

编 著

王忠华

王全兴

王建潮 (加)



分子生物学



第二军医大学出版社

发育分子生物学

王忠华 王全兴 王建潮 编著

第二军医大学出版社

内 容 简 介

本书主要从细胞和分子水平阐述了生命科学中的一个新领域——发育生物学的研究进展。主要的特点是用现代分子生物学的理论来阐明生物体发育的本质,并对发育和分化的机制提出新的观点和看法。主要论述了当今生物研究领域中的前沿问题,对生命期限的分子机制、机体大小的控制和发育不对称机制等进行了探讨,并介绍了基因打靶、基因治疗、基因克隆和基因芯片等应用研究的展望。因此,本书将会是一本不可多得的分子生物学参考书。本书可供发育生物学、遗传学、胚胎学、细胞生物学和分子生物学等研究工作者和相关专业的师生使用和参考。

图书在版编目(CIP)数据

发育分子生物学/王忠华,王建潮编著. - 上海:第二军医大学出版社,2000.6
ISBN 7-81060-090-7

I. 发… II. ①王… ②王… ③王… III. 发育生物学:分子生物学 IV. Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 15609 号

发育分子生物学

编 著 王忠华 王全兴

王建潮

责任编辑 傅淑娟

第二军医大学出版社出版发行

(上海市翔殷路 800 号 邮政编码:200433)

昆山市亭林印刷总厂印刷

开本:789×1092 1/16 印张:13.25 字数:329 160

2000 年 6 月第 1 版 2000 年 6 月第 1 次印刷

印数:1~3,000 册

ISBN 7-81060-090-7/Q·003

前言

从1953年Watson和Crick提出DNA双螺旋模型开始,标志着生物学的研究进入分子水平,从而揭开了在基因层次进行生命本质探索、疾病机制研究的新篇章。到目前为止,分子生物学已经成为当今生命科学研究中最热门的一门学科,也可预测在即将到来的21世纪,它将继续是医学、农学及生命科学研究领域中的领头羊。

分子生物学发展到今天,研究方向已逐渐聚焦于三个领域:发育生物学、神经生物学和结构生物学。它们是当今分子生物学研究中最热的热点,在不断增长的相关期刊专著里,每天都涌现出大量的新论文。

发育生物学是一门飞速发展的学科,现已席卷了整个生命科学领域。1995年果蝇胚胎发育研究获得诺贝尔生理和医学奖,开辟了发育生物学又一个新的“黄金时代”。

本书是写给那些关心人类自身和关注生物发育研究的生物学科和医科学学生的,当今关于发育生物学机制的研究正在运用细胞生物学和分子生物学手段进行探索。本书主要从基因水平对当今发育学研究进行分子水平的探讨,我们知道目前几乎所有基础医学或生命科学的研究阻力均来自于对生命本质机制上的认识模糊,而发育研究正是基于这样一种目的,对生命现象进行本质上的探索和机制上的阐明,如肿瘤到底是怎样一种生命现象,是怎样发生和发展的?细胞的分化和增殖又是怎样被控制的?凋亡和死亡是否存在相关性等。

写本书的起因来自于一次与许田教授的谈话(Yale大学兼Harvard大学副教授)。他的博学与自信给我留下了深刻的印象,也使我能静下心来关注发育领域的进展和一些突破。初稿完成时又得到他的再次指点,他在认可这项工作的同时提出此书有可能对国内的生命科学研究,尤其是发育分子生物学研究能起到一定的推动作用。

从亚里士多德提出的灵魂学说今天的基因学说,发育研究已进入分子水平和DNA层次。目前发育研究的主要热点是:生命是怎样起始的;细胞增殖和分化的机制是怎样调控的;机体内的不对称又是怎样产生的(如心脏为什么只在左侧出现);衰老与生命期限(寿命)的分子生物学机制是什么;动物大小又是怎样由基因决定的等等。本书在分子生物学水平上对这些问题作了系统的回答。另外在附录章节中介绍了基因打靶、DNA芯片以及基因治疗的展望等内容。

其实发育分子生物学研究的最终突破可使神话变为现实,如中国古科幻小说《封神榜》和《西游记》中哪吒有三只眼及三头六臂和孙悟空的七十二变,这一切都

可在发育生物学研究的推动下,在未来的生活中成为现实。对应于相对的模式生物,其实许多工作已在实验室完成,如三头六臂的果蝇、一只眼的牛犊、头呈镜形结构的羊等,克隆羊“Dolly”的诞生和长寿不老基因的发现更是对死亡提出了挑战。但发育生物学最主要的目的是阐明生命现象的本质,最终利用它来征服肿瘤、执行基因治疗的目的,从而造福于人类。事实上也只有在发育研究上的突破才能达到人类最后征服一切疾病的目的,当然这将是一条漫漫长途。

本书自始至终得到胡以平教授的指导;复旦大学生命科学院毛裕民教授及遗传所基因工程实验室主任盛小禹副教授也对此书提供了一系列帮助;另外还引用了 Nature, Science 和 Cell 等期刊上的一些图表,在此一并表示衷心感谢。

由于本人水平有限,本书所涉及到的内容又较前沿,所以错误在所难免,希望能得到广大读者的批评和指正。

王忠华

1999 年 11 月于上海

谨以此书献给热爱生命和钻研
生命的同行和朋友！

目 录

第一章 发育生物学——一门古老而年轻的学科	(1)
第二章 生命的开端	(7)
第一节 精子和卵子的婚嫁	(7)
第二节 胚胎中的生命	(10)
第三章 发育模式生物	(15)
第一节 永生的水螅	(15)
第二节 透明米线虫	(16)
第三节 果蝇	(18)
第四节 斑马鱼	(21)
第五节 小鼠	(22)
第六节 人类	(24)
第四章 细胞增殖	(27)
第一节 Checkpoints	(27)
第二节 M 期激酶的结构和作用	(30)
第三节 细胞周期中的蛋白磷酸化和去磷酸化	(32)
第四节 p34(cdc2)的调节作用	(33)
第五节 cdc28 在细胞周期中的作用	(36)
第六节 动物细胞中的 cdk-cyclin 复合物	(37)
第七节 cdc2-cyclin 和 cdk-cyclin 二聚体的功能	(38)
第八节 cdk 阻抑子参与 G_0/G_1 和 G_1/S 过渡	(39)
第九节 细胞的再组织	(41)
第五章 细胞分化	(43)
第一节 甲基化与基因表达	(43)
第二节 甲基化与肿瘤发生	(46)
第三节 Epigenetic	(48)
第四节 发育中的翻译调节	(50)
第五节 动物大小的发育控制	(55)
第六章 癌基因与抑癌基因	(59)
第一节 病毒癌基因	(60)
第二节 细胞癌基因	(62)
第三节 Ras 的激活	(64)
第四节 激活原癌基因的插入、移位或扩增机制	(66)
第五节 癌基因蛋白参与的级链反应	(69)
第六节 生长因子受体激酶和胞质酪氨酸激酶	(70)

第七节	癌基因蛋白调节基因表达活性的作用	(72)
第八节	肿瘤抑制基因 RB	(74)
第九节	P53 作用机制	(75)
第十节	不死性和转化性	(78)
第十一节	肿瘤综合征——肿瘤的起源和自然属性	(80)
第七章	浓度梯度和级联反应	(88)
第一节	浓度梯度的产生	(89)
第二节	母本基因产物建立的浓度梯度	(90)
第三节	A/P 轴的发育	(92)
第四节	D/V 轴的发育	(94)
第五节	细胞命运怎样被决定	(98)
第六节	复合位点研究	(102)
第七节	同源框基序	(105)
第八章	肢体发育分子模型	(108)
第一节	过去:肢体发育的解剖学研究	(108)
第二节	现在:肢体发育的分子生物学研究	(109)
第九章	发育不对称性	(114)
第一节	不对称性细胞分裂	(114)
第二节	左右发育不对称性	(118)
第十章	性	(123)
第一节	性别怎样被决定	(123)
第二节	体细胞性别	(125)
第三节	性基因表达	(125)
第十一章	神经发育	(127)
第一节	中枢神经系统神经元与神经胶质细胞的起源与分化	(127)
第二节	神经发育的基因调控	(133)
第十二章	眼的发育生物学	(137)
第一节	Eyeless Pathway	(137)
第二节	Sevenless-Sino-Yan Pathway	(138)
第十三章	耳的发育生物学	(140)
第十四章	羽毛和体毛的发育机制	(143)
第一节	基板的数量和空间分布控制	(143)
第二节	表皮生长——肿瘤或毛囊	(144)
第三节	β -Caterin 在基板定位和生长中的作用	(145)
第十五章	骨与牙的发育模式	(147)
第一节	骨的发育模式	(147)
第二节	牙的发育模式	(148)
第十六章	基因治疗	(152)
第一节	载体的构建	(152)

第二节	基因治疗的临床研究·····	(157)
第十七章	凋亡和死亡·····	(159)
第一节	凋亡·····	(159)
第二节	死亡·····	(163)
第十八章	再生和永生·····	(165)
第一节	再生·····	(165)
第二节	永生·····	(169)
第十九章	发育分子生物学研究方法·····	(174)
第一节	发育分子生物学技术介绍·····	(174)
第二节	BMS 细胞的全能性 ·····	(180)
第三节	基因打靶·····	(184)
第四节	DNA 芯片 ·····	(187)
第五节	人类基因组计划·····	(190)
第六节	生物信息学·····	(194)
主要参考文献·····		(197)

第一章 发育生物学

(一门古老而年轻的学科)

地球上的芸芸众生,不管是空中飞翔的老鹰还是在土里钻洞的小鼠;不管是海底盛开的珊瑚还是阴沟里蠕动的阿米巴;不管它们怎样千奇百怪、多姿多彩,发育都是从单个细胞的起始、与精子和卵子的结合和溶为一体开始。无论是卵子还是芽,充分发育后的机体其内在的复杂程度大大超过了我们的想象力。我们熟悉早餐桌上的鸡蛋,其中无定型黄球就是卵细胞,但谁又能设想我们大脑的三维结构中有 $10^{12} \sim 10^{13}$ 个脑细胞和 $10^{14} \sim 10^{15}$ 个突触呢?

生物代代相传,雄性生殖细胞中的遗传信息(核内 DNA 及细胞质 DNA)和雌性卵细胞携带的信息(母体信息,胞质决定)赋予有机体自我复制的能力,按照相同的时间和空间顺序构建世代相同的结构和模式,自我构建和自我组织是两个发育生物学术语,道出了发育的基本原则。基因组包含了构建整个机体的计划和蓝图,但有机体的最终模式非常复杂,基因组也并非成体的概括或图样。那么基因组到底编码些什么呢?

- 基因组含有如何制造特异性蛋白、rRNA 和 tRNA 以及调控 DNA 自我复制的信息。

- 基因组包含一些层次化的组织,主导基因(master gene)通过它们的产物支配整套的从属基因。

- 基因组含有时空程序元件,以控制基因的表达顺序。

但我们还是不能明白有机体的发育如何建立在这么少的信息基础上? 又有多少有机体能失去的结构再生? 对发育的研究兴趣可追溯到人类在进化树上出现的那一天起,发育研究归根结底就是对生命本质的探索。但人类文明史发展到今天,虽然研究水平深入到分子水平,可我们对一些基本生命现象的认识还象幼童一样无知和茫然;比如人为什么只长两只眼睛而不长三只眼睛,为什么不象果蝇一样能长含 800 只单眼的复眼? 心脏为什么不对称发育,只长在左边而不在右边出现,为什么不象肾脏一样规律性的对称长两只? 人为什么不能象蚯蚓一样具有强大的再生能力,切去头可再生出一个头来? 为什么不能象水螅一样长生不老,以获得永生? 这些问题可以对有思想的人类本身无止境的提问,归根到底也即一个问题即:“What's life? (生命的本质是什么?)”,对此,首先让我们来回顾发育生物学的研究发展简史。

一、发育生物学开端

古代梵文和古埃及文都有对胚胎的各种描述,而第一个系统地从事发育研究的人是亚里士多德(Macedonium Aristotle 公元前 384-322 年),他曾是亚历山大作王子时的老师,第一次用文字方式记录了自己的发现,他不仅是博学的哲学家,还是一位热情的自然主义者。他将孵化不同时间的鸡蛋打开,观察了小鸡在鸡蛋内的发育过程和状态,他发现在形体出现过程中,出现了一个“跳动点”即搏动的“心脏”。同时他也写了第一本与生殖和发育有关的教科书以及相关的文章。对于机体是如何产生的,亚里士多德提出和强调了以下四点:①自发地产生于腐败物,因为当时认为苍蝇和爬虫可能来自腐败物;②出芽产生;③雌雄同体;④两性生殖。他认为,发育的目标是形成格(ergo 功的单位),正象艺术家的目标是形成作品一样,他认为塑造形体的要素是能量,这一要素包含了它的目的,也是最终的归宿,能量是效率和最终原因,为了达

到物种特异性的结果,形成要素必须拥有一个最终结果的“预存思想”。因此最终的原因和最终的能量将是灵魂。

亚里士多德说过:“灵魂导致跟它相类似的个体产生,即灵魂产生物种”。与柏拉图一样,亚里士多德将灵魂区分为带来生命的营养灵魂、赋予感觉的动物感觉灵魂和导致思索的精神灵魂。营养灵魂赋予植物再生的能力,也是动物发育成形的能力;动物灵魂控制感情和运动;精神灵魂是外在的、无痛楚的纯能量。他认为,营养灵魂由母亲提供,即哺乳动物以排卵方式提供,动物灵魂由精液遗传,从父亲传递到未来孩子的体内,精神灵魂“通过某个门”从外界进入体内。

二、发育生物学的兴起

十六世纪,发育胚胎生物学研究复兴,同时也进行了大量卵巢和睾丸的研究。Volcher loiter(1514~1576年)详尽地研究了鸡胚的发育,提出卵子是在卵巢中产生的观点,因而他也被视为胚胎生物学之父。美国解剖学家 William Harvey (1578~1657年)虽然以发现脊椎动物机体的血液循环而著名,但他同时继续了亚里士多德的胚胎学研究,并将研究领域扩展到昆虫和哺乳动物(羊和鹿)。尽管哈维崇尚“哲学家”亚里士多德,但他仍坚持认为自发生殖仅限于低等生物,而在昆虫中,发育意味着变态(metamorphosis),即从已有的形态转化为另一种形态。但他们在观点上一致的是,哈维与亚里士多德及其追随者都将蛹(pups)视为卵。另外,哈维认为高等植物的发育并不仅仅是变形(transformation),还有后天发生(epigenes)也即创造合成,指从均质的物质进行创造性的合成,逐渐形成新的统一体,他写到:“尽管出乎人们的意料,我们仍坚持认为所有动物,即使是胎生动物及人类本身,都产生于卵细胞;首先是怀孕,继而胎儿发育都源于一种或另一种卵细胞,正如各种植物的种子一样。”以后的论文或文献将哈维的句子缩短为“生命来自卵”,(拉丁语,omne vivum ex ovo),这也可能受到哈维的胚胎学论文卷首插话的启迪——只有卵子可以产生生命(ex ovo omnia 拉丁语意为所有事物来自卵)的题词。然而需说明的是卵更象在子宫这个“壳里”的卵裂球(Blastercyst 发育时的胚胎)。

三、发育先天预成论

瑞士学者 Konerd Gessner(1516~1565年)报道,雌体怀孕后,生出一个肉团,随后把它添成形(图1-1)。他的同胞 A Albert von Haller (1708~1777年)更是立场坚定地坚持所谓的发育先天论,在这一点上,他与显微镜解剖学的创造者列文虎克观点一致。1683年,列文虎克(Antoni Van Leewenhoek, 1632~1723年)写到:“人胎儿,尽管不如一粒碗豆大,却五脏俱全。”他同时声称在精液内发现微小动物(animalcules)又叫 Zoa 的存在。后来贝尔将 Zoa 更名为精子细胞(spermatozoa)。另外,列文虎克也大胆设想,他可能会看到雏形人(homunculi)即微小动物内的微小预成人。当时认为雏形人长大后成为胚胎。

同样,人们也试图在所谓的昆虫卵——“蛹”(pupae)中看到微小的蚂蚁及蝴蝶成虫,正如植物的叶子和花来自芽一样。预先存在的人只需逐渐展开。他们认为生命不过是遵从机械论规律,活生生的生物是一座可以与当时工匠制作精巧的天文钟比拟的真正钟表。这种活机器仅被视为无灵魂的还是会活的实体,这要依赖于各位作者的宗教和意识形态的地位。

先天论产生了一些难以解释的问题:若个体发育仅仅是预先形成状态的逐渐展开,难道所有世代在世纪之初就已经存在了吗?答案是层层包裹:一代包裹着另一代,就象俄罗斯特有的玩具一样,一个套一个。按 Vallisneri(1661~1730年)计算,远古母亲一夏娃的卵巢内含有两亿个这样的小人,一个套一个,这样的储存量直到世界末日也足够。法国的 Genevan Bonnet

(1720~1793 年)精确地描述了蚜虫的孤雌生殖,他在 1764 年写到:“大自然只要乐意,多么小的东西都能发挥作用”。

●显微镜显示了细胞,降低了看到预成形机体大小的限制,显微学家们不仅显示了卵细胞,还显示了精子。有人声称,预形成的雏形人预先存在于卵子(卵原论者)或精子(微小动物论者,雏形人论者)中,如图 1-2 所示。

●如果丢失的身体部分只能来自预成形的部分,那么肢体缺失部分的再生又如何解释呢?

Lazzaro Spallanzani (1729 ~ 1799

年)第一个实现了人工授精,报道说,在没有精子存在的情况下,青蛙卵就会降解;后来又

用犬做实验,最终证明如果确实要产生一个新个体,精液和卵子必须共同存在,到此终于结束了发育先天论——预成论的争论(尽管他错误的认为精液中游动的微小生物是寄生虫)。

四、发育后天发生论

Caspar Friedrich Wolff(1738~1794 年)重新开始进行对胚胎的研究,他看到了从均质的卵黄物质发育而来的新形态,同时也描述了后来成为成体结构的生殖叶(germ leaves),此为生殖层(germ layer)理论的雏形。他和史前的亚里士多德及其他活力论者一样,认为存在一种非物质(非颗粒)的东西,它是生命物质的力量。Friedrich Blumentach(1742~1780 年)假想出一种尤其在生理上起作用的“成形力”(formative compulsion),此可通过生殖细胞遗传。另外许多赫赫有名的生物学家都是活力论者,其中包括第一次真正发现哺乳动物卵子的 Carl Ernst von Baer,通过对几种哺乳动物卵子的深入研究,贝尔得出结论,所有的脊椎动物只有在通过一个非常相近的胚胎期之后,才发生一个发育途径的分化。(原意为在一组动物中,属于所有动物的共有结构总是比用以区分不同种类动物的特征结构优先发生)如图 1-3 所示。基于这个规则,德国动物学家、艺术家及哲学家赫克尔(Ernst Haeckel, 1834~1919 年)提出了非常有争议的生物发生法则(biogenetic law),此法则以简洁、生动的语言描述了个体发育要重演系统(种族)发育过程,他认为,个体发育



图 1-1 先天预成论

母熊把子代添成形,16 世纪的发育观点

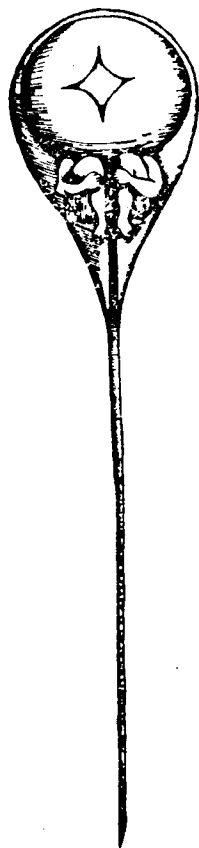


图 1-2 雏形人论者
精子中观察到的雏形人,18 世纪的观点

(即一个有机体从受精卵发育成为成体的过程)是该种属进化史上的一个“缩写本”。1880年, Wilhelm His 编写了《人胚胎的解剖学》,更激发起人们对人类胚胎的兴趣,但当时他们受到许多宗教的压力,认为胚胎是上帝所造之物,凡人对它进行人为操作违背了上帝的意愿,是大逆不道的。

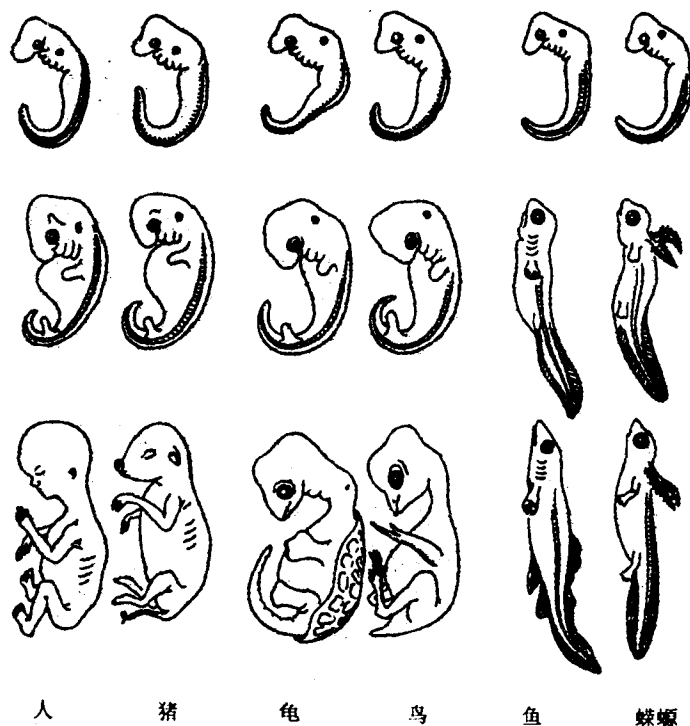


图 1-3 赫克尔的“生物发生律”,亦即重演论(recapitulation law)

法国实验胚胎学始于对形态学的言传身教传统,圣伊莱尔(Sacht hilaire)是当时居维叶(Gerges Cuvier)最强烈的一位反对者,他致力于异常发育(畸形)的因果研究。但他一度被研究鸡胚发育时粗略的方法所困扰。1886年,其同胞 Lauent chabry 开始用简便易行的具被膜的卵研究畸形发育。从此,无脊椎动物卵成为研究早期动物发育的首选卵来源。

五、发育遗传学

从 1860 年起进入了实验胚胎学、细胞生物学和遗传学时代。发育遗传学第一个先锋是一个眼睛几乎瞎了的预言家魏斯曼(August Weismann, 1834-1914 年),他首先预见到基因的重要性,在他的生殖质理论中描述了染色体自我复制的决定子假说。其假说到现代才被 Ednard Strashburger, Walter Fleming 等研究者用实验证实。另外他同时也认为胚胎中决定子的不同分布导致细胞分化的发生。

将人们注意力引向细胞核并将其视为遗传物质的是 Hertwig 兄弟的功劳。两兄弟经常在海法国的 Roscoff 海洋站一起工作,他们认识到精子和卵子细胞核融合的重要性,他们以海胆卵为研究材料,鉴别出第二极体,并看到了卵细胞内这些细胞的核,在那段时间,海胆胚胎是发育

生物学研究领域最为热门的抢手货。

Theod 和 Boveri (1862-1915 年)对蛔虫卵进行了详细的观察并明智地解释了实验,推动了染色体理论的发展。他认为即使在同一个核内,染色体也有各自不同的结构,并能在细胞中产生本质上不同的效果,具有重要意义的是 Boveri 第一次用实验显示了染色体对发育的重要性。他还意识到细胞核与细胞质之间的相互作用,后来也被其本人用实验来证明。此外浓度梯度假说也是由他首先提出。

Wilson(1856~1939 年)和他的学生通过对软体动物仔细的观察和精细的外科操作证明了胞质决定的重要性,此外他还首次发现了性染色体(从昆虫中得到),并著成一本非常有影响的教科书《细胞的发育和遗传》(1896 年)。

另外,Boveri、Wilson、Driesch 和 Morgen 除对海洋和其他无脊椎动物研究以外,还对水螅进行了详细的切割再生研究,并进行了详细的记录,这些研究标志着现代发育生物学的开始。Morgen 当时著的一本再生研究纲要《再生》(1901 年)现在仍然值得一读。

六、发育分子生物学

与此密切相关的是 Wilhelm Rous (1850~1924 年)以青蛙卵、Hans Driesch (1876~1941 年)以海胆卵,以及 Thomas Hunt Morgan (1866~1945 年)以果蝇做的实验,Morgan 是第一个获得诺贝尔奖的生物学家(1933 年),建立遗传学领域领先模式——生物果蝇(*Drosophila*)。

Driesch 进行的经典实验包括:用头发丝分离受精卵分裂后形成的两个姊妹染色体细胞(分裂球),分离后的细胞各自产生一个完整的海胆幼虫,这一实验证明,活体并非机械论者所想的机器,因为没有任何一台机器拆开后能恢复成原来的模样。因此 Driesch 又复活了亚里士多德主义者的术语“生机 entelechy”,但他并没赋予这一术语一种生理功能。相反,他赋予他的实体是“知识”是“信息”。虽然他提前使用了“信息”这一术语,这是 Nobert Wieuen 1942 年才引入的一个科学概念,但 Driesch 的生机是不可理解的,它没有生理载体,这与现代分子遗传信息大相径庭。另外他也提到了位置信息,他声称:“一个细胞将来的命运是由它在整体中的位置所决定的”,“每一单独的基本发育过程不仅仅有其本身的特异性,而且有其在整体中的位点特异性,即它的位置”。

Boveri 的学生 Hans Spemann(1869~1941 年,1935 年诺贝尔奖获得者)和 Spemann 的学生 Hilde Mangold 以两栖动物胚胎为材料,用精细新颖的外科手术方法进行了命运决定事件和胚胎中不同部分之间具有诱导性的相互作用研究,实验最为成功之处在于发现了组织者(Organizer)。

1970 年以前发育生物学提出的重要理论和重要工作者有:

- 梯度理论:TH Morgan (一般理论);T Boveri(海胆胚胎)
- 胚胎诱导:CH Waddington(鸡胚),S Toivonen L Saxon (两栖动物)
- 细胞相互作用和细胞培养:J Hockett, V Hamburger, Purl Weiss
- 转决定和转分化:Ernst Hadorn, Yuneo Yamada
- 细胞及细胞核移植:Bentrice Mintz(小鼠,畸胎瘤细胞),Robert Briggs, Thoms King, Lon-von Gurdon(青蛙)
- 生物学和发育分子生物学:W. Beermann A Ashburner (双翅目的大染色体), Alfred Kun (昆虫的酶链和基因活性), Jean brachet(两栖动物中的 RNA), Heis Hildegard Tiedemann(诱导因子)

DNA 作为遗传信息载体的作用于 1953 年由 Waltson 和 Crick 首次进行了明确的阐述,而胞质决定子与 DNA 的相互作用及细胞间的相互交换是近来研究的主要目标。

- 果蝇已经成为遗传和发育生物学的参考模型。基因学家 EB Lewis、Eric Wieschaus、Christiane Nusslein-Volhard、David Hogness、Walter Gehring 和 Gary Struh 等在果蝇中进行了许多开创性的研究。另外,Brener 成功地建立了另一个模式动物系统——线虫(*Caenorhabditis elegans*)。

- 许多研究工作者重返传统模式系统,他们用分子生物学方法来深化研究工作,包括 Eric Davidus(海胆),John B Gorden(胚胎诱导),Lewis Wolpert(位置信息,鸟肢芽的形成)

- 发育领域另一开拓者是英国的数学家 Alan Turing,他基于数学推理,正在发展用计算机来模拟生物发育系统。

本书主要用现代分子生物学原理和技术方法来阐述当前发育分子生物学对生命本质的合理解释,目前主要研究方向为:基因表达时空调节性;发育中的细胞信号传导途径;器官特征性发育;Mosaic and Chimeras 分析;癌基因的激活和抑癌基因的失活;凋亡和衰老的研究。热点问题是机体不对称发育怎样形成?细胞的形状、大小及数量的多少被如何决定?细胞分裂怎样控制?细胞系对发育的影响,发育中细胞怎样知道它的发育位置和发育命运?以及环境因素对发育的影响等等。

毫无疑问,发育研究的前进或突破将整个地推动医学、农学及其他生物学科的发展,肿瘤的攻克如果没有在癌细胞发育分子生物学基础上的机制阐明是无法实现的,没有发育分子生物学对机体机制的进一步理解,所有疾病的基因治疗都无从谈起。另外,令人充满兴趣的是发育将使我们某一天能人工创造生命(体外基因重组和拼接)。发育也将使神话成为现实,使梦想成为实际,从而使上帝限制人类的死亡也能被突破,而使每个人都能长生不老。

第二章 生命的开端

第一节 精子和卵子的婚嫁

在采取有性生殖手段繁育后代的高等真核生物中,生殖细胞与体细胞分家且被特别保存,体细胞则专注于机体组成和功能角色作用的发挥,而生殖细胞专注于执行专门的育种功能。在哺乳动物中,生殖细胞也被称为配子,存在雌雄两种,各自对应于卵子和精子。它们在胚胎发育早期就已产生,并被作为原始生殖细胞储存。在早期性腺中,迁移而来的原始生殖细胞进入周围的雌性皮质层和内部的雄性髓质。在这个时期,胚胎的性别还未确定,如在雄性中它们发育成睾丸,在Y染色体上的主导基因sry指导作用下,皮质层的原始生殖细胞死亡,而在髓质的原始生殖细胞却分化成精原细胞;在雌性,由于无Y染色体,因此也就没有sry基因的作用,在此情况下,性腺发育成卵巢,只有在皮质内的原始生殖细胞能存活,并最终发育成卵原细胞。

一、卵子

卵原细胞先经历一系列有丝分裂的增殖期,有丝分裂结束后卵原细胞分化为卵母细胞,女性胎儿的卵巢中大约含五十万个卵母细胞,女婴出生后卵母细胞的增殖就会停止。至青春开始时,大约已有90%的卵母细胞已经死亡。与此相反,男孩体内的精母细胞在青春期才恢复增殖。

在3个月到7个月的女性胎儿发育期,其卵母细胞就开始进入减数分裂前期。染色体在S期早期就已复制完成。在前期的双线期,同源染色体中的每一条都包括两个染色单体,它们沿长轴配对,由丝联复合物相连。值得注意的是,此时减数分裂前期被阻断,且这个阻断会持续很长时间,在人类可持续12~40年。在此过程中,染色体保持配对,但会发生解凝聚而形成侧环,看起来象灯刷——一种用来清除灯油的刷子。

在昆虫中(如蟋蟀),它们会用一定的时间来完成卵子的发生,而且我们还可以观察到灯刷染色体和多个核仁的出现,就象在脊椎动物中一样。但是在果蝇中,情况并不是这样,它们只能存活14 d左右,且在12 h内就产生一个卵,卵母细胞成熟所需的一切都由滋养细胞提供。

在果蝇中,卵原细胞位于管状的卵巢管中,每个卵原细胞发生4次有丝分裂,而产生一含16个细胞的细胞团。中心的2个细胞与4个相邻细胞互相联触,中心细胞其中一个成为卵母细胞,其余15个所谓的姐妹细胞全成为滋养细胞。这些滋养细胞将继续扩增其基因组从而成为多倍体细胞,最终包含基因组的500~1 000份拷贝。这样的增殖可导致高水平地转录。

在卵母细胞中,卵黄的组成物质并不是对称分布的,如在果蝇中,细胞核位于卵中心,但由于卵黄的分布和其椭圆的形状,果蝇卵有明显的前后极性和背侧极性。由滤泡分泌的卵壳维持卵的形状,然而明显的两侧对称性对将来两侧对称形体结构并没有决定性的影响。在某些突变体或者在实验干扰下(如后半部注射bicoid mRNA),会使外表正常的卵发育产生身体结构的极大改变。

绝大多数的卵都是圆形(图2-1),但它们的内部结构存在动物极和植物极的区分:卵黄小

板和糖原颗粒集中在植物极,传统上被称为生物泡的卵母细胞的巨大核位于动物极,这种卵母细胞组成部分的不均一性对随后发育所起的作用可以用一系列实验手段来观察。

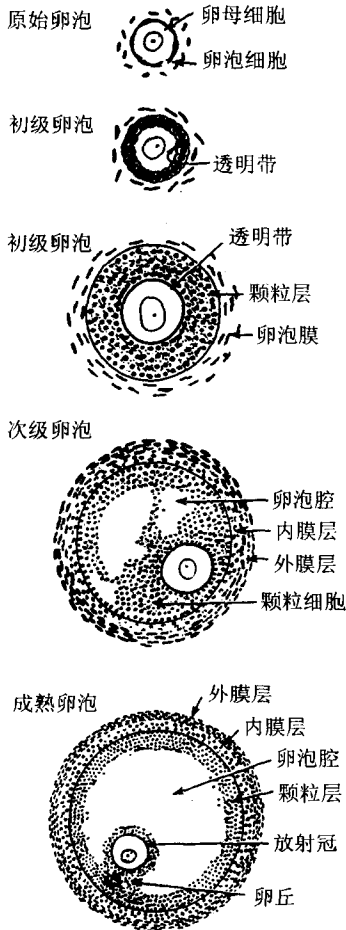


图 2-1 卵泡发育的模式图

原始卵母、初级卵母、
次级卵母、成熟卵母

最后卵母细胞被非细胞的有强化作用的卵黄磷脂蛋白和另外一种由多种成分组成的包被围绕。在哺乳动物中这些包被层称为透明带和辐射区。在爬行类和鸟类,蛋清和蛋壳是在卵受精后由输卵管分泌、包裹加工形成的。

哺乳动物的卵母细胞在发育过程中体积增大 5 000 倍,这个过程需相当长的时间来完成(人为 12~45 年)。当卵母细胞达到最终大小后,减数分裂恢复,染色体浓缩以便于转运,生发泡的破裂表明核膜的崩解,然后在减数分裂过程中,卵母细胞排出第一个小型姐妹细胞——第一极体;受精后卵母细胞才排出第二极体。

被阻断的减数分裂的恢复和完成是由激素控制的,目前已发现和确定 FSH 和 LH 两激素的合成与释放在此过程中起了主要的作用。子宫为着床作好准备,物种特异性的 FSH、LH 及类固醇激素的恰当比例促使第一极体的释放及接下来的排卵:卵子从卵巢中释放出来。在人类,经过多年的减数分裂阻滞, LH 会使 10~50 个卵母细胞在月经周期的前半阶段恢复减数分裂,但是往往只有一个卵母细胞会最终成熟。排卵发生在两次月经之间,如绝大多数哺乳动物的排卵发生在发情期。

二、精子

在睾丸精细管中原始生殖细胞成为精原细胞。当前知道精原细胞是保持有分裂潜能的干细胞,分裂后产生两个子细胞,其中一个为干细胞,另一个则成为精母细胞。干细胞排列在精细管的内壁上,分离开的精母细胞则沿着精细管管腔迁移。来自同一个干细胞的精母细胞会保持着联系并同步发育。个体成熟时,精母细胞进行减数分裂,每个精母细胞能产生 4 个相同的精细胞,并经过终末分化而形成 4 个精子。在整个发育过程中,原始生殖细胞的后代通过胞质相互联系,只有分化

完全的精子才会相互分开。当精子在精细管中央聚集时,管壁上的干细胞提供新鲜的补给,这种补给可以是连续的,也可以发生在交配期。

一个典型的精子组成(如图 2-2 所示),它的头部有顶体(acrosome),其后部为高浓缩的细胞核、颈部为一对中心粒、中段是供给能量的线粒体及最末端起推进作用的鞭毛。此精子结构组成具有运动和受精的能力。

三、受精(生命的开端)

可以说人的一生从受精开始。受精(fertilization)指的是精子和卵子各自的单倍体基因组相互融合而形成双倍体合子的事件(图 2-3)。目前对受精过程了解的最为清楚的是海胆的受精。为了吸引精子靠近,新产出的海胆卵散发一种能吸引精子并为之导向的交配素