

菊芋组织培养中cAMP-磷酸二酯酶的 组织化学观察

张 述 祖

(北京师范大学生物学系)

杨 建 民

(武汉师范学院生物学系)

HISTO-CHEMICAL OBSERVATIONS ON cAMP-PHOSPHODIESTERASE IN TISSUE CULTURE OF *HELIANTHUS TUBEROSUS* L.

Zhang Shuzu

(Department of Biology, Beijing Teacher's University)

Yang Jianmin

(Department of Biology, Wuhan Teacher's College)

在高等动物细胞中作为激素第二信使的cAMP早已引起人们的重视,其作用及其重要性已有不少的研究资料可以来说明(1)(2),但在高等植物细胞中,此项研究工作开展甚少。cAMP在动物体内分布甚广,它具有广泛的生物学效应,它直接地影响许多酶的活性以及细胞内的生理生化过程。然而在植物细胞中cAMP分布情况如何?其生理生化效应又表现在哪些方面?不仅对cAMP的研究是需要的,而且对直接对cAMP起调节作用的腺苷环化酶(adenylate cyclase)和cAMP-磷酸二酯酶(3',5'-cyclic adenylic acid-phosphodiesterase)的研究也同样是非常需要的。

按照在动物体细胞中的研究认识,在细胞生活周期中,分裂时M期cAMP活性水平和含量降至最低。在cAMP降至最低水平时,细胞分裂最旺盛,而此时对cAMP起抑制作用的cAMP—磷酸二酯酶的活性水平却升高。其作用简单原理是:cAMP—磷酸二酯酶解开cAMP结构上的3'—5'的二酯键,将其水解成5'-AMP而失去原有的活性。可见在分裂增殖活跃的组织中,cAMP—磷酸二酯酶应是高水平的,而在分裂增殖不活跃的组织中,cAMP—磷酸二酯酶处于低水平;我们对菊芋(*Helianthus tuberosus* L.)的愈伤组织诱导前后的材料实验观察比较,也证实同样是这样的情况。

我们的实验方法是:菊芋块茎,置MS培养基(6'-苄基嘌呤1mg/l;萘乙酸1mg/l)培养七天后的愈伤组织块,经滑走切片机切片,切片厚度为15 μ m,把新鲜切片材料置入哺育液(Tris-maleate缓冲液pH7.6, 10ml氯化镁20.33mg,醋酸铅7.58mg,环化一磷酸腺苷4.69mg,蛇毒1mg)中,在水浴热32 $^{\circ}$ C中作用3小时,再取出材料用蒸馏水快洗二次,置入2%硫酸铵水溶液中进行显色反应1—5分钟,然后镜检观察。对照实验是把哺育液继续升温至80 $^{\circ}$ C和缺失cAMP。

观察的结果是菊芋愈伤组织诱导前后的材料中cAMP—磷酸二酯酶组织化学观察显然存在差异。以上方法所得切片观察,cAMP—磷酸二酯酶的显色呈棕黄色,在未诱导的材料中,cAMP—磷酸二酯酶在细胞质中显色较浅,均匀。在培养七天后的愈伤组织材料中,cAMP—磷酸二酯酶只限于在愈伤组织表层(不接触培养基的一面)3—10层细胞中出现,显色较深。在对照片中,cAMP—磷酸二酯酶不显色。

在愈伤组织诱导中,我们在作cAMP—磷酸二酯酶的组化实验同时,想了解一下损伤反应阶段中“分裂层”情况⁽³⁾。通过实验,我们认为在愈伤组织中,损伤反应阶段中是存在着分裂层,并且分裂层细胞cAMP—磷酸二酯酶活性是高水平的。这点进一步证实,在植物细胞中,分裂旺盛的细胞其cAMP—磷酸二酯酶是高水平的。

我们的工作仅是初步,尚待进一步探索。

参 考 文 献

- (1) 汪堃仁. 1978年, 环核苷酸在控制肿瘤中的作用. 生物科学参考资料, 第11集, 1—23.
- (2) 汪堃仁. 1978年, 环状腺苷酸(cAMP)与成纤维细胞的转化作用. 生物科学参考资料, 第11集, 49—65.
- (3) 中国科学院上海植物生理所. 1978年, 植物组织和细胞培养. 上海人民出版社.