

[美] Renato Baserga 著

细胞繁殖的生物学

薛绍白 张鸿卿 译
王端顺 柳惠图

书馆

北京师范大学出版社

细胞繁殖的生物学

〔美〕瑞南托·巴塞加 著

薛绍白 张鸿卿 译
王端顺 柳惠图

北京师范大学出版社

内 容 简 介

本书译自瑞南托·巴塞加教授所著“细胞繁殖的生物学”(1985年版)。全书共十三章,分为生物学、细胞生物学及分子生物学三部分。书中对细胞繁殖作了全面、详细地论述,并介绍了从细胞生物学和分子生物学方面研究细胞繁殖的最新资料,其中包括癌基因、细胞分裂周期基因、细胞周期突变体、生长因子及其受体以及病毒编码蛋白等。可供生物学、医学和农业院校师生及有关科学工作者参考。

Renato Baserga
The Biology of Cell Reproduction
Harvard University Press
Cambridge, Massachusetts/London, England
1985

细胞繁殖的生物学

(美)瑞南托·巴塞加 著

薛绍白 张 强
王端顺 柳惠霞

北京师范大学出版社出版
新华书店北京发行所发行
西安新华印刷厂印刷

开本, 787×1092 1/32 印张, 10 字数, 211 千

1985 年12月第1版 1985 年12月第1次印刷

印数, 1—10,000

统一书号: 13243·33 定价: 1.95元

译者序

细胞繁殖是生命科学中重大的研究课题之一，对这方面的研究，有着重大的理论和实践意义。关于细胞繁殖的分子机制，至今还不甚清楚。但由于近代细胞生物学和分子生物学的飞速进展，近年来人们对于细胞繁殖有了进一步了解。

“细胞繁殖的生物学”一书，引证了大量参考文献，及时、全面地论述了细胞繁殖研究的进展和现状。作者 Baserga 教授，从事细胞繁殖方面的研究工作三十余年。他所领导的实验室，进行了大量创造性地研究，掌握了细胞繁殖许多方面的第一手经验。这些都反映在本书中。我们深信，这本书无论是对于初学者，还是对于想进一步了解这方面的研究工作的读者，都将大有裨益。

Baserga 教授夫妇曾应北京师范大学邀请，于 1982 年 4 月来我国讲学。这次又承蒙提供了本书的手稿及全部版图，才使该书的中译本能早日与读者见面。在此，特向 Baserga 教授表示衷心地感谢。

对于山东医学院于佩良副教授和北京师范大学生物系邢其华副教授审校部分章节，以及王晓东、杜春英、游劲松等同志给予我们的帮助和支持，在此一并表示感谢。

限于我们的专业水平和外语程度，错误和不当之处在所难免，敬希读者指正。

译者

1985 年 2 月

序

自从1826年发现细胞分裂以及其后魏尔啸提出了“细胞来自细胞”以来，细胞繁殖一直是生物学家所关切的课题。对于“细胞如何分裂”的问题，曾在不同的水平上进行过研究，首先是在形态学水平，继之为生物化学观点。但是，只是在现代细胞生物学和分子生物学问世后的30年之内，细胞繁殖的研究才取得迅速进展。这就是本书的中心内容，它是从学科渗透的角度来看细胞如何分裂的问题。我希望完成的任务，是本书能为分子生物学家提供动物细胞繁殖的基本知识，并向细胞生物学家和临床医生介绍癌基因和细胞周期的分子生物学。

由一位作者来论述细胞增殖的所有不同方面，或许有逞能之嫌。作为表白，我可以说，在30年前，我已开始研究小鼠肿瘤的实验性转移，经历了生物化学和细胞生物学的中间阶段，目前，正在进行克隆细胞周期基因。因此，我掌握了细胞繁殖许多方面的第一手经验。并且，我对文献的了解是来自有创见的原文，而不仅仅限于综述。虽然为了限制本书文献的数量，有时我也引用了综述性文章和书籍。

对学生来说，本书是对细胞繁殖生物学有益的概括的启蒙。为了保持一定的篇幅，本书的大多数材料取自动物细胞，少数取自酵母，完全没有细菌和植物的材料。

我在第四章提到，虽然由于年龄的增长而失掉部分脑细

胞，我们记住以下一点而差堪告慰的是，除了失掉一些带有信息的神经细胞以外，也失掉一些满载错误的神经细胞。同样的评语也适用于一本书。任何书（我自识字开始一直热爱读书）都含有信息和谬误两个方面。一个作者只能希望他的书中的前一部分大大超过后者。至于能否按使徒保罗的教导“博采众议，择善而从”，那就是读者的事了。

最后，我愿对下列同事表示感谢，在撰写本书的四年中，他们不惜花费时间提出建议、批评和鼓励。Norbel Galanti（智利大学，圣地亚哥，智利），Beverly Lang（费城儿童医院，费城），Charles Stiles（Dana-Farber癌中心，波士顿），Leszek Kaczmarek（儿童健康中心纪念医院，华沙，波兰）以及Temple大学的Ricky R. Hirschhorn, W. Edward Mercer, Susan Rittling和John Wurzel。

目 录

序.....	(1)
第一部分 生物学	(1)
第一章 细胞周期.....	(1)
一、细胞周期时相.....	(2)
二、细胞周期的可变性.....	(18)
第二章 非分裂细胞	(24)
一、G ₀ 期细胞.....	(25)
二、终端分化细胞.....	(32)
第三章 细胞群体	(38)
一、周期细胞, G ₀ 期细胞和死亡细胞.....	(38)
二、干细胞.....	(42)
三、转化细胞.....	(45)
第四章 组织生长	(51)
一、细胞大小方面的生长.....	(51)
二、细胞数量方面的生长.....	(58)
三、倍增时间.....	(60)
四、肿瘤生长.....	(63)
第五章 细胞周期中的细胞同步化	(66)
一、培养细胞的同步化方法.....	(69)
二、细胞周期中的细胞形态学.....	(70)

第二部分 细胞生物学 (74)

第六章 细胞周期温度敏感突变体 (74)

- 一、细胞周期突变体的定义 (74)
- 二、细胞周期条件突变体 (77)
- 三、执行点 (81)

第七章 不同细胞周期时相细胞中的信息量 (88)

- 一、细胞融合 (88)
- 二、S期细胞的信息量 (91)
- 三、 G_0 - G_1 细胞中的信息量 (94)
- 四、早熟染色体凝集 (96)

第八章 药物对细胞周期的干扰 (99)

- 一、放线菌素D和环己亚胺 (101)
- 二、其他药物 (105)
- 三、单克隆抗体 (109)

第九章 细胞的长大与细胞增殖 (113)

- 一、细胞的长大与细胞DNA复制 (114)
- 二、细胞的长大与细胞分裂 (119)
- 三、RNA聚合酶Ⅰ的作用 (123)

第三部分 分子生物学 (126)

第十章 环境中的信号 (126)

- 一、生长因子 (129)
- 二、抑制因子 (143)

第十一章 细胞周期中的生化事件 (146)

- 一、细胞周期是否存在 (146)
- 二、控制事件和前需求条件 (149)

三、G ₁ 和G ₀	(154)
四、S期	(172)
五、G ₂ 期和有丝分裂期	(178)
第十二章 病毒编码的蛋白与细胞增殖	(184)
一、SV40和多瘤病毒	(186)
二、腺病毒	(191)
三、其他病毒	(193)
四、逆转录病毒和pBR322	(194)
五、病毒诱导细胞DNA复制的机制	(196)
第十三章 细胞增殖的遗传学基础	(199)
一、酵母中的cdc基因	(200)
二、逆转录病毒癌基因	(204)
三、细胞的癌基因	(207)
四、动物细胞中的cdc基因	(223)
五、一些推论	(231)
参考文献	(237)
索引	(303)

第一部分 生物学

第一章 细胞周期

一个世纪以前，我们已经了解到后生动物 (metazoan) 的细胞繁殖基本机制是有丝分裂。虽然每个细胞的长大在器官和组织的生长中起着一定的作用，然而，细胞数量的增长对于正常以及异常生长来说是更为重要的方式。因为细胞数目的增加是细胞有丝分裂的结果，所以，对于正常生长及其紊乱的了解必须是在对调节细胞分裂机制研究的基础上。

直到最近，我们对于有丝分裂及其有丝分裂前一阶段调节的生化或分子事件知之甚少。虽然长期以来科学家们认为在两次有丝分裂之间，存在着一个较长的表面上看来静止状态的间隔。但仅仅在近些年来，人们才认识到这个被称之为间期的间隔，并不是一个真正静止的间期，与此相反，它们却是一个为下一次有丝分裂作积极准备的非常活跃的时期。本书将要详细描述这些事件。但是，为了更好地了解细胞增

殖的生化和分子的基础，最好的方式是在细胞的个体和群体的情况下来考察细胞的行为。我们将在本书的第一、二部分讨论细胞分裂的生物学，并且讨论如何由单个细胞长大以及细胞群体中细胞数目的增加，从而导致了器官和组织的增长。接着在第三部分讨论真核细胞增殖中的生长因子、基因以及基因产物。

首先，我们从描述一个细胞周期开始着手来研究后生动物细胞中的细胞繁殖。对于细胞周期的了解，不仅仅提供了细胞群体数目增长的生物学基础，而且，更为重要的是，它将为我们提供一个和细胞分裂有关的生化和分子事件的概况。

一、细胞周期时相

细胞周期的含义，是指亲代细胞有丝分裂的结束到1或2个子细胞有丝分裂结束之间的间隔。在陈旧的生物学教科书中，细胞周期只包括有丝分裂和间期二个阶段。直到30年前，才仅仅从形态上对有丝分裂进行描述，并且对间期只是简单地认为是有丝分裂间期的间隔。然而，近代的方法学使我们能够把有丝分裂间期的间隔分为四个时相（图1.1）即：DNA合成前的间期或有丝分裂后的间隙（ G_1 ），DNA合成期（S），DNA合成期后的间期或有丝分裂前的间隙（ G_2 ）和有丝分裂期（M）。由于在体内和体外新方法的发展，从而使有丝分裂的间隔分为四个时相以及鉴别细胞周期成为可能。在所有研究细胞周期的方法中，放射自显影术和细胞光度术是两个最常用的方法。利用这些方法学研究

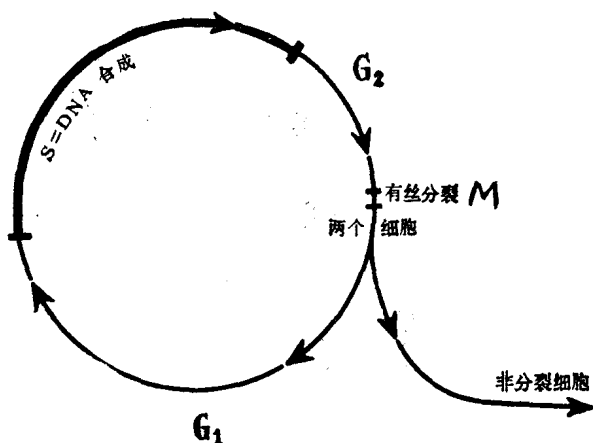


图1.1 细胞周期的模式图

有丝分裂以后，子细胞进入到为第二个时相（S期）做准备的 G_1 期。DNA合成期：在S期（来自Synthesis）中进行DNA合成，实际上是整个基因组的复制，它是在细胞周期的一段时间内进行的。在完成DNA合成以后，细胞进入一个为有丝分裂做准备的第二个间隙期（ G_2 期）。当细胞进行数次分裂以后，一些细胞离开周期变为不分裂的终端分化细胞。

细胞周期四个时相，对细胞周期的意义更易于理解，而且对细胞群体生长行为的研究也很有用。

1. 放射自显影术 (autoradiography)

通过光镜的直接观察，可以识别出间期细胞和有丝分裂的细胞。而用放射自显影方法则可以识别能否合成DNA的细胞（图1.2）。因此，通过显微镜简单地观察放射自显影的标本，就能把细胞群体分为三类：即有丝分裂细胞，DNA合成细胞（S期细胞）和不合成DNA也不进行分裂的细胞。

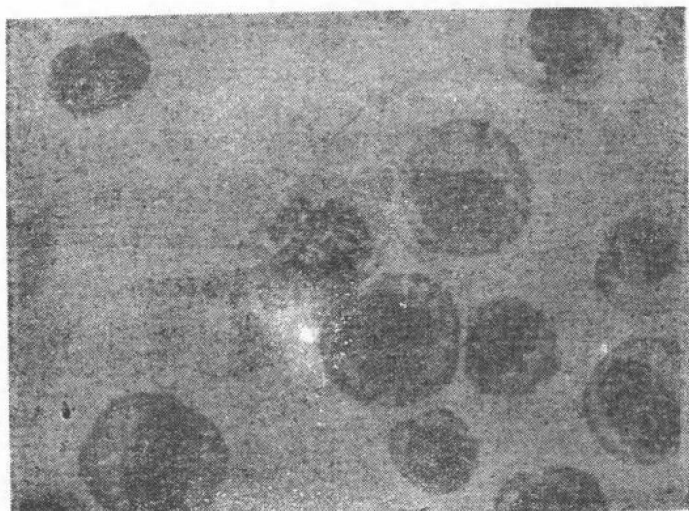


图1.2 ^3H -胸苷参入细胞的放射自显影图

用 ^3H -胸苷标记细胞30分钟后，再固定几个小时。在放射性前体物存在时，正在合成DNA的细胞被放射性前体物标记上。标记可用存在于复盖细胞表面的乳胶层中的银颗粒来识别。因为胸苷极易结合到DNA中去，所以 ^3H 标记仅局限于核的范围。事实上，有丝分裂细胞的标记集中在染色体上。

虽然Howard和Pelc (1951) 第一次描述细胞周期的原始的实验是用 ^{32}P 做参入的，但是，应用 ^3H -胸苷 (^3H -TdR) 作为细胞DNA合成的标记物效果更好。其突出的优点有三：TdR专一地参入进DNA；没有结合的TdR可以用固定组织和涂片的普通固定剂来洗脱； ^3H 标记可以得到高分辨率的放射自显影标本 (图 1. 2)。

应用放射自显影，通过一个典型的实验便可以把细胞周期完全描绘清楚。简单地说，这一方法包括标记一群正在合成DNA的细胞，并观察这一标记的细胞群体在细胞周期中

通过一个固定点，如有丝分裂的移动情况（图1.3）。为

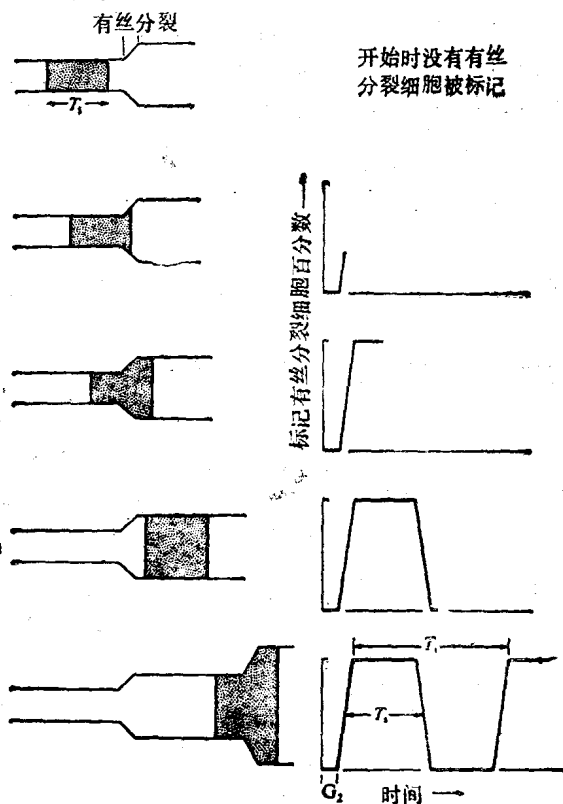


图1.3 应用标记有丝分裂技术分析细胞周期

用 ^3H -胸苷脉冲标记以后，标记细胞的队列（具有黑点的面积）逐渐通过有丝分裂。实际上，标记有丝分裂百分比可以描绘成一个峰，它的宽度相当于S期的间隔（ T_s ）。在适当的间隔以后，又出现第二个标记有丝分裂百分比的峰。这两个峰之间的间隔即为细胞周期时间（在图中以 T_i 表示，经常写作 T_c ）。 G_2 期的时间长度也可从实验测定。而 G_1 期通常用 $G_1 = T_c - (T_s + T_{G_2} + T_m)$ 公式来计算。（经允许录自G. Steel肿瘤的的生长动力学（Clarendon Press 1977））。

了便于说明,我们采用适宜的培养基,把细胞以 10^4 细胞/ cm^2 的密度接种在盖玻片上。接种后第二天,当细胞处于指数生长时,所有细胞都用 ^3H -TdR进行脉冲标记,也就是把它们放入含有 $0.1\mu\text{Ci}/\text{ml}$ ^3H -TdR的培养液中温育20分钟,标记之后,把所有细胞用平衡盐溶液仔细地洗去过剩的TdR,然后再培养在无放射性的生长培养基中。脉冲标记后,在不同的时间取出2至3盖片的培养细胞,用Carnoy's或其它固定液固定,进行放射自显影。图14显示这一实验的扼要结果。

在细胞标记之后,立即进行放射自显影标本的制备,没有发现标记的有丝分裂细胞,而30—35%的间期细胞则被标记,这就说明DNA合成是在间期而不是在有丝分裂期。在洗去 ^3H -TdR以后两小时,有丝分裂细胞仍未被标记,因为有丝分裂持续仅仅30—45分钟(见下),所以,有丝分裂之前必然有一段时间细胞不合成DNA,这一段时间叫前 G_2 期。它是自 ^3H -TdR标记开始直到50%有丝分裂被标记的这一段间隔,如图1.4所示,即3.5小时。

当脉冲标记和终止细胞培养的时间间隔延长时,标记有丝分裂的百分比迅速增加到100%。用 ^3H -TdR标记这些有丝分裂细胞时,所有细胞都处在DNA合成期。然后,当另一些不合成DNA的细胞在此时也进入有丝分裂期,标记有丝分裂的百分数则下降,因为每个细胞有其各自不同的细胞周期时间。在图1.4可以看到标记的有丝分裂曲线(图1.4具有黑点的实线)。假如每个细胞的周期没有变化,标记有丝分裂百分数应该是几乎立即从零升到100,并且在整个DNA合成时期保持100%,随后,突然从100降至零(图1.4虚

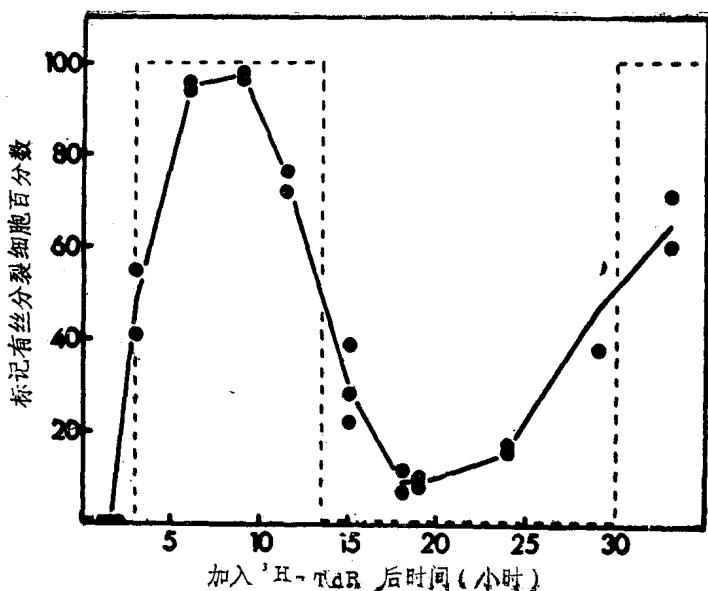


图1.4 用 $^3\text{H-TdR}$ 脉冲标记HeLa 细胞,30分钟以后不同时间标记有丝分裂的百分数。虚线代表理论曲线,即当细胞在每个周期时相经过的时间都是一致的情况下得到虚线。实线是来自实测的数据。如何从曲线计算细胞周期时间及其各时相的时间参见正文的解释(经Baserga和Wiebel同意借用,1969)。

线)。然而,这一曲线在开始时倾斜向上,几小时后则从100%或者接近100%缓慢下降。在达到一个低点(由于细胞间的差异,常常不能下降到零),当脉冲标记3—4小时后,处于有丝分裂期的后代细胞再次进入有丝分裂期时,标记有丝分裂百分数再次增高。

假如你作为一个观察者,站在有丝分裂这个观察窗观察标记细胞队列的通过,就能够把图1.4的数据转变成图1.1

的图表。细胞周期时相可以推算出来，它们的时间计算如下：

G_2 = DNA合成后期或有丝分裂期前的间隙 = 洗去标记到50%标记有丝分裂百分比之间的时间间隔。图1.4: 3.5小时。

S期 = DNA合成期 = 标记有丝分裂百分比 (PLM) 曲线第一个峰升枝50%的点到降枝50%的点之间的间隔时间。图1.4: 10小时。

G_1 期 = DNA合成前期的或有丝分裂期后的间隙 = 第一降枝和第二升枝上的50%点之间的间隔。图1.4: ~13小时。

有丝分裂期 = 光镜下可见。有丝分裂延续的时间计算约为0.5小时，此时间可用放射自显影术 (Fry, Leshner 和 Kohn, 1962) 或者用缩时定格电影术 (Sisken和Wilkes, 1967) 来精确计算。

细胞周期时间 = T_c = 有丝分裂之间的时间 = 两个有丝分裂之间的间隔时间 = PLM曲线第一和第二升枝上两个相应点之间的间隔时间。在图1.4中，两个升枝上50%点之间的时间为27小时，因此 T_c 即为27小时。

此外，还有其它几种方法可以应用放射自显影术来计算细胞周期及其各时相的时间。但是标记有丝分裂曲线是一种广泛应用并能够得到最多信息的方法。一些优秀的书已经刊出放射自显影术的详细技术，并且对细胞周期分析的各种不同方法进行了讨论。但是，我倾向于 Baserga 和 Malamud (1969) 的方法，尽管它的历史较长，但仍然是有用的，因

•原文如此——译者