

 21世纪高等院校教材

发育生物学

Developmental Biology

王玉凤 主编



科学出版社



中国生物出版集团

发育生物学

Developmental Biology

第三版 王明



中国生物出版集团

21 世纪高等院校教材

发育生物学

主 编 王 玉 凤
副主编 彭 宇

科 学 出 版 社
北 京

内 容 简 介

本书是编者在长期从事发育生物学研究和教学的基础上,参阅了大量的国内外文献资料和相关教材编写而成,比较全面系统地介绍了发育生物学的基础知识和基本理论,也适当兼顾了一些本领域的热点问题及最新研究进展。全书共分10章,生命发育的基本过程部分包括配子发生、受精过程及调控机制、三胚层的发生及分化、变态、衰老与死亡等;热点问题部分包括性别决定、干细胞与再生、发育异常与癌症等;植物发育部分包括植物生长发育的特点、植物开花诱导和花器官的发生、植物胚胎发生过程的基因表达调控等;发育与进化部分包括达尔文雀喙的进化、刺鱼骨骼的进化、*Hox* 基因与动物的形态进化等。

本书可作为高等院校本科生发育生物学课程教材,也可作为发育生物学、细胞生物学、遗传学、医学及农学等相关专业研究生有关课程的主要参考书和自学用书。

图书在版编目(CIP)数据

发育生物学/王玉凤主编. —北京:科学出版社,2011

21世纪高等院校教材

ISBN 978-7-03-032154-1

I. ①发… II. ①王… III. ①发育生物学-高等学校-教材 IV. ①Q132

中国版本图书馆CIP数据核字(2011)第170952号

责任编辑:席 慧 王国栋/责任校对:张怡君

责任印制:张克忠/封面设计:北京蓝正广告设计有限公司

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>

骏立印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2011年9月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2011年9月第一次印刷 印张:14 1/2 插页:2

印数:1—3 000

字数:334 000

定价:32.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

发育生物学 (developmental biology) 是 20 世纪中期发展起来的一门新兴学科, 是生物学的二级学科之一, 主要研究生物体整个生命周期的发展过程及其机制。随着动物克隆、人类基因组以及模式动植物基因组测序逐渐完成等一系列重大成果的突破, 基因、细胞和发育已经成为生命科学研究的一条主线, 对于发育的研究可为解决其他生命科学问题提供重要的线索。此外, 它在生产中的广泛应用已引起科学家的密切关注和浓厚兴趣, 发育生物学已成为 21 世纪的前沿学科和热门学科之一。为适应发育生物学的迅猛发展和高等学校发育生物学教学的需要, 我们编写了这本教材。

本书采用图文并茂的方式阐明发育的基本原理及相关的重要进展, 主要是按照个体发育的顺序来进行编排, 由生命的基础——生殖细胞的发生, 到生命的开始——受精, 再到胚胎发育、胚后发育至生命的衰退终止——衰老与死亡, 最后也涉及异常发育、发育与进化等。在编写过程中, 我们参阅了大量的国内外相关教材和文献资料, 如 S. F. Gilbert 的 *Developmental Biology* (8th Edition)、L. Wolpert 等的 *Principles of Development*, 国内桂建芳研究员等编著、张红卫教授等编著以及黄秀英等翻译的《发育生物学》等教材, 同时也结合了编者多年来在发育生物学教学和研究过程中的体会和部分成果。

参加本书编写的人员有来自华中师范大学、浙江大学、武汉大学、河北大学、湖北大学的专家教授及博士。华中师范大学王玉凤任本书主编, 吴华编写了第十章“发育与进化”, 赵浩斌参与了第六章“性别决定”、第三章第四节“胚轴的特化与体轴的建立”等内容的编写, 汪家林参与了第三章“早期胚胎发育”等内容的编写, 博士生郑雅参与了第一章第三节“卵子发生”等内容的编写; 浙江大学杨万喜参与了第一章第二节“精子发生”等内容的编写; 武汉大学张蕾编写了第九章“植物发育”; 河北大学康现江参与了第七章第一节“干细胞”等内容的编写; 湖北大学彭宇参与统稿, 编写了第五章第一节“变态”等内容, 并负责扫描、编辑了书中大部分图片, 负责编辑、校对参考文献等工作。此外, 华中师范大学发育生物学研究组的研究生袁林玲、王孟雨、江文波、李卫、王翠平、夏晓飞、张旗、郑金晶、骆谦、段俊丹等参与了前期的书稿校对等工作。本教材前期编写工作得到华中师范大学教材建设项目的支持。在此一并致以诚挚的谢意。

由于发育生物学研究进展太快, 加之编者水平有限, 书中的错误和欠妥之处在所难免, 衷心希望广大发育生物学教学和研究工作者以及学生多提宝贵意见, 以便修订时进一步完善。

王玉凤

2011 年 5 月于武昌桂子山

目 录

前言	
绪论	1
第一章 配子发生	12
第一节 原始生殖细胞的迁移	12
第二节 精子发生	13
第三节 卵子发生	18
第二章 受精	28
第一节 精卵相遇和识别	28
第二节 配子融合和卵子激活	31
第三节 雌雄原核结合	34
第四节 单性生殖	35
第三章 早期胚胎发育	38
第一节 卵裂	38
第二节 囊胚	46
第三节 原肠胚	50
第四节 胚轴的特化与体轴的建立	65
第四章 胚层分化和器官发生	84
第一节 外胚层的分化	84
第二节 中胚层与器官形成	92
第三节 内胚层与器官发生	106
第五章 胚后发育	110
第一节 变态	110
第二节 衰老与死亡	119
第六章 性别决定	125
第一节 无脊椎动物的性别决定	125
第二节 脊椎动物的性别决定	130
第三节 哺乳动物的性别决定	133
第四节 环境性别决定	140
第七章 干细胞与再生	143
第一节 干细胞	143
第二节 再生	150
第八章 发育异常和癌症	156
第一节 发育异常	156

第二节	癌症·····	160
第三节	肥胖与疾病·····	165
第九章	植物发育·····	167
第一节	植物生长和发育的特点·····	167
第二节	植物发育生物学的研究内容·····	168
第三节	植物开花诱导和花器官的发生·····	169
第四节	植物胚胎发生过程的基因表达调控·····	179
第十章	发育与进化·····	193
第一节	达尔文雀喙的进化·····	193
第二节	刺鱼骨骼的进化·····	200
第三节	<i>Hox</i> 基因与动物的形态进化 ·····	203
主要参考文献	·····	208
彩版		

绪 论

一、发育生物学的研究内容

发育生物学 (developmental biology) 是运用现代生物学技术, 研究生物体从精子和卵子的发生、受精、发育、生长、衰老、死亡等整个生命发生的变化过程及其变化机制的科学。

精子和卵子的发生是生命的基础, 受精是生命的开始, 发育、生长是生命的发展阶段, 衰老是生命的衰退阶段, 死亡是生命的终点, 所以发育生物学就是研究生物体整个生命周期的发展过程及其调控机制的科学。

同时, 发育生物学也研究生物种群系统发生 (systematic development) 的机制。

生物体在整个生命周期都处于动态的发育中。发育生物学与传统的胚胎学 (embryology) 不同, 传统的胚胎学是研究生物体从受精到出生之间的有机体的发育, 即研究从一个细胞 (受精卵, 或称合子) 通过一系列分裂和分化产生有机体的所有细胞和能自由活动的个体雏形的发育基本阶段的科学。然而, 有机体的发育在出生以后实际上还在继续, 如成年人的皮肤细胞每天都在更新, 人体骨髓每分钟都要产生大量的新的血细胞, 因此胚胎学只是发育生物学研究范围的一个部分, 发育生物学除了研究胚胎发育过程之外, 还涉及幼体、成年、老年等所有生命现象的发展过程, 同时还研究异常发育的过程及机制, 如癌症、畸形等。

二、学科发展史

(一) 古希腊是发育生物学的摇篮

对发育的研究可以追溯到公元前 5 世纪, 当时有一位叫希波克拉底 (Hippocrates) 的希腊医生首次对鸡的胚胎发育进行了研究, 他试图用热、湿和固化的效应来解释发育的机制。第一个系统地从事发育生物学研究的人是古希腊学者亚里士多德 (Macedonian Aristotle, 公元前 384~公元前 322 年), 他不仅是一个博学的哲学家、教师, 而且还是一个热忱的自然主义者。他通过对无脊椎动物和脊椎动物胚胎发育的一系列研究, 从而得出结论: 胚胎是逐渐形成的, 后人称之为“渐成论” (epigenesis), 这是唯物主义的观点。但同时他又相信, 导致胚胎发育的内部力量是灵魂, 灵魂导致跟它相类似的个体的产生, 这是典型的唯心主义的观点。可能由于亚里士多德的显赫名声, 人们在长达 2000 年之内都接受了他对发育方面的论断。

(二) 预成论与渐成论之争

2000 年之后, 才有人开始反对亚里士多德的观点, 这些人认为, 胚胎是成体的雏



绪图-1 Hartsoeker 绘
的人精子里的小人
(自 Hartsoeker,
1694, 经修改)

形, 个体发育是预先形成状态的逐渐展开, 这就是预成论 (theory of pre-formation)。其中包括精源说和卵源说。

1. 精源说

精源说以列文虎克 (Antoni van Leewenhoek, 1632~1723) 为代表, 他们认为, 预形成的雏形人已存在于精子中, 甚至有人绘出这样一幅图 (绪图-1), 在精子的头部有一个大头的微型人, 双臂抱膝, 蜷缩在里面。在发育时只需伸展开并长大就行了。

2. 卵源说

卵源说以著名的解剖学家马尔比基 (Marcello Malpighi, 1628~1694) 和斯瓦姆默丹 (Jan Swammerdam, 1637~1680) 为代表, 他们认为预形成的雏形人存在于卵子中。这是因为他们发现在昆虫的蛹 (当时以为是卵) 中存在有蜷缩成一团的小成虫, 所以他们认为人的发生也是这样的。

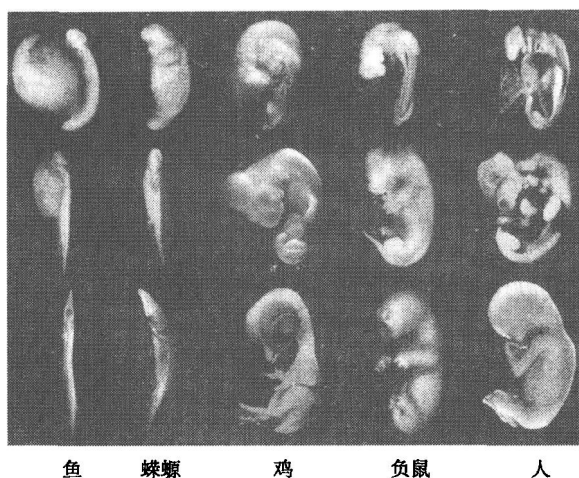
为了适应上述理论, 出生于瑞士的法国籍人庞奈 (Charles Bonnet) 于 1745 年提出了套装理论, 认为动物的卵子包含由它所生出的所有后代, 一个世代包含着下一个世代, 就像大盒套小盒一样, 以至于无穷。

然而, 以德国科学家沃尔夫 (Caspar Friedrich Wolff, 1738~1794) 为代表的渐成论支持者则认为, 一个生物的个体是由一些均一的结构在一定条件下逐步形成的。沃尔夫通过重新对鸡胚发育的研究, 认为一切器官都是由简单到复杂而形成的。这种朴素的唯物主义的渐成论在古希腊就提出来了。但他们在胚胎发育的机制上仍未摆脱唯心主义的影响, 认为一种内在力量“成形力”支配着胚胎的发育。

许多著名的生物学家都是后成论者, 其中包括著名的冯·贝尔 (Karl Ernst Von Baer, 1792~1876), 他通过比较了许多脊椎动物的胚胎发育之后提出, 所有脊椎动物只有在通过一个非常相近的胚胎期之后才发生发育途径的分化 (绪图-2), 这就是贝尔法则。

在此基础上, 赫克尔 (Ernst Haeckel, 1839~1919) 提出了“发生重演学说”或称为“生物发生律”, 认为个体发生是系统发生的微缩重演, 即从个体发生可以看到系统演化的过程。赫克尔的这个观点从发育生物学角度指明了生物进化的前后关系, 就这一点来说, 应该予以肯定。但是, 有机体的个体发育并非重复物种的系统发育过程, 而是重复以前的个体发育过程。每一代物种都重演了它们各自的个体发育历程, 这一个个发育历程与相关物种相比有或多或少的改变。此外, 所有脊椎动物的胚胎发育都经历一个高度保守的共同阶段, 这一阶段显示了所有脊椎动物共同的基本胚体结构特征, 因此生物发生律如果改为“所有脊椎动物重演了它们祖先胚胎的某些特征, 特别是种系特征性发育阶段的特征”, 还是适用的。

到 19 世纪, 细胞理论提出后, 预成论才销声匿迹, 绝大多数胚胎学家赞同了渐成论的理念。



绪图-2 所有脊椎动物在通过一个非常相近的胚胎期之后才发生发育途径的分化 (自 Richardson et al., 1998, 经修改)

(三) 细胞理论的提出

1839 年, 德国著名植物学家施莱登 (Matthias Jakob Schleiden, 1804~1881) 和生理学家施旺 (Theodor Schwann, 1810~1882) 提出了细胞学说, 认为所有生物有机体都是由细胞组成的, 细胞是生命的基本单位, 细胞只能由其他细胞通过分裂产生。因此, 发育不可能是预成的, 必然是逐渐变化的过程, 是渐成的。随之, 对于卵子的特性也有了新的认识。卵子也是一个细胞, 一个特殊的细胞。

(四) 20 世纪初的推动力和进步

20 世纪初, 随着遗传学的发展, 发育生物学得到了巨大的推动, 取得了长足的进步。

发育遗传学的第一个先锋是魏斯曼 (August Weismann, 1834~1914), 他首先预见到了基因的重要性, 指出后代所具有的双亲遗传特性来自于生殖细胞——精子和卵子, 来自于两性生殖细胞所携带的遗传特性。但真正把人们的目光引向细胞核的是赫特维希兄弟 (Oscar Hertwig, 1849~1922; Richard Hertwig, 1850~1937), 他们通过对海胆的研究发现, 遗传信息的携带者不是细胞质, 而是细胞核。他们的发现使人们认识到细胞核在受精和发育过程中的重要性, 导致了对核的主要成分, 即染色体的研究。19 世纪后期, 人们通过一系列的研究认识到, 合子细胞核的染色体中, 各有一半分别来源于两个亲代, 而合子的遗传信息在卵裂过程中平均分配到子细胞中去, 这就为遗传特性的传递提供了物质基础。

1926 年著名的遗传学家摩尔根 (Thomas Hunt Morgan, 1866~1945) 以果蝇为实验材料做了一系列研究, 创立了基因理论, 认为基因是遗传信息的携带者, 基因位于染

染色体上，他也因此于1933年成为第一个获得诺贝尔奖的生物学家。

施佩曼（Hans Spemann, 1869~1941）和他的学生以两栖动物胚胎为材料，用精细的外科手术方法进行了移植实验，观察到了“胚胎诱导”（embryonic induction）的现象，并提出了“组织者”（organizer）的概念，从而揭开了胚胎诱导的研究热潮，他也因此于1935年获得诺贝尔奖。

（五）现代发育生物学

现代发育生物学可以说是从20世纪50年代开始的，由于1953年Watson和Crick首次解释了遗传信息的载体——DNA的双螺旋结构模式，60年代Nirenberg对DNA遗传密码的破译，Jacob和Monod提出并证明蛋白质合成调控机制的操纵子学说等研究成果的获得，使得生物学家们认识到，遗传、发育和进化的共同基础是基因。因此许多科学家重返传统研究，以分子生物学方法来深化研究工作，发现了许多与发育有关的基因。1995年果蝇胚胎发育研究获得诺贝尔生理学或医学奖，2007年与小鼠发育研究有关的基因打靶技术的创立又获得了诺贝尔生理学或医学奖，2009年与衰老等相关的端粒和端粒酶的研究也获得了诺贝尔生理学或医学奖，标志着发育生物学进入了一个新的“黄金时代”。

总之，发育生物学是在胚胎学、细胞生物学、遗传学、生物化学和分子生物学等学科发展的基础上建立起来的，是各学科相互渗透的结果。发育生物学的整个发展过程是由形态的描述深入到机制的探讨，从器官、组织和细胞水平提高到分子水平。随着果蝇、斑马鱼、小鼠以及人类基因组测序的完成，基因、细胞、发育已经成为生命科学领域研究的一条主线，发育生物学正在成为一门新兴的学科，可以说，它的产生标志着生命科学发展的新阶段的到来。

三、发育生物学研究领域中的模式生物

要了解发育的程序，就要有适当的生物作为实验材料。将研究的注意力集中在一种或几种有代表性的“模式”生物上时，容易由浅入深，使对基础过程的分析上升到分子水平，从而在短时间内取得突破性的进展。理想的研究模型是科学发展的关键，如果研究模型选择合适的话，那么所要观察的现象和数据就能最大限度地反映出来，对实验研究的成功可以起到事半功倍的作用。在发育生物学的形成和发展过程中，许多划时代的成就往往都是建立在对一些模式生物的研究基础上的。

那些被选为模式的生物往往具有适合于研究的种种优势。在发育生物学研究中常用的模式生物有：海胆、线虫、果蝇、爪蟾、斑马鱼、小鼠等模式动物以及拟南芥等模式植物。

（一）海胆（sea urchin）

1. 作为模式生物的优点

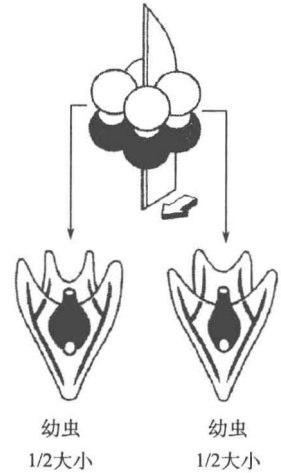
海胆在发育生物学中起了重要的作用。它作为模式生物的优点是：容易得到大量精

子和卵子用于实验；人工授精后，完全同步发育；胚体透明，便于观察；可在水中甚至在显微镜下发育；孵化速度快，仅需 1~2d 就可孵出幼虫，是研究极早期发育的好材料。

2. 经典实验

早在 19 世纪末，研究人员就用海胆的精子 and 卵进行过受精和胚胎发育等开创性的工作。即使在今天，海胆的卵仍然是研究受精、卵子激活和胚胎细胞周期的最好材料之一。在海胆中曾经做过一些经典性的实验，从这些实验中得出了发育生物学的重要理论。

Hans Driesch 在那不勒斯 (Naples) 做了如下的实验：如果在 2 细胞期或 4 细胞期，将分裂球彼此分开，每个卵裂球均能生成一个完整的海胆幼虫，甚至早期囊胚阶段也能一分为二，产生相同的孪生幼体，只是其体积要比正常的小一半（绪图-3），但提供的胚胎必须是在原肠之前一分为二的，且必须是沿动植物极轴分开的。这就是说，海胆胚胎细胞决定较晚，在胚胎早期如果移走或损伤部分胚胎，可由其他细胞代替或重编程序而补偿，即胚胎具有调节发育的能力。生物学家现在理解了调整发育是可能的，因为所有细胞都拥有全套的遗传信息，当沿卵轴切开时，两个半球都接受了动-植物极细胞质成分。



绪图-3 海胆胚胎的调整发育
(自黄秀英等, 1998)

(二) 线虫 (*Caenorhabditis elegans*)

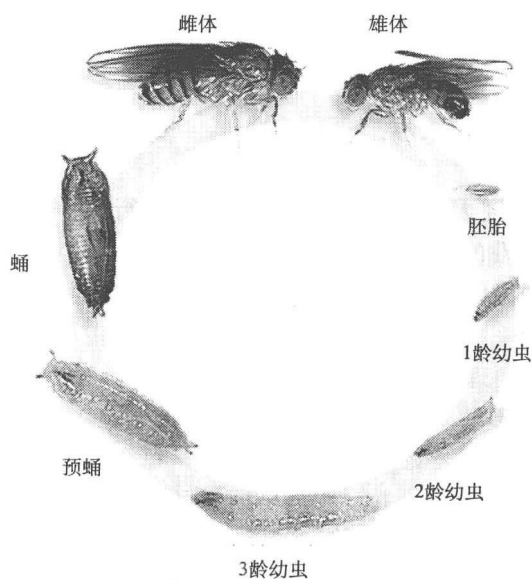
作为模式生物，线虫的研究已经进行了许多年，从对线虫的研究中得到了许多发育生物学的新发现或新理论。目前用作模式生物的一线虫为秀丽新杆线虫 (*C. elegans*)。

线虫作为模式生物的优点在于：它是最简单的多细胞动物；饲养简单，可以用长满细菌的琼脂培养皿在实验室培养；生活周期短，一般为 3.5d；胚胎发育速度快，25℃ 时只需要 12h；形态简单，表皮透明，容易追踪细胞分裂谱系；细胞的数目固定，幼虫产出时，有 556 个体细胞，2 个原始生殖细胞；幼虫经 4 次蜕皮后发育为成虫，若成虫为雌雄同体的个体，则含有 959 个体细胞和大约 2000 个生殖细胞；雄性个体中有 1031 个体细胞和约 1000 个生殖细胞；幼体可以直接进行冻存和复苏；基因组测序已经完成。

(三) 果蝇 (*Drosophila melanogaster*)

由于果蝇在遗传学和发育学中的突出贡献，有人把果蝇称为遗传学和发育学的国王。以果蝇为材料所做出的研究成果已经获得了 3 次诺贝尔奖。

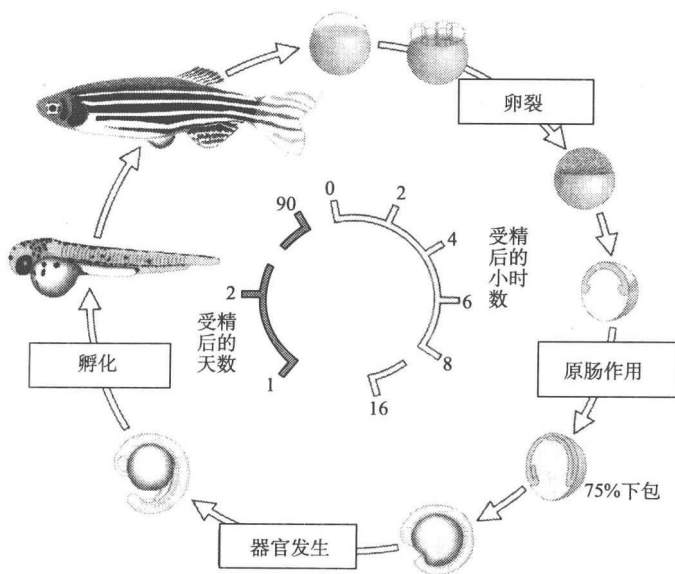
果蝇作为模式生物的优点是：生命周期短，胚胎在 25℃ 经过约 22h 可发育为 1 龄幼虫，再经 2 龄幼虫、3 龄幼虫、蛹，最后到成虫，大约只需要 10d 时间（绪图-4）；此外，它还容易繁殖；具有可进行基因定位研究的巨大的多线染色体；基因组测序已经完成，而且其异染色质区的基因测序结果也已公开 (Hoskins et al., 2007)。



绪图-4 果蝇的生活史 (自 <http://www.flickr.com/photos>, 经修改)

(四) 斑马鱼 (*Danio rerio*)

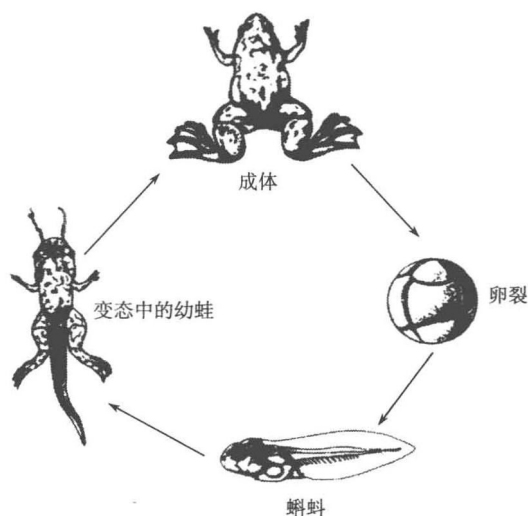
斑马鱼作为一个崛起者，已经引起许多科学家的注意。其作为模式生物的优点在于：容易在实验室里繁殖；胚体透明；发育速度快，水温合适时，一般 2d 即可出苗 (绪图-5)；易于诱变。



绪图-5 斑马鱼的生活史 (自 Wolpert, 2002, 经修改)

(五) 爪蟾 (*Xenopus laevis*)

爪蟾属于两栖纲，无尾目，负子蟾科，爪蟾属。因产于非洲，又被称为非洲爪蟾。爪蟾作为模式生物的优点在于：容易在实验室人工饲养；可通过注射促性腺激素，诱导其在任何时候产生配子；卵子较大，且在体外受精、体外发育（绪图-6），易于观察和实验操作。许多早期有关脊椎动物发育生物学的重大突破，如成熟促进因子（MPF）的鉴定及功能、胚胎诱导、体轴决定、原肠发生、核移植及体细胞克隆等有关发育生物学原理和知识，基本上都是来自于对爪蟾等两栖动物的研究成果。爪蟾在胚后发育阶段还有变态发育的过程，如蝌蚪褪去尾巴、长出四肢等，因此对研究细胞

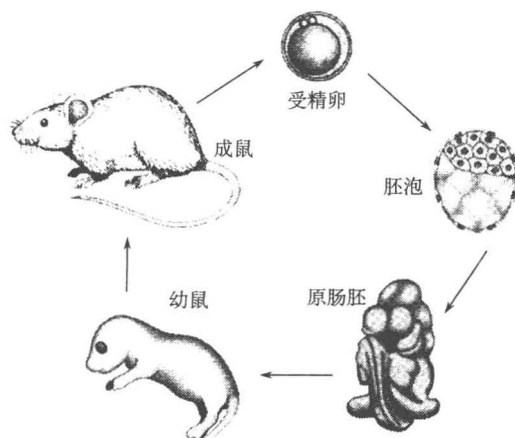


绪图-6 爪蟾的生活史（自桂建芳和易梅生，2002）

凋亡、激素调控等也是一种很好的材料，因而爪蟾不仅是脊椎动物发育生物学研究的一个重要的奠基者，而且仍然在本领域中发挥着重要的作用。

(六) 小鼠 (*Mus musculus*)

小鼠由于可作为哺乳动物的范例，已成为发育生物学的模式生物，得到了最大的关注。包括人类在内的哺乳动物胚胎发生和低等脊椎动物有明显不同，为胎生，即胚胎必须借助胎盘从母体获取营养，在母亲的子宫内完成胚胎发育过程。其发育机制不仅比其他低等脊椎动物要复杂得多，而且其研究过程也相对比较困难，因为哺乳动物的受精和



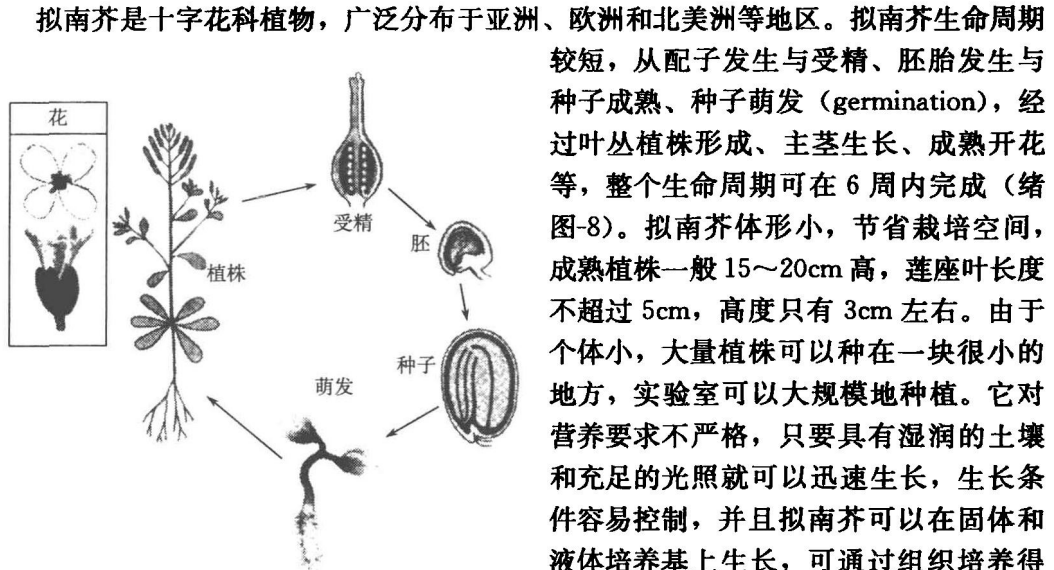
绪图-7 小鼠的生活史（自桂建芳和易梅生，2002）

胚胎发育是在体内进行的，不便于进行连续观察或遗传发育操作实验。尽管如此，借助于小鼠这一理想的实验模型，科学家们还是揭开了许多关于哺乳动物发育的奥秘。

从受精卵发育至成熟小鼠，只需要9周的时间（绪图-7），这个时间相对于其他哺乳动物来说还是很短的。小鼠的繁殖不因季节的不同而有所改变，具有大量可靠的有图谱的突变体，可以相对容易地产生转基因动物，因此，小鼠成为哺乳动物发育的领先模式。2007年诺贝尔生理学或医学奖授予3位以小鼠为

研究对象的科学家：Mario R. Capecchi、Martin J. Evans 和 Oliver Smithies，以表彰他们在使用胚胎干细胞对小鼠的特定基因进行改造中所作出的杰出贡献。他们发明的基因打靶技术为研究某些特定基因在发育、生理以及病理等方面的作用提供了重要的手段。

(七) 拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)



绪图-8 拟南芥的生活史及其主要阶段 (自桂建芳和易梅生, 2002)

拟南芥是十字花科植物，广泛分布于亚洲、欧洲和北美洲等地区。拟南芥生命周期较短，从配子发生与受精、胚胎发生与种子成熟、种子萌发 (germination)，经过叶丛植株形成、主茎生长、成熟开花等，整个生命周期可在 6 周内完成 (绪图-8)。拟南芥体形小，节省栽培空间，成熟植株一般 15~20cm 高，莲座叶长度不超过 5cm，高度只有 3cm 左右。由于个体小，大量植株可以种在一块很小的地方，实验室可以大规模地种植。它对营养要求不严格，只要具有湿润的土壤和充足的光照就可以迅速生长，生长条件容易控制，并且拟南芥可以在固体和液体培养基上生长，可通过组织培养得到再生植株。一株拟南芥的种子量很大，如果长得好，可结上万粒种子，便于遗传分析和扩增种子库，并且拟南芥植株

通常为自花授粉，但是在实验室也可以人工杂交完成授粉，对于隐性、致死型突变体便于遗传操作。由于拟南芥具有这些独特的生物学特性，目前已成为植物发育生物学研究中最受欢迎的模式植物 (model plant)。拟南芥基因组全序列在 2000 年底已测定完成，这是第一个已完全测序的开花植物，使得拟南芥基因的克隆、结构与功能分析的研究有了飞速发展的条件。现在已有越来越多的科学家投身于拟南芥的研究中，拟南芥的研究也因此而越来越广泛，越来越深入。

(八) 其他的模式生物

在发育生物学日益发展的时期，又有一些生物被许多科学家看中并得到了很好的应用，对它们的研究取得了很多重要成果，有的直接为人民的生活带来了巨大变化。例如，与人们的生活密切相关的水稻、玉米等基因组测序陆续完成并发布，一些重要基因的发现和功能鉴定正在并将为提高农作物的产量和质量做出巨大贡献。另外，由于鱼类普遍具有产卵量大、体外受精、体外发育、胚体透明等特点，除了斑马鱼之外，还有一些鱼类也深受发育生物学家的喜爱，如青鳉 (*Oryzias latipes*)、红鳍东方鲀 (*Fugu rubripes*) 等。此外，一种中国特有的小型鱼类——稀有鮕鲫 (*Gobiocypris rarus*) 也具备作为发育生物学模式生物的多种优点，正在引起人们的兴趣。

四、发育生物学研究技术

自 20 世纪 90 年代以来,发育生物学取得了突飞猛进的发展,已成为当今最活跃的生命科学研究领域之一。发育生物学研究技术也不断推陈出新,进一步推动了本学科的发展。下面介绍几种常用的发育生物学研究技术。

(1) 试管婴儿技术。把卵从输卵管中取出,放在试管中进行受精和早期发育,并做各种实验和观察。所谓胚胎移植、试管婴儿,就是这种技术的应用。

(2) 超微结构分析技术。主要运用各种电子显微镜,如透射电镜、扫描电镜等对细胞的超微结构进行观察和分析的技术。

(3) 示踪技术。就是应用各种放射性同位素或发光的荧光素来标记某些化学分子或氨基酸中某种元素,然后追踪这一元素、化学分子、氨基酸或其他大分子在生化合成或代谢过程中的动态变化情况。

(4) 免疫化学及原位杂交技术。基于免疫学研究中抗原和抗体间特异性反应,在显微或亚显微结构水平上,对某些特异性物质(蛋白质、核酸等)进行定位研究的技术。该技术是研究蛋白质、基因等在组织细胞内定位及表达情况的最直接和最有效的手段。

(5) 微阵列技术(microarray)。其基本原理是,由成千上万个 DNA 样品或寡核苷酸,密集排列于硅片、玻片或尼龙膜等固相支持物上,再与模板在严格条件下进行杂交,最后由激光共聚焦显微镜等设备获取图像信息,通过计算机分析处理获得信息的技术集合。微阵列又常称为微排列或微点阵,目前新兴的 DNA 芯片(DNA chip)即是微阵列中最主要的一种。DNA 芯片的分子杂交原理与 Southern 和 Northern 的分子杂交是相同的,都遵循 DNA 的碱基配对和序列互补原则。尽管这一技术的基本原理和以前的滤膜杂交相同,但其精度、规模、速度和自动化程度都是经典的杂交技术不能比拟的。微阵列技术能够在小的载玻片上排列千百万个 DNA 探针,一次杂交即可完成数据的收集和分析。通过微阵列技术可以很快查清正常发育和异常发育个体中的基因表达差异。差异表达的基因的生物学意义单从基因本身是不能明了的,接着需采取的跟踪这些基因功能的技术是诱导突变。

(6) 诱导突变技术。要对特定基因的功能进行追踪,有效的手段是设法将该基因完全敲除(knock out)或敲降(knock down)或者使其过量表达(over-expression),检测其对生物发育的影响。

基因敲除是通过同源重组使特定靶基因失活,以研究该基因的功能,是基因打靶最常用的一种策略。其主要过程为,构建一个携带有选择性标记的 DNA 突变序列的打靶载体,其侧翼是与基因组中靶基因同源的序列,将载体导入胚胎干细胞,通过同源重组,突变 DNA 序列取代基因组中的同源序列,通过选择性标记筛选出突变成功的胚胎干细胞,再将这些突变成功的胚胎干细胞注射入发育中的囊胚,这些细胞能够整合入囊胚中,将囊胚转入代孕母体的子宫内进一步发育,最后母体产出携带有突变基因的嵌合小鼠,再通过杂交等手段,得到纯合突变体。

传统的基因敲除、转基因等方法要么技术要求苛刻,要么过程繁琐令人望而生畏。

采用 RNA 干扰 (RNAi) 技术进行基因敲降, 则可以克服上述弱点, 其快速、可靠、经济的特点吸引了越来越多的生物学家的重视。RNAi 是由双链 RNA (dsRNA) 导入而引起的基因沉默 (gene silencing) 现象, dsRNA 经酶切成为 siRNA (short interfering RNA), 进一步形成 RNA 诱导的沉默复合体 (RNA induced silencing complex, RISC), 在 siRNA 引导下切割靶 mRNA。该技术具有快速、高效、易于操作等优点, 已被广泛应用于发育过程中基因功能分析等众多领域。两位美国科学家 Andrew Z. Fire 和 Craig C. Mello 正是因为此项发现分享了 2006 年的诺贝尔生理学或医学奖。

基因过量表达 (功能获得性突变) 常被用于检测一些生物学过程中的一些负调控因子的功能。在果蝇中常用 UAS-Gal4 系统进行功能获得性突变研究, 该方法是将靶基因克隆到一个含有特殊的上游激活序列 (UAS) 区的载体上, 使其处于 UAS 的调控之下, 该 UAS 区含有酵母的转录激活因子 GAL4 的结合位点, 当带有这个重组基因的转基因果蝇与带有转 GAL4 基因的果蝇进行杂交时, GAL4 蛋白就与 UAS 相结合, 启动其下游的靶基因大量表达。研究者可以利用组织特异性的启动子或增强子, 将 GAL4 基因与其相连接, 建立 GAL4 转基因品系, 通过这种启动子以细胞和组织特异性的方式来控制 GAL4 的时空表达, 也就可以控制目的基因在特殊的时间和空间进行表达。目前该方法也被用于斑马鱼等其他生物的研究中。

发育生物学可采用的研究方法很多, 并且日新月异。这些方法正在推动发育生物学进入一个飞速发展的时代。

五、发育生物学在生产实践中的应用

发育生物学不仅是一门研究生命基本问题的基础科学, 而且也是一门应用科学。

在医药卫生方面, 应用发育生物学原理可以解释畸胎和某些肿瘤形成的机制, 合理的方法以避免畸胎和肿瘤的发生。发育生物学帮助人们了解某些不良的环境因子诱导的异常发育, 从而采取措施避免畸形胎儿的产生。基于染色体异常或基因突变的异常发育可帮助人们进行产前筛查。体外人工授精和早期胚胎的移植, 即“试管婴儿”的产生可为不孕妇女解决难题。另外, 基因治疗可将基因导入病变组织或细胞, 经过培养后再将这些组织或细胞移植到患者体内, 来治疗基因缺失或基因突变病。对发育过程的关键调控基因或信号分子的揭示将提供大量的基因治疗的潜在靶点。对发育机制的进一步了解还将帮助制药业设计和生产有效的药物预防和治疗癌症及一些退行性疾病, 如糖尿病、关节炎、帕金森病等。生长和再生过程的机制已经在临床上得以应用, 如造血生长因子已被用于那些因化疗而导致血细胞严重减少的癌症患者等。有人预测, 转基因哺乳动物的器官或用干细胞诱导产生的器官等用于人类进行器官移植也可望在不久的将来成为现实。

转基因动物也开创了生物医药产生的新途径, 让药物蛋白基因在乳腺表达, 不但产量高, 易提纯, 而且表达的蛋白经过充分修饰加工具有稳定的生物活性。我国的研究人员采用该方法, 使得人凝血因子 IX 蛋白在小鼠的乳腺中大量表达, 这种凝血因子是治疗血友病的珍贵药物 (张克忠等, 1998)。