

中国科学院教材建设专家委员会规划教材

21世纪高等医药院校精品课程教材

(供基础、临床、口腔、精神、预防、麻醉、护理、检验、  
药学、生物、医学信息专业使用)

# 医学胚胎学

张建湘 主编



科学出版社

[www.sciencep.com](http://www.sciencep.com)

中国科学院教材建设专家委员会规划教材  
21 世纪高等医药院校精品课程教材

供基础、临床、口腔、精神、预防、麻醉、护理、检验、药学、生物、  
医学信息专业使用

# 医学胚胎学

张建湘 主编

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

本书是中南大学精品课程教育教材立项资助(中大教学[2003]92号)教材《医学组织学》和《医学胚胎学》中的一册。在长期从事组织学与胚胎学教学的基础上,编者按照医学本科培养目标要求,从深度和广度方面适应当前本科教学的实际需要编写而成。本书分为19章,第1~7章为胚胎学总论,第8~17章为人体各器官系统发生,第18~19章分别介绍先天性畸形与生殖工程技术。为了适应学科的发展和教学改革的要求,同时也考虑到学科的系统性,本书在常规本科教学内容基础上增加了新的内容,如生殖工程技术等。为了适应双语教学,本书最后给出了常见词汇的英汉对照及国际音标,这将有利于帮助教师和学生能正确听读专业词汇,这也是本书的一大特色。

本书适于高等医药院校五年制本科学生、长学制学生及老师作为教材使用,也适于从事妇产科学、生殖工程学等相关学科的临床、科研工作人员作为参考书使用。

### 图书在版编目(CIP)数据

医学胚胎学/张建湘主编. —北京:科学出版社,2006.3  
(中国科学院教材建设专家委员会规划教材,21世纪高等医药院校精品课程教材)  
ISBN 7-03-016576-4

I. 医… II. 张… III. 人体胚胎学-医学院校-教材  
IV. R321

中国版本图书馆CIP数据核字(2006)第144625号

责任编辑:裴中惠 李 君 / 责任校对:包志虹  
责任印制:刘士平 / 封面设计:黄 超

版权所有,违者必究;未经本社许可,数字图书馆不得使用。

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双 青 印 刷 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2006年3月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2006年3月第一次印刷 印张:13 1/2 插页:2

印数:1—4 000 字数:324 000

定价:24.80 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

## 《医学胚胎学》编写人员

主    编    张建湘

副 主 编    文建国

编    者    (以姓氏笔画为序)

文建国    (中南大学湘雅医学院)

王铁霞    (中南大学湘雅医学院)

卢晓晔    (暨南大学医学院)

肖  玲    (中南大学湘雅医学院)

严文保    (中南大学湘雅医学院)

杨  静    (中南大学湘雅医学院)

陈宁欣    (暨南大学医学院)

陈晓岚    (湘南学院)

陈良富    (怀化医学高等专科学校)

张建湘    (中南大学湘雅医学院)

屈丽华    (南华大学医学院)

赵国军    (南华大学医学院)

段炳南    (中南大学湘雅医学院)

常  青    (暨南大学医学院)

程  欣    (暨南大学医学院)

谭  灿    (中南大学湘雅医学院)

## 前 言

近年来,随着分子生物学技术、生殖工程技术以及发育生物学研究新方法的飞速发展与应用,使发育胚胎学得到了长足发展。特别是组织结构的发生、基因表达、基因调控、基因结构与功能等胚胎发育机制的研究已成为胚胎学研究的热点,使描述胚胎学研究深入到分子水平,即从观察生命发生现象深入到探索生命发生本质、揭示生命发生奥秘的分子胚胎学领域,极大地丰富了胚胎学的教学内容。可以说,发育胚胎学的发展与基础医学其他学科及临床医学的相互渗透,将对医学科学的发展起极大的促进作用。

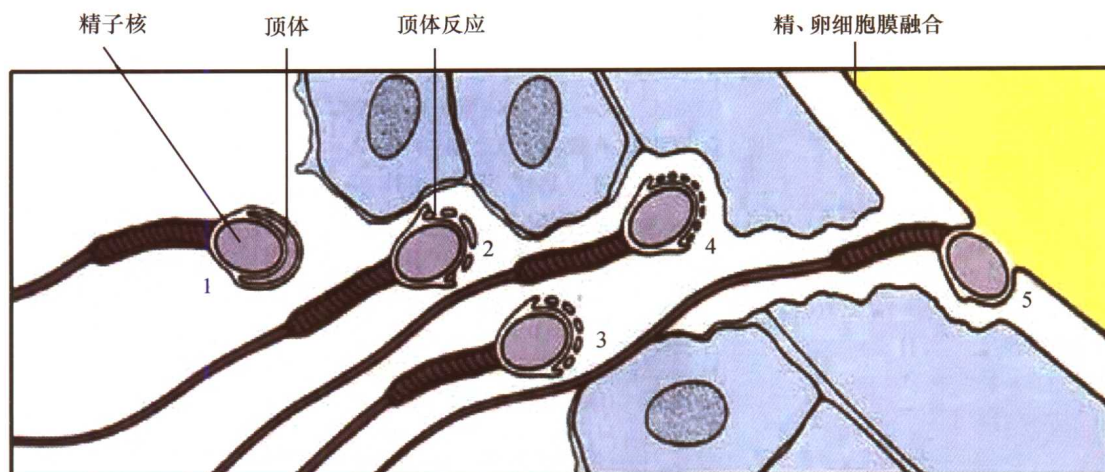
本书较全面地介绍了人类胚胎各器官系统的发生。本书除介绍人体胚胎发育过程中形态结构发生、发育与演变的基本知识与发育规律外,增加了组织结构的发生、胚胎发育机制等内容。在注重正常形态发生与功能建立相联系基础上,也注重异常发育与先天性畸形发生的关系。本书还比较详细地介绍了生殖工程技术(包括人工授精技术、胚胎体外发生与胚胎移植技术、胚胎克隆技术),供学生和从事该领域工作的人员参考。为了增加读者对本学科的全面了解,本书还对胚胎学中目前存在的一些有争议的问题进行了简要的介绍。为了适应双语教学,在书中我们给出了常见词汇的英汉对照及国际音标,这将有利于帮助教师和学生能正确听读专业词汇,为本书的一大特色。

本书主要用于医学本科教学,也致力于提高大专院校本专业教师和研究人员的理论水平和科研能力,致力于提高从事妇产科学、生殖工程学、儿科学等相关学科的临床工作者、计划生育工作者的理论知识和研究能力。

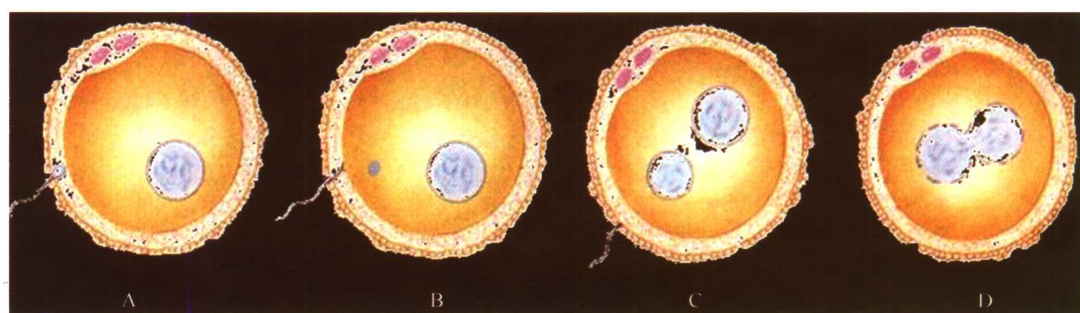
由于我们第一次单独编写胚胎学教材,编写经验不足,同时由于时间仓促,有些问题未能仔细推敲,在编写过程中可能出现这样或那样的疏漏或错误之处,恳请读者批评指正。谢谢!

张建湘

2005 年 12 月于长沙

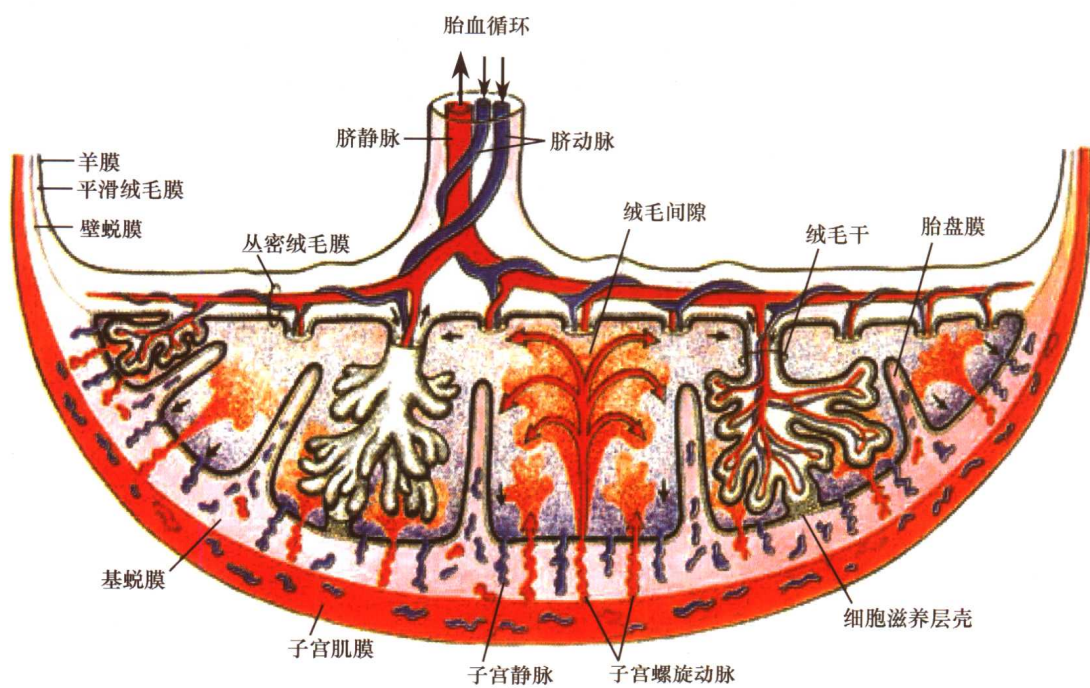


彩图 1 顶体反应过程示意图



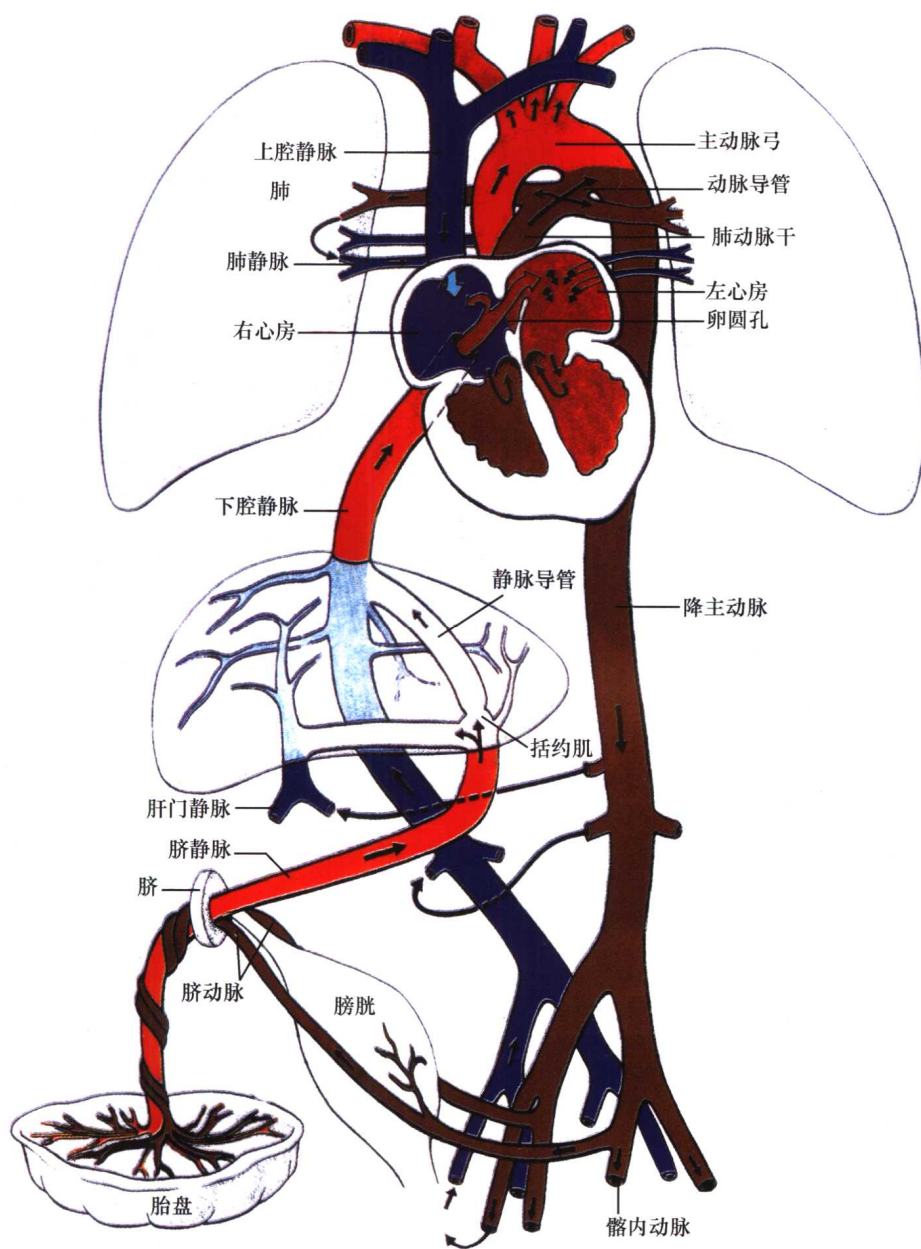
彩图 2 受精过程示意图

A. 精、卵膜融合；B. 精子核、质入卵；C. 雌、雄原核形成；D. 雌、雄原核融合



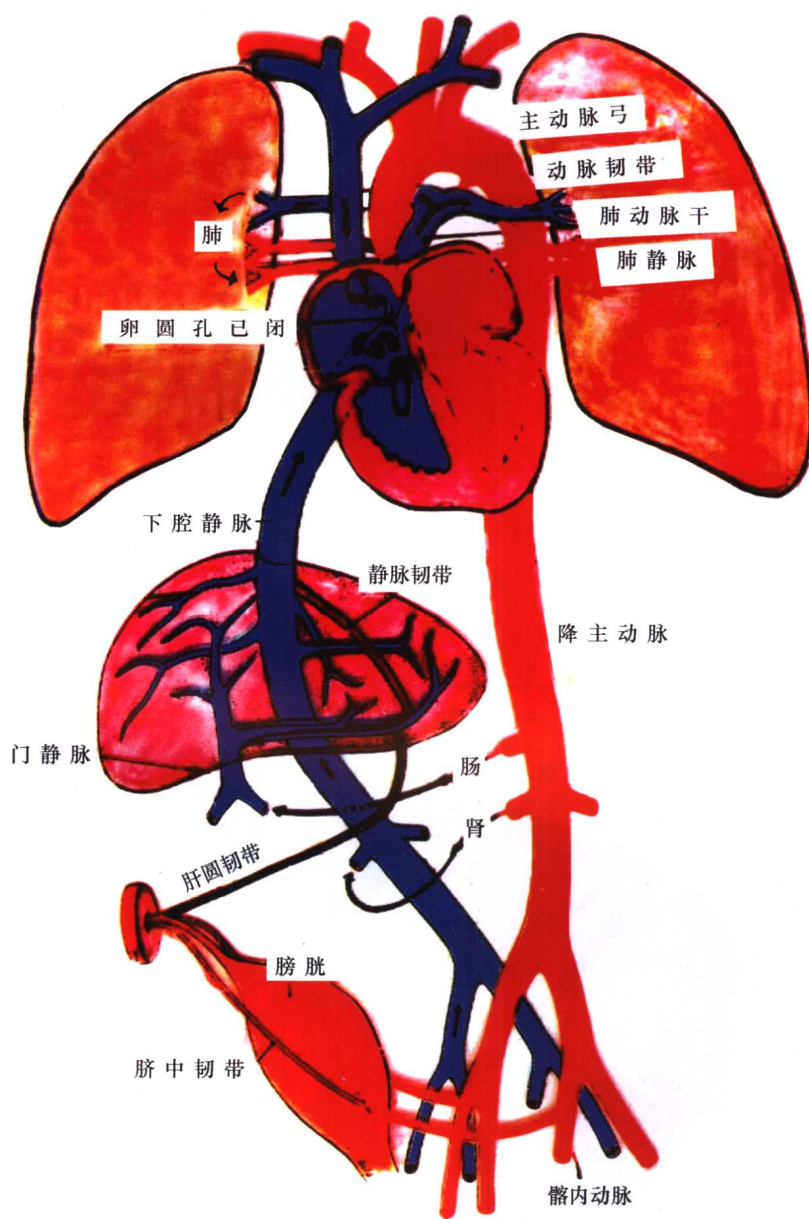
彩图 3 胎盘结构与血液循环模式图 (箭头所示为血流方向)  
 红色示富含营养与  $O_2$  的动脉血, 蓝色为含代谢产物与  $CO_2$  的静脉血





彩图 4 胎儿血循环途径示意图





彩图 5 胎儿血循环途径与出生后的改变示意图

# 目 录

|                              |    |                                     |     |
|------------------------------|----|-------------------------------------|-----|
| 第一章 绪论 .....                 | 1  | 第九章 神经系统的发生 .....                   | 66  |
| 一、胚胎学的研究内容 .....             | 1  | 一、神经组织的形成 .....                     | 66  |
| 二、胚胎学的意义及在医学课程中的<br>地位 ..... | 2  | 二、中枢神经系统的发生 .....                   | 67  |
| 三、胚胎学发展简史 .....              | 3  | 三、周围神经系统的发生 .....                   | 76  |
| 四、胚胎学的研究方法 .....             | 4  | 四、神经系统的主要畸形 .....                   | 77  |
| 第二章 生殖细胞与受精 .....            | 7  | 第十章 颜面、腭和颈的发生 .....                 | 79  |
| 一、生殖细胞 .....                 | 7  | 一、鳃器的发生 .....                       | 79  |
| 二、受精 .....                   | 9  | 二、颜面的形成 .....                       | 80  |
| 第三章 胚前期发育 .....              | 12 | 三、腭的发生 .....                        | 82  |
| 一、卵裂和胚泡形成 .....              | 12 | 四、颈的形成 .....                        | 83  |
| 二、植入 .....                   | 14 | 五、颜面和颈的常见畸形 .....                   | 84  |
| 三、胚盘的形成 .....                | 17 | 第十一章 眼和耳的发生 .....                   | 86  |
| 第四章 胚期发育 .....               | 20 | 一、眼的发生 .....                        | 86  |
| 一、三胚层的发生 .....               | 20 | 二、耳的发生 .....                        | 91  |
| 二、三胚层分化 .....                | 22 | 第十二章 四肢的发生 .....                    | 95  |
| 三、胚体外形演变 .....               | 25 | 一、四肢的发生与演变 .....                    | 95  |
| 第五章 胎盘与胎膜 .....              | 28 | 二、四肢发育的分子调控机制 .....                 | 99  |
| 一、胎膜 .....                   | 29 | 三、肢体的畸形 .....                       | 100 |
| 二、胎盘 .....                   | 34 | 第十三章 消化系统和呼吸系统的发生<br>.....          | 102 |
| 第六章 孪生、多胎与联体双胎 .....         | 38 | 一、消化系统的发生 .....                     | 103 |
| 一、孪生 .....                   | 38 | 二、呼吸系统的发生 .....                     | 112 |
| 二、多胎 .....                   | 42 | 第十四章 泌尿系统和生殖系统的发生<br>.....          | 116 |
| 三、联体双胎 .....                 | 43 | 一、泌尿系统的发生 .....                     | 117 |
| 第七章 胚胎各期发育特征 .....           | 47 | 二、生殖系统的发生 .....                     | 120 |
| 一、胚胎龄的推算 .....               | 47 | 第十五章 心、血管系统的发生 .....                | 128 |
| 二、胚胎各期发育特征 .....             | 47 | 一、原始心血管系统的建立 .....                  | 128 |
| 三、胚胎长度测量 .....               | 52 | 二、心脏的发生 .....                       | 130 |
| 四、胎儿体重、外形与行为变化 .....         | 53 | 三、静脉窦的演变、肺静脉发生及<br>永久性左右心房的形成 ..... | 136 |
| 第八章 体腔与系膜的发生 .....           | 55 | 四、弓动脉的发生与演变 .....                   | 138 |
| 一、体腔的形成和分隔 .....             | 55 | 五、心血管的组织发生 .....                    | 140 |
| 二、系膜的发生和演变 .....             | 58 |                                     |     |
| 三、先天性畸形 .....                | 62 |                                     |     |

|                          |     |                          |     |
|--------------------------|-----|--------------------------|-----|
| 六、胎儿血循环途径与出生后的改变 .....   | 140 | 一、先天性畸形的分类 .....         | 170 |
| 七、心血管系统常见的先天性畸形 .....    | 141 | 二、先天性畸形的发生原因 ...         | 172 |
| 第十六章 内分泌腺的发生 .....       | 145 | 三、致畸敏感期 .....            | 175 |
| 一、垂体的发生 .....            | 145 | 四、先天性畸形的预防和产前检查 .....    | 176 |
| 二、松果体的发生 .....           | 147 | 第十九章 人类生殖工程技术 .....      | 177 |
| 三、甲状腺和甲状旁腺的发生 ...        | 148 | 一、人工授精 .....             | 177 |
| 四、肾上腺的发生 .....           | 150 | 二、冷冻精子与冷冻精子库 ...         | 178 |
| 第十七章 免疫系统的发生 .....       | 153 | 三、体外受精-胚胎移植 .....        | 179 |
| 一、免疫细胞的发生 .....          | 153 | 四、显微授精技术、胚胎赠送与代埋妊娠 ..... | 182 |
| 二、免疫器官的发生 .....          | 162 | 五、哺乳动物的核移植技术 ...         | 182 |
| 三、原发性免疫缺陷疾病和淋巴器官畸形 ..... | 168 | 主要参考文献 .....             | 188 |
| 第十八章 畸形学概述 .....         | 170 | 英汉名词对照 .....             | 189 |

# 第一章 绪 论

## 一、胚胎学的研究内容

医学胚胎学(medical embryology)是研究人类个体发生、发育及其机制的科学,即研究从一个受精卵开始,通过细胞增殖、分化及形态发生,逐渐演变成为具有特定形态的胎儿的全过程科学。其研究内容包括生殖细胞发生,胚胎发育过程、发育规律和发育机制,胚胎与母体的关系,各种畸形发生及畸形发生的可能原因。但人类个体出生后,许多器官的结构和功能还未完全发育完善,还要历经较长时期的生长发育才能达到成熟,然后逐渐老化衰退,这一过程可分为婴儿期、儿童期、少年期、青年期、成年期和老年期。研究出生前和出生后生命全程的科学称人体发育学(development of human)。

胚胎发育仅指从受精卵开始到胎儿出生过程中胚胎细胞的分裂增殖(proliferation)、细胞分化(differentiation)与形态发生(morphogenesis)。细胞增殖是细胞通过有丝分裂使细胞数目增加;细胞分化是指细胞的化学成分、形态结构和功能呈现多样化的过程;形态发生是指由受精卵发育到成熟胎儿所经历的一系列有序的形态变化,包括胚体外形的建立与组织器官的发生。在细胞增殖过程中伴有细胞化学成分、形态结构和功能的分化,而在分化过程中出现了细胞或组织器官,乃至整个胚体的形态发生。

人体胚胎发育的全过程在母体子宫内进行,历时10个月经周期,俗称“十月怀胎”。即 $10(\text{月经周期}) \times 4(\text{周}) \times 7(\text{d}) = 280\text{d}$ ,除去月经周期排卵前14d,应为266d。通常将胚胎发育的全过程分为三个时期:①胚前期(preembryonic period),是指从受精卵发育到二胚层胚盘的出现,历时2周左右。②胚期(embryonic period),是指胚胎发育第3~8周,在此过程中三胚层形成,细胞逐渐分化;胎膜和胎盘的形;胚(embryo)的各器官、系统与胚体外形发育初具雏形。③胎期(fetus period),是指第9周到胎儿出生的发育阶段,此期胎儿(fetus)逐渐长大,各器官系统和组织结构逐渐发育成形,有的器官已出现了功能活动。近年来,还将第26周胎儿至出生后4周内的新生儿发育阶段称为围生期(perinatal stage),此期的母体、胎儿及新生儿的保健医学称围生医学,是近年兴起的一门应用性学科。

随着科学技术的发展与研究方法的更新,胚胎学也得到了飞速发展,并出现以下主要分支学科。

1. 描述胚胎学(descriptive embryology) 应用组织学、解剖学等形态学研究技术(包括光镜、电镜技术),研究胚胎发育过程中的形态发生、形态演变过程及其演变规律,包括胚体外形演变,从器官原基发育到永久器官的演变,系统的形成及细胞增殖、迁移和凋亡,是胚胎学重要的基本内容。

2. **比较胚胎学**(comparative embryology) 通过不同种系(包括人类)胚胎发育的研究,探讨生物演变和生物进化过程及其内在联系,以便更深刻理解人类胚胎发育。

3. **实验胚胎学**(experiment embryology) 通过对胚胎或体外培养的胚胎组织或细胞给予化学或物理因素作用,或施加显微手术,包括基因剔除或基因导入等方法,观察其对胚胎发育的影响,研究胚胎发育的内在规律,探索控制与调节胚胎发育的机制。

4. **化学胚胎学**(chemical embryology) 用化学或生物化学方法,揭示胚胎发育过程中各种化学物质的定性、定量、定位及其变化与代谢过程。

5. **分子胚胎学**(molecular embryology) 主要通过现代分子生物学技术,探索胚胎细胞分化过程中不同基因表达的时间顺序,空间分布与基因表达调控规律;研究基因表达产物,如蛋白质在胚胎发育过程中的作用,以揭示胚胎发育的分子机制。基因剔除或基因导入等方法也属于分子胚胎学范畴。这是当前胚胎学理论研究的热点和前沿领域。

6. **畸形学**(teratology) 在胚胎发育过程中,由于遗传因素或环境有害因素的影响,可导致胚胎异常发育,从而引起先天性畸形发生。畸形学旨在研究各种先天性畸形发生的原因、过程、机制和预防措施。

7. **生殖工程学**(reproductive engineering) 属胚胎学范畴中新兴的应用研究领域,即通过人工方法介入早期生殖过程,以获取人们所希望的新个体为目的,从事生殖技术包括人工授精、胚胎培养、胚胎移植、配子和胚胎冷冻、胚胎克隆等生殖技术研究。试管婴儿和无性繁殖的各种动物,如猴、羊和小鼠的问世,是该领域的辉煌成就。

本书以人体发生的描述胚胎学为主要内容,以专题讲座的方式介绍胚胎学研究的新成果,并适当介绍生殖工程技术与胚胎学实验研究方法。

## 二、胚胎学的意义及在医学课程中的地位

人体胚胎学作为研究人类个体发生的科学,是一门内容丰富多彩的学科。用著名学者加拿大胚胎学家 Moore 的话说,是一门充满魅力的学科。显然,胚胎学的学习具有重要的理论意义和实用价值,其理论意义在于能帮助人们用科学唯物主义的观点认识和理解生命个体的发生及发育。对于医学生来说,只有在学习了胚胎学之后,才算真正完整地了解人,了解作为个体的人是如何发生的,其外形、体内各系统、器官、细胞是如何发生演化的;也才能更深刻地理解解剖学、组织学、病理学、生理学、遗传学等学科中的某些内容,如组织学中干细胞的概念、病理学中根据细胞的胚层来源对恶性肿瘤进行的分类等。同时;胚胎学能为妇产科学、儿科学、男性学、生殖工程学、矫形外科学、肿瘤科学等临床学科提供必要的基础知识,具有重要的临床意义。产科医师只有熟悉有关胚胎发育过程以及胚胎和母体的关系,才能对孕妇进行正确的孕期保健指导、对异常妊娠做出正确的诊断和治疗;先天性畸形的预防、检测和治疗都需要畸形学的知识;生殖工程学为不育症患者带来福音,而胚胎学也是计划生育与优生赖以生存和发展的学科之一。

胚胎从一个细胞(受精卵)发育为具有特定形态的足月胎儿的过程中,其胚胎发育事件具有复杂性、隐秘性、微小性(早期胚胎十分微小)和不具有直观性,而且各种组织结构连续不断发生演变,这是胚胎学的研究对象不同于组织学的显著特点。因此,学习者既要了解

某一时期胚胎的立体形态(三维结构),也要掌握在不同时期这些结构演变的来龙去脉,即胚胎发育事件的时间与空间的结构变化。这不仅对于学好胚胎学十分必要,而且对于训练和培养动态的空间思维方法也很有裨益。

### 三、胚胎学发展简史

早在公元前4世纪,古希腊 Aristotle 对胚胎发育进行过观察,对鸡胚的发育做过一些正确的描述,但他推测人类的胚胎来源于月经血与精液的混合物。公元2世纪 Galen 在关于胎儿的形成一书中对胎儿的发育与营养及目前称之为尿囊、羊膜和胎盘的结构进行了描述。公元15世纪 Leonardo da Vinci 较为精确地描述了妊娠子宫、胎儿及胎膜的解剖图。1651年,英国学者哈维(Harvey, 1578~1658)出版的《论动物的生殖》,记述了多种鸟类与哺乳动物胚胎的生长发育,提出“一切生命皆来自卵”的假设。

17世纪显微镜的发明,开拓了观察细胞与胚胎发育的新领域。1677年,Hammer 和 Leeuwenhoek 先后发现了精子;而 Malpighi 观察到鸡卵中鸡胚的体节、神经管与卵黄血管,认为鸡卵中早就具有微型小鸡。他们提出了“预成论”的观点,认为在精子或卵子内存在初具雏形的幼小胚胎,以后逐渐发育长大为成体。这两派预成论者分为卵源论派和精源论派(图1-1),各持己见,争执不休。

1759年, Wolff 指出,精或卵中没有预先存在的胚胎结构,胚胎的四肢和器官是经历了由简单到复杂的渐变过程而形成的,因而提出了“渐变论”。1828年, Baer 出版的《论动物的进化》指出,人和各种脊椎动物的早期胚胎发育极为相似,具有共同的规律性。各种动物在胚胎发育过程中,必须经过胚层期,提出了胚层学说(germ layer theory)。随着发育的进行才出现了纲、目、科、属、种的特征。他认为,不同动物胚胎发育过程的比较,比成体的比较更能清晰地证明动物间的亲缘关系。Baer 的研究成果彻底否定了“预成论”,并创立了比较胚胎学。他被认为是“近代胚胎学之父”。1855年, Remark 根据 Wolff 和 Baer 的一些报道及自己的观察,提出胚胎发育的三胚层学说,这是描述胚胎学起始的标志。1859年,达尔文在《物种起源》中对 Baer 定律给予了强有力的支持,指出不同胚胎早期发育相似表明物种起源的共同性,后期的相异则是由于各种动物所处的环境不同所引起,把胚胎学与进化论联系起来。至19世纪60年代,德国学者 Müller(1821~1897)与 Haeckel(1834~1919)进一步提出“个体发生是种系发生的重演”的学说,简称“重演律”。这一学说大体上是事实,但由于胚胎发育期短暂,不可能重演全部祖先的进化过程,如在哺乳动物胚中可见一类似鱼的鳃裂,但未发展为鳃。

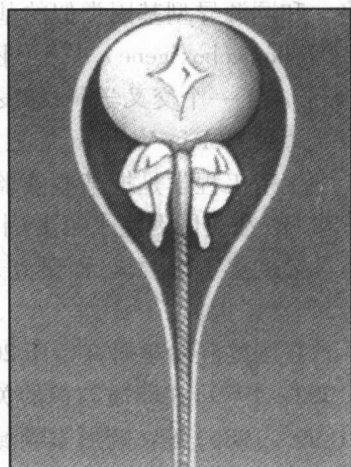


图1-1 精源论示意图

19世纪末,人们开始探讨胚胎发育的机制。德国学者 Spemann(1869~1941)应用显微操作技术,对两栖动物胚进行了分离、切割、移植、重组等实验。如移植的视杯可导致体表

外胚层形成晶状体;移植原口背唇至另一胚胎,使之产生了第二个胚胎等。根据这些结果,Spemann 提出了诱导学说,认为胚胎的某些组织(诱导者)能对邻近的组织(反应者)的分化起诱导作用。这些实验与理论奠定了实验胚胎学。他也因此于 1935 年荣获诺贝尔生理学及医学奖。其他著名学说还有细胞分化决定、胚区定位、胚胎场与梯度等。为了探索诱导物的性质,一些学者应用化学与生物化学技术研究胚胎发育过程中细胞与组织内的化学物质变化、能量消长、新陈代谢等特点,以及它们与胚胎形态演变的关系。英国学者 Needham(又名李约瑟,1900~1995)总结了这方面的研究成果,于 1931 年发表《化学胚胎学》一书。1912 年, Morgan 发展了“决定子”学说,提出了基因是遗传性状表现的物质基础。

现代胚胎学是从 20 世纪 50 年代随着 DNA 结构的阐明和中心法则的确立开始发展起来的,分子胚胎学和生殖工程学是其理论和技术进步的两大标志。随着分子生物学的兴起,人们开始用分子生物学的理论和方法研究胚胎发育过程,于是产生了分子胚胎学。研究表明,在胚胎发育过程中,最重要的不是个别基因的表达,而是这些表达在时间、空间上的联系与配合,即发育的遗传程序;而遗传程序是由调节基因控制的。迄今,这方面的研究主要应用生命周期短并易于操作的果蝇。已发现的重要调节基因群有:母体基因,其表达产物在卵细胞胞质内有特定的分布模式,可选择性地激活受精卵的基因,从而决定胚胎的体轴;分节基因,负责奠定体轴分节发育的格局;同源异型基因,进一步决定各体节的演化方向和形态特征,如头、胸、腹。这些基因群对果蝇胚胎发育构成了多层次的调控网络。和同源异型基因类似的基因已在包括人在内的多种脊椎动物胚胎发现,统称为同源框基因(homeobox gene)。分子胚胎学与实验胚胎学、细胞生物学、分子遗传学等学科互相渗透,形成了一个交叉学科,即发育生物学(developmental biology)。1995 年,胚胎学又一次赢得荣耀,Ntisslein-Volhard 等三人因对果蝇发育基因的研究而被授予诺贝尔奖。

生殖工程学是把某些实验胚胎学技术向应用方面发展形成了新的胚胎学分支学科。1978 年,在英国诞生了第 1 例“试管婴儿”,这是把体外受精、胚胎移植等技术用于治疗女性不孕症的第 1 次尝试;而研究人员把核移植技术用于哺乳动物,1997 年克隆羊“多莉”的诞生,轰动了世界。

我国的胚胎学研究始于 20 世纪 20 年代。朱洗(1899~1962)着重于研究受精,童第周(1902~1979)在卵质与核的关系、胚胎轴性、胚层间相互作用等方面有突出贡献,而张汇泉(1899~1986)等在畸形学领域以及张民觉等在体外受精、试管胚胎、胚胎移植、精液冷冻等领域都有深入研究。他们对开创和推动我国胚胎学的研究及教学中均做出了卓越贡献。

在 20 世纪 80 年代,我国胚胎学界和医务人员监测了 124 万围生儿,查明了我国出生缺陷(包括先天性畸形)的种类、发生率和地理分布;还收集了近万例从 3 周龄至足月的胚胎标本,进行了详细的研究,总结出版了《中国人胚胎发育时序与畸形预防》,这是我国第一部描述中国人胚胎生长、发育、形态变化的专著。

## 四、胚胎学的研究方法

胚胎学的研究方法很多,有的操作程序十分复杂,有的所用仪器极其精密,其原理涉及物理、化学、生物化学、免疫学、分子生物学等多学科的知识,在此不可能详细叙述。有些研



究方法已在科学出版社出版《医学组织学》(文建国,2006)“绪论”一章中做了比较深入的介绍,故在此仅对胚胎学常用的研究方法作一常识性的分类简介。

**1. 形态学方法** 观察胚胎在子宫内发育生长过程中外部形态发生和活动状态的演变,可用显微摄影术拍成电影后观察。研究胚胎内部结构的发生与演变,可用动物胚胎或流产的人胚胎进行解剖,肉眼观察,或制成切片标本,用光镜和电镜观察组织学结构(包括超微结构)。

**2. 组织化学方法** 研究胚胎发生过程中某些化学物质如糖类、脂类、核酸、酶等物质在组织和细胞中的分布,可用一般的组织化学技术;研究各种蛋白质的分布,则要用免疫组织化学技术;研究细胞内特定基因的有无或表达状态,需要显示其 DNA 片段或转录产物 mRNA,可用原位杂交技术。胚胎原位杂交技术:全胚原位杂交(whole mount in situ hybridization, WISH)是广泛用于胚胎发育调控基因表达研究的一种技术。全胚原位杂交的基本原理是用各种标记物标记与体内特定 mRNA 互补的 RNA 分子(反义 RNA),以它们作为探针与动物的整体胚胎进行原位杂交,然后用相应的抗体来检测特异探针的分布情况。近年来,该技术发展较快,不仅可以检测到较弱的杂交信号,而且可以多色杂交,检测多个基因的表达情况。它分为:①单色全胚原位杂交;②双色全胚荧光原位杂交;③胚胎组织切片原位杂交。

**3. 示踪法** 用于研究胚胎发育过程中细胞的增殖、迁移等动态变化。常用的示踪物有:①放射性核素标记的胸腺嘧啶,进入胚体后成为合成 DNA 的原料,然后用放射自显影术显示其存在部位,以揭示细胞的增殖状态。②中性红、尼罗蓝等染料,注入胚体后被某些细胞摄取而将细胞标记,可在较长时期追踪观察其存在部位。③绿荧光蛋白,是水母等腔肠动物的发光蛋白,可在荧光显微镜下看到。将该蛋白的编码基因导入所要研究的细胞,或(和)所要研究的基因融合,形成能够同时表达的融合基因后再导入细胞,这样可以跟踪观察标记细胞的空间位置变化,或某基因表达状态的变化。

**4. 分子生物学方法** 为了了解在胚胎发育期间有关调节基因的作用,一种途径是去除这种基因后观察发生什么变化,这便是基因剔除术(gene knockout)。另一途径是把某基因导入没有该基因的胚胎,看会引发什么变化,这称为转基因技术(transgenic technique)。基因剔除的程序是:首先,应用基因打靶技术,使体外培养的胚胎干细胞内的目的基因发生突变,达到抑制或灭活该基因的目的;然后,将这种胚胎干细胞注射到胚泡,再将胚泡植入假孕的母体子宫,使其发育为该基因缺陷的嵌合体;让这样的动物交配产生该目的基因缺陷的纯合子,即基因剔除动物。通过分析该动物性状的异常,可获知目的基因的功能。在转基因技术中,目的基因被称为转基因(transgene),可用显微注射法、电穿孔法、脂质体转染法等,使转基因进入受精卵、精子或胚胎干细胞;由这些细胞产生或参与产生的表达了转基因的动物,称为转基因动物(transgenic animal)。目前,已有转基因小鼠、转基因大鼠、转基因羊等。

此外,胚胎发育基因的启动子分析技术是研究胚胎发育基因功能的一种重要方法,特别在研究基因时空表达的分子机制方面,更是有突出的作用。通常,启动子分析包括基因特异调控序列、启动子(promoter)和增强子元件(enhancer element)的鉴别,它们都是基因转录活性的重要调控单元。胚胎发育基因的启动子分析技术包括:①分散囊胚细胞中的启动子分析;②完整胚胎中启动子的定量分析;③整体胚胎中启动子空间活性分析。

**5. 显微操作技术** 由于常用实验动物(两栖类、鼠等)的胚胎很小,许多实验胚胎学的

操作必须在显微镜下进行。在显微镜下向受精卵注入单个精子(用于试管婴儿技术)、体细胞核(用于克隆动物技术)或外源性基因(用于转基因技术),这些统称显微注射法,需要极其精密的注射仪器。

**6. 体外培养技术** 细胞培养、组织培养和器官培养均可用于胚胎学研究,但全胚胎培养最具特色。这包括植入前胚胎培养和植入后胚胎培养。植入前胚胎培养使用在体外受精形成的受精卵,或从输卵管中取出的2~8卵裂球胚卵,目前已能将其培养至胚泡期胚胎。将体外受精形成的人受精卵培养至8~16卵裂球胚卵再植入子宫的技术,为试管婴儿的成功奠定了基础。植入后胚胎培养是培养处于器官形成期的胚胎,常用于研究致畸因子及其致畸机制,可比体内实验较为迅速地获得较为准确的结果。此外,将不同的胚胎组织放在一起联合培养,是研究胚胎发育期间各组织相互作用(如诱导作用)的常用手段。

(张建湘)