

发育的生物化学

J. 布拉舍 著

科学出版社

發育的生物化学

J. 布 拉 舍 著

严 紹 頤 譯
陆 德 裕

科 学 出 版 社

1964

JEAN BRACHET
THE BIOCHEMISTRY OF
DEVELOPMENT

PERGAMON PRESS LTD.

1960

內 容 簡 介

本书是 J. 布拉舍教授继其 1944 年的名著“化学胚胎学”一书后的又一本傑出的胚胎学著作。书中对近十五年来的化学胚胎学方面的主要成就，作了全面概要的闡述，并对进一步研究的主要問題及发展远景进行了有价值的探討。全书共分七章，从配子的发生談到器官的分化。虽然所引材料偏重于生化方面，但作者还是力求为讀者提供一个把形态学和生物化学貫穿在一起的胚胎发育图案。可供生物学，特别是胚胎学和化学胚胎学研究工作者及教学工作参考。

发育的生物化学

[比] J. 布 拉 舍 著

严 紹 頤 譯
陆 德 裕

*

科 学 出 版 社 出 版 (北京朝陽門大街 117 号)

北京市書刊出版业营业許可証出字第 061 号

中国科学院印刷厂印刷 新华书店总經售

*

1964 年 6 月 第 一 版

書号: 2797 字数: 326,000

1964 年 6 月 第一次印刷

开本: 850×1168 1/32

(京) 0001-3,000

印張: 10 5/8 插頁: 27

定价: [科七] 2.70 元

目 录

前言	1
第一章 配子发生	3
一、引言	3
二、卵子发生	4
(一) 一般代謝	4
(二) 滤泡細胞在卵黄形成中的作用	5
(三) 正在生长的卵母細胞的細胞质	6
1. 动质(內质网)	6
2. 綫粒体	13
3. 高尔基成份、重体、异染性顆粒	14
4. 卵黄小板	15
(四) 卵母細胞的細胞核(胚泡)	21
1. 核膜	21
2. 灯刷状染色体	22
3. 核仁	27
4. 核液	38
三、精子发生	39
(一) 頂体	40
(二) 細胞核	41
(三) 間段(中段)	42
(四) 尾部	43
(五) 精子的代謝	43
第二章 受精	52
(一) 受精时的形态变化	53
1. 頂体反应	53
2. 海胆卵受精过程中皮层变化的形态学	54
(二) 受精时的物理变化	57
(三) 精子和卵子相互作用的物质——配素	58

1. 受精素	58
2. 卵子产生的抗受精素	59
3. 精子产生的抗受精素	60
4. 精子产生的溶胞素	60
5. 受精作用的新的免疫学研究	60
(四) 受精时的代谢变化	61
1. 能量的产生	61
2. 碳水化合物代谢	66
3. 脂类代谢	66
4. 蛋白质代谢	67
5. 核酸代谢	71
(五) 结论	72
第三章 卵裂	81
(一) 分裂卵的形态学和细胞化学	82
1. 染色体	82
2. 非染色质器(纺锤体和星体)	84
3. 卵裂期间超微结构的变化	91
4. 卵子卵裂期间常见的有丝分裂异常现象的简短描述	91
(二) 卵裂的生物化学	96
1. 能的需求	96
2. 卵裂时期 DNA 的合成	100
3. DNA 合成和能量产生间的联系	113
(三) 卵子卵裂过程中核酸和蛋白质的重要性	114
1. DNA	114
2. RNA	114
3. 含-SH 基的化合物	116
(四) 卵裂期间, 卵裂沟的形成	119
第四章 无脊椎动物卵子的化学胚胎学	127
(一) 栉水母	129
(二) 蠕虫	130
(三) 软体动物	132
1. 椎实螺卵	132
2. 胎贝卵	133

3. 纖維螺卵和角貝卵	137
(四) 海鞘卵	139
(五) 海胆卵	146
1. 實驗胚胎學和超微結構	146
2. 化學胚胎學	149
第五章 脊椎動物卵子的化學胚胎學	164
(一) 脊椎動物卵中能量的產生	166
1. 乏氧和代謝抑制物對發育的影響	166
2. 耗氧量	168
3. 耗氧量的區域性差別	168
4. 發育過程中代謝的質變 呼吸商和碳水化合物代謝	170
5. $^{14}\text{CO}_2$ 的參入實驗	173
6. ATP (三磷酸腺苷) 的產生和利用	174
7. 綫粒體的分布	175
(二) 誘導物質的化學性質	178
(三) 完整卵內的 RNA 和蛋白質代謝	182
1. 整個兩棲類胚胎中 RNA 和蛋白質的合成	182
2. RNA 和蛋白質的分布及其合成梯度	186
3. RNA 在兩棲類以外的脊椎動物胚胎中的分布	188
4. 用實驗方法改變 RNA 的合成和形態形成: 對於兩棲類卵中 RNA 梯度的影響	193
(四) 形態形成過程中的其他重要生物化學因素	208
(五) 誘導物質的物理特性	218
(六) 結論	224
第六章 形態形成過程中細胞核和細胞質間生物化學 方面的相互作用	231
(一) 形態形成過程中, 細胞核、細胞質相互作用 理論的簡要說明	231
(二) 細胞核移植實驗	235
(三) 根本沒有細胞核存在時卵子的發育和代謝	242
(四) 單元性、多精受精、多倍性	246
(五) 早期致死基因	248

(六) 致死杂种的生物化学研究	250
第七章 分化的生物化学	269
(一) 原头性质的诱导和胴尾性质的诱导	269
(二) 分化过程中新蛋白质的合成	279
1. 血清学实验	280
2. 分化的生物化学(不包括酶)研究	287
3. 生物学(移植)实验	290
4. 酶的研究	298
内容索引	309

前 言

我們写这本专著的目的并不是想用它来替代过去化学胚胎学方面的几本經典著作,象 J. Needham 所著的“化学胚胎学”(Chemical Embryology) 和“生物化学与形态形成”(Biochemistry and Morphogenesis) 或替代作者本人所著的“化学胚胎学”(Embryologie Chimique), 而是想通过它为讀者們介紹一些这一領域內的最新进展。本书的篇幅有限因而不能对化学胚胎学家們当前所面临的許多主要問題作全面的闡述, 如果要想完成这样一項費时而又重大的工作, 那就意味着几乎要完全改写我們过去的 那 本 著 作——“化学胚胎学”。在进行这一大規模的修訂之前, 特别是因为考虑到十年来缺乏化学胚胎学方面的教科书, 所以我們感到如果能把当前的一些主要問題为高年級的大学生和教師們提供一个非常簡短的研討可能是有益的。事实上, 本书所提供的材料主要也就是作者对那些已經熟悉他所著的“化学胚胎学”一书的高年級大学生們的讲课內容, 它概括地总结了这方面許多重要进展, 而这一領域正如 1958 年在 Baltimore 召开的很重要的討論会的 出版 物(发育的化学基础, The Chemical Basis of Development) 所指出的, 是再一次变为越来越活跃了。

由于我們沒有准备把这本著作写得十分完备, 所以各章的重要性就頗有差异。不过本书总的設計大致还是保留着我們过去那本“化学胚胎学”的格式; 也就是說我們对于胚胎发育的叙述还是照例先从配子的产生談起, 然后再一直討論到水晶体或肌肉这样一些特化器官的分化。当然我們所強調的主要是側重在胚胎发育的生物化学方面, 但我們也并不舍弃用电子显微鏡所能观察到的的一些最新形态学发现。同时, 我們还试图为讀者提供一个把形态学和生物化学融合成一体的胚胎发育图案。鉴于本书篇幅有限, 所以除了正在发育的卵子以外, 有关其他一些生物(单細胞生物或

植物)的形态形成問題我們就避而不談了,尽管它們也十分令人感到兴趣。

这本专著不仅包括“化学胚胎学”的許多內容,而且可以說它也是作者新近著的“生化細胞学”中某几章的发展: 本书的讀者們将发现此书的内容与前述著作会有一些不可避免的重复,不过本书所強調的則在于卵子和胚胎这一方面。

我們不准备把有关这一領域內的全部文献都罗列出来。本书所援引的多数报告不是述評,就是最近所发表的著作,大家很容易在其中再查到有关过去工作的一些文献。

第一章 配子发生(Gametogenesis)

一、引言

配子发生就是形成卵子和精子的过程，其中包括一系列高度特化的程序。举个例子来说，我们不当把卵子看成只是一个单细胞充满着为胚胎进一步发育所必需的营养物质(卵黄，脂滴，糖原)的普通细胞。卵子的结构要比这复杂得多。在卵子发生(oogenesis)过程中，卵母细胞中的遗传物质(该物质存在于其中的大细胞核-胚泡中)，就已经处于积极活动的状态，而且对细胞质结构和各种合成过程都已产生了影响。在未受精的卵内早已存在着为进一步发育和分化所必需的全部潜能，其中包括开始合成新的，特异性蛋白质这样一些生化过程的能力。虽然一般来说，单元性是致死的，然而没有精子参予的单性发育的胚胎却可以进行相当程度的发育。例如，在两栖类中，用实验方法所产生的单性发育胚胎就能进行正常的卵裂、原肠作用、神经诱导、并能分化为眼、脑、心脏和肾脏等这些高度特化的器官。

很明显，精子发生(Spermatogenesis)是一个更特化的过程，因为由此可以产生自由游泳的单元体精子。这些非常特殊的细胞显然并没有卵子所特有的那种高度发育的能力。迄今还没有人获得过一种由精子起始的形态形成过程，即使是把精子放在复杂的营养液中也是如此。

尽管这样，从遗传学的观点来看，精子与比它大得多的卵子是同等重要的；它是那样的简单，几乎只呈结晶状的微小细胞核内包含着其父本的全部基因。也就是说，其中包含着足以在成年时体现它父本特征的全部潜能。应该记住，从遗传学的观点来看，配子的产生(与植物中孢子的产生一样)代表着一种非常复杂的机制，因为睾丸和卵巢内的减数分裂可以通过各种巧妙的机制形成单元

体細胞，并使遗传性状分离。因为我們对于这些現象的化学性质知道得很少，所以将不在这里加以描述。在受精的同时原来在减数分裂过程中所分离的那些基因还要重組(recombination)。在动物界中，减数分裂这一非常特化的过程經常与配子发生过程同时出現这一事实，足以說明单元体配子并不是一般所指的細胞。

在这一章內，我們首先将研究卵子的发生，继而再討論卵母細胞(oocyte)的細胞质和細胞核。在本章的末尾，将从形态学和生物化学的角度探討精子的发生。

二、卵 子 发 生

(一) 一般代謝

正在生长中的卵母細胞的代謝，是向着合成各种供应将来胚胎发育所需的养料这个方向进行的，这些物质最初包括糖原，脂类和蛋白质。对于那些用显微镜能看到的卵黃小板形式的蛋白质，将在以后作比較詳細的討論。

至于糖原，那完全可以說，它經常是以一种小顆粒或大分子的形式存在的。在卵黃很多的卵中，例如在两棲类和鳥类的卵中，大部分糖原都堆积在卵的动物性极；用細胞化学的方法，很容易証明，这种物质的分布，从动物性极到植物性极有一个明显递减的梯度。Brachet 和 Needham(1935)发现，蛙卵中的一部分糖原是以不溶性糖原的形式与蛋白质結合在一起的。脂滴的情况則更复杂。Holtfreter(1946)指出，两棲类卵中并没有这种游离的脂滴；这些卵中的脂类内含物外围包有一薄层蛋白质膜，所以卵母細胞中所含的是“脂粒体”(lipochondria)而非游离的脂滴。能使蛋白质变性的处理方法(例如急速地改变卵子培养液的酸碱度)可以破坏围在脂类外面的蛋白质膜，从而使这些脂类释放出来。

众所周知，糖原，脂类和蛋白质的合成都需要能量，这种能量是由氧化磷酸化作用所提供的，而这种氧化磷酸化作用主要又发生在綫粒体内(見 Brachet, 1957, 对于这一問題所作的更詳細的研

究)。非常遺憾的是,我們對於正在生長的卵母細胞的能量產生和利用還知道得非常少。卵子發生過程中的能量可能是儲藏在三磷酸腺苷(ATP)的高能磷酸鍵中。不過,對於卵子發生過程中 ATP 的含量問題,却至今尚未有過研究。目前我們所知道的,僅限於 Metscherskaja(1935)所報導的一點情況,即正在生長的卵母細胞的耗氧量,以其中的卵黃小板,糖原和脂類的合成都達到最高點時為最高(也就是說,它的耗氧量是以中等大小的卵母細胞時期為最高)。最近 Gonse(1955,1957)曾經對卵子發生過程中的呼吸作用,進行了一項非常完善的研究。他研究了一種非常好的材料——*Phascolosoma* 的卵母細胞;這種卵母細胞,是分散生長在母體體腔液內的。他發現,在體腔液內所測得的卵母細胞的呼吸顯示有兩個高峰。這兩個高峰也就相當於 RNA (核糖核酸)在細胞質內積聚的時期。他還詳細研究了加入各種基質(如琥珀酸鹽、丙酮酸鹽、谷氨酸鹽等)後,對於這些卵母細胞呼吸作用的影響,並得出結論說,中等大小的卵母細胞中 Krebs 循環(三羧酸循環)的機能是正常的。

一方面我們承認 Metscherskaja(1935)和 Gonse(1955, 1957)的研究是很有價值的,然而也必須指出,除非他們的研究能夠聯系到 ATP 的產生和利用等問題,而不是只考慮耗氧量這一方面,否則他們就是忽略了最重要的問題。

(二) 濾泡細胞在卵黃形成中的作用

目前大量的證據都支持完整的血蛋白可以通過濾泡細胞所形成的障壁(barrier)直接進入生長的卵母細胞這一論點。Schechtman(1947), Nace(1953)以及 Flickinger 和 Rounds (1956)在血清學方面的研究明確指出,雞蛋中的卵黃蛋白與母雞的血蛋白極為類似(見 Schechtman, 1956 的述評)。而在與此相差很遠的哺乳動物方面的研究中, Brambell (1954, 1958)也有力地指出,蛋白質可以透過胎盤障壁,因而蛋白質也就能通過這樣的途徑,由血液運送至胚胎。

至今还没有弄清楚这种大分子的传递是如何进行的,最可靠的解释是,滤泡细胞和卵母细胞的表面,对于蛋白质从血液运送到卵母细胞起有积极的作用。当前有一些零散的证据支持这一观点,例如,Brachet 和 Ficq(1956)就曾发现,在两栖类的卵巢中,标记氨基酸在滤泡细胞内的参入非常快,尽管它们并不见得就是蛋白质大量合成的场所。就这方面来说,它们很象肾脏细胞,因为后者也被认为具有吸收蛋白质的能力(Oliver 等, 1955)。

卵母细胞本身的细胞膜,在血蛋白吸收过程中很可能起有主要的作用。Kemp (1956 a, b) 对两栖类卵母细胞所作的电子显微镜研究清楚地证明,这些卵母细胞的细胞膜形成了“微型绒毛”(micro-villi, 见图1)¹⁾,它们很可能(虽然不是绝对肯定)就是代表一种细胞吸液(pinocytosis)的机制;卵母细胞也可以象变形虫或细胞培养中的成纤维细胞一样,伸出伪足以吞饮周围含有很多蛋白质的溶液。

这种现象在昆虫的卵巢中颇为常见。Schrader 和 Leuchtenberger(1952) 以及 Colombo (1957) 就曾指出,所有的滤泡细胞都被正在生长的卵母细胞所吞噬,并为卵子的细胞质所同化。

(三) 正在生长的卵母细胞的细胞质

1. 动质(ergastoplasm)或内质网(endoplasmic reticulum)

众所周知,细胞质中透明而又清亮的那个部分(透明质)含有很多RNA,并且还含有电子显微镜方面的专家们称之为动质或内质网的那些微细结构。这里不可能对含有RNA的这些结构的形态学和它们的重要性作出充分的讨论;有兴趣的读者,可以在 Hagenau (1958)新近的述评中找到有关这一问题的杰出总结;在作者本人所著“生化细胞学”(1957)一书中,对此也略有交待。简而言之,电子显微镜的研究曾经证明,透明质,特别是腺体细胞的透明质,具有一种由蛋白质和磷脂所构成的双层膜网络,在这些膜上埋

1) 在哺乳动物的卵母细胞中也曾发现有这种微型绒毛 (Sotelo 和 Porter, 1959; Trujillo-Cenoz 和 Sotelo, 1959)。

藏着很多小的顆粒。根据有些电子显微镜专家的意见认为,这种网络结构对溶质从細胞膜传递至細胞核这个过程起有主要作用。有很好的证据足以証明这些小顆粒(人們通常把它叫做 palade 氏顆粒,因为它们是由 palade 氏在 1955 年首先提出的)中含有极丰富的 RNA。多年以前 Caspersson(1941)和作者本人(1942)的研究就曾証明并且以后又为許多生物化学家所一再証实(見 Zamecnik 等 1956, 或 Brachet, 1957 对此問題的最新討論),这种 RNA 对于蛋白质的合成起着主导作用。生物化学家們所謂的微粒体(microsomes)其实并不是什么別的东西而是在充分匀浆过程中所破坏的一些动质碎片。

利用細胞化学的方法,不論是用碱性染料染色和核糖核酸酶的特异性消化相結合的方法,还是用紫外光显微分光光度法来測定(Caspersson, 1941),都很容易检查 RNA。当前,用电子显微镜研究以四氧化錒固定的动质超薄切片,也是比較容易的。

下面我們將繼續研究用細胞化学和电子显微镜观察方法所获得的一些結果,当然討論的范围还仅限于正在生长的卵母細胞。

(1) 利用光学显微镜对 RNA 分布的細胞化学研究 要想把有关各种动物正在生长的卵母細胞內 RNA 分布的全部文献都拿到这里来叙述和討論那是不可能的,而且也沒有什么价值。我們在 1942 和 1944 年已經提到过有关两棲类卵方面所获得的一些主要結果,这些結果也可以推广至其他許多动物的卵巢。

有关这方面的主要发现,可以扼要总结如下:早期卵母細胞的細胞质和核仁內,往往都含有大量 RNA。在卵黄发生(vitellogenesis)过程中,卵黄顆粒和所謂卵黄核中所含的 RNA 都很少,因此观察者常常就誤解为卵子发生过程中 RNA 的含量在减少(图 2)。事实上, RNA 含量並沒有真正减少,而只是由于卵子体积惊人增大以致 RNA 就相对被稀释的結果。更正确地說,在整个卵子发生过程中, RNA 的含量其实是增加的,不过在晚期,因为卵子的生长比 RNA 的合成进行得快,所以就显得 RNA 是在减少。以下二类实验很容易証实这一解释(Brachet, 1941, 1942); (1) 对不

同生长期卵母細胞中，RNA 含量的定量測定清楚地表明，它是不断地在增加；(2) 將卵巢作輕度的离心，可使卵母細胞中的 RNA 集中在近心端，結果这一部分卵子的嗜碱性就显得与早期沒有卵黃时的卵母細胞者一样(图 3)。不过，有許多卵母細胞，例如兩棲类的卵母細胞中，含有丰富 RNA 的嗜碱性物质的位置却不能被离心作用所改变，这一薄层物质，几乎一直到卵子发生过程結束的那个時候仍旧分布在卵子的皮层部位；这是一个很有价值的发现，因为胚胎学家們曾常常推測（并无实验根据），那些不能被离心作用改变位置的物质只分布在卵子的皮层 (Brachet, 1947; Wittek, 1952)。这一层含有丰富 RNA 的皮层物质的作用还没有肯定，可能对利用微血管中的氨基酸以合成卵子的蛋白质起一定的作用。这一层含有 RNA 的皮层在卵子发生过程的最末阶段，也就是在卵黃停止形成的那个时候消失 (Wittek, 1952) 这一事实証实了这种說法。在大型的卵母細胞中还有另一个 RNA 含量丰富的区域，即圍繞着細胞核的那一薄层物质，这层物质也許就是細胞核影响細胞质中蛋白和 RNA 合成的一种标志。最后应当指出，在兩棲类这样的大型卵母細胞中，可以看到其中的 RNA 分布有一个非常清晰的极性梯度，动物性极的 RNA 要比植物性极者多得多，在这两极之間，还有一系列中間地带。

很多作者，利用不同材料进行研究后，都有类似的描述，有兴趣的讀者，还可以在 Wittek (1952), Mulnard (1954), Urbani (1949, 1953), Bonhag (1955 a, b), Yamamoto (1956), Cotronei 和 Urbani (1957), Fautrez-Firlefyn (1957), Colombo (1957), Cowden (1958) 等的文章中找到許多更詳細的說明，这些文章主要是闡述兩棲类、魚类、昆虫和甲壳动物的卵子发生。

前已提到，因为 RNA 含量与蛋白质合成的关系很密切，所以人們就推測，含有很多 RNA 的早期卵母細胞是蛋白质合成的主要場所。这一点已經完全被 Brachet 和 Ficq (1956) 有关放射自显术方面的研究所証实，他們发现，在卵母細胞生长的不同时期，标记氨基酸向蛋白质內的参入恰恰与細胞中的嗜碱性有平行的

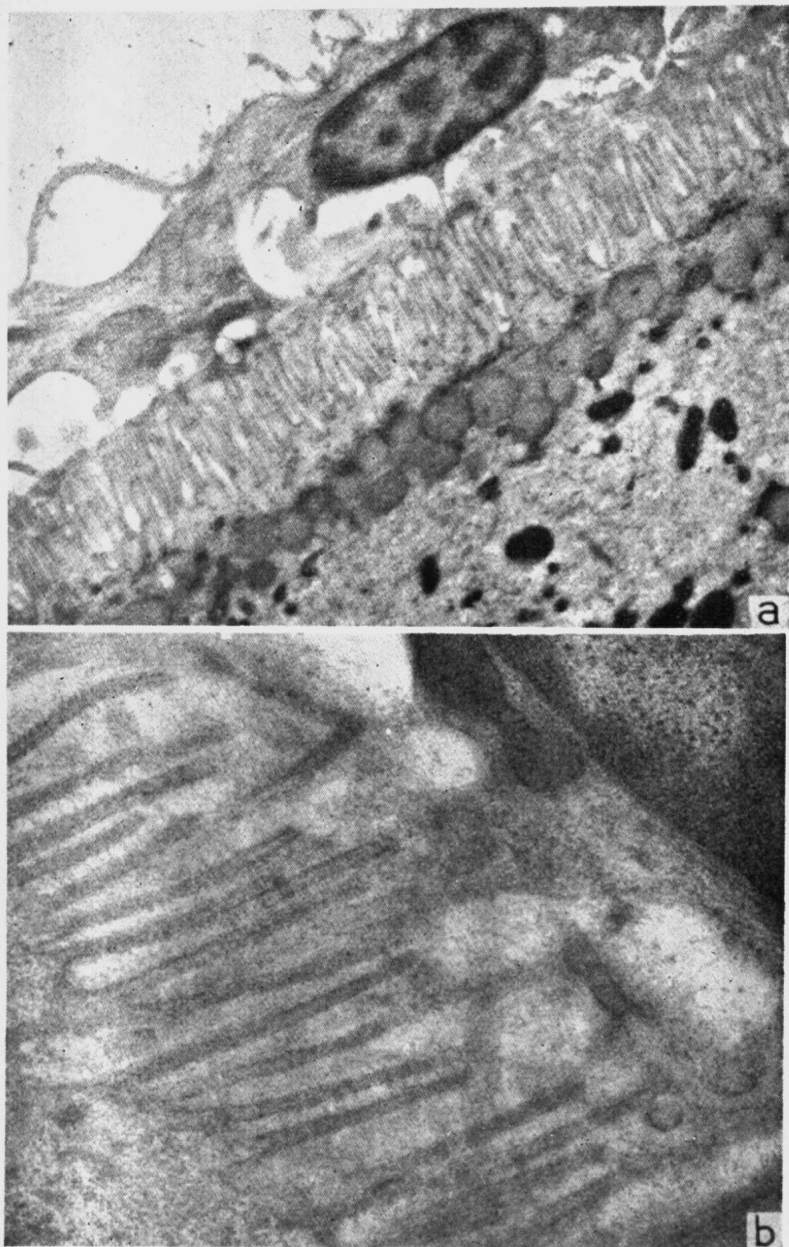


图 1

(a) 蛙卵母細胞的表面：
 滤泡細胞的下面是卵子的皮层，内含微型絨毛和皮层顆粒 ($\times 8750$)；
 (b) 高倍鏡下所見到的微型絨毛 ($\times 33,510$)
 (Kemp 博士特許借用)。

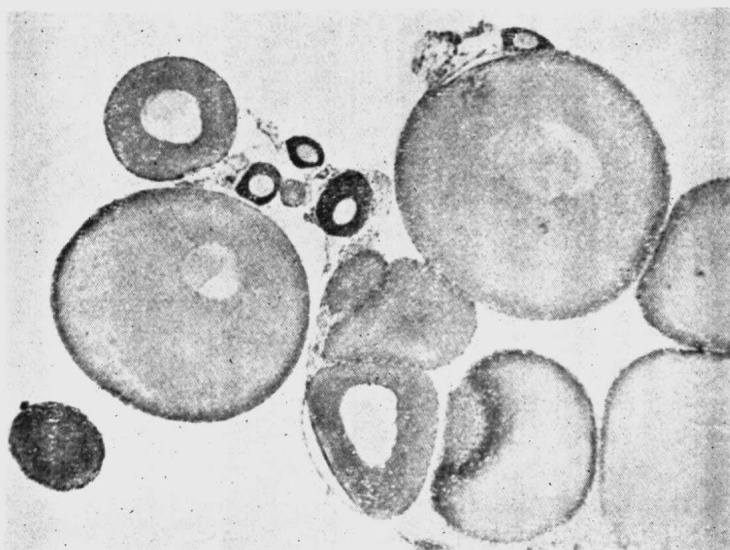


图 2 两栖类卵母细胞中 RNA 的分布(甲基绿-焦宁染色)。

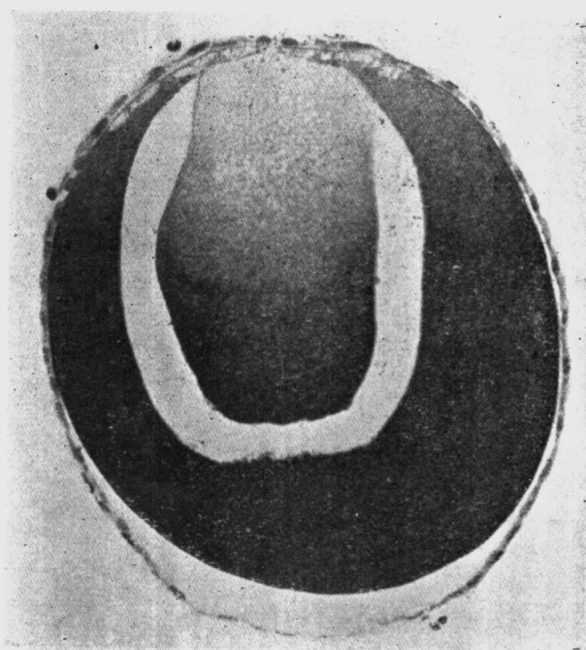


图 3 离心过的蝾螈(*Triturus*)卵母细胞;灯刷状染色体已被沉淀。核的嗜碱性是由于核上有 RNA 的缘故 (Brachet 和 Ficq, 1956)。