

Q344
2

发育和基因

〔日〕 腰原英利 著
敖光明 译

科学出版社

1984

内 容 简 介

本书是日本东京大学出版会出版的一套生物学丛书之一。作者根据近代生物科学研究的各种资料 and 观点,从分子水平上介绍了生物学中的一个重要领域——发育和分化的基本知识,并对发育和分化的机理提出了一些看法。

本书可供遗传学、分子生物学、细胞生物学的研究工作者及有关专业的师生参考。

原 著 者 展原英利

发 生 と 遺 伝 子

日本东京大学出版会1977

发 育 和 基 因

〔日〕展原英利 著

敖光明 译

责任编辑 王伟波

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1984年9月第 一 版 开本:787×1092 1/32

1984年9月第一次印刷 印张:4 1/2

印数:0001—10,000 字数:99,000

统一书号:13031·2668

本社书号:3672·13—10

定价: 0.72元

序 言

试图阐明发育和分化机理的发育学，是一门既古老而又崭新的学科。古老的一面是，它虽然完善但正在失去生命力；而崭新的一面是，尽管目前尚不完善，但却会出现一些谁也无法估量的情况。随着新出现的情况的增加，在我们阐明发育和分化机理的本质之前，运用现有的知识和技术，从可以迅速判断的情况入手来思考这一问题。事实上，从研究的数量来看，近年来的研究已经取得了很大的进展，特别是分子生物学方面的研究正在取得可喜的成果。

此书涉及的问题并非是很多杂乱无章的事实的堆积，而是想和大家一起从这些事实中探讨出今后的研究方向。虽然从真实的意义上也许得不到接近发育和分化机理的本质的知识，但是，不断地进行一定程度的总结，可能会使问题逐渐集中。总之，如果作者和读者的智慧结合起来呈现相乘效应，那么就达到了我所预期的目的。

作者 1977年5月

目 录

序言	(iii)
1 DNA中的基因	(1)
1.1 高度组建的DNA	(1)
1.2 染色质的基本构造单位——核小体	(6)
1.3 组装染色质的物质“组蛋白”	(14)
1.4 组蛋白的合成和染色质的复制	(21)
1.5 H_1 的特征	(28)
1.6 细胞分化和组蛋白	(29)
1.6.1 红细胞的情况	(29)
1.6.2 组蛋白的修饰	(33)
1.6.3 一种组蛋白的变化	(38)
1.7 精子的形成和组蛋白	(40)
1.8 非组蛋白性的染色质蛋白	(45)
1.9 非组蛋白蛋白质和遗传信息的表达	(56)
1.10 非组蛋白蛋白质的代谢	(61)
2 mRNA的类型和细胞分化	(66)
2.1 定性分析的mRNA类型	(66)
2.2 定量分析的mRNA类型	(70)
2.3 真核细胞中mRNA寿命长短的多样性	(76)
2.4 mRNA的结构	(79)
2.5 mRNA的寿命和蛋白质合成类型的变化	(82)
2.6 激素和分化细胞中的mRNA	(86)
2.6.1 激素的作用和靶	(86)
2.6.2 染色质与激素作用的机理	(89)

2.6.3	激素的作用和受体的调节	(93)
2.7	蛋白质的类型和翻译过程的调控	(98)
3	海胆早期发育中的蛋白质合成	(104)
3.1	卵的mRNA和“遮盖”(masking)	(106)
3.2	受精后mRNA的翻译	(112)
3.3	胚合成的组蛋白类型	(114)
3.4	发育过程中非组蛋白蛋白质的合成	(119)
4	发育和分化的机理	(125)
	参考书	(133)
	参考文献	(134)

1 DNA中的基因

1.1 高度组建的DNA

基因DNA是具有双螺旋结构，直径为2毫微米（nm）的细长纤维状大分子，其上单方向载有遗传信息。遗传信息是由构成DNA的四种碱基的排列顺序来表示的，它决定着特定蛋白质分子的氨基酸序列。氨基酸的序列一经确定，蛋白质的结构就决定了，因而也就决定了蛋白质的功能。多数蛋白质的遗传信息只是存在于DNA的一级结构上。那么，极其复杂的生物体构造和机能，以及以一定的时间顺序表现出来的发育和分化，是如何按照决定构造和机能的型式表现出来的呢？简直不可思议。

虽然我们从基因的构造上找不出什么可以说明生物体机能的东西，以及在各个生物的DNA分子的构造尚未弄清楚的现状下还谈不出什么，但是，随着DNA分子构造的逐渐清楚，我们已经知道了对应于有限的蛋白质分子的部分，可是DNA上还有大量的为我们所不知的区域。这些区域无论是碱基序列上，还是分布上都表现出各种特征。

然而，这些区域的作用只是暗示着和生物的重要控制机理可能有关，但并没有得到确切的证据。

因此，首先要知道在个体发育中从低级的简单状态转变到较高级的复杂状态，这一原则上是不可逆变化的发育现象中，基因DNA是如何表现出转录活性的？

由进化所获得的大量DNA中，除了由简单到复杂的形态及机能变化外，无发育和分化的低等生物的DNA结构和由

于发育具有较高级组建的生物的DNA结构之间,除了蛋白质分子的遗传信息的数量有差异外,是否还有其他的不同呢?

要回答这些问题就需要知道DNA本身的构造。目前我们知道DNA的碱基序列是不均一的,相同的或类似的碱基部分以很高的频率出现。将DNA进行热变性处理就成为单链DNA,当温度慢慢下降时,单链DNA又会“相互找到”其互补的碱基序列部分。鸟嘌呤和胞嘧啶、腺嘌呤和胸腺嘧啶之间形成氢键而重新结合,这是人所共知的。找到互补碱基恢复为双键的速度是浓度越高则越快;即使浓度低,如果经过一段时间也可以形成碱基配对;如果相互之间的碱基序列是原来的,则自然会产生与原来完全一致的双链。碱基序列即使只是相似,也可以形成比较稳定的双链,并且,如果这种相同碱基序列出现的频率越高,那么相应地在很多部分都有可能结合,恢复到双链的速度也就会增加。双链DNA和单链DNA不同。双链DNA在260毫微米处的吸光度要稍微变小,所以追踪吸光度的减少就可以知道复性的过程。另外,根据和羟磷石灰结合强度的差异,可以将双链DNA和单链DNA分开。以纵轴作为再生双链形成的比例,横轴取 Cot (核苷酸的克分子数 $\times$ 秒/升)的对数值所绘制的曲线叫做 Cot 曲线。双链的再生也受染色体组的大小、DNA片断的大小、阳离子浓度、反应浓度的影响。另外,还有类似互补碱基之间形成不完全的双链(这是由于碱基不完全配对,温度稍高就会解离)等,这些都是实验中存在的问题。

若描绘一下高等生物DNA的 Cot 曲线则会发现,由于染色体组大,各个单一碱基序列部分的浓度相对地低,所以曲线偏于右侧。但是,如果也有快速生成双链的成分,那么 Cot 值就变成幅度宽的曲线。小牛胸腺DNA中快速形成互补结合的部分, $Cot_{1/2}$ (达到最终形成双链的一半时的 Cot 值)

为0.03, 互补结合较晚的部分有3,000大小的间隔。根据这个曲线如果用动力学来计算DNA上的碱基序列在染色体组中从单一频率到高频率出现的部分, 则可以看到由于生物种类不同有相当大的差异(表1.1)。

像细菌那样, 原核细胞中的DNA的碱基序列, 只是由非重复的单一的碱基序列所组成; 而真核细胞生物则因生物种类不同有很大的差异, 染色体组中20—60%为重复的碱基序列。经过发育具有极其复杂的高度组织化的高等生物, 随着DNA量增加, 重复碱基序列部分增加到一定的比例后就不再增加了。换言之, 重复序列的种类不是增加得很多, 而是同一碱基序列出现的频率急剧增加, 所以生物进化中组织化程度的增高与DNA上信息的组建也许是对应产生的。

重复碱基序列部分是分散的, 与非重复部分交互地排列在DNA上。生物种类不同, 这种排列似乎也有所不同。蛙、海胆、海兔中重复序列(约300个碱基对)和单一序列(其长度为800—1,200个碱基对, 常常可达4,000个左右的碱基对)相间存在。果蝇等DNA却稍有不同, 长的重复序列与长的单一序列是相连的构造。重复序列的种类为40左右, 它们平均以70次的频率出现, 这和唾腺染色体的染色粒数一致。如果重复序列处于异染色质部分(转录活性低), 那么染色粒就是由这部分产生的。

重复碱基序列的作用是什么, 现在还无法回答这一问题。作为假说来讲, 布里顿(Britten)和戴维森(Davidson)的假说是有吸引力的。

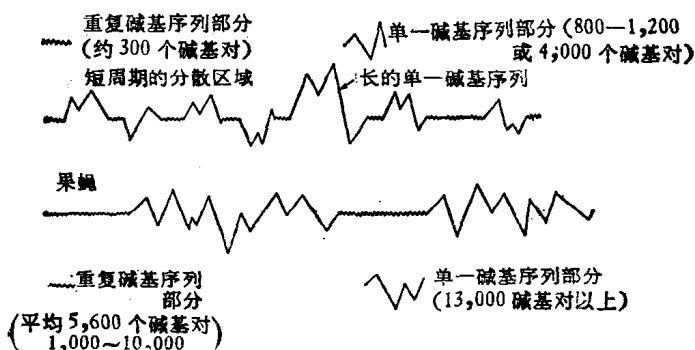
这种假说的设想如图1.1所示。重要之点是, 假定整合基因的存在, 采用了基因的统一系统。这个假说中重复碱基序列部分作为基因来讲, 在A处考虑为接受基因, B处考虑为整合基因。任何一种都是一旦一个激活基因被活化(环境

表1.1 各种生物染色体中的重复碱基序列

生物种	DNA碱基对 / 单倍体	碱基序列部分的比例			
		非重复 (%)	中度重复 (%)	高度重复 (%)	频率
细菌 <i>E. coli</i>	4.2×10^6	100			
粘菌 <i>D. discoideum</i>	3.0×10^7	70	30	45	—*
线虫 <i>C. elegans</i>	8.0×10^7	83	17	250	—
果蝇 <i>D. melanogaster</i>	1.4×10^8	74	13	70	13
海胆 <i>S. purpuratus</i>	8.0×10^8	50	{ 27 19	20 160	—
蚊 <i>A. albopictus</i>	9.1×10^8	70	20	2,500	10
蜗牛 <i>N. obsoleta</i>	2.9×10^9	38	{ ≥ 12 > 15	20 1,000	18
蟾蜍 <i>X. laevis</i>	3.1×10^9	54	{ 10 31	20 1,600	6
豚鼠 <i>M. musculus</i>	2.7×10^9	70	15	10,000	10
牛 <i>B. domesticus</i>	3.2×10^9	60	38	60,000	2

*表示没有报道。

[卢因(Lewin, B), 1975]

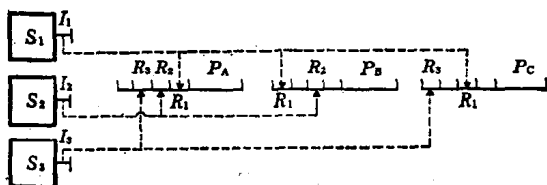


各种DNA上碱基序列部分的配置

40种重复碱基序列部分以70次重复计算, 则这种重复序列的总数
28,000, 和染色粒的数目大体相等。

因子或激素的作用等) 则与之相连的整合基因就进行转录。作为生物合成产物的传递因子在这个假说中是活化的RNA。这种传递因子使对应的接受基因激活。如果接受基因被激活, 那么就从与之相连的生产基因(含有结构基因)上转录出mRNA, 进而合成蛋白质。这时, 由于重复基因的作用, 最终都可以同时转录出几种类型的mRNA。任何情况下, 如果不考虑到这种基因的统一, 就无法说明细胞的构造和机能的高度组织化。这个假说中虽然认为重复基因的传递因子是RNA, 但现在的研究结果却认为是蛋白质因子。这种特定蛋白质所作用的部分其碱基序列是重复的, 如果对这些重复部分各自进行作用, 那么结果应该相同, 但是没有得到证明。

A. 考虑到受体基因重复时



B. 考虑到整合基因重复时

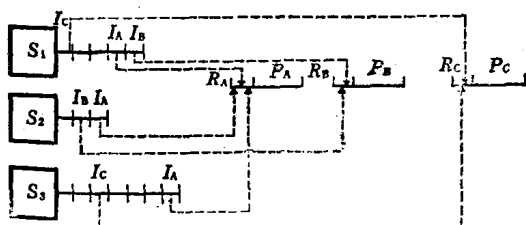


图1.1 基因统一系统的模型

S_1, S_2, S_3 : 激活基因 P_A, P_B, P_C : 生产基因
 I_1, I_2, I_3 R_1, R_2, R_3 } 接受基因
 I_A, I_B, I_C } 整合基因 R_A, R_B, R_C }

(布里顿和戴维森, 1969)

这与其说是一种发育现象，还不如说是转录遗传信息水平的控制机制。然而，问题在于，为什么其型式因细胞不同会有差异呢？

1.2 染色质的基本构造单位——核小体

伸展着的染色质在电子显微镜下可以看到细纤维上（2毫微米）连接着颗粒，颗粒间的距离为14nm，颗粒的直径为7nm。电镜下看到的颗粒是什么呢？这引起了研究者的关注，用核酸酶处理分离微球菌属（*Micrococcus*）或葡萄球菌属（*Staphylococcus*）的染色质组分，进行蔗糖密度梯度离心，得到沉降系数为11S的基本单位和为其整数倍的片段。后来知道这种11S是由DNA片段（长200个碱基对）和组蛋白（含有 H_2 、 H_2 、 H_3 、 H_4 各两个分子的八聚体）所组成，这种单位就是电镜下所看到的颗粒，是一种称为核小体的染色质的基本单位。以后除鼠肝外，还就几种生物的核小体进行了研究（图1.2）。

一般认为核小体的“核心”部分集聚着组蛋白的八个分子，DNA双螺旋绕其上1.5—2周。鼠肝染色质用核酸酶处理后，发现200个碱基对的DNA中有三个部分：不易被降解的40个碱基对、 H_1 结合部分的20个碱基对处于核小体之间的连接部位以及不能被降解而和“核心”结合的140个碱基对〔诺尔（Noll）1976〕。粗糙链孢霉中结合在“核心”上的140个碱基对也是相同的，但与 H_1 结合的部分只有10个碱基对，易被降解的部分只有20个碱基对，并且比较短。酵母也是如此。低等生物中这种200个碱基对的单位似乎短一些。由于200个碱基对的单位也可以被DNase I（脱氧核糖核酸酶I）分解成10个碱基对单位，所以认为它是以一定的间隔露

高等真核生物

CHO 细胞
鼠肝细胞
鸡红细胞

碱基对单位

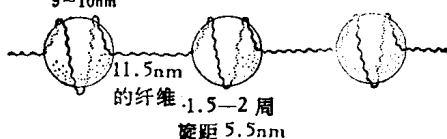
178
185
207

约 200 个碱基对

从 x 衍射像看到 11nm 周期

直径
9~10nm

约 140 碱基对 = “核心” (H_{2a}, H_{2b}, H_1, H_1)₂



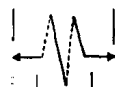
低等真核生物

链霉菌
酵母
粗糙链孢菌

碱基对单位

154
165
170

150—170 个碱基对

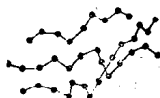


约 140 个碱基对“核”

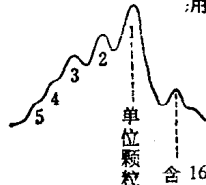


染色质的伸展

用电子显微镜观察颗粒
之间的距离为 14nm 各
颗粒的直径为 7nm



用核酸酶处理染色质



从大鼠肝细胞核分离的
染色质进行酶处理后,
用蔗糖密度梯度离心出
现的类型

含 160 个碱基对的 DNA 颗粒

DNA 链的缩短率

DNA 链

1/6.7

螺旋管
直径 30nm

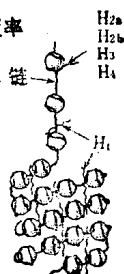


图1.2 核小体

在核小体的表面。核小体DNA是卷付在“核心”上,所以有人认为它是取“扭结螺旋”(有折叠的部分)构造〔克里克

(Crick) 和克卢格 (Klug), 1975]。

那么, 染色质的转录和核小体有什么关系呢? 想从最近的研究结果来说明这一问题。鼠肝细胞的全 DNA 中形成核小体的 DNA 有什么样的碱基序列呢? 转录活性高的染色质部分和没有转录活性的部分, 核小体的形成状态有何不同呢? 核小体和非组蛋白蛋白质的关系又如何呢? 围绕着核小体, 新的问题一个接一个地提出来了。

1) 形成核小体的 DNA 是否含有特异的碱基序列呢?

若使³H-DNA互补地结合在鼠肝全DNA及染色质的核小体组分的DNA上, 则各自结合的动力学大体可以描绘成相同的曲线(图1.3A)。

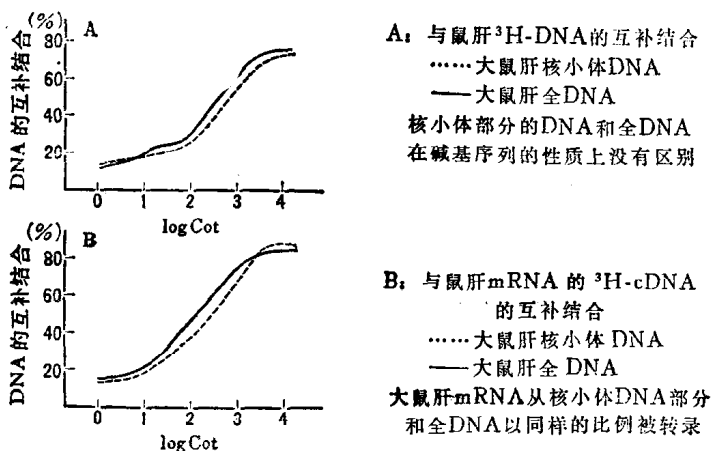


图1.3 鼠肝核小体DNA和全DNA性质的比较

因此从这个实验的准确性来看, 结合于核小体上的DNA的碱基序列和全DNA平均的碱基序列的性质是相同的, 在重复和单一碱基序列的频率上看不出差异。

2) 就转录活性部分和非转录部分的DNA来看, 核小体的形成状态是否相同呢?

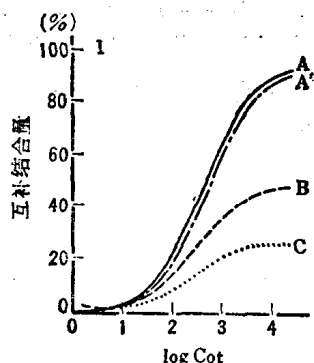
制备与鼠肝细胞全 mRNA 互补的 cDNA，将它和核小体 DNA 以及全 DNA 互补结合的动力学绘成曲线进行比较 (图 1.3B)，发现各自的曲线也大体一致，可见转录部分和非转录部分的 DNA 同样参与核小体的形成。

3) 处于转录部分的核小体是否还存在着其他的特殊状态呢？

制备与鸡红细胞珠蛋白 mRNA 互补的 cDNA。首先，如果取鸡红细胞 DNA 及核小体组分 DNA 和这个珠蛋白 cDNA 互补结合的动力学发现，几乎完全一致。这个结果和 2) 一样，表示珠蛋白的基因部分也是取核小体的形式。

为了分离核小体，用葡萄球菌核酸酶处理 18 天的胚红细胞核，但这次是研究其珠蛋白 cDNA 与胰脏 DNase I (DNA 酶 I) 处理后的 DNA 部分是否有互补结合的区域 (图 1.4, I. C)。结果发现葡萄球菌核酸酶处理后的核小体组分中，珠蛋白基因几乎是无损地包含在内，而用 DNase I 处理的组分中珠蛋白基因的大部分被分解了。5 天的胚红细胞核用 DNase I 处理，被分解的部分只有一半左右，这可能和细胞系统中由珠蛋白基因转录的活性随着发育而提高有关。因此，用红细胞制备了不被转录的鸡卵清蛋白 mRNA 的 cDNA，研究和用 DNase I 处理 18 天的胚红细胞核后的 DNA 的互补结合的情况，发现和珠蛋白的情况有所不同，进行互补结合的 DNA 部分是没有损伤的 (图 1.4, II)。

从以上实验可知，被转录的珠蛋白基因部分也好，象卵清蛋白那样不被转录的基因部分也好，都参与核小体的形成。但是，可转录的珠蛋白基因 DNA 部分是处于易被胰脏脱氧核糖核酸酶 I 分解的状态，而不转录的卵清蛋白基因 DNA 部分是取抗性的构造 (温特劳布和格劳丁，1976)。



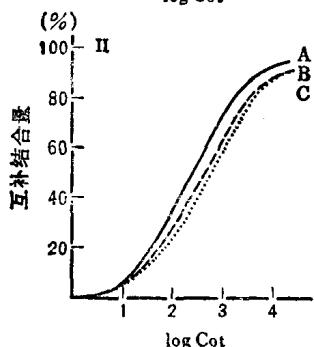
I. 鸡红细胞珠蛋白cDNA

A: 使之互补结合在全DNA上的情况

B: 用脱氧核糖核酸酶I处理5天的红细胞核后, 提取出来的DNA与之互补结合

C: 将18天的胚红细胞核进行同样处理, 提取出来的DNA与之互补结合

A': 用葡萄球菌核酸酶处理18天的胚红细胞核后, 提取出来的DNA与之互补结合



II. 鸡卵清蛋白cDNA

A: 分离结缔组织细胞的核, 用胰脏脱氧核糖核酸酶I处理后, 提取出来的DNA与之互补结合

B: 将5天的胚红细胞核进行同样处理, 提取出来的DNA与之互补结合

C: 将18天的胚红细胞核进行同样处理后, 提取出来的DNA与之互补结合

结缔组织细胞、红细胞的卵清蛋白基因部分, 虽然对酶表现抗性, 但是当红细胞表达珠蛋白的遗传信息时, 用胰脏脱氧核糖核酸酶I处理, 珠蛋白的基因部分则会被分解, 然而任何一种用葡萄球菌核酸酶I处理时, 都只能分解至核小体的状态。

图1.4 脱氧核糖核酸酶对鸡红细胞染色质的选择性分解 [温特劳布 (Weintraub) 和格劳丁 (Groudine), 1976]

4) 有转录活性部分的核小体的组成有什么不一样呢?

用DNase II切割鼠肝染色质组分, 通过离心可以分为沉淀的 P_1 组分 (无转录活性的部分) 和上清液 S_1 组分; 加2毫克分子 (mM) $MgCl_2$ 从 S_1 组分中除去沉淀 P_2 , 收集上清液 S_2 组分, 这部分是有转录活性的染色质断片 (表1.2)。 P_1 部分组蛋白/DNA = 1.15, 含有5种组蛋白成分, 但非组蛋白

蛋白质的量少。相反,我们看一下 S_1 (S_2),发现组蛋白/DNA = 0.61,比值减少。用凝胶电泳来研究 S_1 的组蛋白成分,发现 H_1 和 H_4 显著减少 (图1.5A)。非组蛋白蛋白质的量多,为DNA的1.6倍, S_2 组分中非组蛋白蛋白质在量的分布型式上与 P_1 有显著不同 (图1.5B)。由此可知,在转录活性部位构成核小体的组蛋白以及非组蛋白蛋白质的量和质发生了改变。进而就 S_1 组分分离出来的颗粒来看,在分离过程中解离和结合很可能是同时进行的,而组蛋白的解离、非组蛋白蛋白质的结合是在核小体水平上进行的。

表1.2 鼠肝的染色质组分

用DNase I 切割染色质组分,用27,500g离心除去未被切断的染色质部分 (P_1),将上清液 (S_1) 用2mM $MgCl_2$ 处理,分成沉淀组分 (P_2) 和上清液 (S_2),若用DNase进行长时间处理,则 P_1 部分也成为染色质颗粒。

染色质组分	染色质DNA量 (%) $\pm$ SE	转录活性 (以DNA为 100的模板活 性的比例)	对DNA组成的比例		
			组蛋白 DNA (w/w)	非组蛋白蛋白质 DNA (w/w)	RNA DNA (w/w)
未处理	100	20	1.06	0.65	0.05
P_1	84.6 $\pm$ 4.8	9	1.15	.58	0.05
(从 P_1 组分分离出来的11—13S颗粒)			1.03	<0.05	—
P_2	4.1 $\pm$ 2.5	—	—	—	—
S_1	11.3 $\pm$ 3.9	65	0.61	1.60	—
(从 S_1 组分分离出来的)			3—5S颗粒	0.24	0.60
			13—15S颗粒	0.72	1.35
			18—20S颗粒	0.54	3.2
					0.3—0.4
					0.3—0.7

【戈特费尔德(Gottesfeld)等,1975】

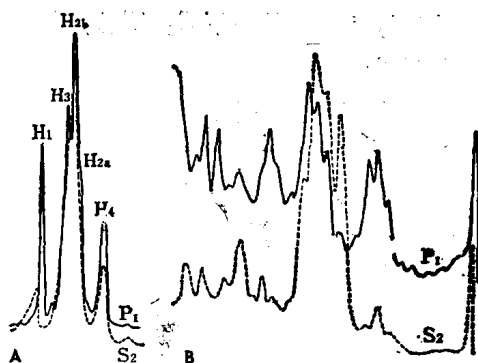


图1.5 根据圆盘电泳图谱进行染色质组分的蛋白质比较

A: 从P₁及S₂组分中分离出来的组蛋白类型, S₂中H₁和H₄显著减少。

B: 从P₁及S₂组分中分离出来的非组蛋白蛋白质类型, 两者在质和量上都显著不同。 (戈特费尔德等, 1975)

在组蛋白一项中红细胞转录活性高的染色质部分, 组蛋白的构成与核小体的平均值比差异很大, 以及组蛋白的某种成分减少, 从这些事实我们不能认为任何地方的核小体都是完全均一的。象卡拉德(Carrard, 1976)所划分的那样, 组分 I (140个碱基对的DNA, 缺乏H₁, 其他组蛋白 6 个分子)、组分 II (160个碱基对的DNA, 缺乏H₁, 其他组蛋白 7—8 个分子)、组分 III (160 个碱基对的 DNA, 缺乏H₁, 其他组蛋白 8 个分子) 的核小体单位大概是共同存在的。

此外, 根据对昆虫胚的研究, 核糖体 RNA 基因部分看不到核小体, 其染色质的直径为 7.3 毫微米, 变粗 (表 1.3) [福 (Foe) 等, 1976]。另外, 海胆精子上看到的核小体的DNA单位为240个碱基对, 比胚的长 (表 1.4) [斯帕达福罗 (Spadafora) 等, 1976]。有报道指出, 被精蛋白置换的某种生物的精子, 染色质不形成核小体。

核小体的研究是目前研究的重点。核小体和非组蛋白蛋