

发育生物学

(上册)

北京师范大学
生物系
资料室

一九八〇年七月

前 言

一九八〇年夏，北京大学生物系举办了“发育生物学”暑期学习班。

此次学习班是在牛满江教授热情关心和倡议下举办的。

课程共分30讲，历时七周。引言为牛满江教授讲授，“发育的分子生物学”部分是由美国Tennessee大学黄力夫教授讲授。“发育的细胞生物学”部分是由美国Toledo大学李汉光教授讲授。其中诱导作用是牛满江教授讲的。

本文是由各校听课教师根据录音分别整理，分上下两册。由于整理时间仓促，未经讲课人审阅，错误之处，请予原谅。

北京大学生物系

发育生物学小组

1980、9月

发育生物学

~~~牛满江~~~

这次发育生物学课的目的就是希望国内的一些大学能够开“发育生物学”这门课程。目前国内的大学还没有这门课。去年我们曾经举办了一个发育生物学讲座。但是那一次只能代表我们一些老年人的看法。这次我们请了国外的两位年青的教授来讲课，代表着年青的发育生物学家的看法。他们要我做一个引言，把发育生物学简单地介绍一下，然后再逐项地由他们做详细的论述。

这两位教授推荐了一本很好的书：“发育的机理”是今年出版的。这本书共有六个部分，第一部分共三章，占全书篇幅的16%，但是我们只能用四个小时的时间讲完这一方面的内容。第一章是讲生殖细胞的连续性，解释什么叫发育，机理，生活史。这些大家都已经很熟悉了，第二章讲什么叫形态建成，第三章讲分化。这些内容大家都可以下去看书，很容易理解，今天我不打算完全按照书上内容来讲。一本书往往只介绍已经成熟了的概念，但是这本书好在它还介绍了一些不成熟的想法和一些目前还在继续进行的研究。我也打算把书中没介绍的，我的一些想法讲给大家，也可能有人不同意我的看法，但是这没有关系。我们可以一起来讨论，更重要的是通过实验来证明我们的看法。

首先要讲讲历史。

在整个的生物学史上，1859年是一个很重要的时刻，1859年达尔文提出进化论，这是个划时代的贡献。同时孟德尔进行豌豆实验，发现了遗传规律。进化论对生物学和发展影响

很大，而孟德尔的实验所指出的遗传学的规律，也是对生物学研究的很大贡献。但是，当时没有人相信他的理论，直到他1889年死去还没有人接受他的思想。到了1900年，有几个做植物实验的科学家，从不同的地方，用不同的实验同时重新发现了孟德尔的规律。他的理论才开始为人们所重视。在这个时代以前生物学大多是描述性的。形态、分类的工作，到了这个时期有了变化。比如魏斯曼研究了生殖细胞和体细胞在遗传中的作用。同时已经有人提出：遗传现象是由于细胞中存在着染色体，染色体决定遗传，这个人叫Boveri，是个胚胎学家，他用马蛔虫做材料研究染色体，马蛔虫有4个染色体，染色体在发育的过程中数目不变。但是在体细胞中就可能出现染色体丢失的现象，……，因此他认为生殖细胞决定遗传。

以后胚胎学家又做了许多实验。比如我们都知道：一个受精卵可以分裂，经过多次分裂，有囊胚期、原肠期、神经胚等发育阶段，但是如果一个卵，没有受精，就不能发育，最后死掉了。那末为什么一受精就有发育的现象呢？现在从发育生物学的观点讲，卵一受精，就被精子所激活了，激活的作用是由于精子释放了一种酶。由于这种酶的存在，mRNA可以立刻开始翻译蛋白质，继而产生细胞分裂。有人称这种物质为“分裂因子”。要强调的是，如果这是真实的，那末你就可以把受精卵细胞中加入一种抑制剂，放线菌素D来制止细胞制造mRNA看看是否还有蛋白质合成。实验结果是：蛋白质照样合成。这就证明确实是激活了原来的，早就存在的mRNA。那末这种mRNA是合成什么样的蛋白质的呢？后来用海胆做实验，发现是：组蛋白，mRNA是组蛋白的mRNA，还有微管蛋白(tubulin mRNA)。现在从

两栖类的受精卵中都可以找到这两种 mRNA。于是，大家都接受了这种看法：成熟的卵中有 mRNA，这些 mRNA 的功能是合成蛋白和微管蛋白，这都是与细胞分裂的蛋白，mRNA 的翻译可以为细胞分裂准备蛋白质，当然也还有一些其他的蛋白，酶的 mRNA。

说到这里我要提一个问题：有没有血红蛋白的 mRNA 呢？

一般说来，发育生物学家不提这样的问题，因为蛋白质的合成，器官的形成有一定的规律，合成血红蛋白，产生血液循环要在神经胚之后。我们之所以提出这个问题，是由于我们做了这样一个实验：我们从兔的网织血细胞提取出血红蛋白的 mRNA，这种 mRNA 注射到金鱼卵中，金鱼长大了，我们来检查鱼红细胞中的血红蛋白及乳酸脱氢酶同工酶。我们可以找到兔的和鱼的两种血红蛋白，兔的同工酶带。然后我们再提取这种鱼的卵的 mRNA，进行体外翻译，我们使用麦胚的翻译体系，再进行翻译产物的浓缩，进行免疫得到抗体。通过抗体检查，也证实了上面的实验，确实有兔的血红蛋白。我们也还从鱼卵中检查到形成其他器官比如肝脏的 mRNA。因此我们可以说：金鱼卵中存在着形成器官的 mRNA。至少有形成血红蛋白和形成肝脏的这两种 mRNA。

英国戈登也做了这方面的研究工作，他把兔的血红蛋白 mRNA 注射到非洲爪蟾的受精卵中，注射进去的 mRNA 很稳定，一直发育到蝌蚪都可以检查到兔的血红蛋白。他在 1974 年发表了文章，他认为 mRNA 可以在受精卵中进行翻译。

讲到这里我们还要更深入一点地谈谈细胞质对细胞核的作用的问题，这是个很重要的问题。有人做了一个实验，用墨西哥蝶的一个变种，这个变种有致死基因，变种的受精卵发育到一定

阶段(原肠期),就会死去,但是如果把正常受精卵的细胞质移入这个变种的受精卵则它就可以正常发育下去,这就说明了有一种物质存在于正常的受精卵细胞质中,它可以修复不正常的致死基因,证明了细胞质中有一种东西可以校正基因的表达.那末我们还可以反过来做这个实验,把有致死基因的细胞核取出来放入正常的去核受精卵中,经过一段时间,再把这个核放回原来的受精卵,则这个又放回了有致死基因的受精卵细胞又可以正常发育了.这就说明了正常的细胞质对有致死基因的核有了影响.但是在这个实验中,时间很重要一定要在一定的时期,细胞质对核才有影响,有作用.

再如,如果我们用非洲爪蟾做实验,把它的核去掉而移入一个脑的细胞核或肠的细胞核,脑和肠是高度特化了的细胞核,当把他们移入受精卵时,它们原来的功能消失了,而成一个完全的原始的受精卵细胞核的功能,这个实验充分地证明了细胞质对细胞核的作用.

事实上,在发育中,细胞质和细胞核相互作用是肯定的,是个事实.一般来讲,在胚胎发育中细胞质的作用比较大,而在其他的情况下核的作用是主要的.

已故童弟周教授在这个领域作了很多工作,比如他把鲤鱼发育到囊胚期的细胞核移到鲫鱼的受精卵中,把原来的核去掉.以后发育长大的鱼既有一部分鲤鱼的性状又有一部分鲫鱼的性状,这个鱼有胡须象鲤鱼,但牙齿、脊椎、鳃又是鲤鱼和鲫鱼的中间类型.因此可以看出细胞质可以影响器官的建成,细胞质中的物质可以影响遗传性.

总的讲，这是发育生物学的一个很重要的问题。

发育生物研究所

赵 伟 整 理  
吳石君

## 《组织培养：》

美国医生 Ross G Harrison 是 19 世纪初很好的医生，后来他的兴趣在实验室的工作。他研究生物的组织是怎样长成的。

神经细胞有很长的神经纤维，有轴突与树突，对于轴突是如何长出来的，有很多学说。当时很普遍的一个学说认为轴突是从肌肉中长出来的，但是 Harrison 的想法与当时的一般学说不大相同，他为了证明自己的结论，想了一种方法。他想，神经细胞长在身体上无法看到，为什么不能把细胞培养在身体之外的玻璃管里呢？从而观察生命的细胞是如何生长的。1907 年他发表了文章阐明他实验的成功。

他的方法如下：他把青蛙尾芽期的神经管取出表皮拿掉培养在玻璃片上。把血浆放在玻璃片上，神经管放在血浆上过几分钟血浆凝结后就封起来了。蛙细胞在普通的温度下就能长出来了。我们可以很成功地看到细胞内长出轴突，以后再天天观察轴突是否延长。1910 年正式发表文章，阐明了神经细胞的生长这是 Harrison 很大的成绩。

1916 年，Alex Carrel 按照 Harrison 的方法把鸡的肝脏取出来进行培养，一直培养了 25 年，如果把这些细胞放在一起，估计有小山这么大。

组织培养是一个很重要的方法，它对研究细胞的分化很重要。

组织培养目前有两个方向：

### 建立一种细胞系

首先我谈谈建立细胞系的原因：因为一般细胞只能在短时间培养，只有细胞系建立起来，才能长时间地培养下去。



细胞系大部分是癌变的细胞，因为癌变细胞与正常细胞不同，癌变的细胞，染色体发生了变化，如果我们培养一种细胞，使它的染色体发生变化那么大部分可以形成癌细胞，否则的话，当前要达到建立细胞系的目的还是较困难的。当然也有例外没有癌变的细胞建立起来的细胞系。

下面我将谈谈已经建立起来的体系 L-cell 的培养。

L-细胞系是40年代建立起来的，方法是：用小鼠的结缔组织进行培养。打开皮肤，从皮肤下面取出结缔组织用各种方法都可以培养，我们在这里讲一种用溶液来培养。

培养的成分：生理食盐水，营养物质：氨基酸一类的物质，没有大分子（这类物质最复杂，约50多种混合）及血清（血清作用还不清楚）。

最近有些人不用血清，用激素来代替，激素有胰岛素或可的松，这些物质虽然是蛋白质，但是分子很小，可刺激细胞的生长。

40年代建立L-细胞系时是用老办法进行的，目前用一个细胞培养，得到一群细胞称为克隆（Clone），这样遗传性是很单纯的。

克隆的方法一：用一根细玻璃管，直径比头发丝稍粗些，将一个细胞吸进管内，放入一定培养液，这样细胞附着在玻璃上，不断繁殖生长。

方法二：玻璃管外用凝集的血浆涂上来培养，逐渐繁殖建立起一个完完全全的克隆。

L-细胞系在美国商店能买到，若将这细胞注射到身体里将会得癌症，这是由于长期培养，细胞的染色体发生改变，变成了癌细胞。

另一个细胞系是Hela细胞，Hela细胞是一个美国黑人妇女子宫癌细胞培养起来的，其特点是有一个很好的记号可供观察，这个记号是黑人身体上有的，白人身体上没有。这个记号是6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (glucose -6 -Phosphate dehydrogenase) 的同功酶。这同功酶很特别，可用它来检查，可用这材料来研究遗传性。

目前，建立起来的细胞系很多，而且可以到商店去买，所以你可以根据自己不同的目的去寻找所需要的细胞系。

### 双倍体细胞

这是普通人身体上的细胞，染色体是双倍体。人体细胞拿出来培养只能50代，细胞分裂50代后即死亡。可是在这培养过程能保持原来性质，保持双倍体其细胞与正常一样。

发育生物学有自己理论上的特点，但是研究方法很广，例如生化的方法，（电泳、高速离心，同位素标记等）生物物理的方法；免疫的方法；电镜等新技术。我们要根据自己研究的课题，自己的目的来选择合适的方法。

### 《梯度学说》

在19世纪末——20世纪50年代，“梯度学说”在发育生物学上是很重要的时期：其中做的工作较多的是芝加哥大学教授C. M. Child 他做的“再生”实验是个发育生物学的问题，例如将蝶螈的前肢去掉仍能长出来。

他还拿扁虫、海藻、海绵来做实验，例如扁虫在中间切开后上半段可以长出一个尾。（图一）如果切在前部后段可长出

头（图二）海藻或者海绵用纱布一挤成为很多小块，再挤成为更小的小块，直到一二个细胞也能长成个体。

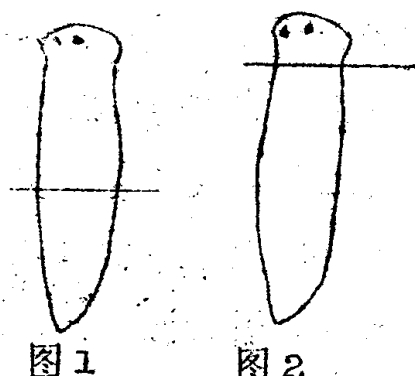
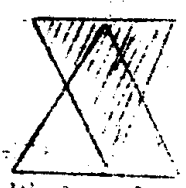


图1 图2

Chila对扁虫的再生用梯度学说来解释，动物有种物质，最高的地方在前端，最低的在后端。横切后，按物质分布的梯度生长，这种物质是动物生理上产生的物质，拿氧气来说，头部需 $O_2$ 多，后部需 $O_2$ 少。

有一瑞典的生物学家认为海胆有两个梯度，一种梯度上面最高，下面



最低。另一梯度正相反。正常的海胆发育是这两个梯度调节，若去掉下面，只能发育一部分，发育不正常。以上这些作用完全是由于某种物质不同量的关系，同时在发育上很重要是“质”的问题，例如脊索可诱导外胚层形成神经系统，如何用其他物质来代替脊索，这些实验有什么结果呢？

例如用鸡来做实验。37—38℃孵化18—20小时，在亨氏结向后0.6mm横切下来，把后面的组织培养加心的mRNA，其中90%实验形成心肌。对照（没有心mRNA）只有培养液，形成一个泡里面只有结缔组织红血球，外面有表皮组织而实验组有20—30%发育成小的心，有些虽不形成心，但有跳动。如果心的mRNA用酶处理，加到培养液中去形成心的百分比立即下降，或几乎没有了。因此不分化的组织形成心脏是由于心的

mRNA, 起作用

如果用脑的 mRNA 到培养液, 未分化组织分化成神经组织。  
我这里只是抛砖引玉, 作些引言, 下面有黄教授、李教授  
系统地给你们讲。

### 参 考 书

Mechanism of development

Richard G. Ham. Ph.D

Marilyn J. Veomett, Ph.D

The C.V Mosby COMPANY 1980

北京大学

薛友纺 整理

## 绪 论

黄力夫

最早期的胚胎学只是研究形态方面的问题，不同时期的胚胎在形态上有不同的变化。这是传统的胚胎学。后来发展到实验胚胎学，开始采取一些诸如注射、开刀等实验手段，但这还不叫发育生物学。发育生物学是用现代生物学的方法来研究胚胎的发育和分化。

现代生物学都有哪些方法呢？“*Developmental Biology*”在美国是很重要而且具有代表性的期刊，此期刊包括以下若干种类别：

1. 生物化学 ( *Biochemistry* )，在胚胎发育过程中，酶的合成、受体的形成等都属于生化方面的问题。2. 细胞生物学 ( *Cell biology* )，在发育生物学中占很大的份量，尤其在胚胎的早期发育阶段，由于细胞很大，易于采用一些实验方法：作手术或注入一些特定物质。甚至到发育末期，也可以将细胞分散开来，使成一个一个单细胞，然后再进行细胞生物学上的工作。

3. 形态学 ( *Morphology* )，现在进行形态学的研究已经不再用光学显微镜，而是使用电子显微镜进行超微结构 ( *ultrastructure* ) 方面的工作。电镜技术发展很快，简单介绍如下：

1) *transmission EM*：将样品做成薄切片，通过研究电子束穿过样品后得到的透射图象来观察样品的超微结构。

2) *Scanning EM*：观察电子在细胞表面反射的图象以

研究细胞的立体表面结构。使用这种技术可以用完整的细胞或很厚的样品，无须做薄切片。

3) Electron Probe：这是一种新技术。样品可能含有各种不同的元素，如 Fe, Na, Ca, K 等，这些元素受到电子的冲击时，会被激发出不同的 x 光来，其波长由元素的性质而定，如 Fe 发出光的波长就与 Na 的不同。利用此技术可对样品上的元素进行定性和定位。

4) High Voltage EM：这在目前是最新的技术。电子在高压电场下被加速，获得很高的能量，穿透能力强，可以透过很厚的样品，看到内部的结构。尤其是这种电镜有一叫做 Tilted stage 的装置，可以使台子上的样品与电子源成一定角度，当你把在不同角度下拍成的二张样品图象放映在同一银幕上并使二者重合时，就可以看到细胞里面的三维结构，例如线粒体、细胞核、内质网等在空间上的相对位置。

超微结构研究到此等地步可以说是登峰造极了。在形态方面，我们现在看到的要比一、二十年前多得多了。在去年的细胞生物学年会上，有几篇论文报导三维空间的结构，他们的方法又先进了，可以不需要用高伏特电镜，而是使用普通电镜配合某项特别技术，使仍然保持样品厚度。而观察到细胞内的三维结构。

4. 生理学 (physiology), 论文很多, 不详谈。

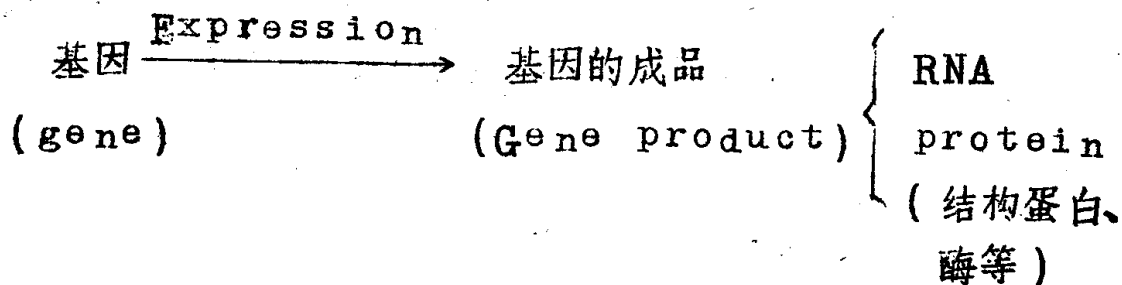
5. 遗传学 (Genetics), 这是最后一方面 也是最重要的的方面, 遗传学对发育生物学的影响大家都了解, 就不细说了。

所有这些方面, 都企图回答一个共同的问题, 这就是从受精卵一直发育到成年最后到老年整个过程的机制 (Mechanisms) 问题。光单纯做切片观察胚胎发育已经过时, 现在有许多学科的

技术已经应用到发育生物学研究上了（如生物化学，细胞生物学，甚至还有物理学等看起来似乎相隔很远的学科）。发育生物学的主要内容是研究细胞在胚胎发育过程中分化的机制，比如：为什么随着胚胎的发育，有的细胞就变成内胚层，中胚层或外胚层呢？我们不管使用什么方法，应用哪个学科的知识和技术，最终要达到的都是这个目的。

### 基因的表达 (Gene Expression)

整个发育过程都可以用基因的表达来解释。在发育过程中，有些基因表现出来，有些基因没有表现出来，这叫做基因的开放和关闭。具体讲基因在什么时间开放或关闭，在什么地点开放或关闭，即基因在时间和空间上的表达问题是很重要的。若能了解基因表达是如何控制的，就会对整个发育过程有清楚的概念。

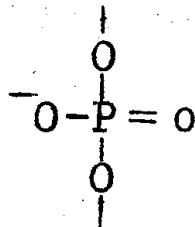


基因成品不管是蛋白还是 RNA，都决定细胞内的成分。所谓基因的表达就是基因能做出哪些成品。我们希望知道在发育过程中基因的表达是如何控制的。到目前为止，人们对其基因表达了解最多的是 *E. coli* 和 Phage。可是它们不象高等动植物那样有从胚胎到成年的发育现象，所以了解 *E. coli*，Phage 基因表达的控制方式不能回答在胚胎发育过程中基因表达的控制方式。近代生物学对基因表达方面做的工作有 99%

研究的是 *E. coli* 和 Phage。以前许多生物学家认为只要了解了 *E. coli* 的基因表达，对宇宙万物的基因表达就可以清楚了。有句名言：“What is true in *E. coli* is also true in elephant” 近年来认识到此说法是错误的，发现真核细胞和原核细胞的基因表达有很大差异，其控制方式完全不同，以下主要讲二者的不同所在。

原核细胞的基因表达 ( Gene expression in Prokaryotes ) 大分子的结构 ( Macromolecular Structure ) 在这方面大家都知道得很清楚，我只简单提一提。

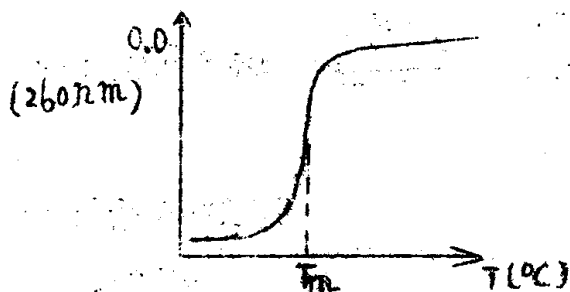
1. DNA 二条多聚脱氧核苷酸链反向平行 ( Antiparallel ) 以  $C \equiv G$  ,  $A = T$  相配对，中间为氢键连结。DNA 的二级结构为著名的双螺旋结构，且螺旋着的二条链之间由于氢键的缘故连水分子都不能进入。同一条链上的核苷酸的联结方式为磷酸二酯键。在 pH 中性时，磷酸基带负电价。



每条 DNA 链至少有 200 ~ 300 个核苷酸，而每一个核苷酸残基都有一个负电价，这对以后讲到组蛋白与 DNA 结合时是很有意义的。碱基平面与 DNA 长轴相垂直，各相邻的碱基之间都有部分重叠，因而双螺旋 DNA 与非螺旋 DNA 在 260nm 下光吸收的强度不同。当温度升高时，碱基空间的氢键就会被破坏，双链 DNA 就变成单链 DNA，在此过程的某一个特定温度下，



O.D.值将发生飞跃性变化:



这个特定的温度叫做 DNA 的熔点, 简称  $T_m$ 。不同的 DNA 有不同的  $T_m$  值, 这是由 DNA 中 b.p\* 的性质决定的。在

进行核酸杂交时, 了解  $T_m$  值是很重要的。2. RNA RNA 与 DNA 之不同: 1) 是核糖而不是脱氧核糖, 所以 RNA 的化学性质不如 DNA 稳定, 在 PH 10 时无需酶的作用就会自行分解, 而 DNA 在此 PH 还是较为稳定的。2) 由于多了一个 -OH, 使 RNA 在代谢上也非常不稳定, RNA 寿命短, 易被酶分解。3) RNA 的碱基不是 A.T.C.G. 而是 A . U . C . G.

### 3. 蛋白质

通常蛋白质内不只有 20 种氨基酸, 但只有 20 种氨基酸有遗传密码 (不止 20 个密码, 因为一个氨基酸可以有几个密码, 有多少个密码就有多少种 tRNA)。其它的氨基酸没有 t-RNA, 它们都是由那 20 个基本的氨基酸经过某些翻译后的化学变化而产生的。蛋白质的三级结构是很重要的, 决定蛋白质的功能 (如酶的活性)。还需指出的是 RNA 和 DNA 都有三级结构, DNA 的三级结构在生物学上的重要性还不清楚, RNA 的三级结构的作用已较明确, 如 t-RNA 的三级结构适合于其与核糖体结合。

### B. 中心法则 (Central Dogma)

此法则由 Crick 提出, 它揭示了 DNA, RNA 蛋白质之间的相互关系

\* b.p "碱基对" 的英文缩写