待进一步研究。

巨细胞未经分裂或分裂后死亡, 这说明了巨细胞内已产生了不可逆的遗传损伤, 以致影响了细胞的正常生长和繁殖功能, 目前已能从巨细胞中观察到染色体畸变的存在 (Yu, 1964a, b; Puck, 1958)。但部分巨细胞形成了正常细胞株, 这表明辐射仅可逆地抑制了核分裂过程, 而且即使存在遗传结构的损伤, 也在进一步的代谢过程中被修复。因此, 巨细胞的转归最终取决于遗传结构的损伤及其恢复的程度。

参 考 文 献

- 薛开先, 1978. 细胞周期与肿瘤研究. 江苏医药 (8), 27—33
- De Robertis, E. D. et al. 普通细胞学, 350—378页, 科学出版社, 1964.
- Lea, D. E. 1955, 辐射对话细胞的作用, 281页, 科学出版社, 1962.
- Mazia, D., 1974 细胞周期, 生物科学参考资料 (第2集) 35—47页, 科学出版社.
- Deering, R. A., Studies on division inhibition and filament formation of *Escherichia coli* by ultraviolet light. *J. Bacteriol.* 76, 123—130.
- Grahan, R. M., 1963 Effect of x-ray on DNA synthesis and mitosis in cervical cancer. *Exp. cell Res. Suppl.* 9, 559—562.
- Hartweel, L. H., Culotti, J. & Reid, B., 1970 Genetic control of the cell-division cycle in yeast, I. Detection of mutations. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 66, 352—359.
- Hartweel, L. H. et al., 1974 Genetic control of the cell division cycle in yeast. *Science* 183, 45—51.
- Harva's, J-P., 1976 Multinucleate plant cells. I. Aneuploidy in a proliferating population. *Exp. cell Res.* 97, 203—212.
- Howell, S. H., 1974 An analysis cell cycle control in temperature sensitive

mutants of *Chlamydomonas reinhardi*. in "cell cycle controls" (eds. Padilla, G. M. et al.) 235—249, Acad. Press, N. Y.

Johnston G. C. et al., 1977 Coordination of growth with cell division in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Exp. cell Res.* 105, 79—98.

Lee, H. & Richards, v., 1964 Relationship between radiation dose and giant cell in the surviving population of mouse marrow as determined by interference microscope. *Nature*, 204, 656—658.

Mazia, D., 1974 The chromosomal cycle in the cell cycle, in "cell cycle controls" (eds. Padilla, G. M. et al.) 265—272. Acad. Press, N. Y.

Mitchison, J. M., 1971 the biology of the cell cycle, Cambridge Univ. press, Lond.

Mitchison, J. M., 1974 Sequence, pathways and timer in the cell cycle. in "cell cycle controls" (eds. Padilla, G. M. et al.) 125—142, Acad. Press, N. Y.

Padilla, G. M. et al., 1974 cell cycle controls, Acad. Press, N. Y.

Prescott, D. M., 1955 Relation between cell growth and cell division I. Reduced weight, cell volume, Protein content and nuclear volume of *Amoeba proteus* from division to division *Exp. cell Res.* 9, 328—337.

Prescott, D. M., 1956a Relation between cell growth and cell division II. The effect of cell size on cell growth rate and generation time in *Amoeba proteus*. *Exp. cell Res.* 11, 86—94.

Prescott, D. M., 1956b Relation between cell growth and cell division III. Change in nuclear volume and growth rate and prevention of cell division in *Amoeba proteus* resulting from cytoplasmic amputation, *Exp. cell Res.* 11, 94—98.

Prescott, D. M., 1976 Reproduction of eukaryotic cell. Acad. Press, N. Y.

Puck, T. T. & Macus, P. I., 1956 Action of x-ray on mammalian cells, *J. Exp. Med.* 103, 653.

Puck, T. T., 1958 Action of radiation on mammalian cells III. Relationship between reproduction death and induction of chromosome anomalies by x-irradiation of euploid human cell *in vitro*. *Proc. Nat. Acad. sci. USA* 44, 772.

Richards B. N. et al., 1960 DNA content of human tumors, change uterine tumors during radiotherapy and their response to treatment, *Brit. J. Cancer* 13, 778—800.

Tolmach, L. J. & Macurs P. I., 1960 Development of X-ray induced giant HeLa cells. *Exp. cell Res.* 20, 350—360.

Whitmore, G. M. et al., 1958 Increase of cellular constituents in x-irradiated mammalian cells. *Biochem. Biophys. Acta* **30**, 583.

Yu K. C., 1964 Chromosomes of x-ray-induced giant cells in chinese Hamster cells *in vitro*. *Nature* **204**, 1334—1335.

Yu, K. C. & Sinelial, W. K., 1964 Polyploidy induced x-ray in chinese hamster *in vitro* **145**, 508—510.

Нилова, В. Н., 1965 Взаимоотношение между количесвой цитоплазмы и синтезом ДНК У амёба цитология **7**, 633—640.

Experimental studies on cell Growth and cell Division

in Amoeba discoides

Xue Kaixian

(Cancer Institute of Jiangsu Province, Nanjing)

1. By means of successive single-cell culture the effects of ultraviolet irradiation and cytoplasmic amputation on cell division and cell growth in *Amoeba discoides* were investigated. The effects measured were retardation of division and subsequent acceleration of division, and formation of "giant cell", "small cell" and binucleate cells.

2. The giant cells induced by ultraviolet irradiation were formed directly from radiated cells or indirectly from the daughter cells of radiated cells and giant cells. Eighty per cent giant cells died after several days or died after its division, twenty per cent giant cells reproduced progeny capable of further division.

3. Based on the experimental results obtained with many types of prokaryotic and eukaryotic cells, we are led to formulate a model to explain the relationships between cell growth and cell division (see figure 3). We suppose that the completion of very early events in cell division cycle is dependent on growth of the cell to a critical size, that most subsequent events in the division cycle is independent on continuing growth, that growth can be continued after arresting at various specific points in the division cycle, that a permissively maximum size of cell growth is dependent on the ploidy of chromosome complement, that growth is normally a rate-limiting factor for cell proliferation, and that continued growth of premitotic cell is dependent generally on the completion of the division cycle. Thus we conclude that the relationship between cell growth and division are both dependent and independent,