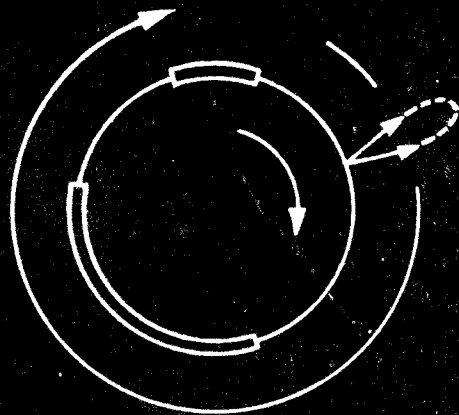


真核细胞的繁殖

(美) D. M. 普列斯谷脱 著



科学出版社

内 容 简 介

细胞繁殖是生物科学和医学生物学上一个具有重要意义的问题。本书详细论述了细胞生活周期和真核细胞繁殖方面的最新资料和实验观察,对细胞本身如何繁殖,以及如何控制这种繁殖提供了一个清楚的概念。可供细胞生物学、医学生物学、遗传学、生物化学等方面的研究和教学工作者参考。

D. M. Prescott
REPRODUCTION OF EUKARYOTIC CELLS
Academic Press, 1976

真核细胞的繁殖

〔美〕D. M. 普列斯谷脱 著

张伟成 严文梅 译
曾令程 陈为藻

*

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

*

1980年4月第一版 开本: 787×1092 1/32
1980年4月第一次印刷 印张: 6 1/8
印数: 0001—6,610 字数: 138,000

统一书号: 13031·1230
本社书号: 1711·13—10

定价: 0.80 元

前 言

本书的目的在于把细胞生活周期和真核细胞繁殖方面的主要论据和观察组织成一个材料，以尽量增进我们对这些细胞本身如何繁殖以及这种繁殖是如何被控制的全面了解。显然，这些问题是生物科学和医学生物学中具有普遍重要性的问题。

在若干方面，本书与 J. M. Mitchison 的著作“细胞周期生物学”(剑桥大学印刷，1971) 有些重复，但在 Mitchison 著作中涉及的大多数领域在此已被省略或仅简要地提及。我的意图是使这两本书互相补充。这可以反映在如下事实，即引证的 563 篇参考文献中的大部分是 Mitchison 著作出版以后发表的。

目 录

前言	iv
第一章 绪论	1
细胞周期的划分	3
细胞繁殖的调节	4
第二章 全周期中细胞的生长	8
裂殖酵母 (<i>Schizosaccharomyces pombe</i>)	9
大变形虫 (<i>Amoeba proteus</i>)	12
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	16
小鼠成纤维细胞	18
结论	19
第三章 细胞的同步性	21
天然同步性	21
实验诱导的同步性	23
第四章 G_1 期	40
G_1 的易变性	40
细胞生长与 G_1 长度的关系	43
G_1 期时细胞繁殖的控制	49
完成 G_1 期对蛋白质和 RNA 合成的需求	60
DNA 合成的准备	64
第五章 S 期的启动	70
核-质相互作用在 DNA 合成中的任务	70
DNA 合成启动和持续的核内位置	79
第六章 S 期	85
复制单位(复制子)的数量	86

复制子组合的最小数量.....	88
复制起源点数量的明显变化及其与发育的关系.....	89
DNA 复制的顺序.....	92
S 期时对蛋白质和 RNA 合成的需求.....	97
不同倍性细胞中 S 期的长度.....	101
第七章 G ₂ 期.....	103
为有丝分裂作准备.....	103
细胞周期在 G ₂ 期的阻留.....	104
G ₂ 期时对蛋白质和 RNA 合成的需求.....	105
G ₂ 期向 D 期的过渡.....	107
第八章 细胞分裂时的活动.....	108
有丝分裂时 RNA 的合成.....	108
有丝分裂时蛋白质的合成.....	109
有丝分裂时胞核 RNA 和蛋白质向细胞质的可逆性转移.....	111
第九章 细胞周期中细胞表面的变化.....	114
形态学变化.....	114
质膜的化学变化.....	118
植物外源凝集素的结合和细胞的粘合度.....	120
第十章 环 AMP, 环 GMP 和细胞繁殖.....	123
cAMP 与细胞周期.....	123
实验性地诱导细胞内 cAMP 的增长对细胞生长的影响.....	129
环核苷酸和 G ₁ 阻留的承担与解脱.....	130
细胞中 cAMP 水平的调节.....	136
第十一章 核蛋白和细胞周期.....	139
组蛋白.....	139
非组蛋白核蛋白.....	142
第十二章 RNA 合成和细胞周期.....	144
第十三章 细胞周期中酶活性的模式.....	148
第十四章 细胞周期的遗传.....	151
有多少基因组是与细胞周期特别有关的?.....	151

酵母细胞周期的遗传学分析.....	152
哺乳动物细胞中细胞周期的遗传学分析.....	154
细胞繁殖的调节基因概念.....	157
结语.....	162
参考文献.....	163

第一章 绪 论

繁殖能力对于细胞的生存是如此之重要，因之被看作是细胞的一个主要而明确的特性。每一个细胞通过繁殖而来，同时依靠繁殖而维持其长期生存。当细胞发育成特殊形态时，可以不繁殖而生存较长时间，例如单细胞有机体的芽孢和孢囊，植物种子内胚的休眠细胞，或一般多细胞有机体的已分化的细胞类型；但细胞放弃或丧失繁殖的能力，或者过久地剥夺其繁殖的可能性时，则它将死亡。总之，不进行繁殖的任何细胞其前途是有限的。

有机体每一个种的延续和增殖，显然直接取决于细胞的繁殖。在单细胞有机体中每一次细胞繁殖给该物种增加一个成员。在多细胞有机体中细胞繁殖保证了一物种的生殖谱系的延续和提供了建立和维持个体所需的体细胞。因而，细胞增殖是每个多细胞有机体发育的一个为人熟知的组成，尽管在长成的有机体中细胞繁殖的重要性是经常被忽视的。成年人由近 100 兆的细胞组成(10^{14} 细胞)，这些细胞都是通过细胞繁殖过程而起源于一个单细胞，即受精卵。在成年人中为了更替死亡的或因其它原因而丧失的细胞，也必须进行大量的连续不断的细胞繁殖。一个成年人含有约 2.5×10^{13} 红血球 (5 升血液/个体具有 5×10^6 红血球/立方毫米)，而每一个红血球的平均寿命为 120 天(10^7 秒)。因而，为了维持红血球的数目，红血球的前体细胞必须在每 10^7 秒中产生 2.5×10^{13} 的新细胞，这相当于连续维持一个每秒 2.5×10^6 的细胞分裂速度。同样的，在一个成人中，成兆的淋巴细胞以每秒 2×10^3

的速度被更替。所有更新的细胞群体（皮肤、肠的表皮细胞、白血球等），其总的分裂速度可能超过 20×10^6 /秒。这样大量的细胞繁殖是惊人的，但同样值得注意的是，调节繁殖所具有的那种精确性。细胞繁殖的速度随不同组织而异，但在每一种组织中，新细胞的产生总是准确地与细胞的丧失相平衡的。如何实现对细胞繁殖的调节以及辐射、致癌病毒和化学诱变剂（致癌剂）是如何使之丧失调节的，是当代细胞生物学研究中占主要位置的论题。

细胞繁殖由三部分组成：生长，DNA 复制和细胞分裂。在每一次生活周期中，细胞的生长是其所有结构成分和机能潜力的重复。当然，DNA 的复制亦是生长的一部分；但是它之所以特别重要，一方面由于它是完成细胞分裂必不可少的遗传学上的先决条件，另一方面也因为它是安排细胞逐步通过其生活周期所围绕的关键事件。所有连结细胞生长和染色体复制的事件，都是彼此结合起来推动细胞周期有规则地进展，并使子染色体精确地分配以形成子核，同时把细胞分裂成二个子细胞。

如果，我们最终要了解细胞繁殖及其调节的复杂过程的话，那么，就需要详细地掌握许多完整的相互作用的分子机制，这些相互作用协调着细胞生长、DNA 复制和细胞分裂。从对于很多不同种类细胞生活周期中发生的事件所作的大量而丰富的观察，这些问题开始得到阐明。本书的目的在于回顾一下，以往所积累的事实在引导我们了解细胞的繁殖方面已达到何种程度。因此，以下所作讨论的总的和主要的目的在于确定一个范围，在此范围内我们现在可以开始确定一整套普遍地主宰着细胞周期运转的原则。

细胞周期的划分

通常认为,细胞周期随着一次细胞分裂的完成而开始,并随着下一次细胞分裂的完成而告结束(图 1),而一个细胞周期所需的时间即为生殖时间。细胞分裂是一个方便的标志,因为它易于观察和测定;但从严格的意义上讲,细胞周期的开始和结束是分裂间期的一个点,一般是在间期的早期,在这一点上决定细胞是停止增殖还是进入下一次的细胞分裂(见第四章和十四章)。

通过周期进程,一般是从观察两个很易鉴别的过程、即 DNA 复制和细胞分裂来确定的。Howard 和 Pelc (237)首先用植物的根细胞来说明这两个步骤,将周期划分成四个连续

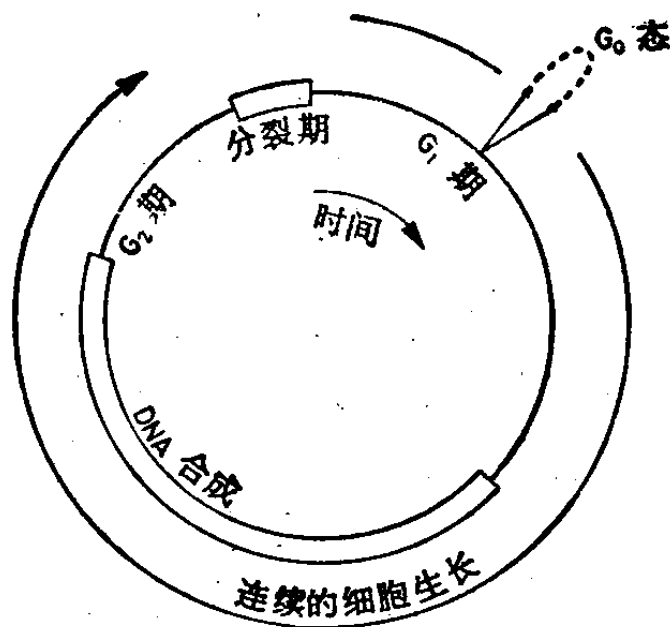


图 1 细胞生活周期的主要特征。环的相对比率可以随细胞种类而有很大变化,但每一细胞的繁殖都是由这样的生长过程所组成,在这种过程中伴随出现有 DNA 复制和随后的细胞分裂。例如,一个在培养基中生长的哺乳动物细胞,其生殖时间为 16 小时,它的 $G_1 = 5$ 小时, $S = 7$ 小时, $G_2 = 3$ 小时和 $D = 1$ 小时。 G_0 系假定的状态,即当细胞周期由于多种环境条件的影响被阻留在 G_1 期时所进入的状态。

的间隔期， G_1 、S、 G_2 和D（图1）。细胞分裂完成和开始DNA复制之间的时间间隙称为 G_1 ；DNA复制期称为S；DNA复制结束和细胞分裂刚开始之间的时间间隙称为 G_2 ；细胞分裂所用的时间称为D。D期有时也称为M期（对有丝分裂而言）。

G_1 、S和 G_2 是细胞不断生长的时期，随之出现所有的细胞结构和机能潜力的一般性增长。当分裂期时，至少在有丝分裂的分裂细胞中，其生长速度急剧下降（第八章），随着有丝分裂的完成，生长速度又迅速上升。

S期和D期分别肯定为DNA复制期和细胞分裂期；但是并没有能同样地鉴别出有什么特殊的事件，用来说明细胞是如何通过 G_1 期和 G_2 期而前进的。因此，在我们对细胞生活周期的因果连续性的了解上， G_1 和 G_2 还是个主要的空白。虽然没有鉴别出什么特殊的事件，一般把 G_1 假定为包含着一些连续的事件，而这些事件可以引起DNA复制的启动。不幸的是，我们仍然实际上并不了解这些事件是什么。关于 G_1 分子基础知识的了解特别困难，因为细胞繁殖的调节，一般包括了如何控制细胞迁移而通过周期的这一段的。 G_2 期被认为反映了DNA合成的结束所启动的一系列步骤，并导致胞核分裂和胞质分裂，但是特殊的事实是很少的。除了鉴别出这些推动细胞通过 G_1 和 G_2 期的事件外，还有很多工作有待去作，以完成我们对分子事件的了解，正是这些分子事件安排了细胞有规律地迁移而通过DNA的复制和细胞分裂。这四个时期的性质在第四章和第八章中将详加讨论。

细胞繁殖的调节

有关细胞繁殖的调节问题，在此只作简短的介绍，因为它

与细胞周期进程的研究如此紧密相联。在更详尽地描述了细胞周期的组成以后，在第十四章中将对周期的调节特别是对调节的基因基础作更详细的讨论。

可以设法中断一个细胞通过周期的进程以实现其调节。因此，显然有关细胞周期是如何进行的详尽知识，是弄清细胞繁殖如何被调节的先决条件。影响周期中断的分子机制是了解得非常少的，然而清楚的是，其活动是将细胞停止在 G_1 、有时是 G_2 的一个点上，但决不停止在 S 或 D 上。

特异性及非特异性调节

在单细胞有机体中，细胞繁殖的调节包括着当环境条件不利于细胞进一步繁殖时而发生的周期的中止，例如，一些主要养份的耗竭。生长在培养基中的多细胞有机体，其细胞以同样的方式反应于较为非特异性的条件，例如某一生长必需因子的欠缺（见 232, 233, 233 a, 367）。可能细胞感觉到一些环境条件已不利于它生长，因为这些条件对细胞代谢产生了有害的影响，但对细胞如何将代谢的有害影响转译为将周期阻留在 G_1 上，则还是不了解的。

与单细胞有机体或细胞培养物中所发生的情况相反，在多细胞有机体中，细胞繁殖的调节一般不能利用调节营养供应来达到；在多细胞有机体中细胞的环境保持在一种有利于细胞繁殖的比较稳定状态，但是细胞并不任意地进行繁殖。繁殖的调节是一个高度特殊的过程，是通过细胞分泌的激素和称为抑素的类激素分子来完成的。某些抑素是以一种组织内方式起作用的；产生抑素的特殊细胞类型其本身即是抑素作用的特殊对象。另一些情况下，抑素是在组织间起作用，由一种类型细胞产生的抑素影响一个或几个不同类型细胞的繁殖。抑素的研究是很困难的，可能因为抑素分子是非常不稳

定的。目前有限的证据指出,抑素是蛋白质或糖蛋白。

最后,多细胞有机体中由抑素传达的各种细胞类型的特殊调节,细胞与细胞间的相互作用,是以某种方式使细胞周期中止在 G_1 的一点上,有时也在 G_2 的一点上来实现的。 G_1 和 G_2 这些阻留点可能代表着调节基因所操纵的离合开关。

总之,有可能鉴别出繁殖调节的两个主要类型,一个是单细胞有机体中的较为非特异性的调节类型和多细胞有机体细胞中的一个高度特异性调节系统。二种调节型式都是通过将细胞周期阻留在 G_1 期,有时在 G_2 期而起作用的。因此,可能这二种非特异性和特异性的调节信号最终都是冲击到 G_1 期的同一细胞周期事件的。

酵母细胞周期的特异性调节

在芽殖的酵母(啤酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae*)中发生一种现象,这种现象在单细胞真核生物或培养细胞对环境条件的非特异性调节和多细胞有机体各细胞间的特异性调节之间,占有一定地位。在称为“ α ”和“ a ”的不同交配类型之间发生着有性交配,这二种交配类型是受一单基因的位置来决定的。每一种交配类型产生和分泌一种不同的交配因子(交配因子 α 和交配因子 a),它使相反交配类型的细胞周期阻断在 G_1 期的一个特殊点上(图 2)(78)。细胞在 G_1 的这种阻留被认为是两个类型之间顺利交配所必需的(215, 534)。交配因子 α 是分子量约 12,000 道尔顿的微小的蛋白质(123)。交配因子 a 的特征则还不清楚。交配因子使周期阻留在 G_1 和 G_2 点附近的这一情况,与由于营养缺乏造成的周期阻留相同,这意味着二种调节作用均冲击着 G_1 进程的同一事件(214)。简言之,引伸出了一种由受体细胞中的特殊信号和特殊敏感性所组成的机制,来互相调节这种单细胞真核生物的

交配类型之间的细胞周期在芽殖酵母中交配因子对细胞周期的调节，与多细胞有机体中经抑素传达的细胞-细胞相互作用对细胞繁殖的高度特异性调节，是极其相类似的。酵母的情况表明，多细胞有机体中用以控制细胞繁殖的特殊的细胞-细胞相互作用的原则，很可能首先是在单细胞有机体中形成的，随后又被第一个多细胞有机体在发生中所利用。

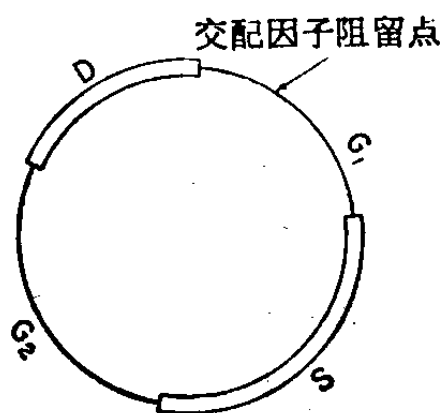


图2 芽殖酵母的细胞周期，交配类型 a 和 α 产生交配因子，引起二种交配类型在 G_1 的相互阻留，在 G_1 阻留时，不同交配类型的细胞间进行交配。

有关 G_0 态的概念

细胞周期的调节主要是通过 G_1 的阻留而实现的，这一发现导致了引进 G_0 这个名词 (279)，用以描述细胞处于阻留情况的状态。在 G_0 态时可以认为细胞已脱离了细胞周期。对大多数细胞类型来说，退入 G_0 期是可逆的，细胞可以重新进入周期的 G_1 期并恢复增殖。多细胞动物的少数分化细胞类型，主要是神经细胞和肌肉细胞，则是不可逆地阻留在 G_0 态。在动物的培养细胞中存在着 G_0 态的证据，将在第四章中加以讨论。

总之，细胞周期的轮廓已经被确定，同时由此可对决定细胞繁殖的那些过程得出一个更清楚的梗概，并对细胞繁殖是如何被调节的得到一个更明确的观点。现在主要的任务是确定构成 $G_1 - S - G_2 - D$ 进程的分子事件的基本的因果顺序，来说明细胞的许多不同的生长活动是如何参与这一进程或与这一进程协调的，以及去发现在调节细胞增殖中，使周期中断的机制的分子本质。

第二章 全周期中细胞的生长

早期致力于了解细胞繁殖的工作始于上世纪与本世纪交接之际，它们首先注意到细胞生长和细胞分裂之间的关系问题。因为平均来说，一个细胞在它分裂前，其体积已增加了一倍，这就有理由来假设，生长不管怎样必然是分裂的先决条件。这就导致一个设想，即细胞体积倍增过程的完成或者至少是细胞生长达某一特定大小时，总是会触发细胞分裂的开始。这一普遍的观念主要是 Hertwig 发展起来的(227)，他假定细胞核能够支持某一最大量的细胞质。当这样数量的细胞质通过生长而产生出来时，也即是当达到一个特定的核质比例时，细胞被认为进入了一种不稳定状态，这就不知怎样触发了细胞分裂。生长和分裂之间这种假设的因果关系，终于在1950年被广泛予以检验，其方法是对不同种类各个细胞，从一次分裂进入下次分裂时，测量它们的生长。这项研究清楚地证明了，细胞生长达某种临界体积并非是细胞分裂的触机。对通过周期过程中细胞生长的研究，特别是在与 G_1-S-G_2-D 进程的关系方面，仍然遗留着一个重要的问题，即分析细胞周期是如何运转的。一项关于培养小鼠 L 细胞生长的研究指出(253)，细胞生长可能是启动 DNA 复制的起因(见第四章)。

要精确地确定通过细胞周期时的生长进程，并不是一件简单的任务。从方法学的观点来看，存在着三条普通的途径。(a) 最直接的方法是，当某一单个细胞从一次分裂进入下一次分裂之时来测定它的体积。这就需要有一种方法来精确地

确定单个活细胞的体积,除了少数几种细胞外,这在技术上是无法实行的。(b)从理论上讲,通过测量一个巨大的同步的细胞群体(此群体中所有的细胞在通过周期时其进展都是同步的),应有可能得到一条细胞周期的精确的生长曲线。在实际上却没有一个适宜的方法可使细胞群体得到这样好的同步性,使之足以获得高度精确的生长曲线。同步系统的局限性在下一章中予以讨论。(c)最后,也可以通过对一个完全非同步的细胞群体,测定其不同大小细胞的分配状况,来对细胞生长进程作出估计。这个间接的和有点复杂的方法其可靠性是最差的,这是因为在巨大细胞群体中用来测定细胞体积所使用的仪器和技术是不完善的,并且变化多端,以致不能精确地予以确定。例如细胞体积不能极精确地表明,细胞是处在周期中那一段位置上。也就是说,处于周期中同一位置的细胞,其体积是有变化的。图 24 对此提供了一个说明,它显示出一个均一的细胞群体在有丝分裂时其体积的变动。

Mazia(30),Kubitschek(272)和 Mitchison(318)曾对细胞生长方面的大量研究作过广泛和仔细的评论。从这些研究中得出的一些主要结论,通过对四种类型细胞的测定,在这里加以说明。这四种类型细胞为:裂殖酵母,大变形虫(*Amoeba proteus*),四膜虫(*Tetrahymena*)和培养的小鼠成纤维细胞。

裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*)

Mitchison 和他的同事们(318)曾经广泛和仔细地研究了裂殖酵母的生长。这种细胞是一个圆柱体,其直径是恒定的约 3 微米左右,它通过长度的增加而进行生长(在细胞周期开始时它长 8 微米左右)(图 3),故很便于作体积测量。因此只需要测量两次分裂之间细胞长度的增长即可确定体积的生长

曲线。细胞直径是一个常数,这是一个有价值的优点,因为在测定变化着的直径时,一些很细小的差错,可以对体积测定造成巨大误差。从这种细胞的体积生长可得出一条稍有变动的上升曲线(图4)。它显示出体积的增长率并不是恒定的,而是随着周期的进展而增长。接近周期的结尾,体积增长变慢,进而全部中止。在体积恒定的阶段形成了细胞板,使细胞分裂为二,同时两个子细胞就此分开。

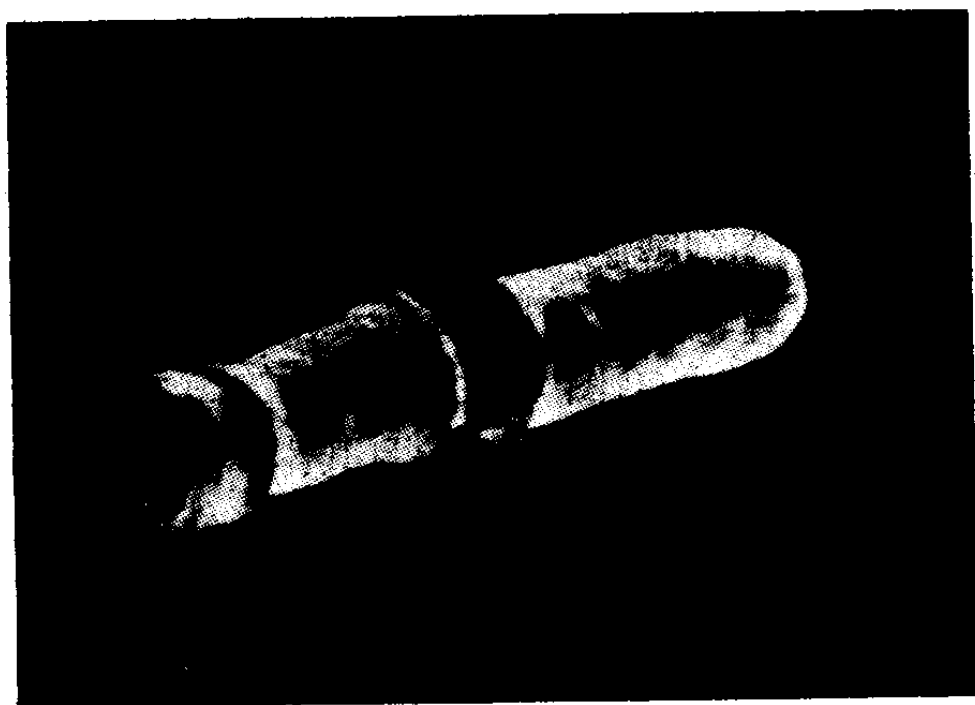


图3 正分裂的裂殖酵母的扫描电镜图。裂殖酵母是一圆柱状细胞,它保持恒定的直径,而以伸长的方式生长。图片由 B. F. Johnson, L. C. Sowden 和 R. H. Whitehead 摄制。

如按照用干涉显微镜测得的干物质来表示裂殖酵母的生长进程,则与体积增长的进程有极大的差异(图4)。从干物质的增长得出一直线型的进程,也就是以固定的增长速度行进,而体积的生长则形成一个近乎指数的进程。此外,当细胞分裂时,干物质的增长并不变慢。为了说明体积增长和干物质增长途径之间的差异,有必要假定在周期的大部分时期内水分吸收是加速进行的,而当细胞分裂时下降到零。

在脉冲标记试验中,当周期进行时,裂殖酵母中放射性前体掺入总蛋白、总碳水化合物、总 RNA 中的速度随着细胞体积的增长而增加了(323,324)。如果假定,这些大分子降解的速度是恒定的,则这些结果意味着在整个周期中蛋白质、碳水化合物和 RNA 是加速地在积累着。这些结果与前面发现的物质总量的直线增长的明显的前后矛盾可以通过对前体库体积的测定来说明(322)。周期的前半期时,库的总体积的增长比细胞物质总量的增长更快,而在后半期库的大小相对于物质总量的比例则下降。尽管蛋白质、碳水化合物和 RNA 在加速地积累着,库体积的这种波动就足以说明物质(包括了库的物质)的直线增长。

对裂殖酵母的所有这些细心测定表明,在体积、物质质量、大分子合成速度和库的总体积方面所发生的每一个变化都遵循着不同的进程,这说明了细胞的生长并不遵循着任何简单的或易被理解的法则。

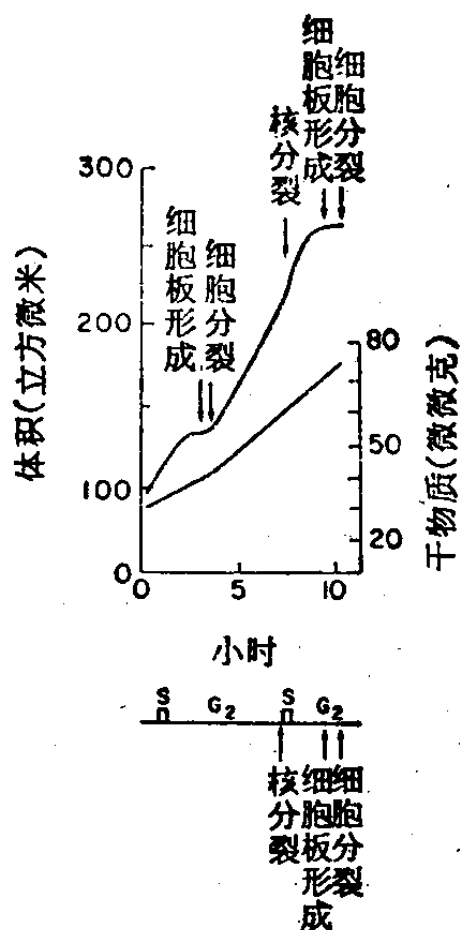


图4 裂殖酵母

各单个细胞通过细胞周期时体积和干物质的增长。干物质用干涉显微镜测定。试验从一个即将分裂的单个细胞开始,将二个子细胞的测定结果一起加起来以得出一条从一次分裂到另一次分裂的曲线。按 Mitchison (318)。细胞周期的各个分段在图下注明[按 Bostock (58)]。核的分裂是追随在一个很短的 S 期(10 分钟)后立即发生的,因此没有 G_1 期。因为细胞分裂大大落后于核分裂,等到细胞分裂完成时,核已经走出 S 而进入 G_2 期了。