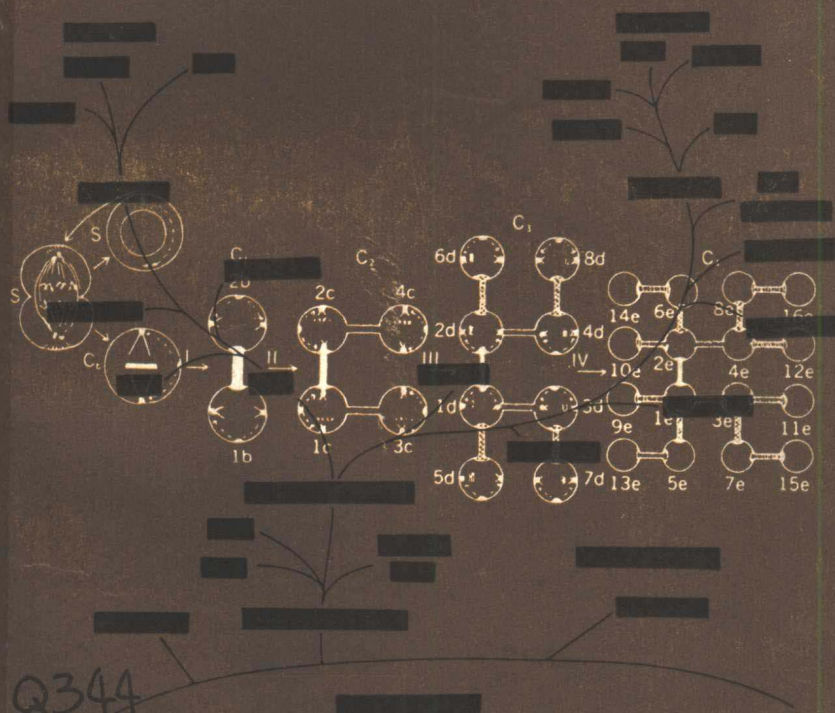


早期发育的基因活性

〔美〕E.H.戴维森 著



Q344
JYQ

科学出版社

早期发育的基因活性

〔美〕 E. H. 戴维森 著

蒋耀青 黄华樑 等 译

刘祖洞 校

科学出版社

1985

内 容 简 介

本书对动物发育过程中分子生物学的关键课题进行了全面论述。内容主要涉及基因组的恒定性;基因控制和细胞分化的启动;卵子发生以及早期胚胎发生过程中遗传物质的作用等。作者对复性作用及分子杂交的动力学以及经典胚胎学的文献等均作了详细的介绍。

作者是研究早期发育中分子生物学的权威,此书是到目前为止,对此领域进行全面综述仅有的专著。

本书可供广大生物科学工作者,特别是对细胞学、胚胎学、发育遗传学、分子生物学及生物化学等科研、教学工作者和研究生参考。

E. H. Davidson

GENE ACTIVITY IN EARLY DEVELOPMENT

Academic Press, 1976

早期发育的基因活性

[美] E. H. 戴维森 著

蒋耀青 黄华樑 等 译

刘祖洞 校

责任编辑 蒋伯宁

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

*

1985 年 8 月第 一 版 开本: 787×1092 1/32

1985 年 8 月第一次印刷 印张: 16 3/8

印数: 0001—4,300 字数: 376,000

统一书号: 13031·2934

本社书号: 4000·13-10

定价: 3.80 元

前 言

早期发育中的分子生物学知识是通过对各种不同生物进行一系列纷杂的测定而获得的。我写《早期发育的基因活性》第二版的主要目的是对现在仍有用的很多观察进行评论性的综述，以便能在这一领域的至少某些方面取得明晰的见解。这种努力几乎是不可能的，最多也只能部分成功。为了使本书内容全面一些，在缺乏直接知识的很多地方只能靠我自己的解释，并需要在互相矛盾的资料之间进行选择。我从来不回避这一点，因为虽然我深信本书对某些领域的文献作了有充分证据的综述，但是这基本上是按照我自己对这一命题的看法而编纂的一部著作。当然，从 1967 年第一版完成以来，已有很多变化。

这一版的一个主要目的是提出对早期胚胎和卵母细胞中一些关键性大分子类型进行定量分析的主要原则。因而我花相当多的篇幅在估价 RNA 及蛋白质的合成速率、复杂性以及它们的数量上。这些资料必将成为从分子水平上解决那些使发育开始的基本过程的基础。

我希望此书将有益于我的朋友、同事和高年级学生，我曾花费很多时间与他们讨论过所想到的各种课题，也希望此书对类似于他们的其他人有用。

E. H. 戴维森

目 录

前言.....	v
第一章 引言: 细胞分化的基因活性可变学说.....	1
已分化细胞基因组的信息等同的早期证据.....	2
转分化	4
DNA 的恒定性和细胞核移植	5
分化细胞的 DNA 序列组看来是相同的.....	8
基因扩增不能解释分化现象	10
细胞分化的基因活性可变学说的直接证据	12
动物细胞中转录水平上的基因调节	21
第二章 胚胎发生中基因组控制的开始.....	30
第一个种间杂种实验及其理论基础	32
从棘皮动物种间杂种研究中得到的关于胚胎基因组控制很迟 才开始的证据	37
脊索动物种间杂种发育中胚胎基因组的控制	42
种间杂种实验的解释	47
用物理方法去核的胚胎的发育	49
“化学方法去核”: 经放线菌素处理的胚胎的发育	50
放线菌素和其他处理对早期形态发生的影响	57
第三章 胚胎细胞功能分化的最早标志.....	62
与发育阶段有关的蛋白质合成模式的定性变化	64
早期胚胎蛋白质合成模式的变化是转录后的变化吗?	71
分化细胞功能的最早形态学标志	75
组织特异蛋白质的出现	81
第四章 早期胚胎中蛋白质合成量的问题: 母体组分的	

作用.....	91
蛋白质合成的绝对速率	93
母体的 rRNA 与 tRNA	98
成熟卵母细胞和早期卵裂胚胎的转译能力	102
母本 mRNA 的直接证明	106
受精和海胆胚胎中母本信息的利用	116
其它生物在早期发育时蛋白质合成速率的变化	122
某些特异胚胎蛋白的合成和遗传	126
第五章 两栖类早期胚胎中的转录.....	150
两栖类胚胎中的 RNA 合成	152
海胆胚胎中的转录速率和转录谱	169
哺乳类胚胎中的转录	190
其它物种胚胎中的 RNA 合成.....	197
第六章 早期胚胎中 RNA 的序列复杂性和结构基因的 转录.....	204
序列复杂性和复性实验的定量分析	206
卵母细胞 RNA 的序列复杂性	224
早期胚胎中新合成 RNA 的重复和非重复序列转录物.....	234
胚胎核 RNA 的复杂性和发育时核 RNA 转录谱的变化	238
早期胚胎中多核糖体 mRNA 的复杂性	251
第七章 形态发生因子在卵细胞质中的定位.....	267
定位现象的经典定义	270
栉水母卵中的定位	282
泥螺和其它一些软体动物卵中的细胞质定位	287
生殖细胞因子的定位	307
系统发育普查: 细胞质定位有多大的普遍性?	319
定位现象的解释	336
第八章 卵子发生期间的灯刷染色体与核不均一RNA 和 mRNA 的合成	349
两栖类卵母细胞灯刷染色体的结构和转录	352

灯刷染色体的发生	370
昆虫的具营养型卵子发生和生殖细胞系基因表达的作用 ...	380
卵子发生过程中的灯刷染色体与核不均一 RNA 和 mRNA 的合成	404
参考文献.....	423
英汉名词对照.....	472

第一章 引言：细胞分化的基因 活性可变学说

对导致提出动物细胞中转录水平调节的基本争论作了综述，并简短地概述了它们的历史。十九世纪，细胞生物学家注意到这样一种可能性：即可以用发育时基因组在质上的差别来解释分化现象。可是根据胚胎细胞潜能是相等的经典实验，人们又放弃了这一观点。其后有大量的证据证明，同一生物中已分化细胞的基因组是等同的。主要的证据包括：特定细胞或细胞系先后地执行不同功能（“转分化”）的例子；已分化细胞通常含有等量的 DNA 和相同的 DNA 序列组的观察；已分化细胞核可能含有编制整个生物发育程序所必需的全部遗传信息的证据。一般说来，在强烈地表达某些基因的已分化细胞中，也并不含有这些基因的额外拷贝。现代的实验表明，已分化细胞的基因组只有很少一部分转录为 RNA，并且在比较各种已分化的细胞时，可以发现转录区域是由不同的 DNA 序列组所组成，虽然它们之间有重叠。此外，在所有已分化的细胞中都存在着没有转录活性的 DNA。关于基因活性可变（即转录的控制）的直接证据来自测定特异的 mRNA 积聚的实验。这些实验通常表明，细胞质的多核糖体中有特定的 mRNA 时，产生这些 RNA 的结构基因就转录了，而在其他时间或在其他类型的细胞

中,这些基因往往不被转录。控制是在转录水平上开始,而不是在转录后水平上开始。因此,至少在这今研究过的一些例子中,只有在基因正在表达的细胞的染色质中,才会有结构基因序列的转录,而在多核糖体 RNA 中没有的序列,也就不会在细胞核 RNA 中发现。然而,多种水平的控制是有可能的,或许都在某种程度上加以利用。动物细胞中转录水平调节的分子基础还不了解,但其机理似乎取决于基因组中 DNA 序列的组编方式。最近的发现表明,动物 DNA 中重复和非重复序列规则地间隔着,对这些发现作了简单的综述。至少有些间隔的重复序列可能在结构基因的功能中起作用。其证据是结构基因与间隔的重复序列紧相毗邻,而且特异的重复序列亚群与那些在分化特定阶段表达的结构基因相连。本书所持的观点是转录水平的调节是分化和发育的基本过程。

要使分化是基因活性可变的结果这一命题成立,需要两个前提。第一个前提是,基因组中 DNA 的核苷酸序列与细胞中各种蛋白质的氨基酸序列之间已经充分了解的相互关系。由于细胞的结构和功能特性取决于它们的蛋白质,所以为了表现这些特性,细胞必须表达决定其蛋白质的遗传信息。因此,分化状态最终有赖于基因组信息的转录。

已分化细胞基因组的信息等同的早期证据

论证基因活性可变的第二个前提是:后生动物的每一个活细胞核含有和合子核一样的完整的基因组。Roux于1883年

提出相反的观点。Roux 的看法是,细胞功能的分化是由于质上不同的遗传因子分配到不同的细胞核中去的。因此,每个细胞核中只含有那些为编制其特定的一套功能活动程序所需的基因,所以,发育的特异化是各种各样的部分的基因组镶嵌起来的结果。为检验这一点,Driesch (1892) 专门设计了实验,其后又有其他实验胚胎学家(Morgan 1927)作了这样的实验。在 Driesch 的实验中,迫使卵裂在平玻璃板的压力下进行,使卵裂期核分布到卵细胞质不同部分中去的正常方式暂时改变。除去玻璃板时,发现尽管特定的细胞核被挤到了不是正常情况下所在的细胞内,但仍能进行正常的发育。由于正常情况下预定成为内胚层细胞的细胞核也能够指导中胚层的发育,反过来也是一样,所以证明这些细胞核一定含有发育为中胚层的基因,也含有发育为内胚层的基因。由此可见,卵裂期的任何细胞核都含有合子中的全部基因。

与 Driesch 同时代的人及其追随者都认为压板实验证明了细胞核在质上不同的学说是错误的(如见 Wilson 1925)。然而,也可争辩说,这些实验只是证明,远在细胞分化开始之前或胚胎细胞核开始直接控制形态发生之前的发育阶段中,细胞核基因组才是等同的。另一方面,其他各种观察都说明,即使在高度分化的细胞中都含有与合子细胞核所含有的完全同样的基因组。很早就知道,一个生物的细胞所含各种染色体的数目在正常情况下是相等的。双翅目多线染色体的研究早就提供了一条重要线索,这就是与一种组织的结构特性的突变有关的染色体畸变,可以在另一种组织的染色体中观察到。一个例子是果蝇的棒眼(Bar)基因,这一基因影响眼的形态发生。Bridges (1936) 指出,在带有这一突变的果蝇唾腺细胞多线染色体中可以看到X染色体上横纹16A加倍。然而很明显,唾腺细胞与眼的形态发生的细节并无关系。另一个

早期的例子是果蝇的缺刻翅 (Notch) 突变, 这种突变在杂合子中引起翅的外周缺刻和其他形态异常。这种表型与唾腺染色体横纹 3C7 的杂合型缺失有关 (Demerec 等 1942)。因此看来, 一种已分化的细胞(唾腺)的细胞核携带着为其他类型细胞(如形成翅和眼的细胞)分化所必需的遗传信息。

转 分 化

已分化的细胞携带着通常只在其他类型细胞中表达的信息, 检验这种观点的一个有趣的实验是改变细胞命运的实验。这类实验清楚地表明, 已分化的细胞改变了它们特有的作用, 呈现新的分化状态。这种现象叫做转分化(transdifferentiation)。例如, Stone(1950) 曾指出, 在蝶螈的再生眼中, 神经网膜细胞直接来自先前是色素细胞的细胞。在眼晶体的再生(Yamada 1967 的综述) 以及诸如四肢再生(例如, 见 Namenwirth 1974; Hay 1968 的综述) 等其他再生的例子中, 也可以看到细胞分化状态的变化。早就知道, 在简单的后生动物, 例如水螅中, 再生时细胞状态也发生很大的变化(如 Burnett 等 1973; Lowell 和 Burnett 1973)。

在高等动物的正常胚胎发育过程中可能也存在大量转分化的例子, 细胞在一个阶段中执行着某一特定的功能, 后来又执行另一种功能。然而, 在发育的情况下, 往往难于证明由相同的细胞或它们的直系后裔负责新的分化状态, 而不是由原来未分化的细胞产生的细胞无性繁殖系来负责。现在已经详细地记述了几个发育的例子。一个明显的例子是蚕蛾幼虫丝腺细胞的转分化。Selman 和 Kafatos(1974) 曾经指出, 在这种动物中, 丝腺的表皮细胞后来又分化成专门用来分泌较多 KHCO_3 液体的细胞, 这种液体用来作为羽化酶(破茧酶)的溶

剂。蚕蛾中还有一个例子是唇腺细胞。在蛹期时,这些细胞产生很厚的表皮,但随着变态的进行,它们合成和分泌破茧酶原 (Selman 和 Kafatos 1975)。许多年前 Maximow (1927) 证明有转分化存在的一个经典例子是血液的淋巴细胞转化成吞噬性的巨噬细胞,然后又转化成分泌胶原的成纤维细胞。Petrakis 等 (1961) 研究了这种转化现象,并指出把循环的单核白细胞培养物密封在一个扩散小室中,确实在经过一个巨噬细胞的中间阶段后,能够产生一层胶原性结缔组织成纤维细胞。胶原成纤维细胞保留了巨噬细胞原来摄入的印度墨水颗粒,这证明了胶原成纤维细胞与它们的巨噬细胞前体之间的同一性。

在正常发育、再生、以及其他各种特殊的实验条件下有转分化存在,这一点表明了已分化的细胞含有整个基因组的信息,而不是只含有为它们当时特定的活动所必需的信息。然而,由于上述各种情况只涉及少数功能性状,所以可以争辩说,它们所涉及的信息只是生物所具有的基因组全部信息中的一小部分。事实上这些性状是属于单一细胞类型中可以表达的全部功能之列,因而可以把它看作是密切相关的。但从生物化学观点来看,这种论断似乎是武断的,因为专门合成色素的细胞和神经元之间、白细胞和分泌胶原的成纤维细胞之间、或者表皮细胞和分泌盐类的细胞之间的差异,似乎与肝细胞和肾细胞之间的差异一样。尽管如此,还需要做大量综合性的工作才能得出这样的结论: 由于能发生转分化,因此已分化的细胞的细胞核确实含有整个基因组。而这一点目前在很大程度上还是以其他的证据为依据的。

DNA 的恒定性和细胞核移植

一个关键的证据是除了配子(它所含的 DNA 量为体细

胞的一半)外,每个已分化的细胞(少数特例除外)的细胞核中 DNA 量都是单倍体的两倍。二倍体细胞 DNA 量的恒定性是由 Boivin 等 (1948) 以及 Mirsky 和 Ris (1949) 发现的,并成为把 DNA 看作是遗传物质的一个重要依据。已分化细胞核中, DNA 量的等同性意味着一般不能用选择性地丢失细胞核中大部分没有用的基因来解释分化现象,但这并不排除这样一种可能性: 分化是由于遗传物质发生化学变化,使一定类型细胞中编码不表现的特性的 DNA 失活。况且,动物的基因组是如此之大,以致缺失大量结构基因的 DNA 也不会显著地影响 DNA 的总量。然而,现在已经弄清楚,在发育过程中基因组 DNA 的变化,要么不发生,要么是可逆的。这一重要结论的主要依据是细胞核移植实验。在这些实验中,已分化细胞的核注入到成熟卵子中去,仍然具有引导整个发育过程的能力。

这方面最有意义的核移植实验是 Gurdon 及其同事们所做的那些实验。1962 年 Gurdon 报道,把已经分化的非洲爪蟾蝌蚪小肠细胞核注射到去核的卵子中,能产生蝌蚪。这样的细胞核中约 24% 能促进分裂,并能形成正常的能游泳的蝌蚪 (Gurdon 1962 1963)。把小肠细胞核注射到卵内,以后长大的成体非洲爪蟾,在各个方面都是正常的,包括生殖能力在内 (Gurdon 和 Uehlinger 1966)。因此,小肠细胞核以可用的方式保留着为循环系统、骨骼系统、感觉系统、内分泌系统、消化系统等个体发育所必需的全部基因组的信息。这一权威性的实验是在过去应用显然并不怎么幸运的材料所做的一系列实验之后才取得成功的,过去的实验似乎证明了胚胎的细胞核很快就不可逆地限定了它们的发育潜能。然而,在如此困难的实验中却获得了正结果,其意义是比较深远的。现在已经知道,一些因素影响着核移植实验成功的百分率,这

些因素包括移植细胞核时所用的培养基 (Hennen 1970), 和获取供体核的细胞的增殖状态 (Kobel 等 1973)。最近, 把来自成体非洲爪蟾的肾、肺、心、睾丸和皮肤的原代培养物的细胞核, 注入到去核卵子中, 结果全都能发育成正常分化而且能游泳的蝌蚪 (Laskey 和 Gurdon 1970)。从培养的上皮细胞核也得到了一些成体爪蟾 (Gurdon 和 Laskey 1970)。现在用果蝇卵也已经做了内容基本类似的核移植实验 (Illmensee 1972; Zalokar 1973; Okada 等 1974c)。在这些实验中, 供体核和受体核都有基因标志, 所以不用像两栖类的实验那样把受体卵的细胞核除去或破坏掉。已经发现, 不管供体胚盘或前胚盘的细胞核来自哪个部位 (也就是不管它们在胚胎学上的命运如何), 它们的后裔都能参与成体各个方面的分化, 包括产生可育的配子。

核移植实验有力地证明: 分化不一定涉及基因组中任何一个重要部分发生不可逆的变化。因此, 活性基因和非活性基因之间差别的基本原因不是 DNA 中不可逆的化学变化。核移植实验以及转分化方面的实验使我们认为, 不管细胞核导致分化时所发生的过程的本质是什么, 这些过程至少在潜能上是可逆的。

上述的概括有一些例外, 其中一些, 我们会有机会在其他章节中更详细地讨论。在双翅目多线染色体中, DNA 积聚远远超过 $2C$ (即单倍体的两倍) 的量, 而另一个极端, 在一些最终分化的细胞类型中丢失了所有的 DNA, 例如哺乳动物的红血球或眼晶体上皮细胞。在某些组织中, 如哺乳动物的肝, 以有规律的低频率出现四倍体的细胞。然而, 在大多数情况下, 由于整个有功能的基因组都丢失了或加倍了, 因此就目前已知的情况来说, 这些例子对于解释基因产物的不同表现没有多大价值。在某些例子中确实存在有差别的 DNA 复制,

例如,卫星 DNA 在多线化时不充分复制,但由于卫星 DNA 并不转录,因此与本题关系不大。Breuer 和 Pavan (1955) 指出,在 *Rhynchosciara* 的多线染色体中,大的疏松部位上发生额外的 DNA 合成,然而很清楚这不是双翅目多线染色体疏松区的一般规律。在许多生物的卵子发生过程中,核糖体的基因也发生过量的复制。也有这样的例子,基因组的一部分丢失了,而不是特异地复制。最有名的例子是蛔虫 (*Ascaris*) 中的染色体减少(见第七章)。这些例子都具有一个共同的特点:特异地复制的 DNA 并不传给下一代的细胞。例如,带有多线染色体的细胞从不进行分裂。同样地,卵母细胞中扩增了的核糖体基因,在卵子发生结束时就丢失了,而不留给胚胎 (Brown 和 Blackler 1972)。

分化细胞的 DNA 序列组看来是相同的

最先在分子水平上检验基因组等同这一概念的工作,是 McCarthy 和 Hoyer 在 1964 年所进行的 DNA—DNA 重联的研究。关键性的实验如图 1.1 所示。图中表明,从小鼠胚胎、小鼠的脑、肾、胸腺、脾和肝提取出来的 DNA,在与(标记的)小鼠 L 细胞 DNA 竞争小鼠胚胎 DNA 中互补结合部位的能力上没有什么区别。McCarthy 和 Hoyer (1964) 从这一实验和类似的实验得出结论:“每个体细胞都有 DNA 的全部多核苷酸序列……(并且)所有序列都以同样的相对比例出现”。对于参与图 1.1 所示的重联反应的所有 DNA 来说,直到实验分辨率的水平(即百分之几),上述结论显然还是正确的。就这点来说,这一实验有力地支持了我们从已经谈到过的证据中得出的结论,也就是生物体中各种分化细胞的细胞核所含的基因组信息量并无不同。

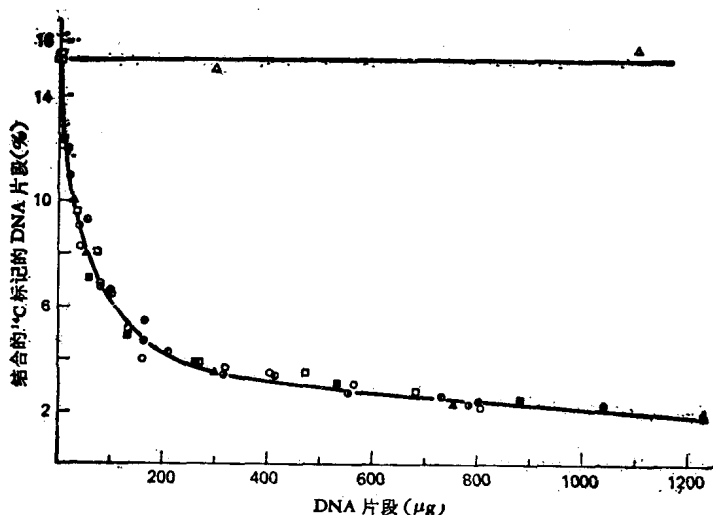


图 1.1 在标记 DNA 片段与 DNA 琼脂的反应中,未标记 DNA 片段的竞争作用。

在有不同量的,小鼠各种组织、小鼠 L 细胞或枯草杆菌的未标记 DNA 片段的情况下,把 $1\mu\text{g}$ 小鼠 L 细胞的 ^{14}C 标记的 DNA 片段($2,500\text{cpm}/\mu\text{g}$),与 0.50g 含 $60\mu\text{g}$ 小鼠胚胎 DNA 的琼脂一起保温。以被结合的 ^{14}C 标记的 DNA 片段的百分数为纵坐标,未标记的 DNA 量为横坐标作图。○小鼠 L 细胞;●胚胎;□脑;■肾;○胸腺;●脾;▲肝;△枯草杆菌。[录自 B. J. McCarthy and B. H. Hoyer(1964). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 52, 915.]

现已知道,动物基因组含有重复的 DNA 序列和单拷贝的 DNA 序列,这一事实在 1964 年还是不了解的。在图 1.1 所示的实验中,所用的条件只使重复的 DNA 序列能复性。即所用的 DNA 有效浓度和反应时间,都不足以使每个基因组中只含有一份序列的互补 DNA 片段发生反应而形成稳定的双螺旋(见第六章关于核酸复性动力学的讨论)。由于推断的遗传信息大部分含于单拷贝的 DNA 序列,而不是包含在重复的 DNA 序列中,因此,在分化细胞基因组中单拷贝的序列是等

表 1.1 从同一生物不同细胞类型分离出来的,有着相似的复性动力学¹⁾的单拷贝序列部分的 DNA

动物	标记的单拷贝 DNA 的来源	未标记的总 DNA 来源	参考文献
海胆	正在卵裂的胚胎	精子	Britten (1972)
兔	肺细胞 ²⁾	脾	Schultz 等 (1973a), Brown 和 Church (1972)
非洲爪蟾	肾细胞 ²⁾	红细胞	Davidson 和 Hough (1971)
小鼠	L 细胞(成纤维细胞) ²⁾	肝	Hahn 和 Laird (1971)
小牛	肾细胞 ²⁾	整个胚胎	Gelderman 等 (1971)
		脑、胸腺	Kohne 和 Byers (1973)
		肝	

1) 如正文所述,复性速率差异在 5—10 % 时就不能检出。

2) 组织培养细胞。

同的这一点就成了一个争论的重点。遗憾的是,已有技术的精确度只能使这种证明限于 $\pm 5-10\%$ 的范围内。然而,就是在这一水平上,现已证明一种生物所有的组织确实具有同样的单拷贝序列。因此,从组织培养细胞或早期胚胎分离出来的标记的单拷贝序列,都是以相同的速率,同样的程度与从成体各种器官分离出来的全部 DNA 反应,就像 DNA 中单拷贝序列与它自己反应一样。用几种生物各种细胞类型提取出来的 DNA 都得到了这一结果。表 1.1 列出其中一些最明显的例子和有关参考文献。

基因扩增不能解释分化现象

即使所有细胞都含有原来在合子基因组中所具有的 DNA 序列,但这并不能排除这样一种可能性:某些细胞,特别是那些需要旺盛而特殊活动的细胞,含有某些基因的额外