



第六章 发育

第一节 细胞分化与胚胎发育

第二节 发育的细胞与分子生物学机制

第三节 几种发育模式生物的特征

第四节 干细胞和动物克隆

发育生物学是连接分子生物学、细胞生物学和个体生物学的桥梁

- 单个细胞中众多基因的结构、功能和表达上的差异最终必然会在细胞和生物个体水平上得以体现。
- 尽管生物个体的不同细胞都具有相同的基因组，但这些细胞中**基因的差异表达**和**特异蛋白质的合成**正是导致细胞分化的根本原因。
- 一个细胞（受精卵）不断分裂和分化，即一个有机体从其生命开始到性成熟的变化过程称为**发育**。
- 发育是有机体以遗传信息为基础进行自我构建和自我组织的过程，是基因按照特定的时间和空间选择性表达并逐步转化为特征表型的过程。
- 个体发育和与环境相适应的生物进化间的必然联系又将我们对发育生物学的认识向进化生物学延伸。

第一节 细胞分化与胚胎发育

一、生物体发育的基本阶段

- 从一个受精卵开始，经过细胞的**分裂**、**分化**、**相互诱导**，最终形成生物雏形即胚胎的过程称为**胚胎发育**。
- 胚胎发育阶段以后，生物的发育还会持续进行。
- 发育生物学与胚胎学的关系最为紧密，现代发育生物学特别注重对胚胎发育过程及机制的研究。
- 无论是动物还是植物，其胚胎发育过程都要涉及**细胞分裂**、**形态发生**和**细胞分化**这三个基本阶段。

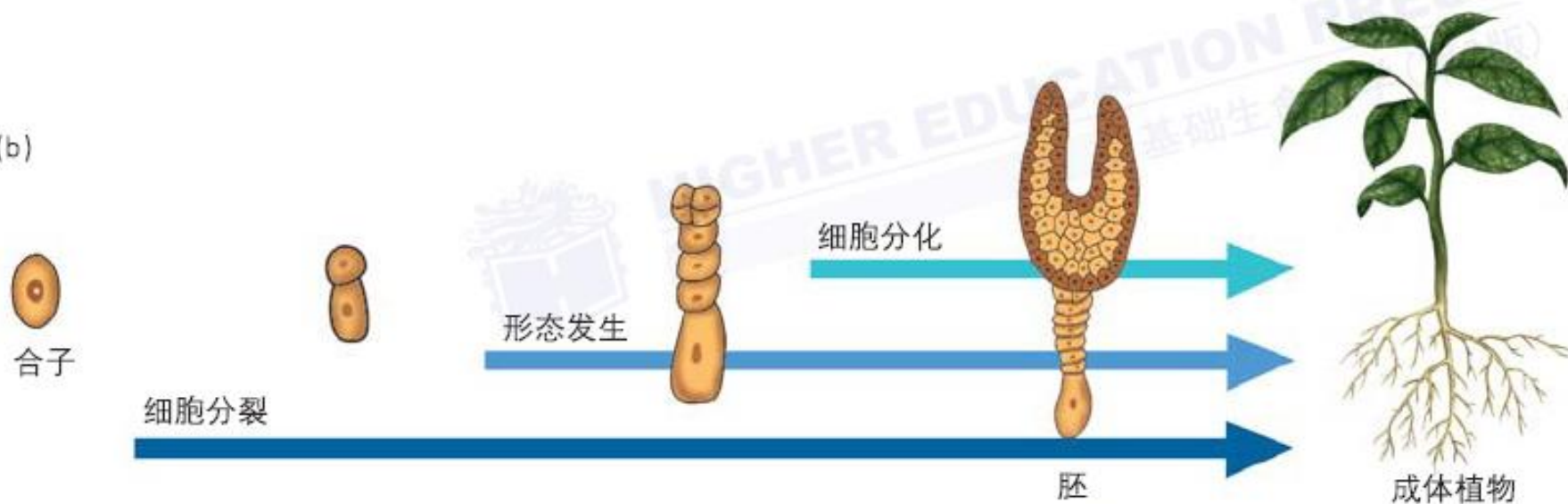
- **细胞分裂**是由受精卵细胞不断进行有丝分裂，通过细胞的快速增殖，为发育进程持续提供新细胞的过程。
- **细胞分化**就是经过细胞分裂产生的许多细胞在发育潜能、形态、结构和功能上特化即产生差异的过程。细胞分化按照一定的时空顺序发生，并沿着生物特定的模式进行。
- 细胞分裂和分化的结果产生了一定结构和功能的组织和器官，产生生命个体具特定结构和功能的不同部分和整体形态的物理过程称为**形态发生**。
- 细胞分裂、形态发生和细胞分化在时间上是相互重叠或叠合的。

动物与植物发育的重要阶段。

(a)



(b)



动物和植物在其发育过程和机制方面的差别

特征	动物	植物
细胞迁移	通过细胞迁移将胚胎发育早期形成的细胞团转变成动物体特定的三维形态结构	没有细胞迁移现象的发生
生长和形态发生	只局限于胚胎发育期	持续于整个生命周期。如植物茎尖和根尖的顶端分生组织可以不断地通过细胞分裂和分化，产生根、茎、叶等新的器官

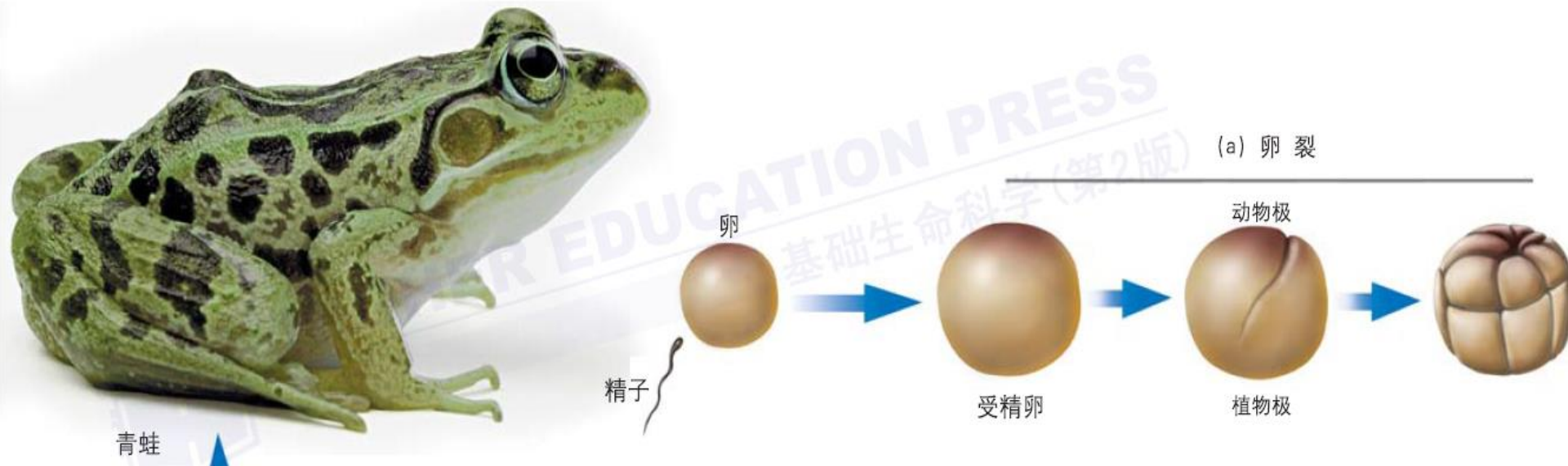
二、动物的发育

- 脊椎动物的发育以**受精**为起点，单细胞受精卵经过**卵裂**形成多细胞**囊胚**，囊胚发育成具有三胚层（有些低等动物仅有二胚层）的**原肠胚**，然后经过**神经胚**期初步确立体形特征，再经过进一步的**器官发生**以后，便完成了胚胎的发育。
- 胚胎发育完成后，一些早熟的动物具备了独立生活的能力，而大多数哺乳动物还会在母体内完成早期的胚后发育。胚胎发育、幼体生长、成熟、衰老和死亡各阶段构成了动物完整的生活史。
- 性成熟的动物个体的生殖细胞通过减数分裂产生单倍体配子，即精子和卵，精子和卵经过受精作用又融合形成二倍体的受精卵，开始了新一轮的发育过程。

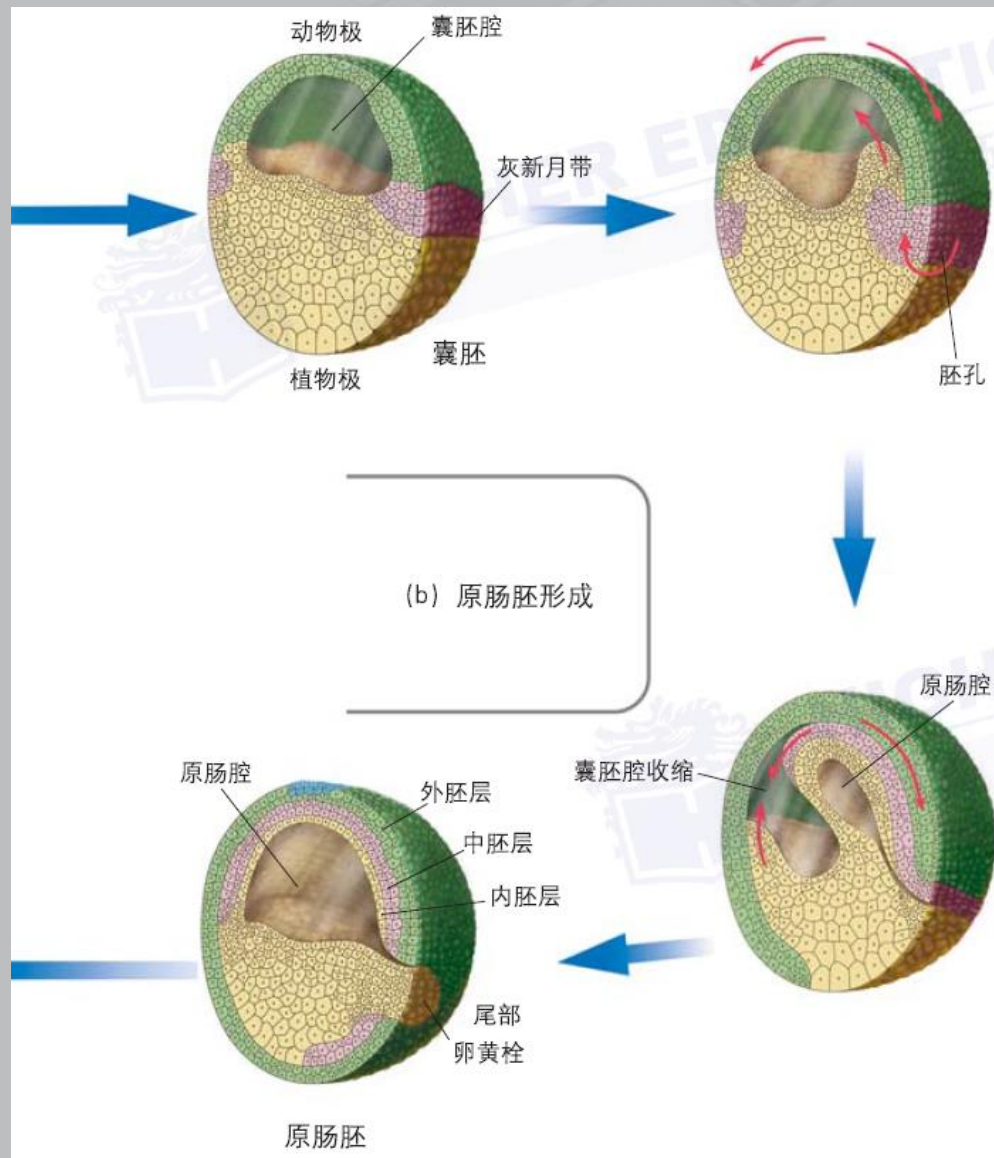
■以蛙为代表的脊椎动物发育的一般过程

细胞核位于卵的上部，卵的上部称为**动物极**，下部称为**植物极**。

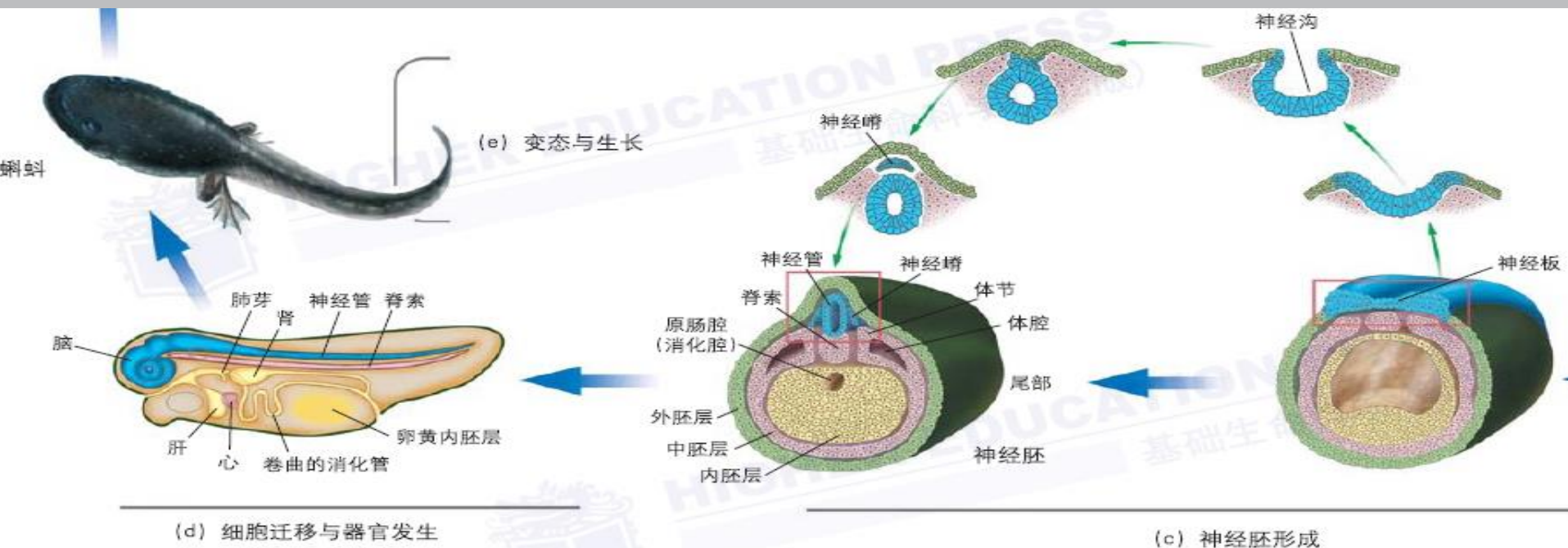
- 蛙胚发育经过大约12次分裂的卵裂期形成了**囊胚**，又称**桑椹胚**。细胞**尚未出现可明显观察的分化**是卵裂至囊胚形成阶段最显著的特征。

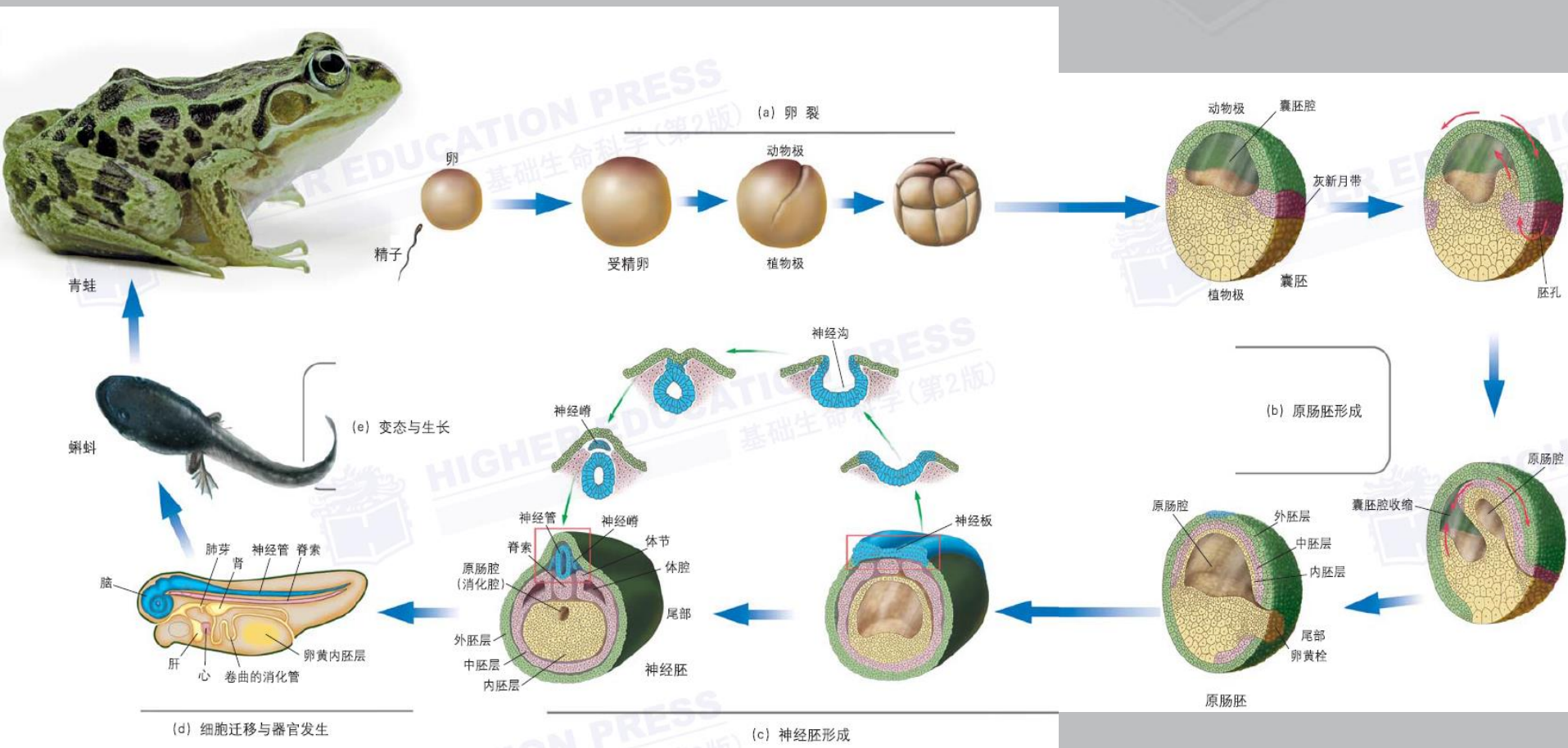


●形成囊胚后，细胞分裂速率降低，囊胚细胞活动加剧，通过位置变换和细胞重排，启动了原肠胚的形成，囊胚细胞的分化更明显，最终发育形成**原肠胚**的三个胚层。



- 3个胚层的建成是胚胎发育最重要的阶段。
- 原肠胚形成后，随着神经板和脊索的分化，完成了神经胚期的发育过程后，动物的体形特征基本确立。
- 以神经胚形成为起始的器官发生过程中，各器官原基按照特定的模式和顺序进行快速的细胞分裂和分化，协调地建成各种器官。器官建成以后，胚胎发育过程便完成了。
- 脊椎动物的器官发育还伴随着细胞迁移的过程。





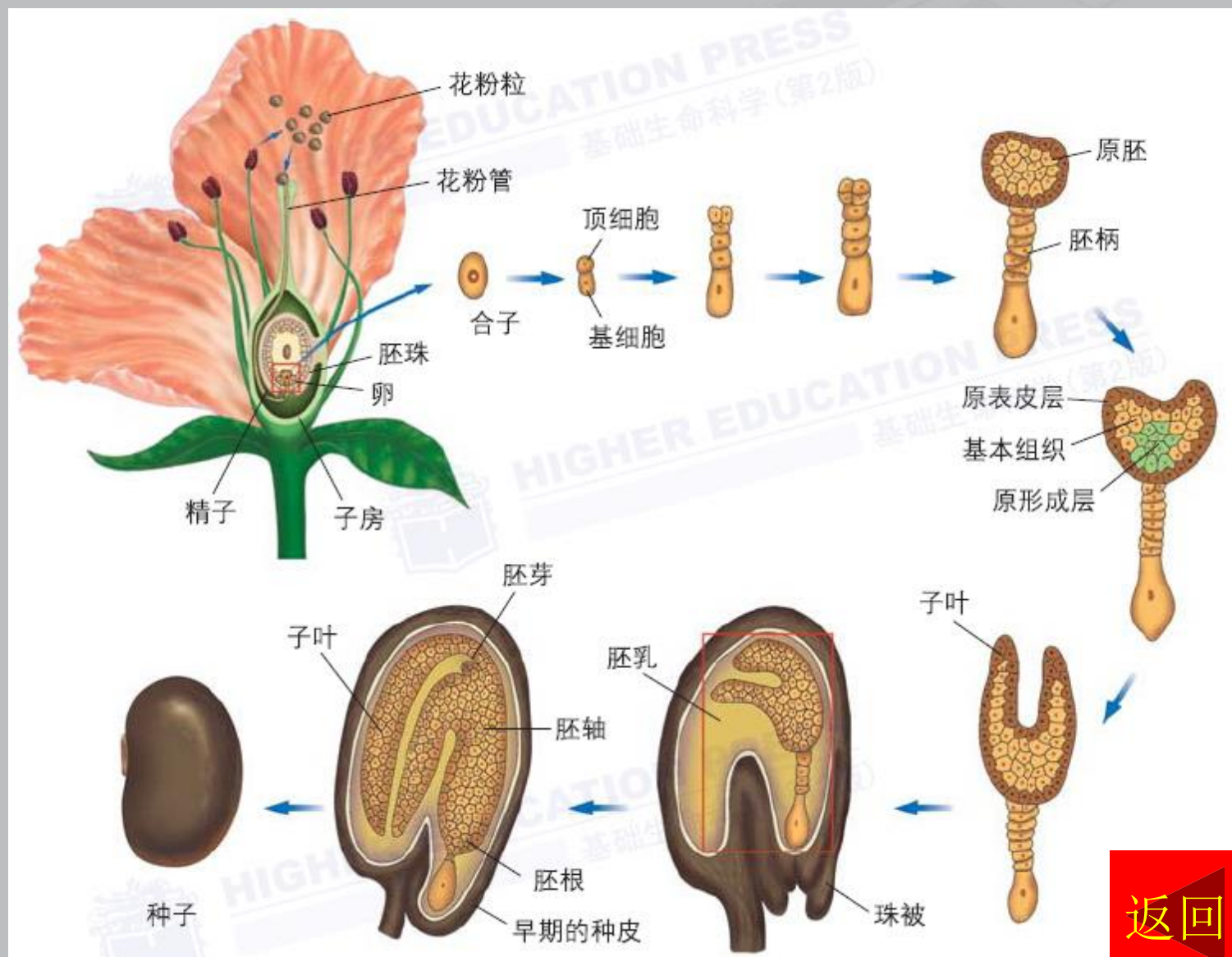
三、植物的发育

常见的典型被子植物的发育阶段包括：

- 在植物的繁殖器官-花中，受精卵（常称为合子）分裂产生胚并形成种子；
- 种子离开母体后，条件适合时在土壤中萌发，由植物胚胎内的分生组织细胞分裂和分化形成植物幼苗；
- 幼苗进一步生长并发育产生成熟的根、茎、叶、花等植物器官。
- 大多数植物在一生中都可保持连续地生长和发育。植物之所以能够持续生长是因为在植物体的生长部位具有分生组织。

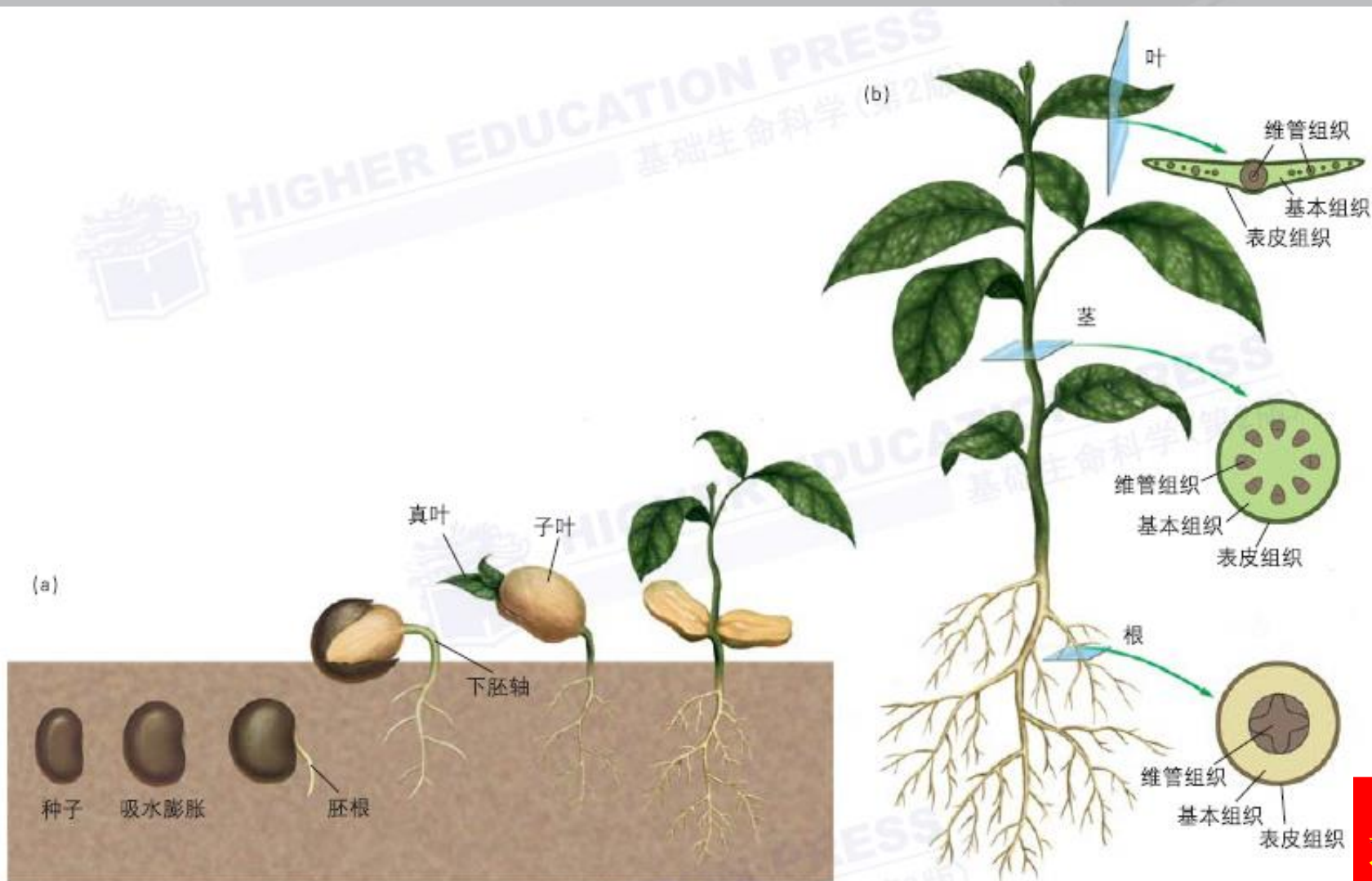
被子植物的繁殖过程和生活史

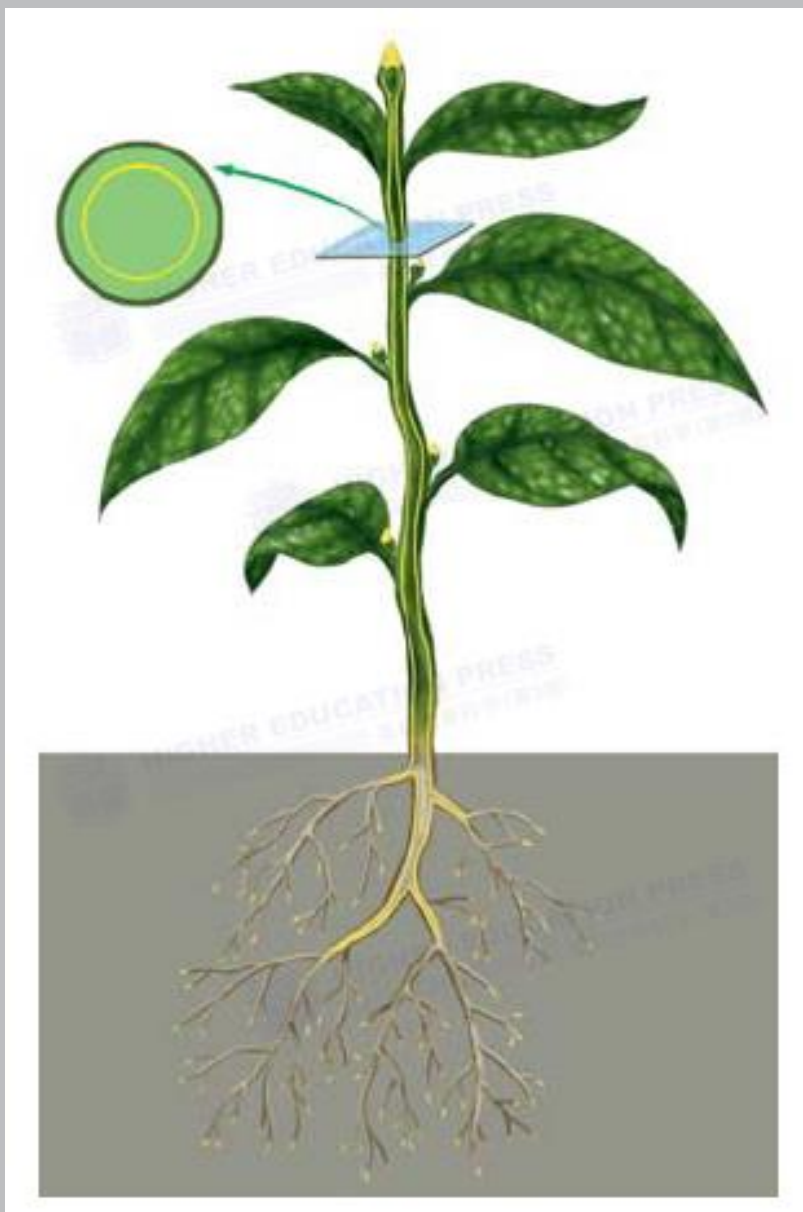
胚的发育和种子形成的过程



返回

种子的萌发

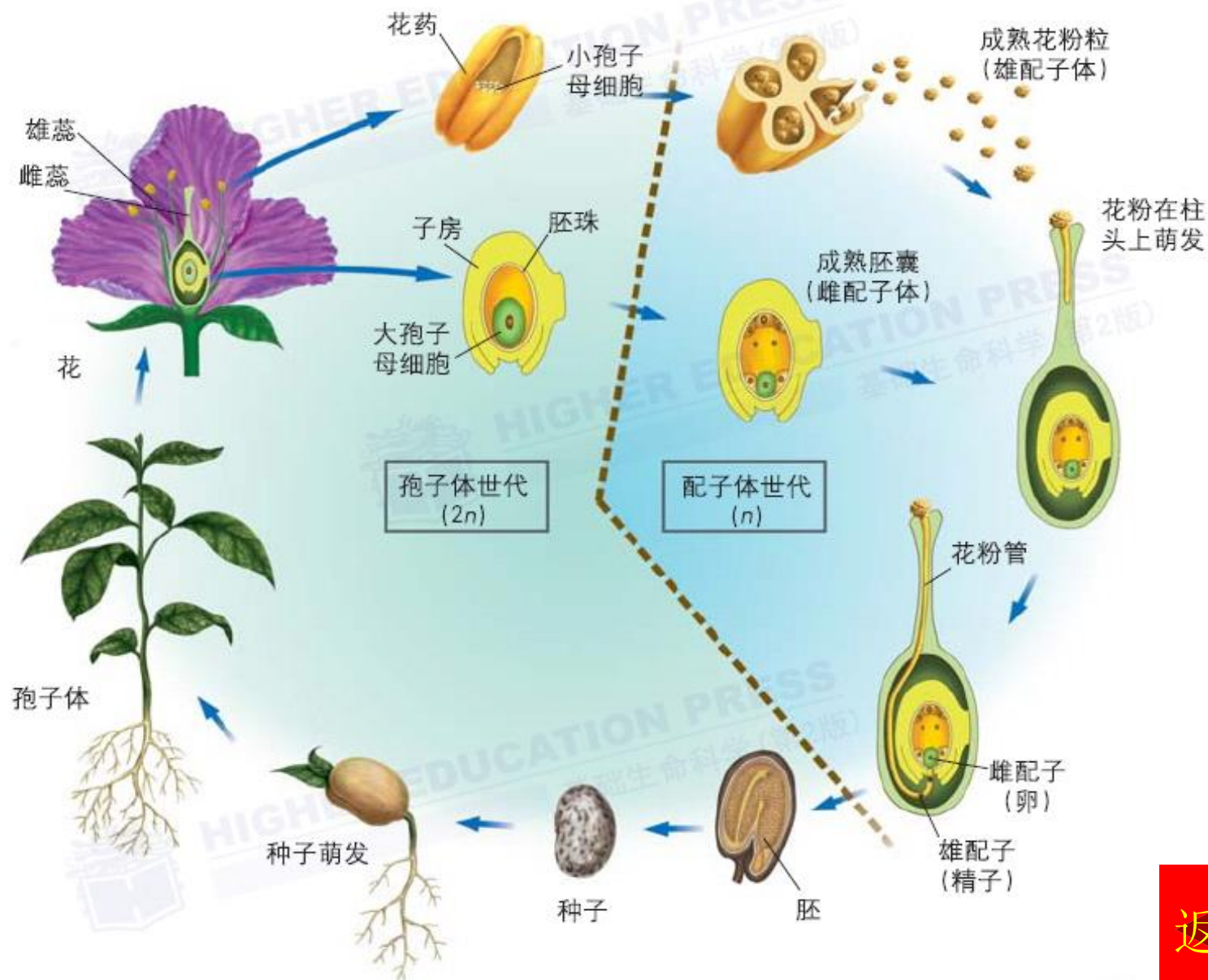




植物的生
长与分生组织
的位置

返回

被子植物的繁殖过程和生活史

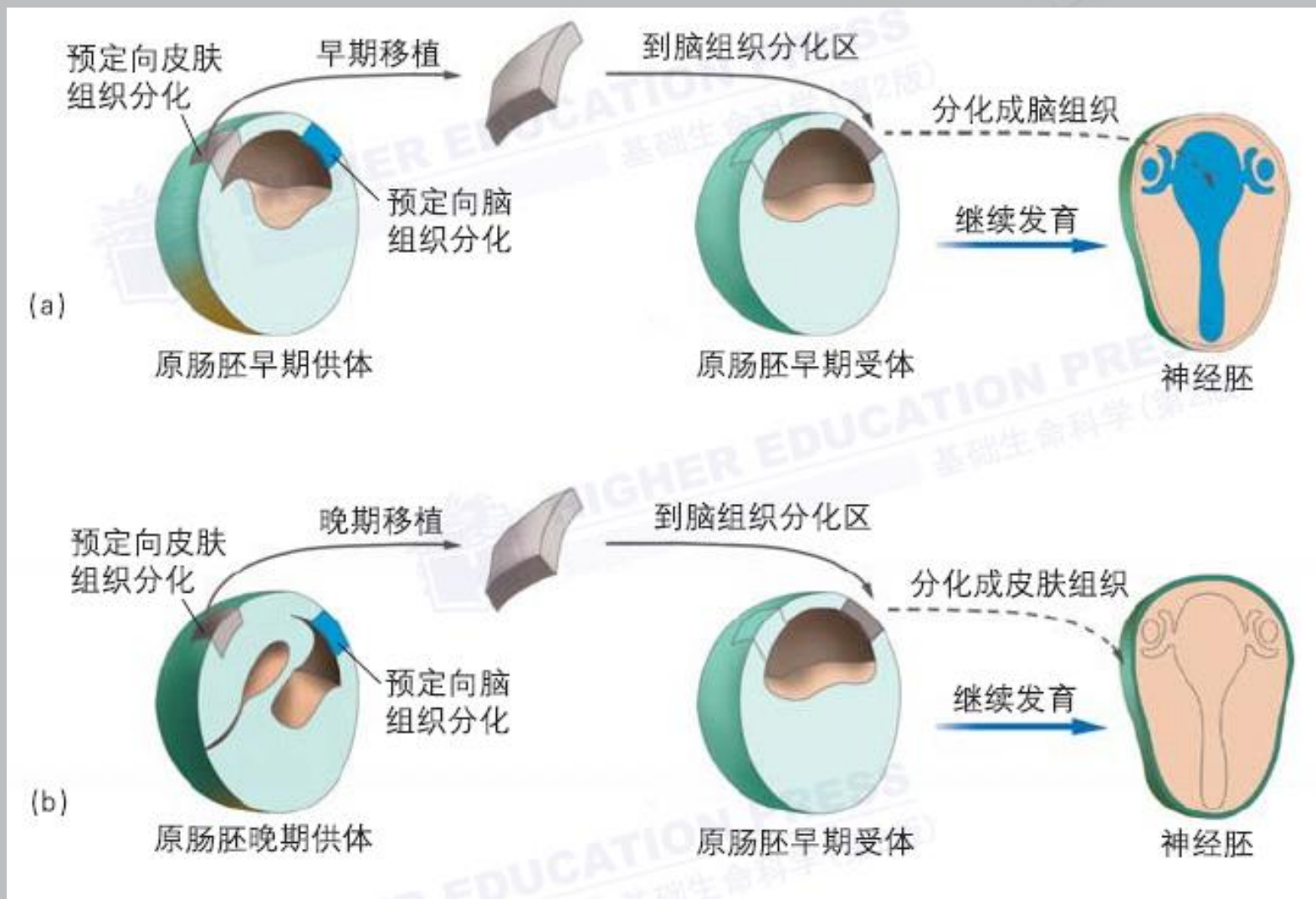


第二节 发育的细胞与分子生物学机制

一、细胞命运决定、诱导和发育模式

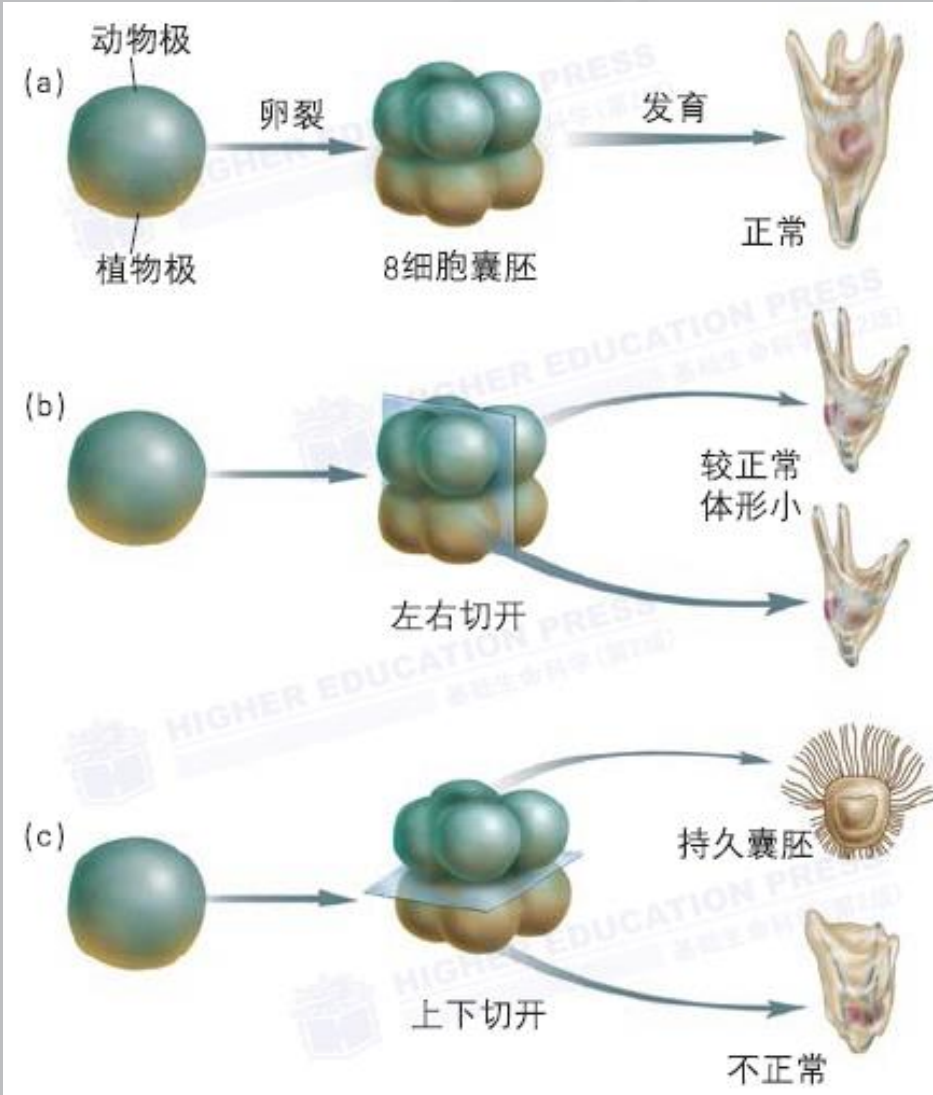
- 受精卵和早期胚胎是具有发育成完整有机体潜能的全能细胞，但从原肠胚细胞重排成三胚层后，由于细胞的分化，三胚层的细胞在发育潜能上出现一定的局限性，各胚层细胞只倾向发育为本胚层的组织器官。
- 在细胞分化以前，细胞接受了某种信号，决定了其以后的发育命运，即在形态、结构和功能等分化特征尚未显现之前便已经确定了其不同分化前途，这种细胞的发育命运被稳定地确定的过程称为**细胞命运决定**，简称**细胞决定**。
- 细胞决定是随着胚胎的发育，细胞发育的潜能逐渐受到限制的过程。

■ 蛙胚细胞的移植实验证实了细胞决定的发生。



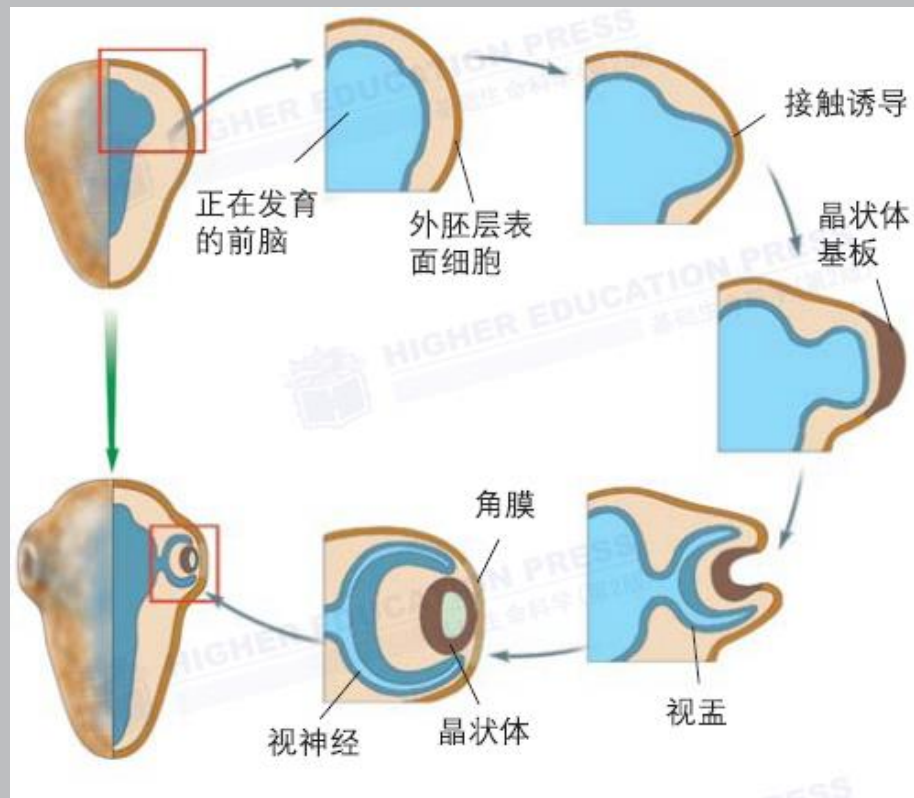
■ 细胞决定是如何发生又是由什么因素控制的呢？

- 某些物种受精卵细胞质的不均一性对于早期胚胎的细胞决定具有根本的作用。
- 卵裂时受精卵细胞质物质的分布可以是不均匀的。
- 这种不均一性在一定程度上决定了细胞的早期分化。细胞质中决定细胞命运的特殊信号物质称为**决定子**。
- 例如，**海胆胚胎的发育实验**。

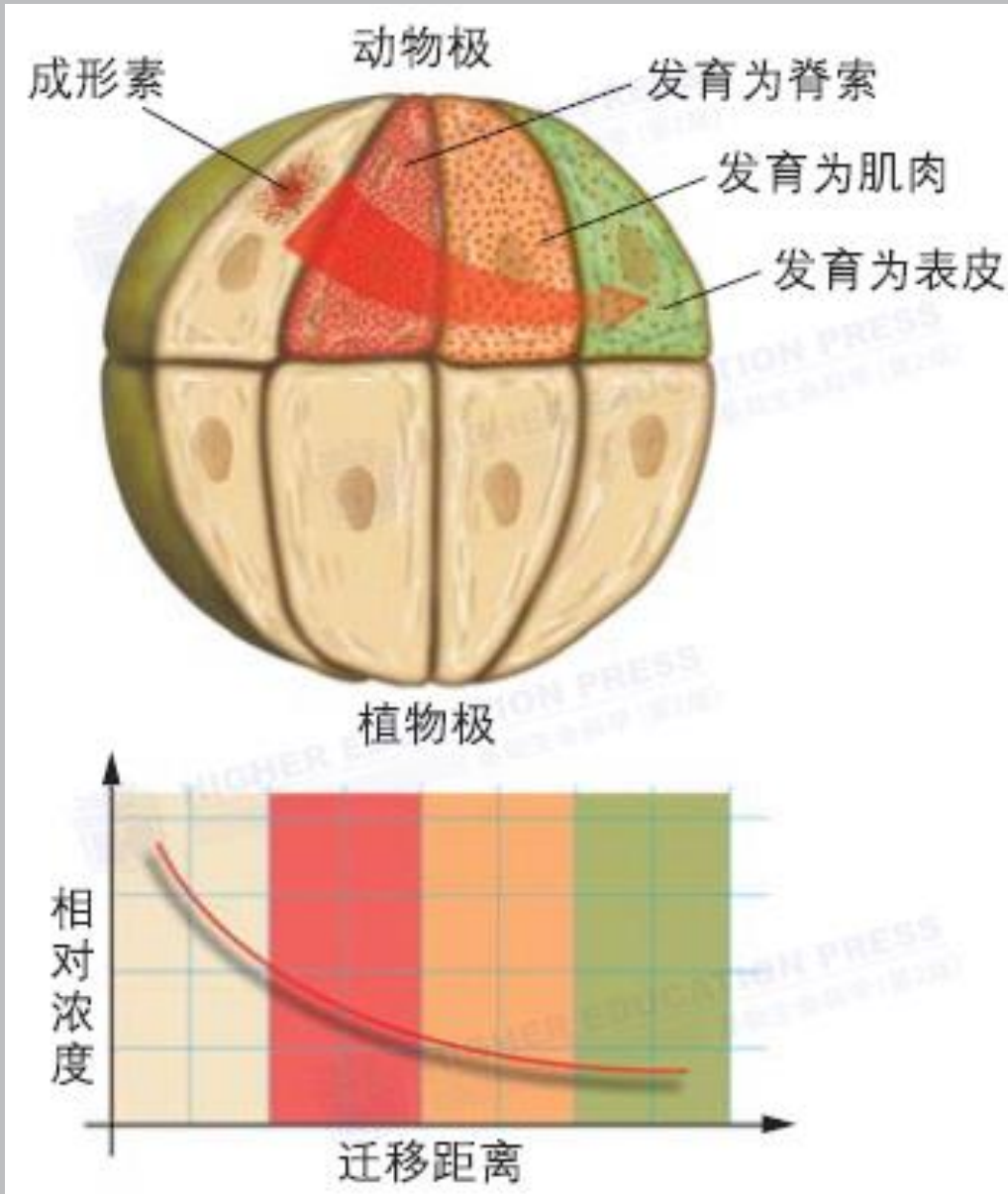


- 细胞决定是如何发生又是由什么因素控制的呢？
- 细胞质中决定细胞命运的特殊信号物质即决定子是什么？
 - 卵母细胞的细胞质中含有多种mRNA，其中多数mRNA与蛋白质结合，处于非活性状态。受精以后，一些隐蔽的mRNA被激活并不均一地分配到子细胞中，决定了未来细胞分化的命运，从而使胚胎发育过程中不同部位的细胞产生了分化方向的差异。
 - **镶嵌型发育**：一些动物卵裂球的发育命运是由细胞质中贮存的卵源性决定子决定的，在这种细胞命运的决定方式中，如果将一个早期胚胎的某一部分去掉而丧失了一部分决定子，就不会继续发育成完整的胚胎。

- **调整型发育**：在哺乳动物中，所有的囊胚细胞都接收到了同等的决定子，这些动物囊胚的发育命运则受到相邻细胞相互作用的控制。（爪蟾早期囊胚实验）
- **诱导**：相邻细胞相互作用决定分化方向的过程，如脊椎动物眼的晶状体的形成是典型的诱导发育。



- 在整个有机体发育的过程中，细胞在时间和空间上有秩序的分化，从而导致有机体的器官组织等结构有序的空间排列，形成有机体特定形态的统一性，称为**生物的模式形成**。
- 胚胎发育中的**位置效应**、**细胞凋亡**和**某些特殊基因的表达调控**等是控制模式形成的重要原因。
- 诱导相邻细胞发育的信号分子是可扩散的蛋白质，它们又称为**成形素**，分泌成形素的一组特殊细胞称为**组织者**。
- 成形素具有可扩散性和渗透性质，胚胎中越靠近组织者的区域，成形素的浓度越高，越远离组织者的区域，成形素的浓度越低。
- **成形素浓度的高低**即待发育的胚胎区域离组织者的远近位置是决定该区细胞发育命运的重要因素。
- 胚胎发育过程中，细胞所处的位置不同对细胞分化的命运有明显的影响，细胞位置的改变可导致细胞分化方向的改变，这种现象称为**位置效应**。



非洲爪蟾早期囊胚不同部位的位置效应，即成形素浓度的高低决定该部位细胞的发育命运

- 细胞凋亡是另一类控制和影响发育的特殊细胞分化现象。
 - 细胞凋亡是特定的细胞在基因的控制下自动结束生命的过程。
 - 细胞凋亡过程中，细胞质皱缩，染色质凝集，细胞膜反折，将自我断裂的染色质片段和部分细胞器包裹成许多凋亡小体，这些凋亡小体又被邻近的细胞吞噬，整个细胞凋亡过程不发生炎症反应。
 - 细胞内DNA发生核小体间的断裂是细胞凋亡最主要的生化特征。

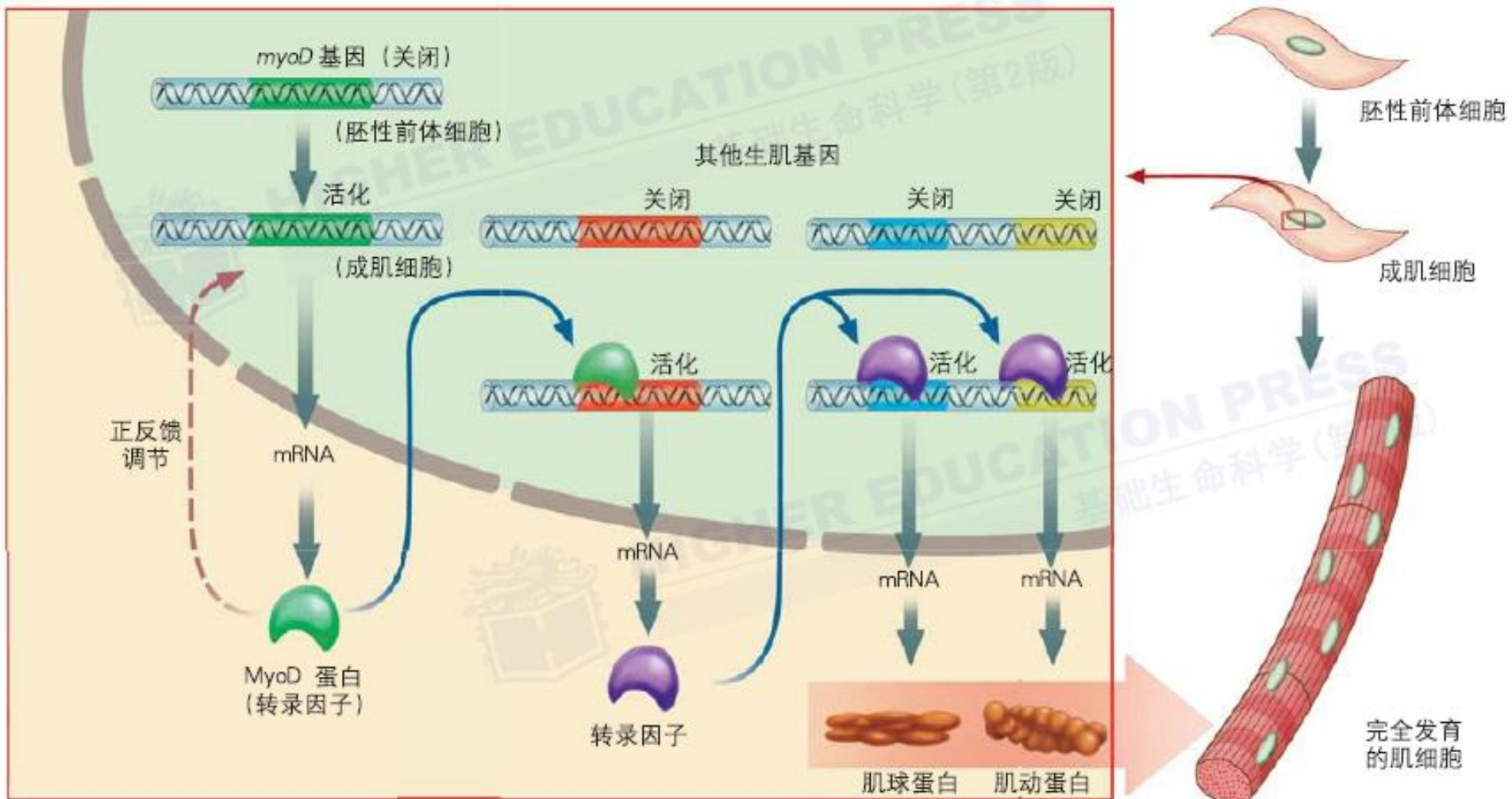
- 细胞凋亡在有机体发育进程中经常发生。
- 如人胚胎发育时手和足的形成。



人胚胎手指的形态发生中，细胞凋亡导致原先连在一起的各手指相互分开

二、发育的基因表达调控

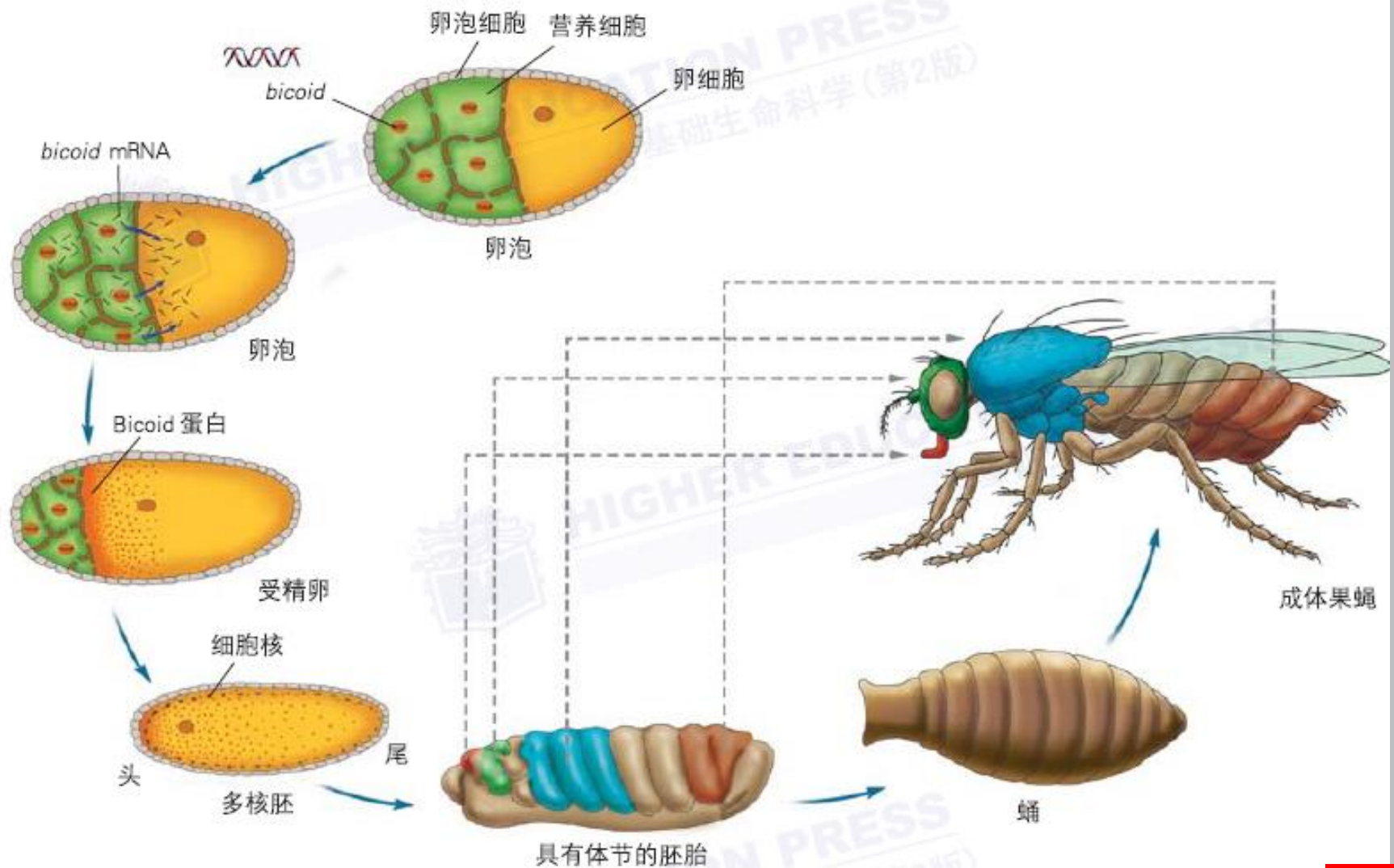
- 依靠某主导基因的调控表达，通过产生特定调节蛋白引发其他调节蛋白组合的级联反应和组合调控，从而不断地启动细胞分化，是有机体发育过程中基因调控的基本规律之一。
- 控制肌细胞发育的主导基因 *myoD* (Myogenic Differentiation Antigen, 成肌分化抗原)
 - MyoD蛋白是转录因子，在胚性前体细胞中一被合成，细胞决定就发生了，即胚性前体细胞变成了成肌细胞。
 - MyoD蛋白结合到受控基因的调控区后，首先启动其他生肌转录因子基因的转录，这些次生的转录因子接着再调控和启动一些肌肉蛋白基因的转录，导致肌球蛋白和肌动蛋白等的合成。
 - MyoD蛋白不仅可以控制其他肌肉发生相关基因的转录，还能反馈促进其本身的表达（又称正反馈）。
 - MyoD蛋白还能改变一些已经分化的非肌细胞的发育。



主导基因myoD 对肌细胞分化的调控

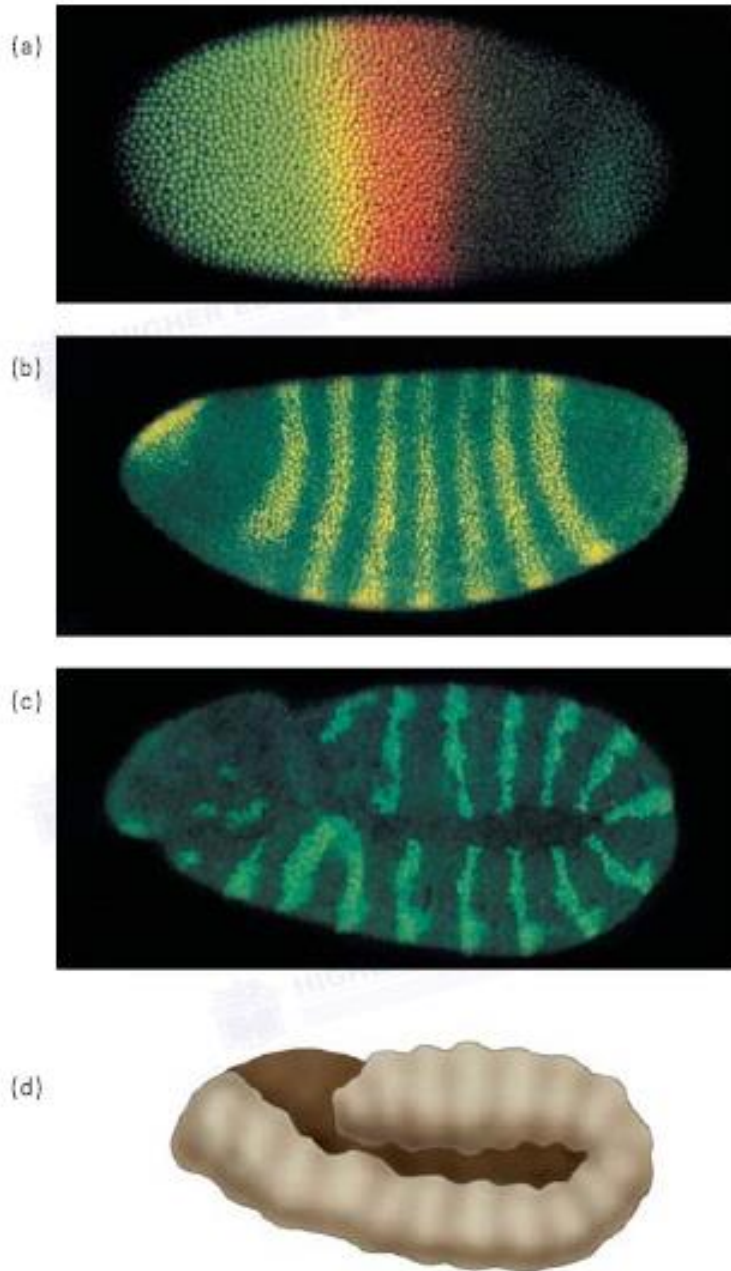
■ 果蝇发育过程中母源极性基因bicoid和级联的体节基因特异表达对果蝇体轴建立和身体分节的影响。

- Bicoid蛋白作为成形素控制着果蝇体轴的建立。
- Bicoid蛋白还是一个转录因子，调控着果蝇胚胎体节基因的差异性表达。
- 美国科学家Christiane Nüsslein-Volhard 教授和Sean Carroll教授利用分子生物学技术和蛋白荧光原位杂交技术发现了体节基因对果蝇体节发育的表达调控作用，对于阐明有机体发育的分子机制做出了重要贡献，为此他们获得了1995年度诺贝尔奖。



Bicoid蛋白作为成形素控制着果蝇体轴的建立.

返回



Bicoid蛋白在时间和空间上顺序调控各类体节基因的级联表达：

(a) 首先**间隙基因**启动表达，结果在胚胎的前部和后部表达产生两类不同的蛋白，构成了可由荧光原位杂交显示的最初两节差异。

(b) 接着**配对法则基因**表达，蛋白荧光原位杂交实验显示，产生了每隔一个类体节的7条条纹。

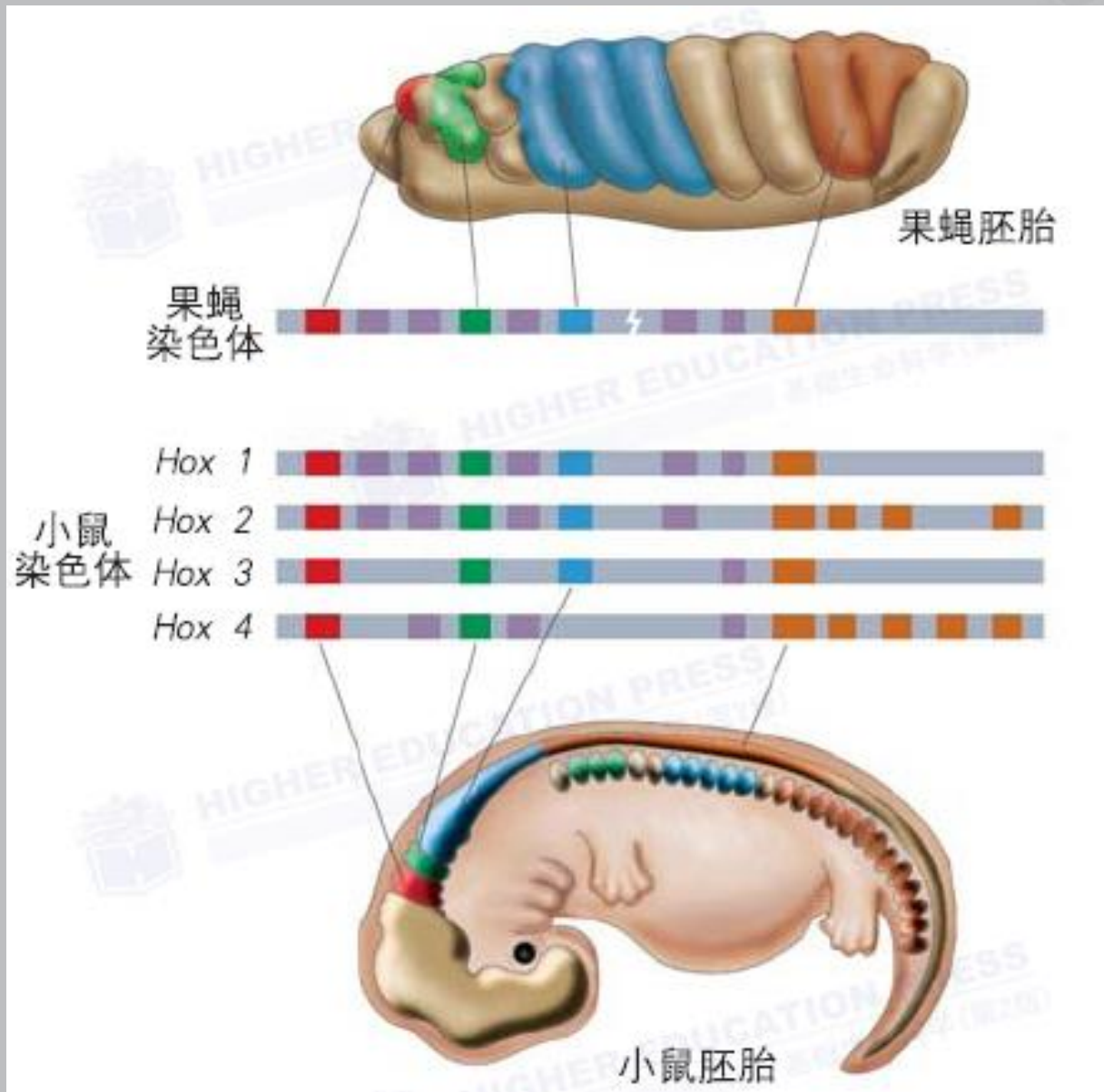
(c) 最后是**体节级化基因**表达，不同的体节又细分成更多的条纹，反映出划分体节的最后界线。

(d) 分节形成后胚胎（模式图）

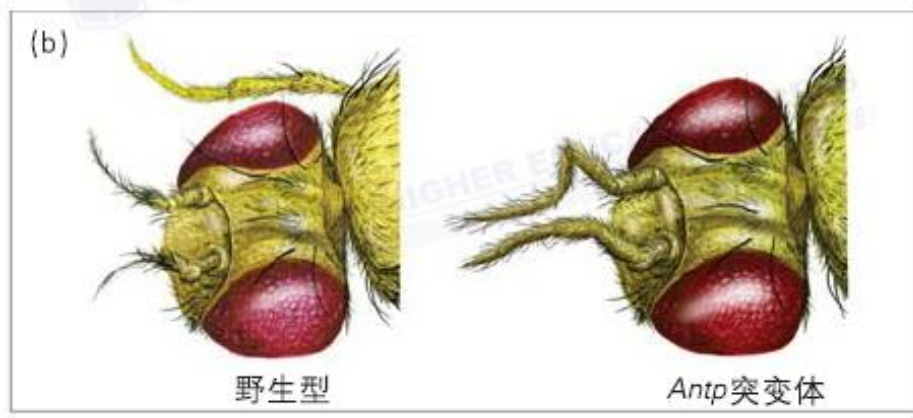
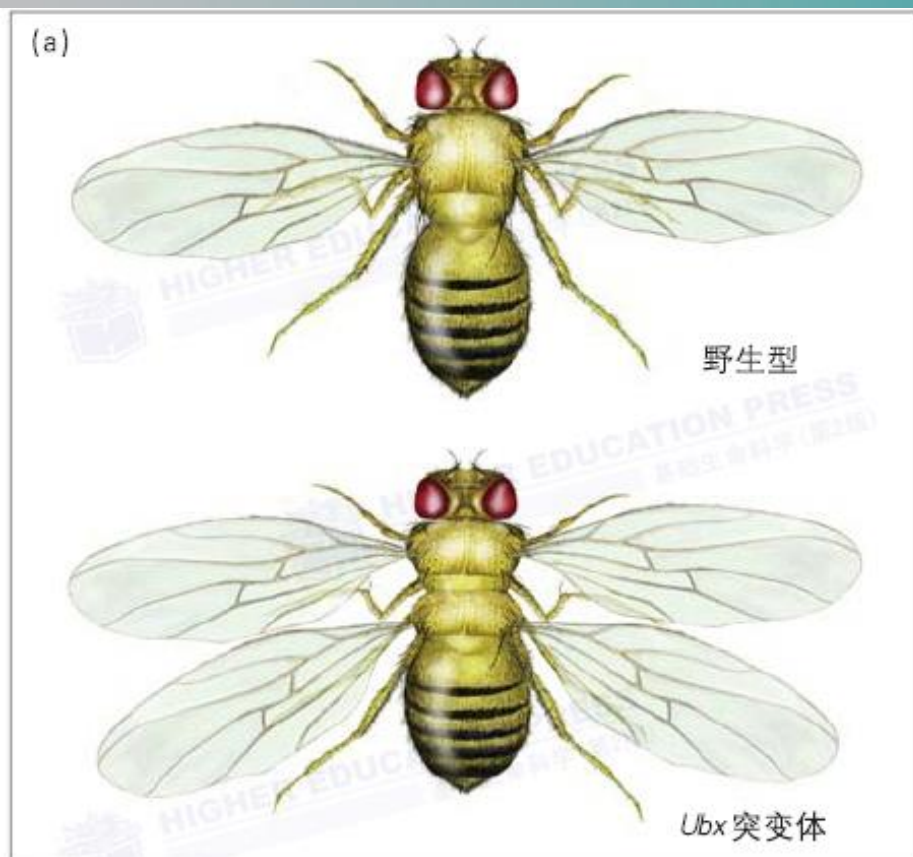
返回

控制成体果蝇前后各体节形态模式的主导基因是一系列同源异形基因。

- 同源异形基因包含两个基因群，编码具有转录因子功能的蛋白，其中每一个同源异形基因的产物都活化和启动分节果蝇14个不同囊胚腔特定部位形态模式的遗传基因表达程序。
- 同源异形基因在染色体上的定位与它们沿体轴前后的表达顺序相对应。
- 任何一个同源异形基因的显性突变都可导致某器官产生在不该出现的部位。
- 许多同源异形基因一般都含有一个非常保守的DNA片段，即一段不易变化的且在其他生物类群中也常出现的DNA序列，称为同源盒。



同源异形基因在染色体上的定位及其对体节发育相应部位的控制



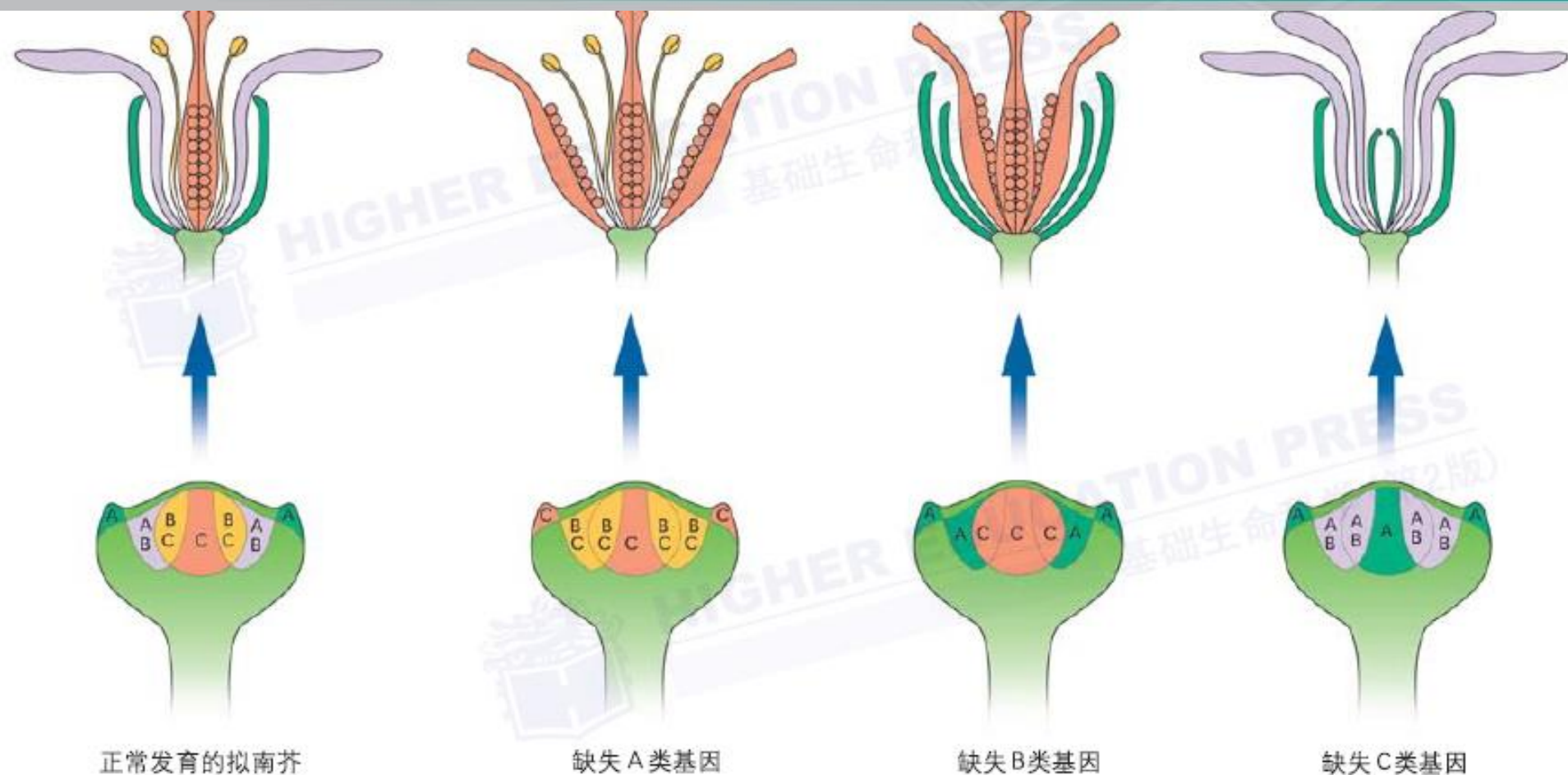
同源异形基因的显性突变都可导致某器官产生在不该出现的部位。

(a) *Ubx*基因的突变导致果蝇多一个胸节和其上多长出额外的一对翅膀。

(b) *Antp*基因的突变使果蝇头部呈现胸节的特征，在本该长触角的部位却长出了一对附肢。

■ 植物有机体中也存在类似的同源异形基因，称为**器官特征基因**或ABC基因，这些基因控制着来源于分生组织的各种植物器官的发生。

- 利用各种突变体和花原基分生组织原位杂交技术对芥科植物拟南芥的遗传发育研究证明，决定其花结构发育的基因可划分为A、B、C三类。
- A类基因控制着花萼的发育、A类与B类基因共同控制花瓣的发育，B类与C类基因共同控制雄蕊的发育，C类基因控制雌蕊的发育。
- 这三类基因中任何一类基因的突变都将导致花器官发育的异常。



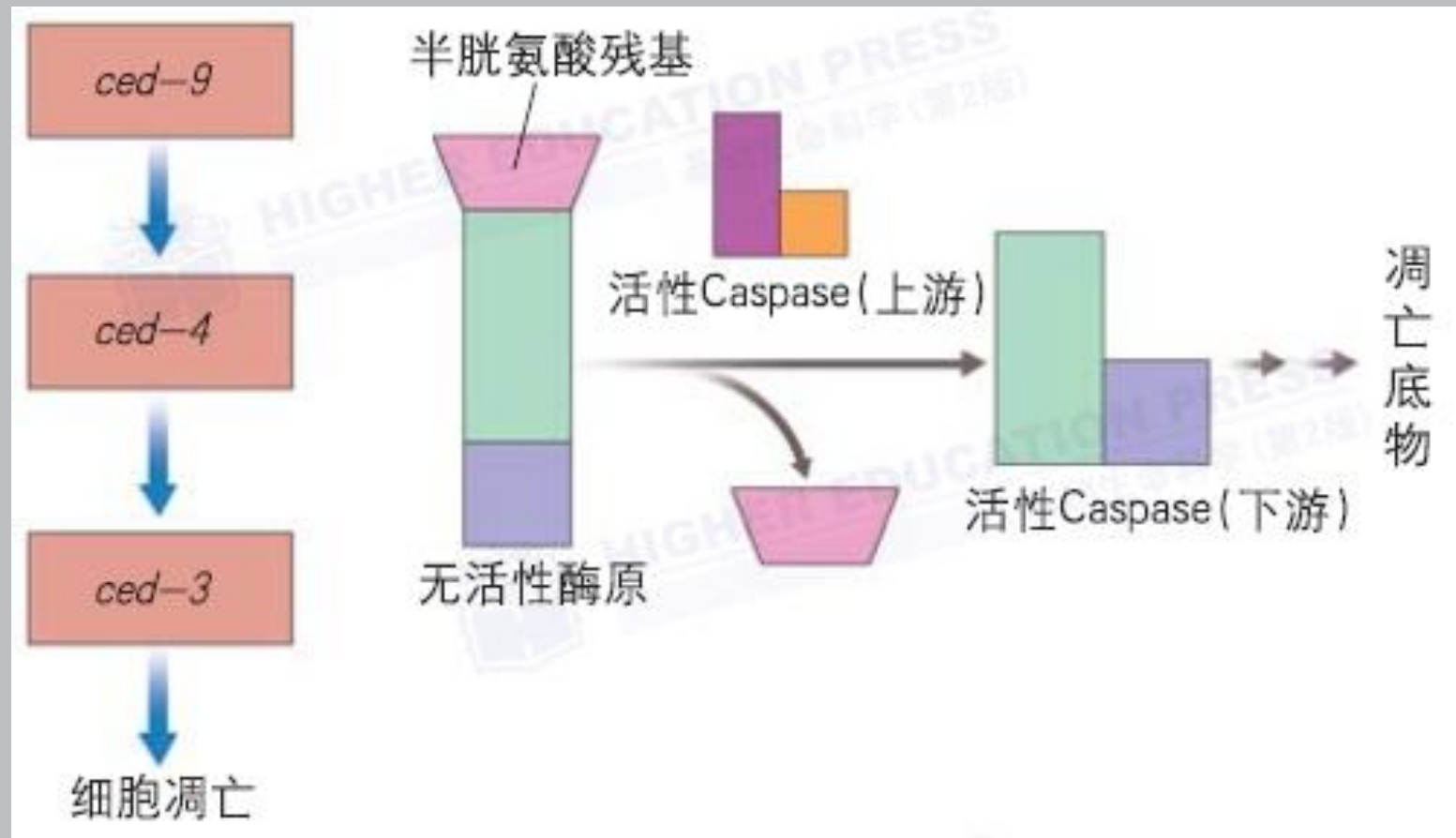
拟南芥器官特征基因对花器官发育的控制

返回

■ 细胞凋亡的基因控制

- 线虫细胞凋亡受*ced*基因家族的控制。线虫染色体中共有15个基因分别在不同程度上调控细胞凋亡。其中*ced-3*、*ced-4*和*ced-9*三个基因作用最重要。*ced-3*、*ced-4*的激活是线虫细胞凋亡启动和继续所必需的，*ced-9*基因可抑制细胞凋亡的发生。
- Caspase是天冬氨酸特异性的半胱氨酸水解酶的缩写，是*ced-3*产物在哺乳动物中的类似物。
- 在正常情况下，Caspase以无活性的酶原形式存在，当有细胞凋亡信号刺激时，它的半胱氨酸残基被特异性剪切，导致Caspase被激活，释放蛋白质的N-结构域。

在细胞凋亡过程中，上游的Caspase能够按次序地激活下游的Caspase，形成级联反应，最终将凋亡信号逐级传至凋亡底物。



三、细胞信号转导

- 经过长期的进化，多细胞生物体有一套设计精巧的信号转导系统来整体协调众多细胞的生长和分化，控制代谢反应的发生和有机体的发育过程。
- 化学信号分子与细胞表面或细胞内的受体相结合使之激活，激活的受体将外界信号转换为细胞能感知的信号并作出相应的反应，这一过程称为**信号转导**。
- 多细胞生物体中承担细胞间信息传递的信号分子（又称配体）包括内分泌信号、自分泌信号和旁分泌信号三类。
 - 由细胞合成并结合到细胞自身受体的信号属**自分泌信号**，进入动物血液再传递到有机体各部位靶细胞的信号是**内分泌信号**，只作用于环境中邻近靶细胞受体的信号是**旁分泌信号**。

信号分子与受体

信号分子 (signal molecule) 是细胞的信息载体, 种类繁多, 包括化学信号如各类激素、局部介质、神经递质等, 以及声、光、电、温度等物理信号。化学信号根据其溶解性通常分为亲脂性和亲水性两类。

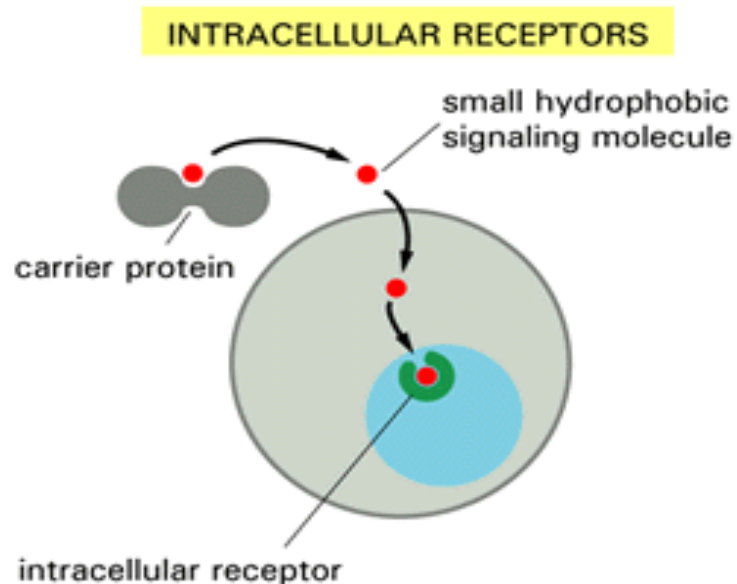
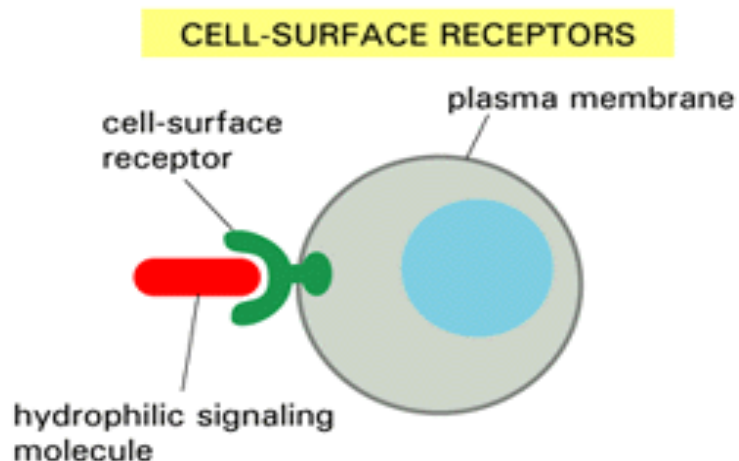
亲脂性信号分子: 主要代表是甾类激素和甲状腺素。疏水性强, 可穿过细胞质膜与胞内受体结合形成激素-受体复合物, 进而调节基因表达。

亲水性信号分子: 包括神经递质、局部介质和大多数肽类激素, 不能透过靶细胞质膜, 只能通过与靶细胞表面受体结合, 经信号转换, 在胞内产生第二信使或激活蛋白激酶、蛋白磷酸酶活性, 引起细胞的应答反应。

气体性信号分子: NO是迄今在体内发现的唯一的气体性信号分子, 能进入细胞直接激活效应酶, 参与体内众多的生理病理过程。

受体 (Receptor)

受体是一种能够**识别**和**选择性结合**某种配体（信号分子）的大分子。



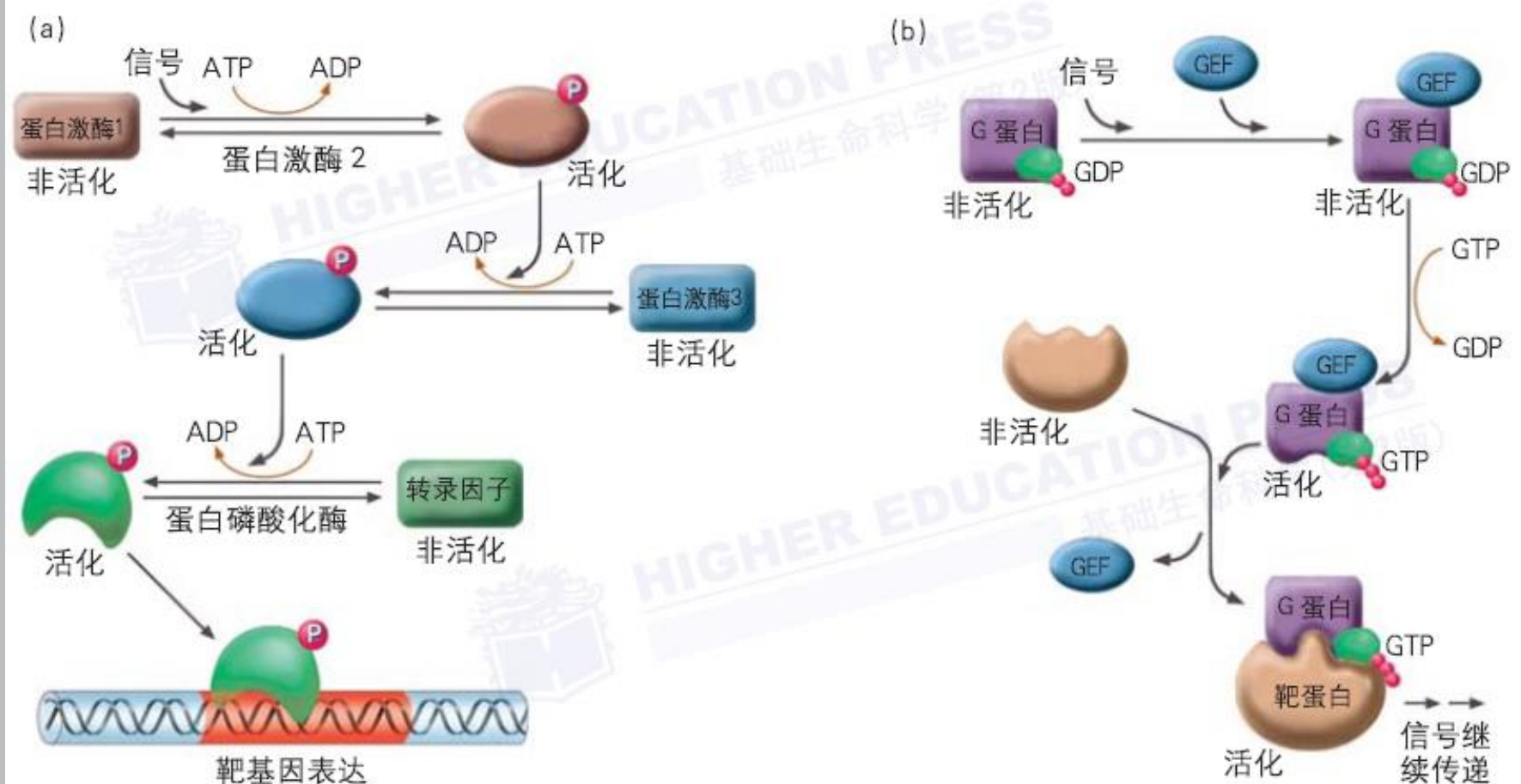
细胞内受体 (Intracellular receptor): 位于细胞质基质或核基质, 主要识别和结合小的**亲脂性信号分子**。

细胞表面受体 (Cell-surface receptor): 主要结合**亲水性信号分子**。

靶细胞表面需要有特异的受体对这些低浓度的分子作出反应并与之结合。根据信号转导机制和受体蛋白类型不同, 细胞表面受体分属三个家族: **离子通道耦联受体**、**G蛋白耦联受体**和**酶连受体**。

- 在G蛋白介导的信号传导途径中，**G蛋白偶联受体**接受胞外信号后，蛋白质构象发生改变导致G蛋白被激活，间接地通过激活的G蛋白去活化效应器蛋白，产生胞内信号继续向胞质内和核内传递。
- 在**酶联受体**介导的信号传导途径中，受体一旦与配体信号结合，就获得了酶的催化活性，激活胞内的效应蛋白，将信号继续向胞内和核内传递。
- 这两类细胞表面受体接收到信号后的一个共同特征是将信号传入胞内由蛋白质组成的精密的信号网络系统，系统中的蛋白成员逐级被磷酸化或去磷酸化，形成磷酸化**级联反应**。
- 不管哪种类型的受体，一般至少有两个功能域，结合配体的功能域和产生效应的功能域。受体与配体之间不是简单的一对一的关系。

胞内信号蛋白的磷酸化通常通过两种途径进行，(a)在蛋白激酶的作用下，共价结合ATP提供的磷酸基团；(b)在信号诱导作用下，与GTP结合以取代信号蛋白上原先的GDP。



一、离子通道型受体

受体本身为离子通道，即配体门通道（ligand-gated channel）。主要存在于神经、肌肉等可兴奋细胞，其信号分子为神经递质。

分为：

- { 阳离子通道，如乙酰胆碱、谷氨酸和五羟色胺的受体；
- { 阴离子通道，如甘氨酸和 γ -氨基丁酸的受体。

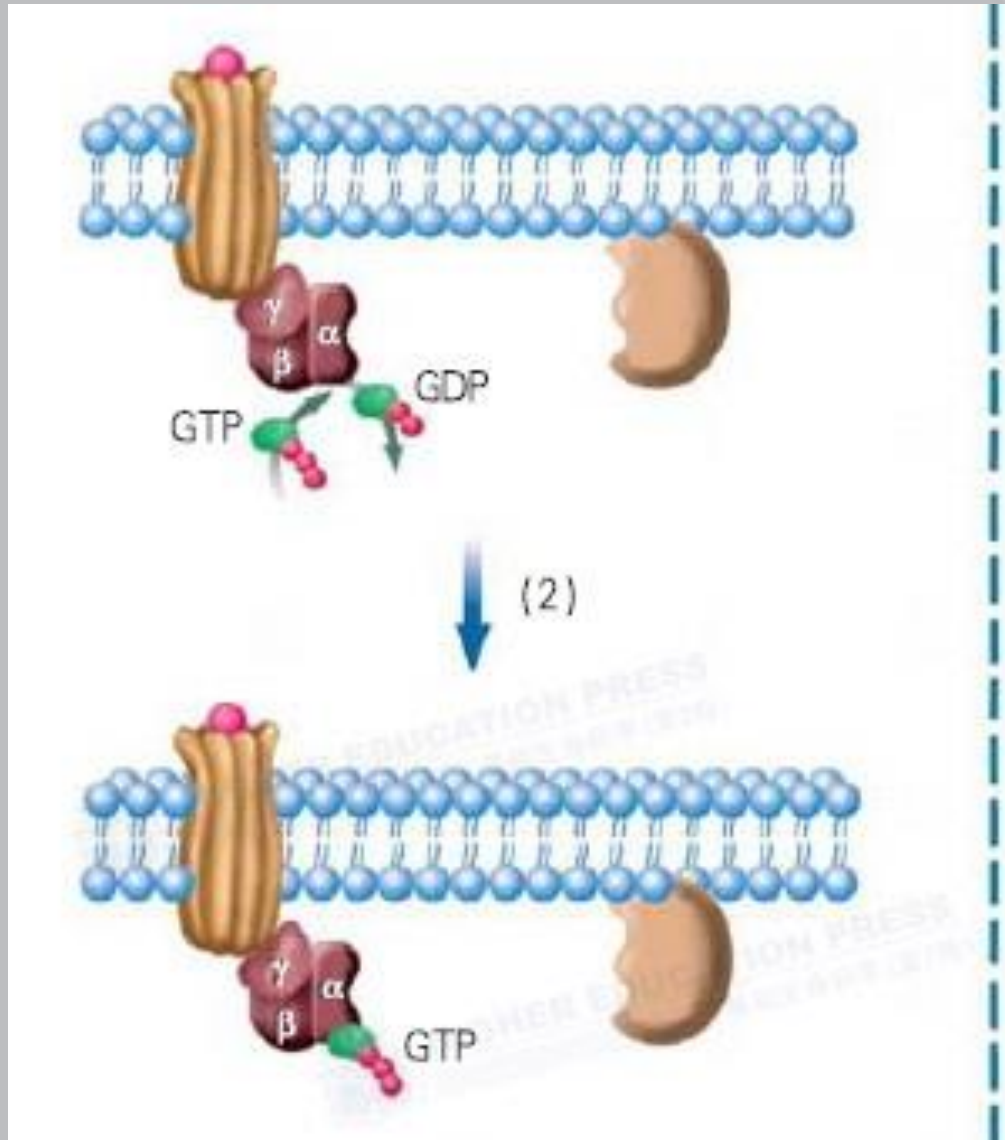
二、G蛋白偶联受体介导的信号转导途径

G蛋白偶联受体是一条7次跨膜的多肽链，其胞外部分具有与信号分子结合的结构域，胞内部分有激活G蛋白的催化结构域。

G蛋白是一个GTP（鸟嘌呤三磷酸）结合蛋白大家族，它是由 α 、 β 和 γ 三个不同亚基组成的异三聚体蛋白。 α 和 γ 亚基属于脂锚定蛋白。当 α 亚基与GDP（鸟嘌呤二磷酸）结合时G蛋白没有活性。

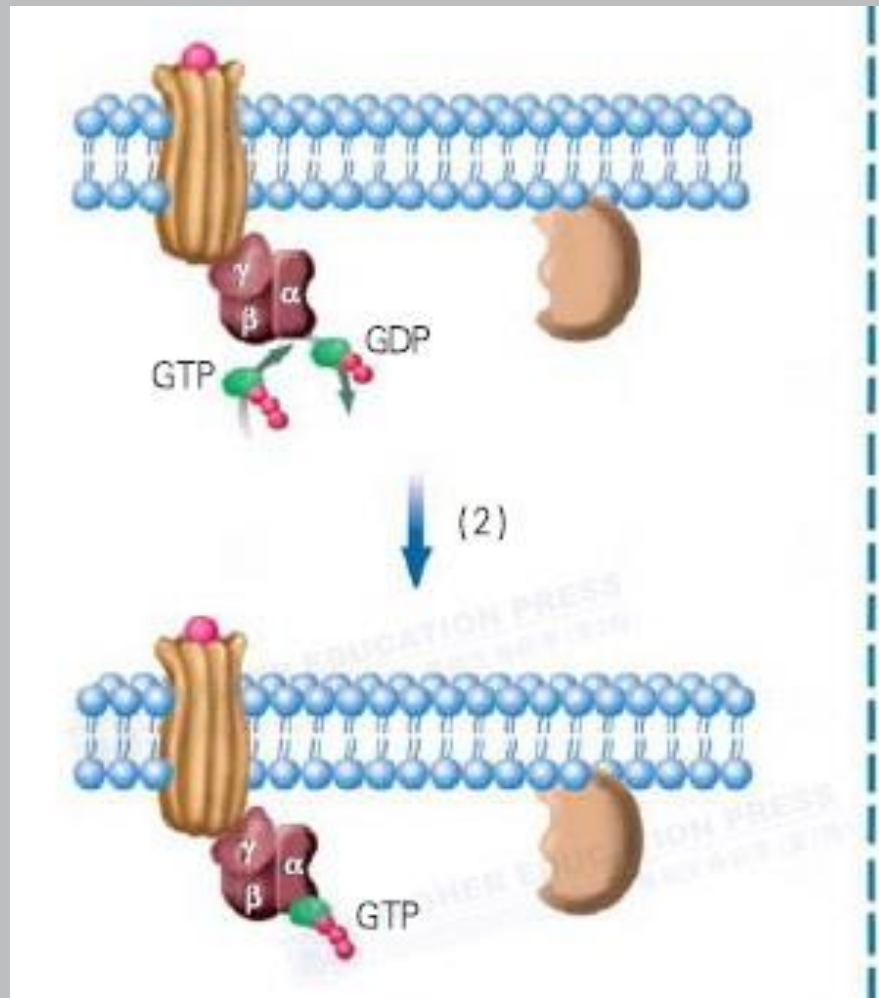
G蛋白偶联受体介导的信号转导途径

(1) G蛋白偶联受体接受信号后与G蛋白结合。

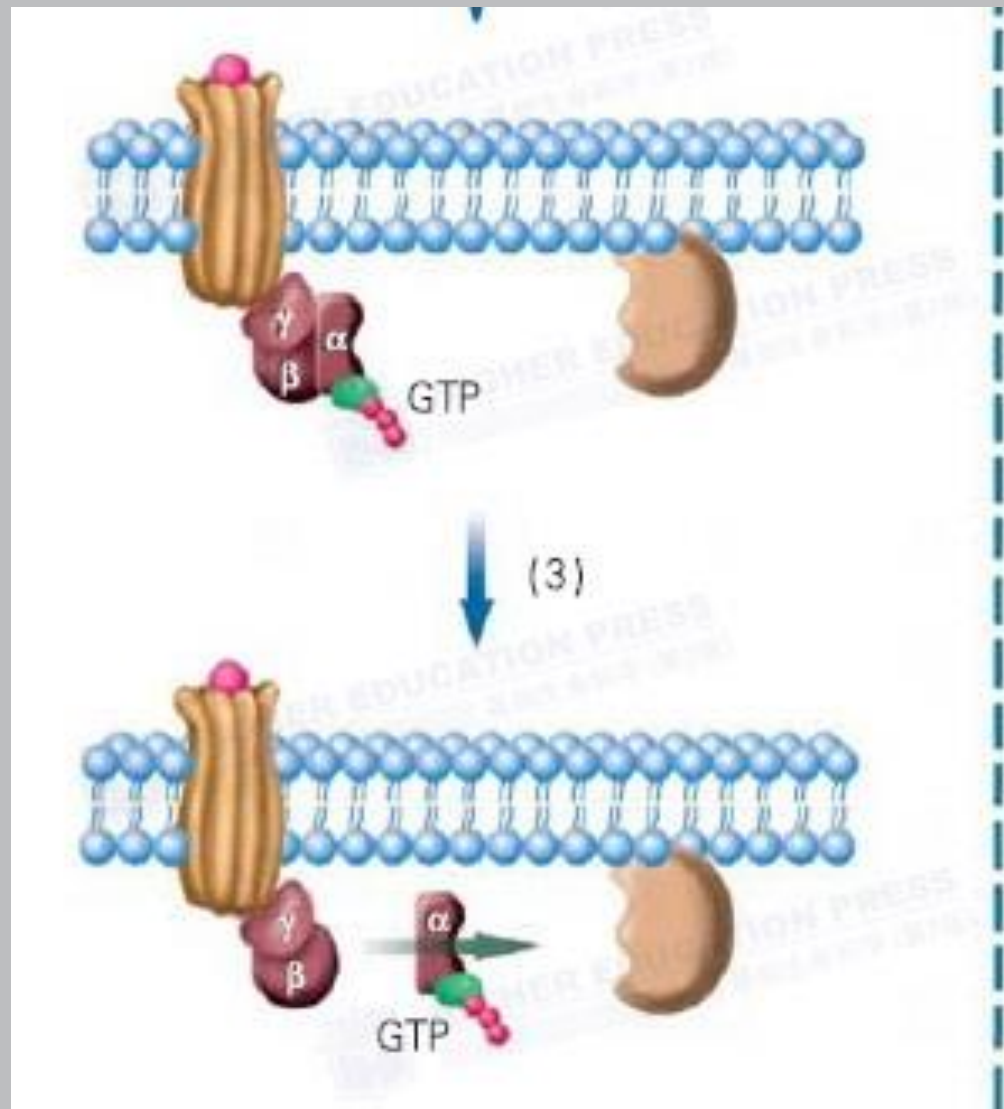


G蛋白偶联受体介导的信号转导途径

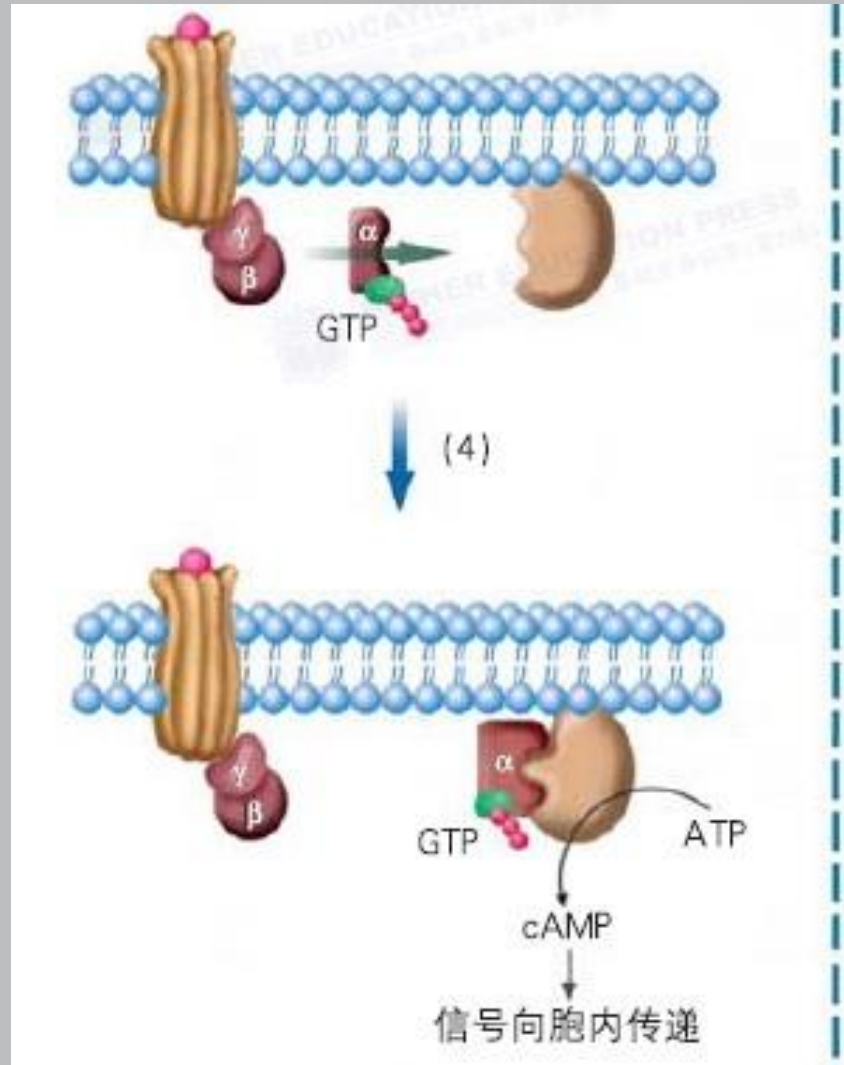
- (2) 在胞外激素或其他信号分子结合于G蛋白偶联受体后，诱导G蛋白 α 亚基与GTP结合。



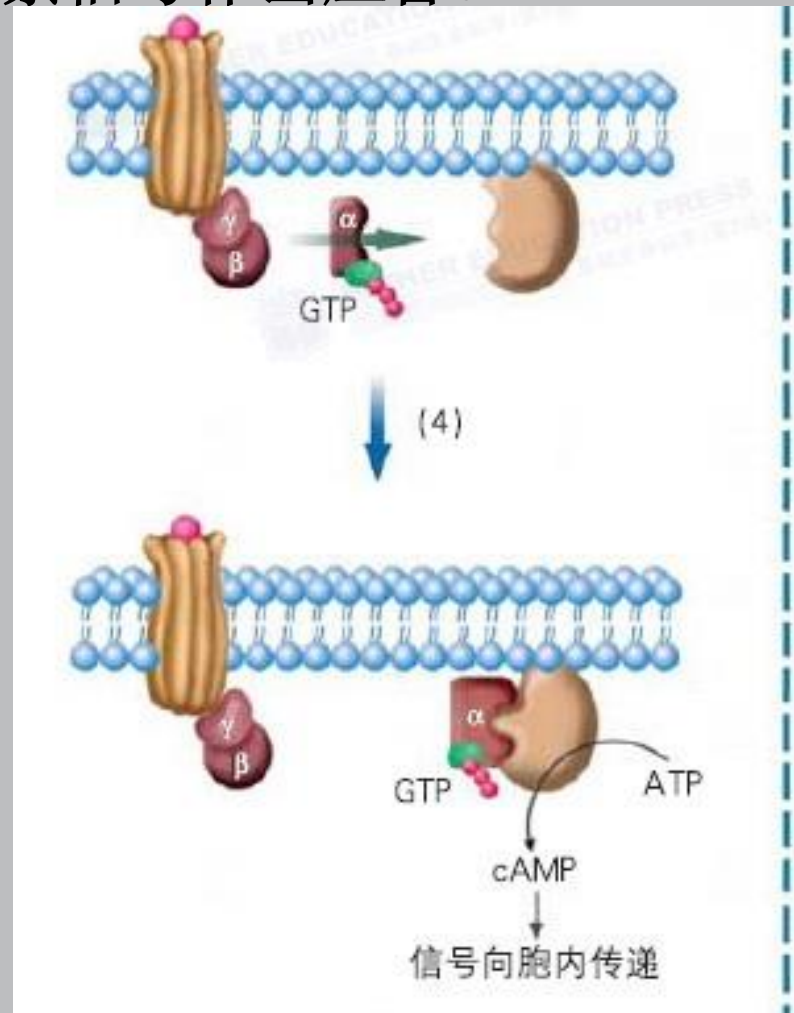
(3) 与GTP结合的这个亚基与G蛋白的另外两个亚基分离，同时移向膜内面的腺苷酸环化酶。



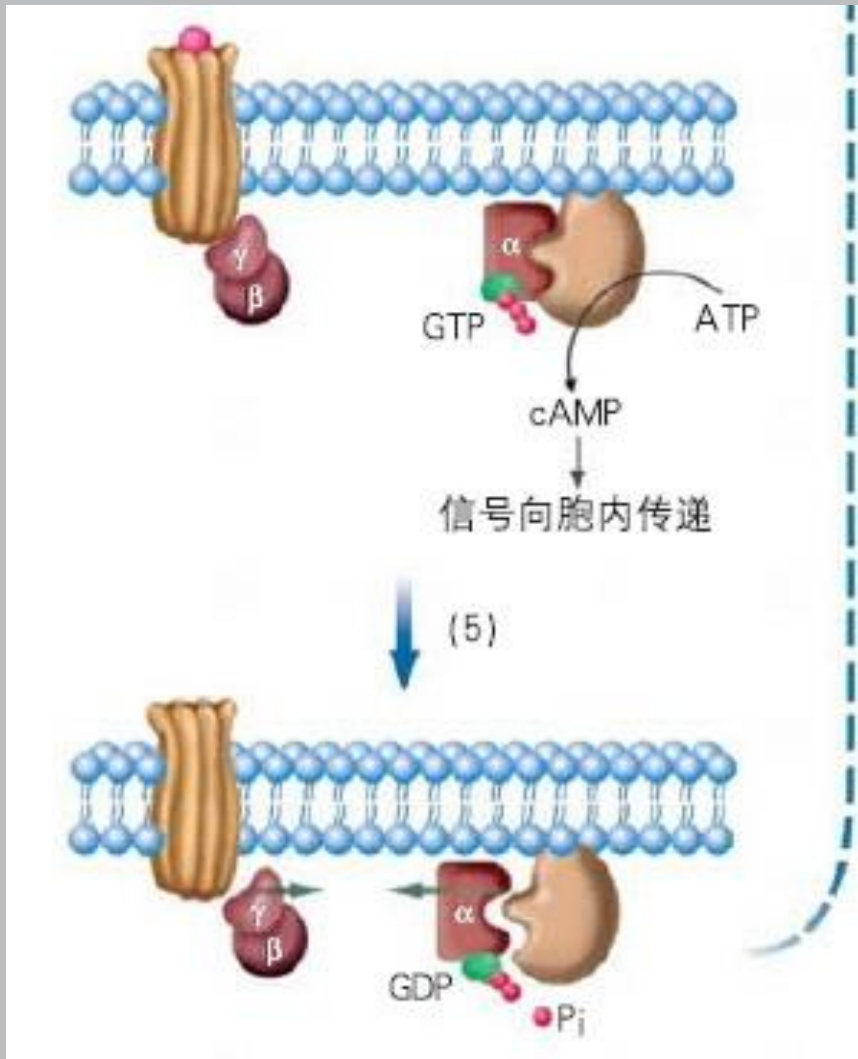
- (4) 与GTP结合的这个亚基移向膜内面的腺苷酸环化酶并使之活化。活化后的腺苷酸环化酶立即催化细胞质中的ATP转变成为环腺苷酸（cAMP）。



- (5) 与GTP结合的这个亚基移向膜内面的腺苷酸环化酶并使之活化。活化后的腺苷酸环化酶立即催化细胞质中的ATP转变成为环腺苷酸（cAMP）。cAMP再引起细胞内发生一系列的生化反应，从而最终对激素信号作出应答。



- (6) 当腺苷酸环化酶被活化后，与G蛋白 α 亚基联结的GTP被水解成GDP，同时该亚基与G蛋白的其他两个亚基组合恢复到原状，以后可以再一次被受体蛋白作用和活化。



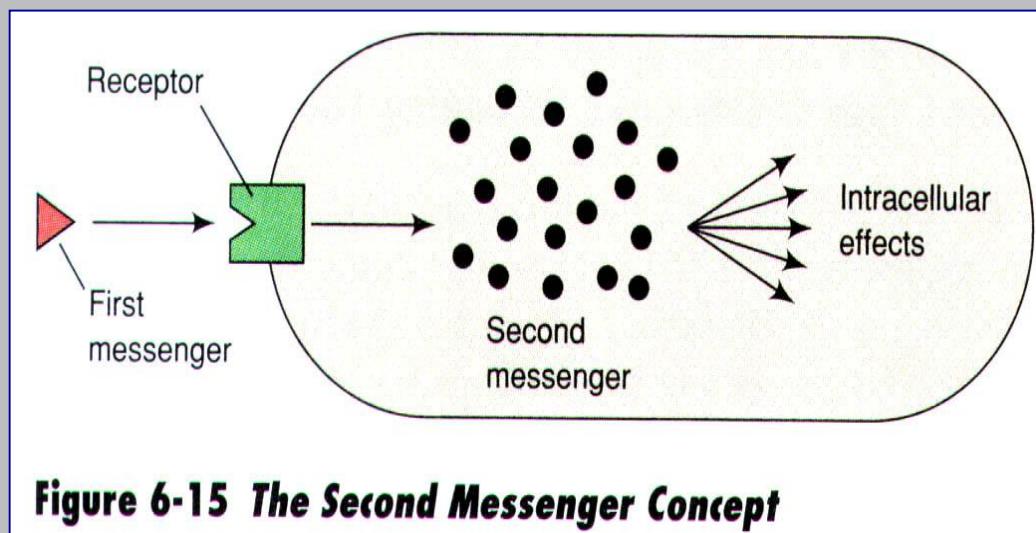
美国科学家Alfred Gilman和Martin Rodbell由于发现G蛋白对于细胞内信号传递的重要介导作用以及对G蛋白的结构与功能研究的成就而荣获1994年度诺贝尔医学或生理学奖。

- G蛋白偶联受体介导的信号转导系统除了具有上述的cAMP信号通路外，还有另一条磷脂酰肌醇信号通路（又称 Ca^{2+} 信号通路），即活化的G蛋白先激活磷脂酶C，再借助于中介分子磷脂酰肌醇（ IP_3 ）从内质网释放 Ca^{2+} ，然后调控激活钙依赖性蛋白和蛋白激酶C等靶蛋白。
- 由G蛋白偶联受体介导的胞外信号通过cAMP信号通路和 Ca^{2+} 信号通路逐级传递，将靶蛋白激活，最终诱导相应基因的表达。
- 因此，包括许多**激素**等在内的胞外信号是信号转导系统的第一信使，**cAMP和 Ca^{2+}** 是细胞信号转导系统的第二信使。

第二信使 (Second messenger)

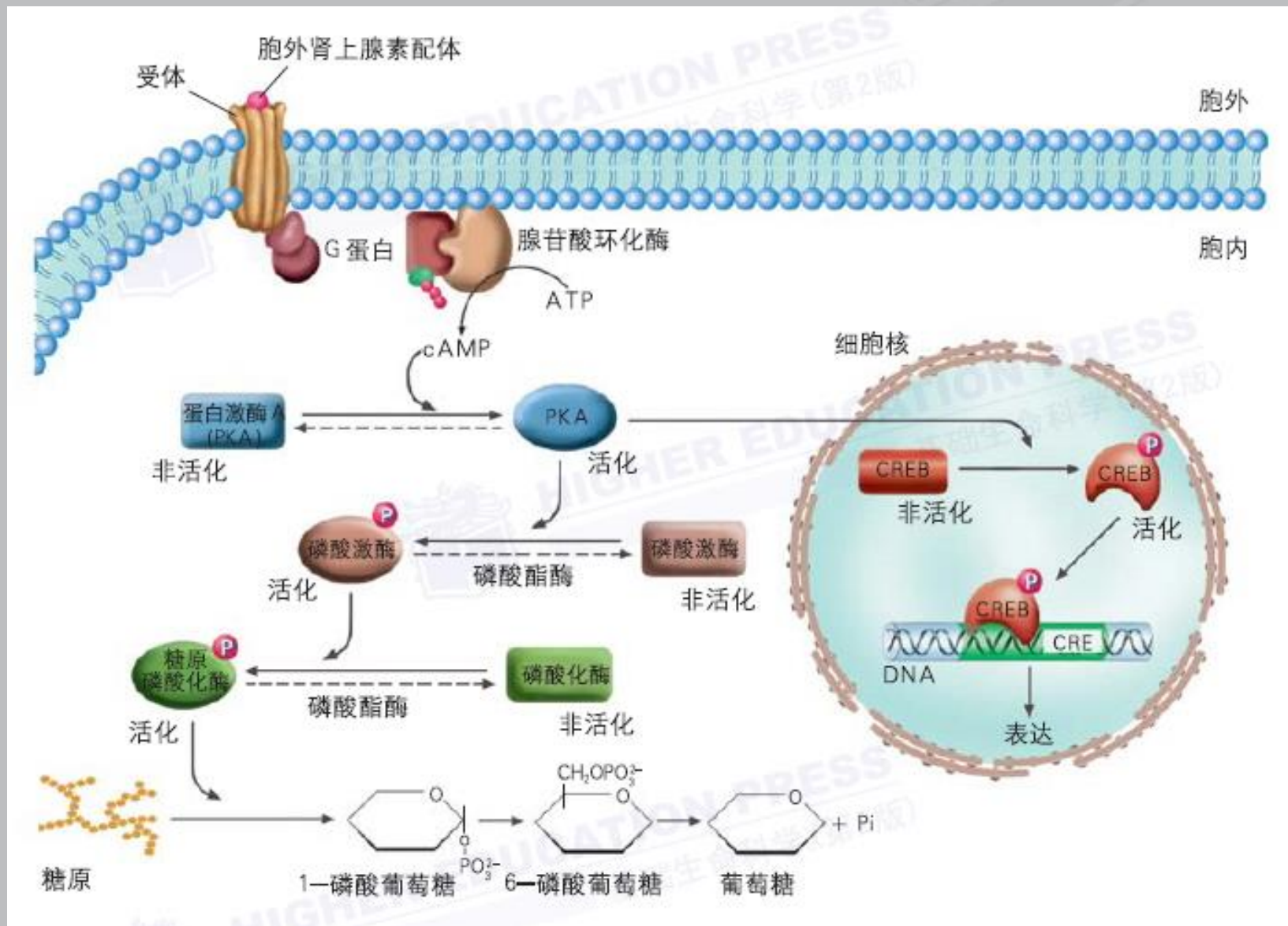
相对于“第一信使”（细胞外信号分子），第二信使是指在**细胞内产生的小分子**，其浓度变化应答于胞外信号与细胞表面受体结合，并在细胞信号转导中行使功能。

目前公认的第二信息有环腺苷酸（cAMP）、环鸟苷酸（cGMP）、三磷酸肌醇（IP3）、二酰基甘油（DAG）和 Ca^{2+} 等。



Sutherland因为阐明cAMP功能并提出第二信使学说获得1971年诺贝尔医学和生理学奖

肝细胞对肾上腺素信号应答的细胞信号转导全过程



三、酶耦联型受体

Enzyme linked receptor

分为两种情况：

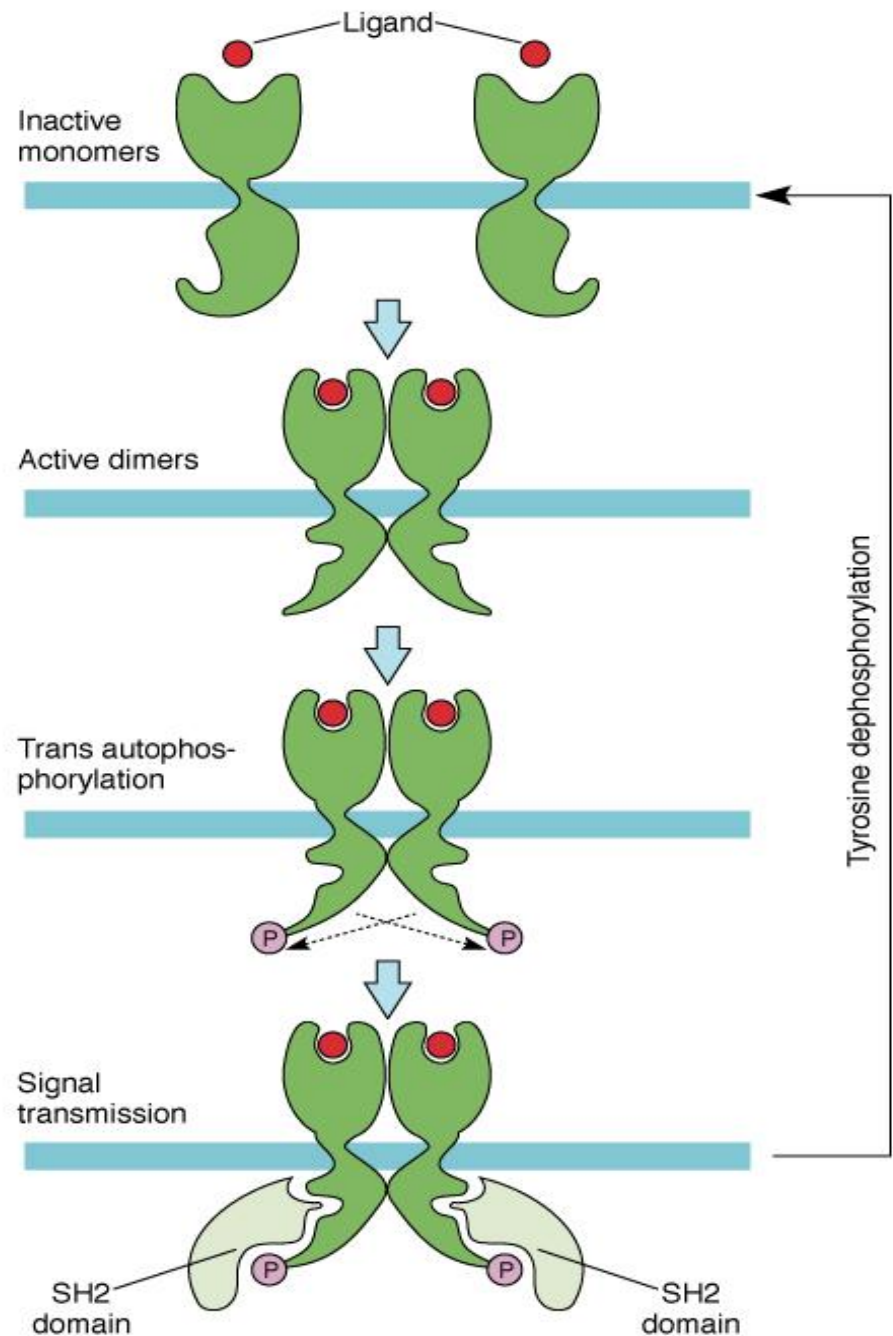
本身具有**激酶活性**，如EGF 表皮生长因子受体；

本身**没有酶活性**，但可以连接非受体**酪氨酸激酶**，如细胞因子受体超家族。

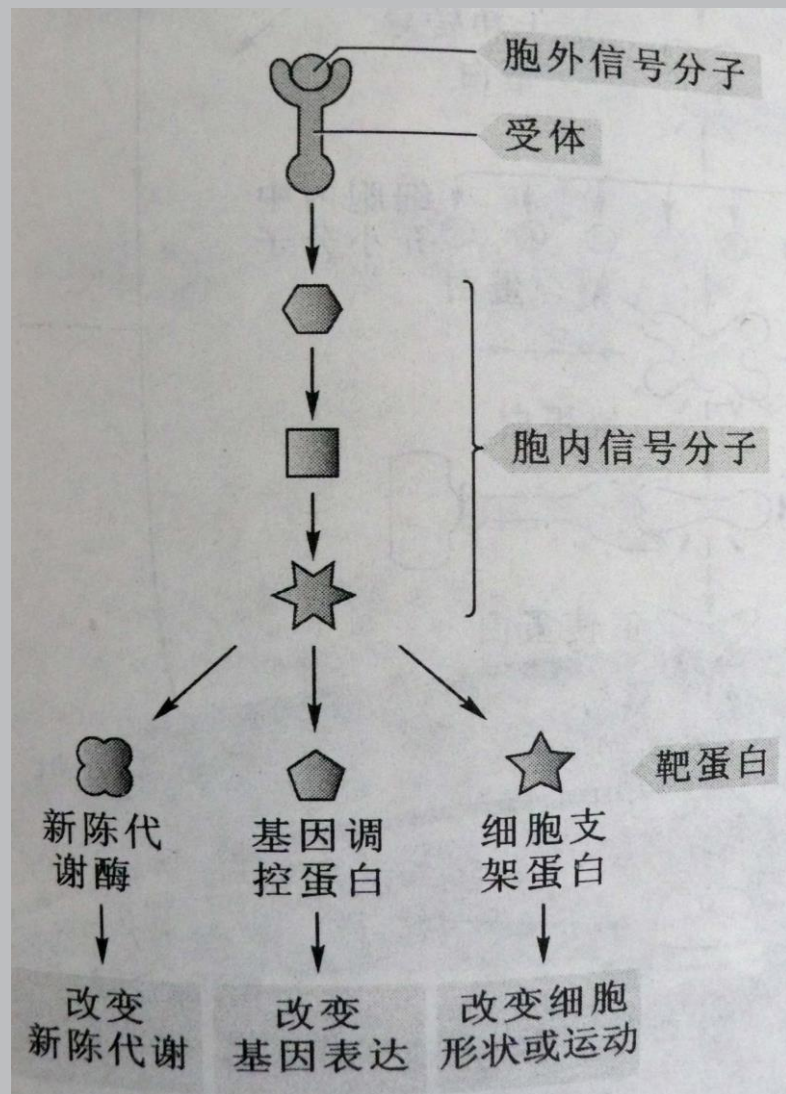
已知六类：①受体**酪氨酸激酶**、②受体**丝氨酸/苏氨酸激酶**、③受体**酪氨酸磷脂酶**、④**酪氨酸蛋白激酶**连接的受体、⑤受体**鸟苷酸环化酶**、⑥**组氨酸激酶**连接的受体（与细菌的趋化性有关）。

酶偶联型受体的共同点：

- ① 单次跨膜蛋白；
- ② 接受配体后发生二聚化，启动下游信号转导。

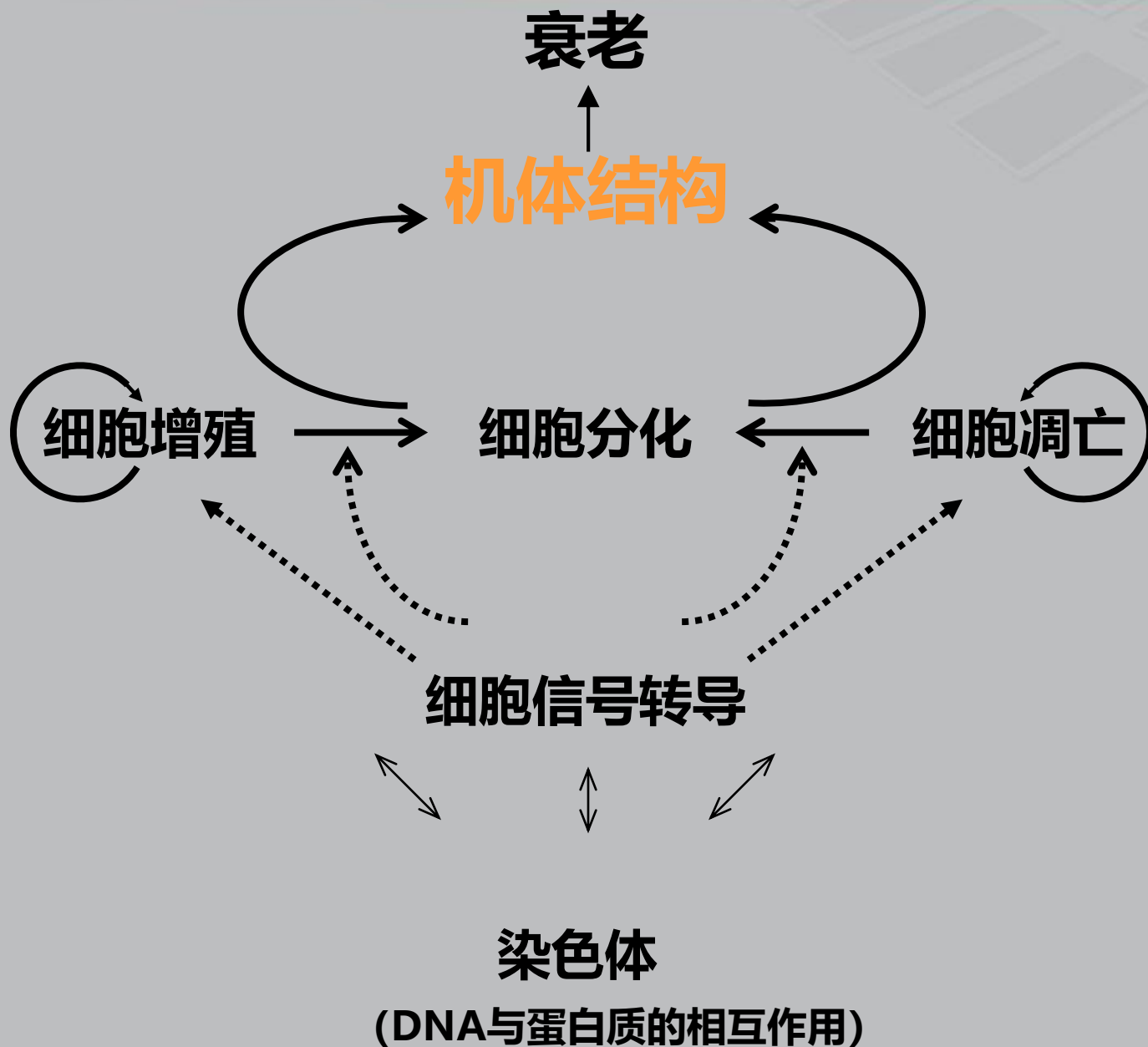


信号转导系统及其特性



(一) 信号转导系统的基本组成

- ① 胞外信号分子被细胞表面特异受体特异识别；（**特异性**）
- ② 通过分子开关实现信号的跨膜转导，产生第二信使或活化的信号蛋白；
- ③ 信号放大，形成级联反应，引发细胞反应；（**放大作用**）
- ④ 细胞反应终止或降低。（**信号终止或下调**）



程序性细胞死亡

细胞死亡往往受到细胞内某种由遗传机制决定的“死亡程序”控制，所以也被称为程序性细胞死亡（programmed cell death, PCD）。

一、动物细胞的死亡

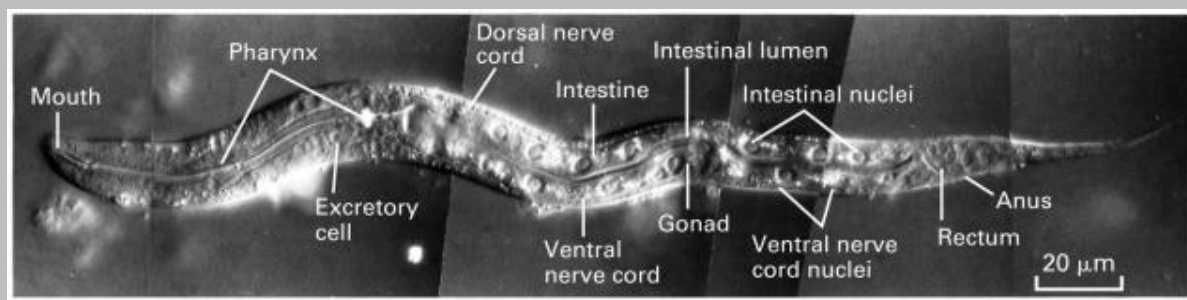
- （一）细胞凋亡(apoptosis)
- （二）细胞坏死(necrosis)
- （三）细胞自噬(autophagy)

二、植物细胞与酵母细胞的程序性死亡

- （一）植物细胞的程序性死亡
- （二）酵母细胞的程序性死亡

(一) 细胞凋亡

细胞凋亡是一个主动的由基因决定的自动结束生命的过程，也常常被称为细胞程序死亡（programmed cell death, PCD）。凋亡细胞将被吞噬细胞吞噬，不引起炎症反应。



2002年10月7日英国人悉尼·布雷诺尔、美国人罗伯特·霍维茨和英国人约翰·苏尔斯顿，因在器官发育的遗传调控和细胞程序性死亡方面的研究获诺贝尔生理与医学奖。

细胞凋亡的形态学特征

凋亡的起始

细胞表面：特化结构消失，细胞间接触消失；

细胞膜：完整，保持选择通透性；

细胞质：线粒体大致完整，核糖体脱离内质网，内质网膨胀与质膜融合；

细胞核：染色质固缩，沿核膜分布。

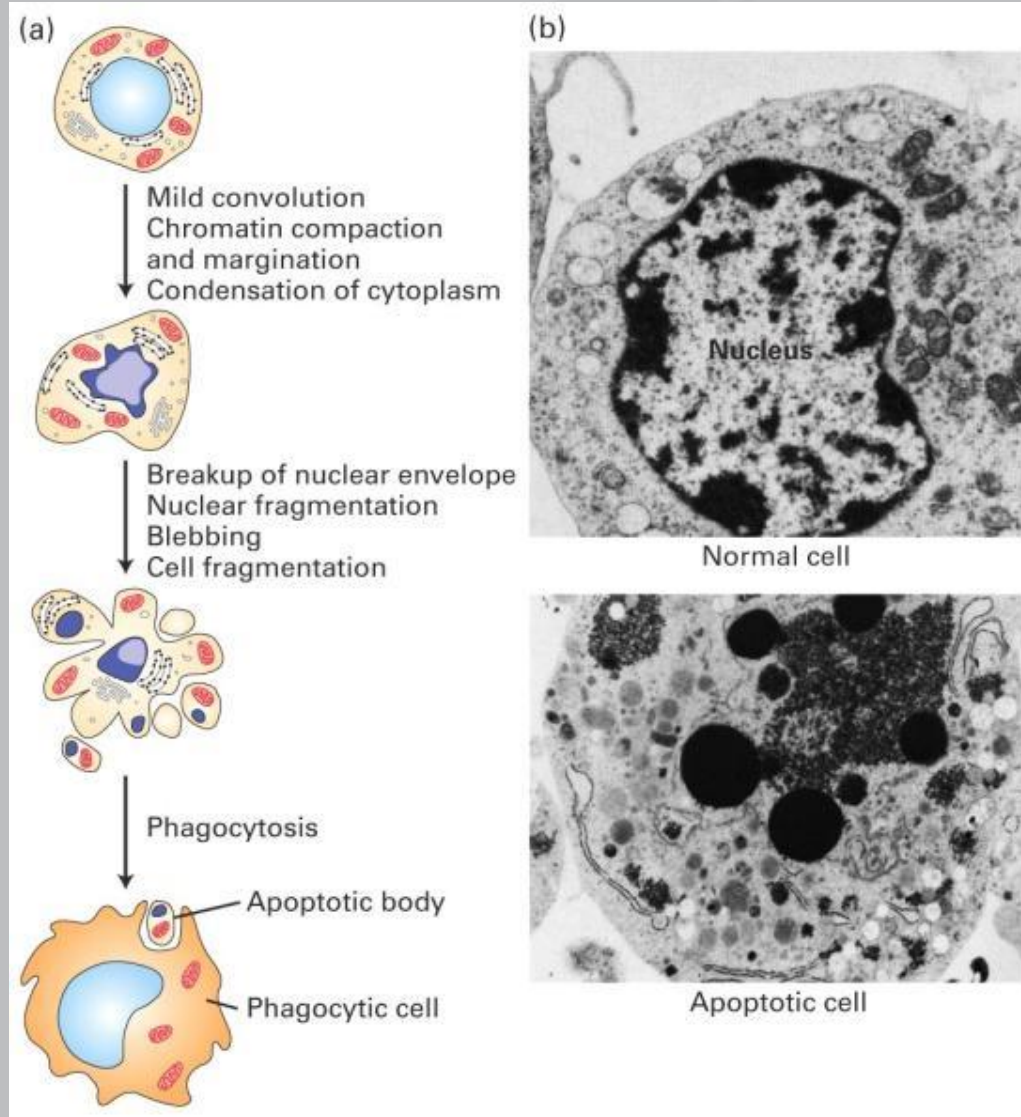
凋亡小体 (apoptotic bodies) 的形成

细胞表面：发泡，泡状或芽状突起逐渐分离形成单个的凋亡小体

核染色质断裂成片段，与细胞器一起被细胞质膜包被。

凋亡小体被邻近吞噬细胞吞噬

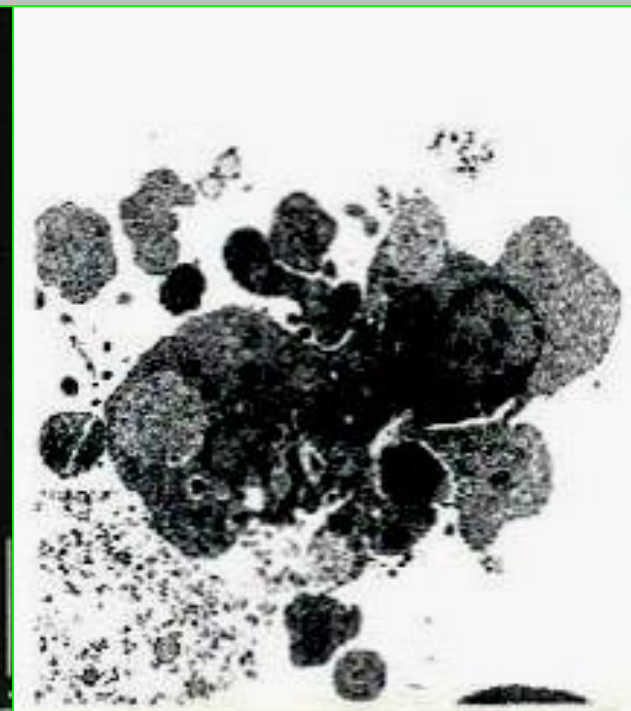
特点：细胞质膜保持完整。内含物不外泄，也不引发机体的免疫反应。



细胞凋亡的形态学特征



正常细胞

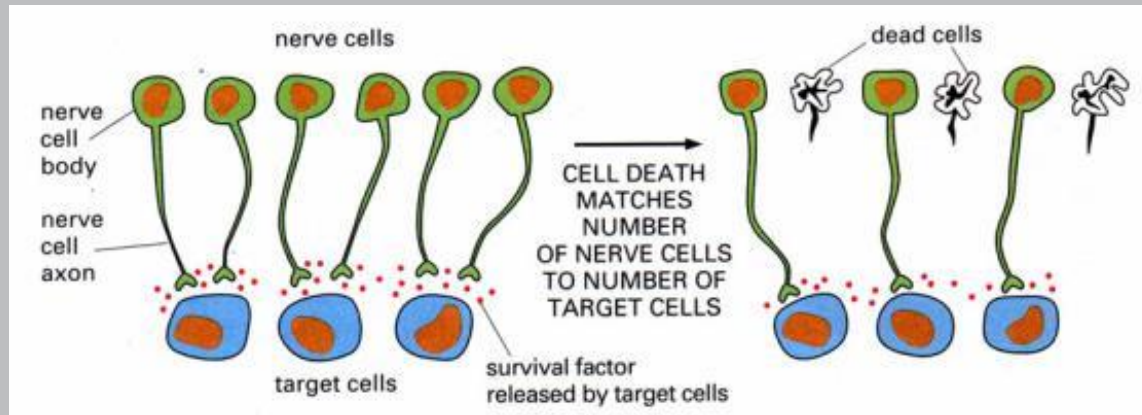


凋亡过程、凋亡小体

细胞凋亡的生理意义

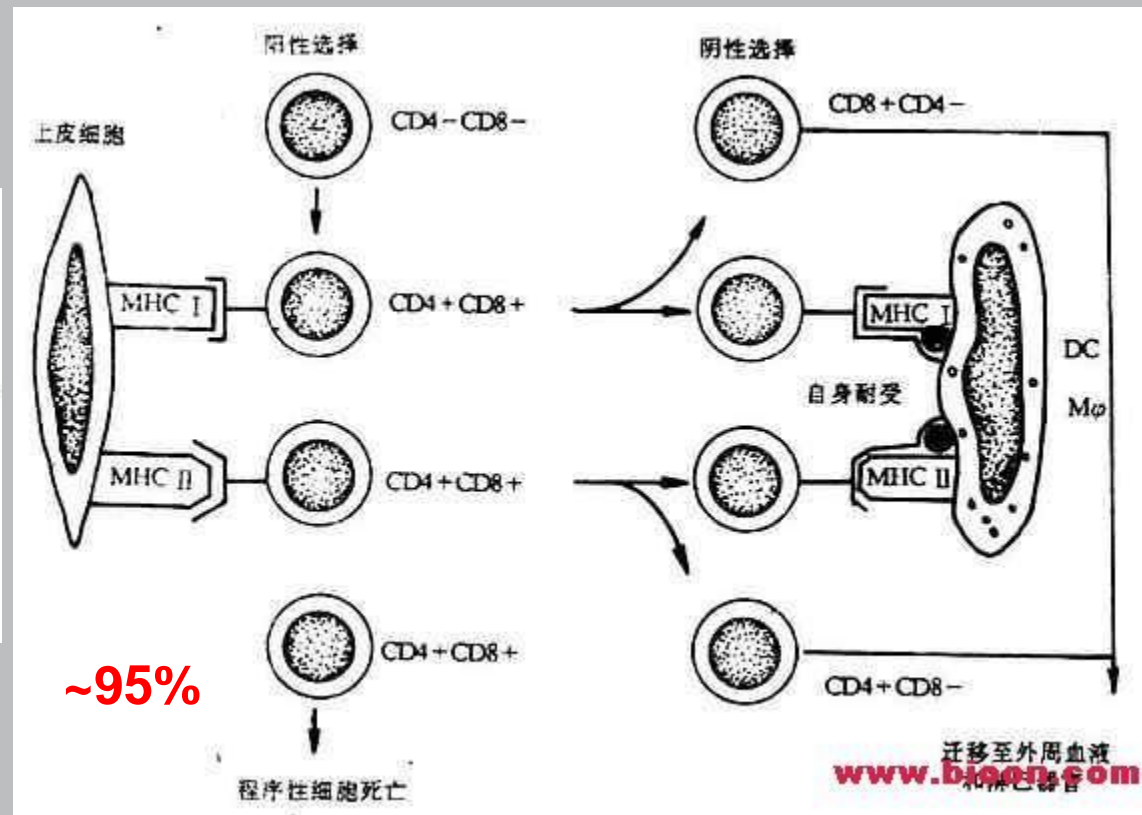
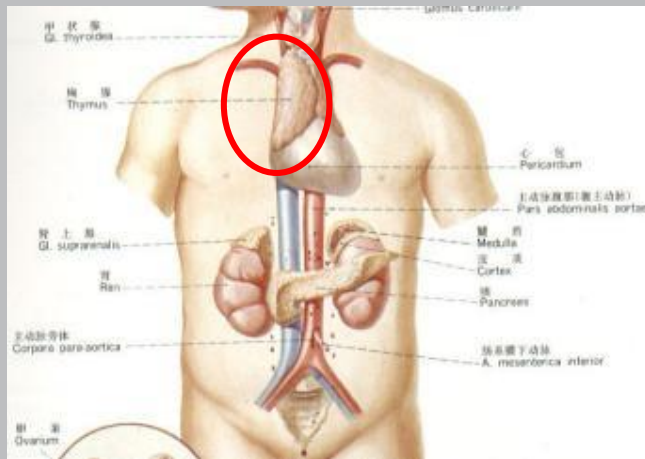
细胞凋亡对个体的正常发育，自稳态的维持，免疫耐受的形成，肿瘤监控等多种生理及病理过程具有重要意义。

✧ In development, homeostasis, tumor surveillance, and the function of the immune system.



细胞凋亡的生理意义

细胞凋亡对个体的正常发育，自稳态的维持，免疫耐受的形成，肿瘤监控等多种生理及病理过程具有重要意义。

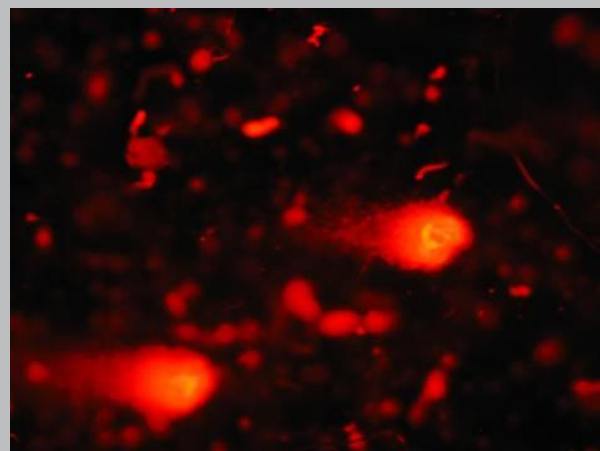
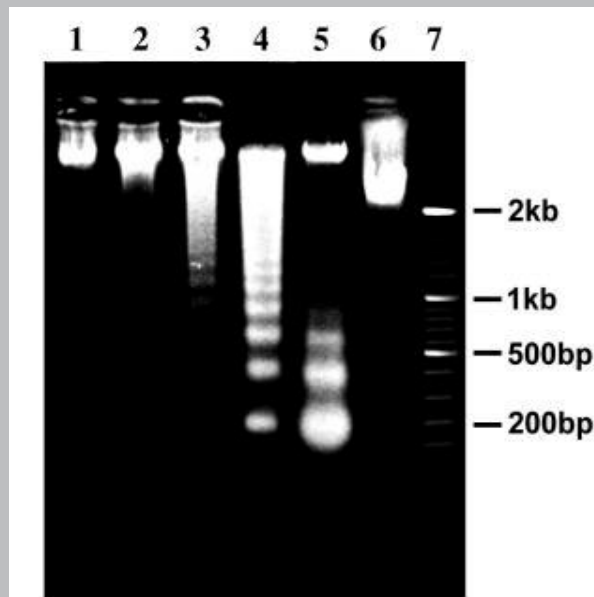
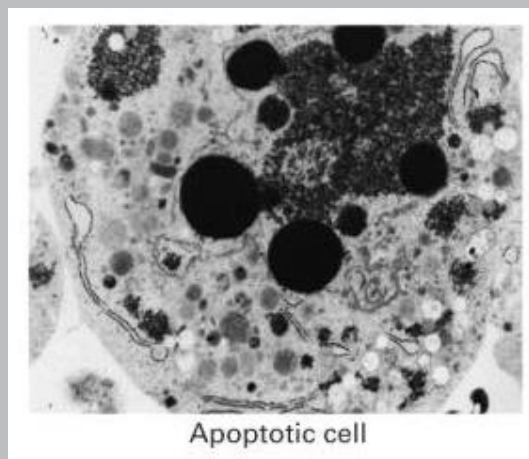


细胞凋亡的检测方法

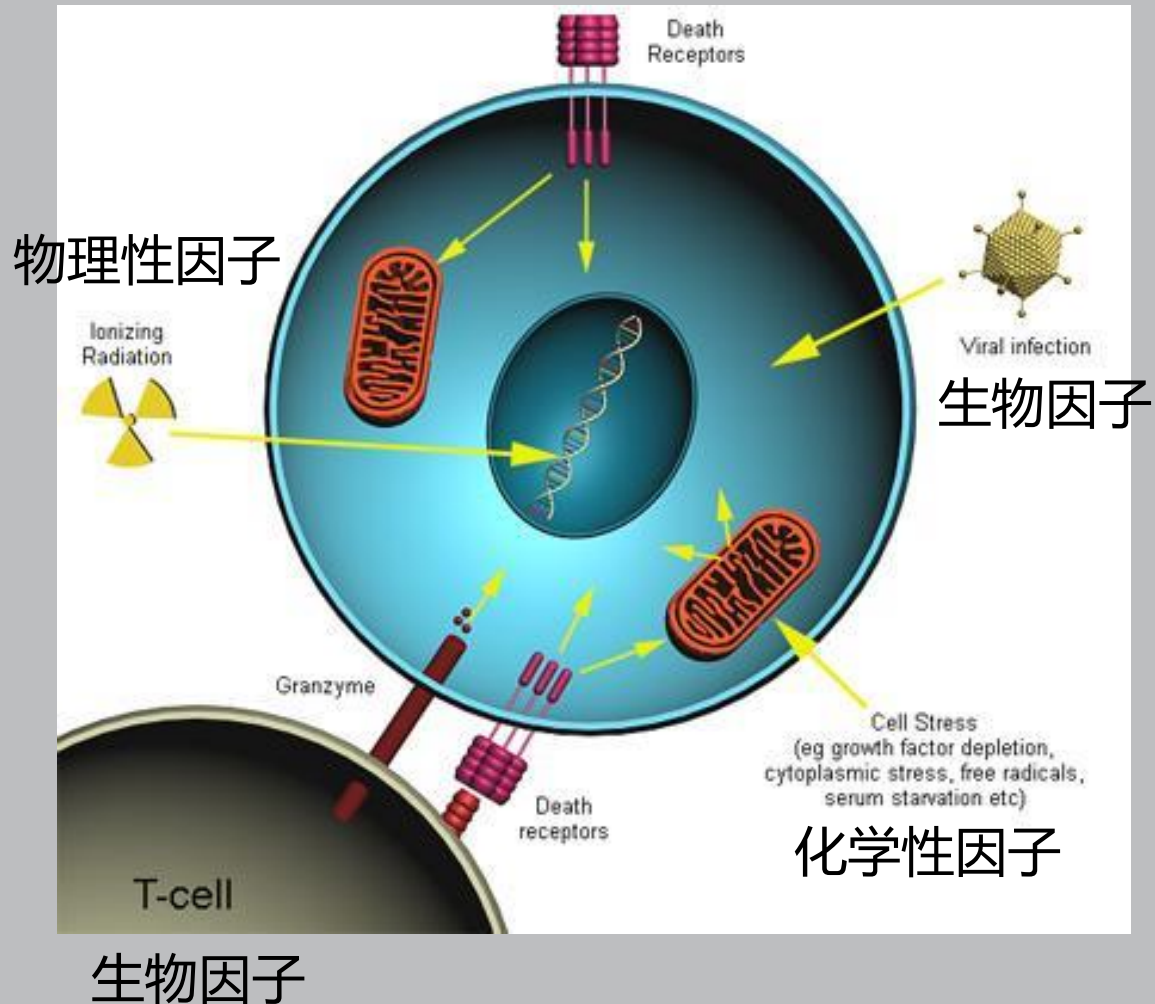
- (1) 形态学观察
- (2) DNA电泳
- (3) TUNEL测定法（DNA断裂的原位末端标记）
- (4) 彗星电泳法（comet assay）

如果类核中的DNA有断裂，断裂点将引起DNA致密的超螺旋结构松散，在类核外形成一个DNA晕圈。将类核置于电场中电泳，DNA断片可从类核部位向阳极迁移，经荧光染色后，在阳极方向可见形似彗星的特征性图像，故称“彗星试验”。

- (5) 流式细胞分析



细胞凋亡的分子机制



Caspase: 天冬氨酸特异性的半胱氨酸蛋白水解酶

(1) 存在于细胞质中具有类似结构的一类蛋白酶

Active site: Cysteine

→ **Cysteine Asparatic acid specific protease**

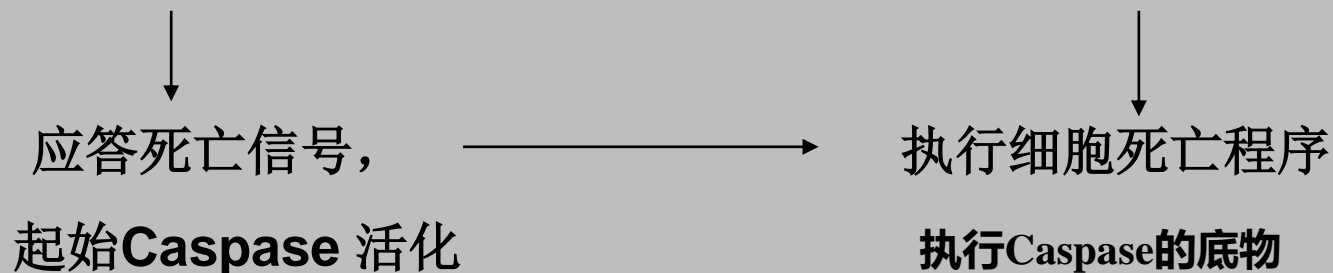
Cleavage site: Asparatic acid

(2) 哺乳动物细胞Caspase家族成员

白介素前提活化: -1, -4

凋亡起始者: -2, -8, -9, -10, -11

凋亡执行者: -3, -6, -7

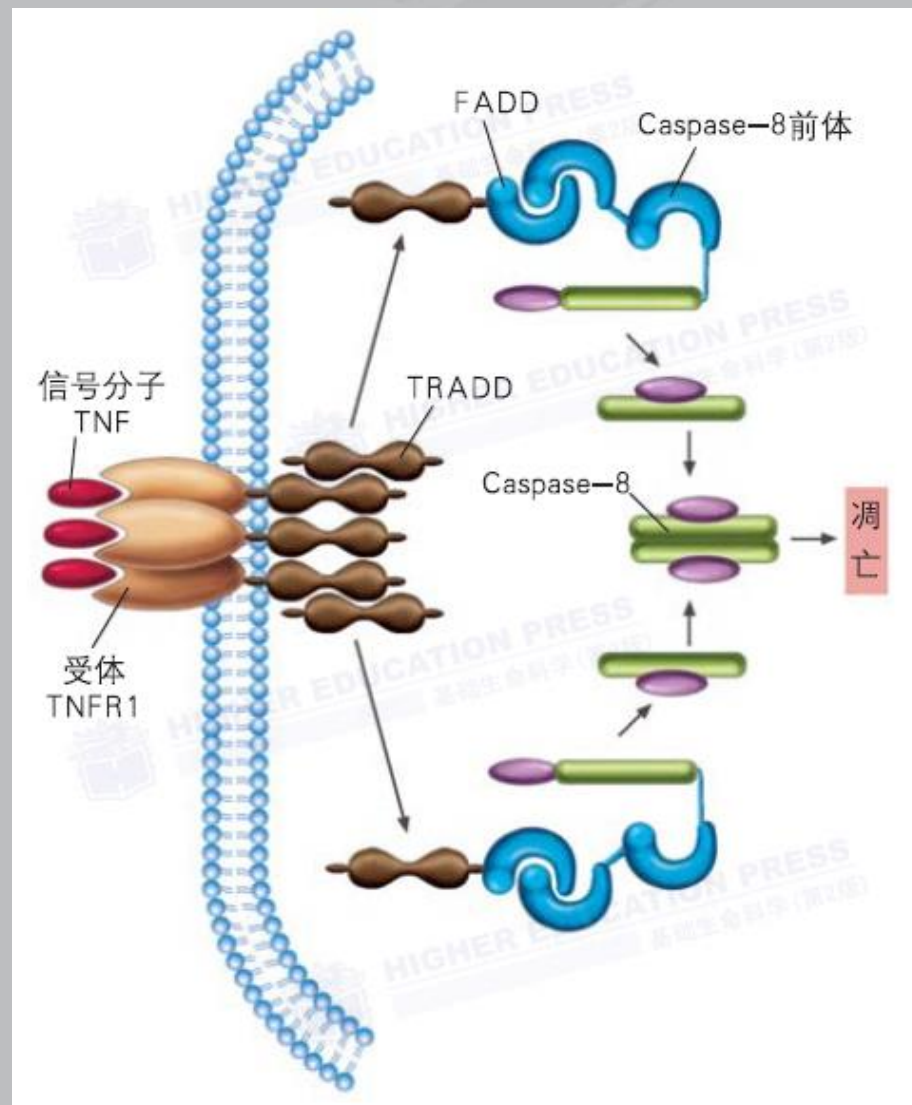


核酸内切酶, 细胞支架蛋白, 核酸内切酶, 参与DNA修复的酶 (PARP)

Caspase依赖性的细胞凋亡

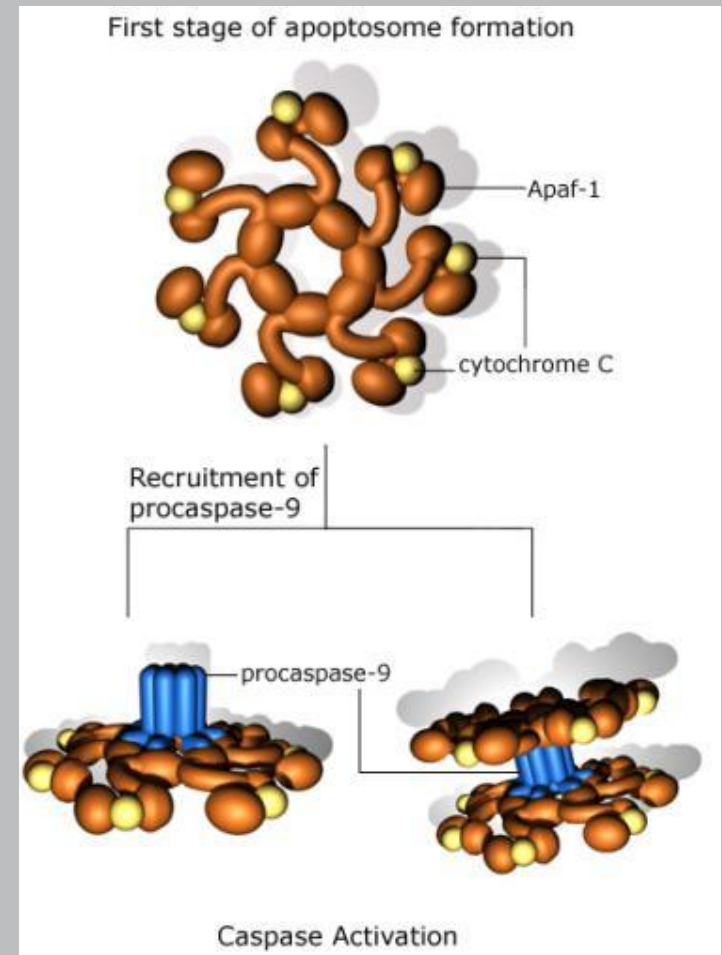
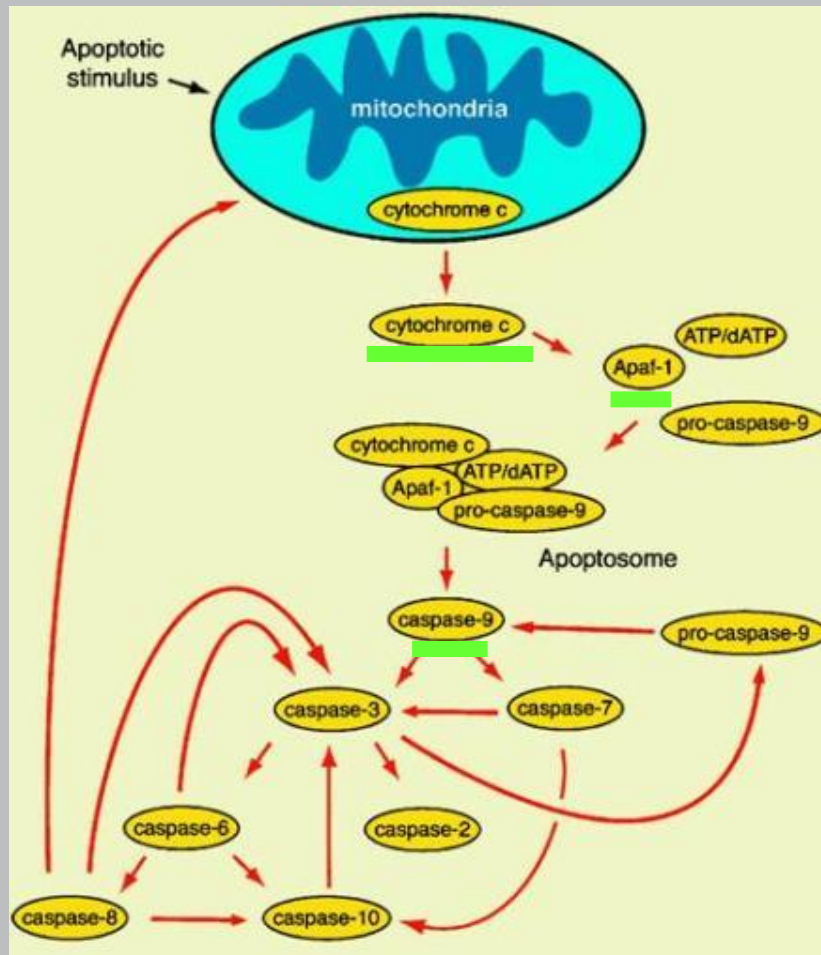
① 由死亡受体起始的外源途径

TNF作为第一信使与哺乳动物细胞表面的受体TNFR1结合，受体构象发生改变并聚合成为三聚体，激活的受体与TRADD和FADD胞质接头蛋白相互作用，促使FADD与无活性的Caspase-8前体（酶原）相互作用，形成活化Caspase-8。再通过级联反应，最终将凋亡信号逐级传至凋亡底物，导致细胞凋亡的发生。



Caspase依赖性的细胞凋亡

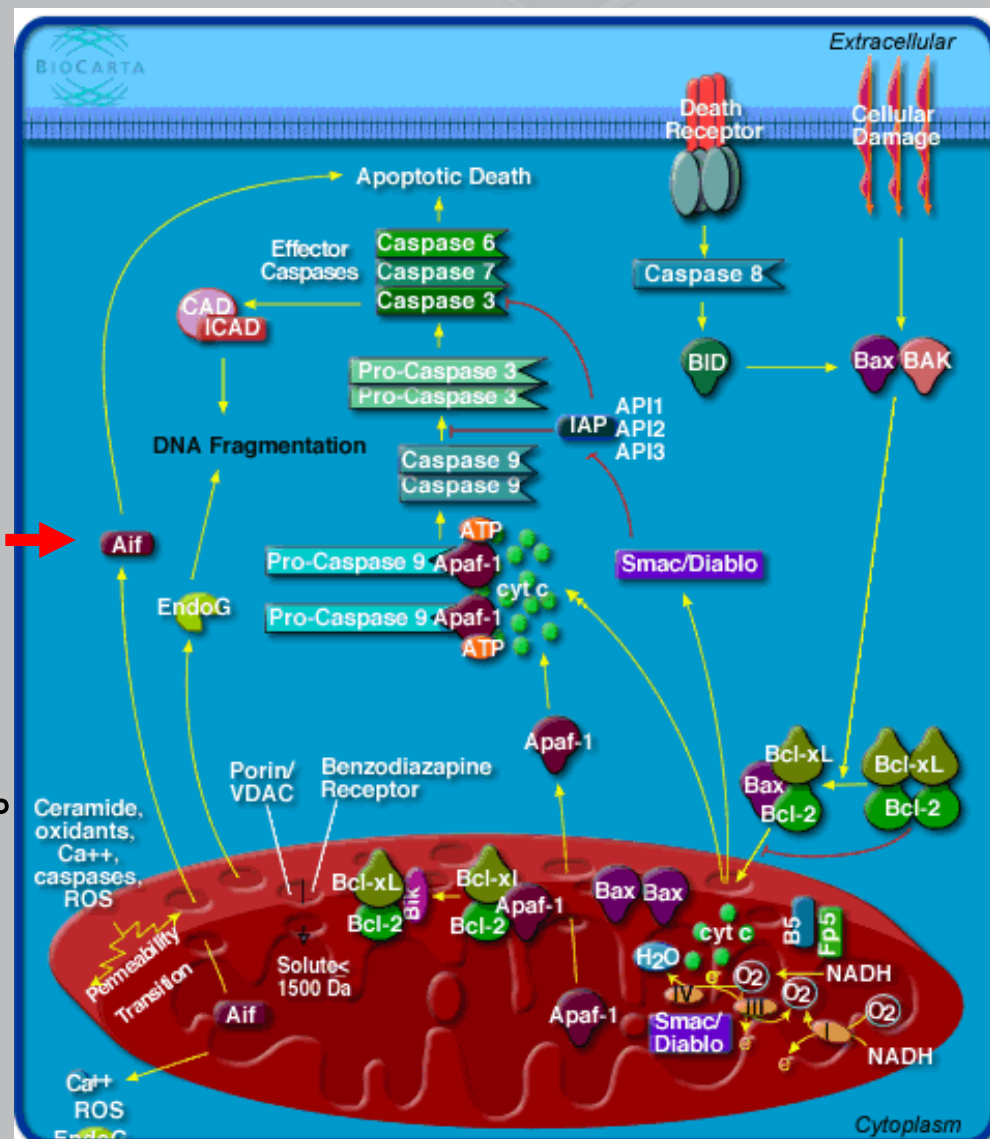
② 由线粒体起始的内源途径



Caspase非依赖性的细胞凋亡

AIF: 凋亡诱导因子 (apoptosis inducing factor)

- ◆ AIF: 毒性因子，正常位于线粒体膜间隙。
- ◆ Bcl-2家族 (Bcl-2, bcl-XL) 稳定线粒体膜的屏障功能，其高表达可以抑制AIF由线粒体向细胞核的转移。
- ◆ Bax增加线粒体膜的通透性。
- ◆ Bcl-2和Bax调整着AIF的释放。



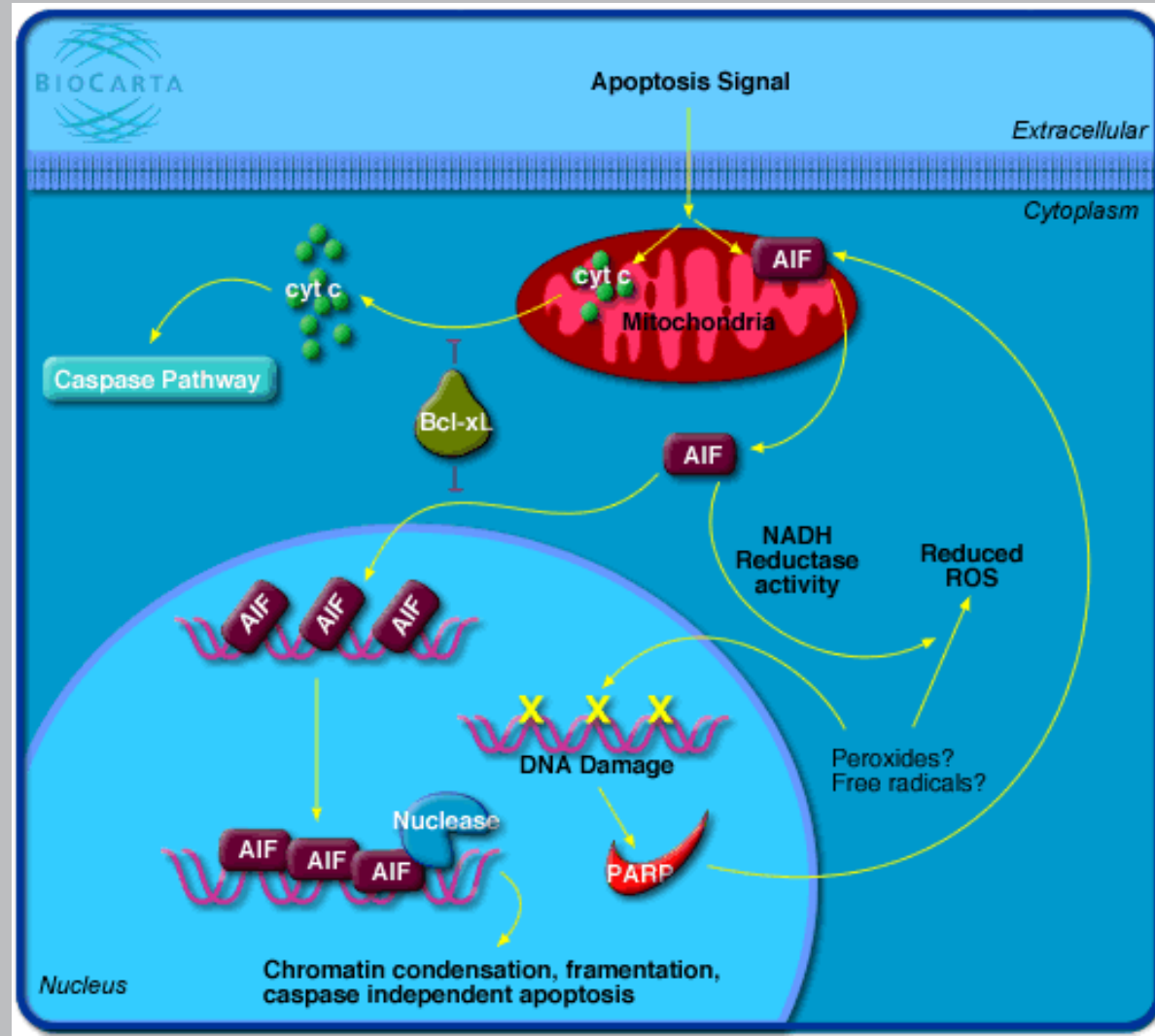
Caspase非依赖性的细胞凋亡

AIF: 凋亡诱导因子 (apoptosis inducing factor)

Endo G: 限制性内切核酸酶G (endonuclease G)

◆ 急性单核白血病细胞在阿糖胞苷，阿霉素作用下，AIF从线粒体转移到细胞核导致核固缩&DNA断裂。

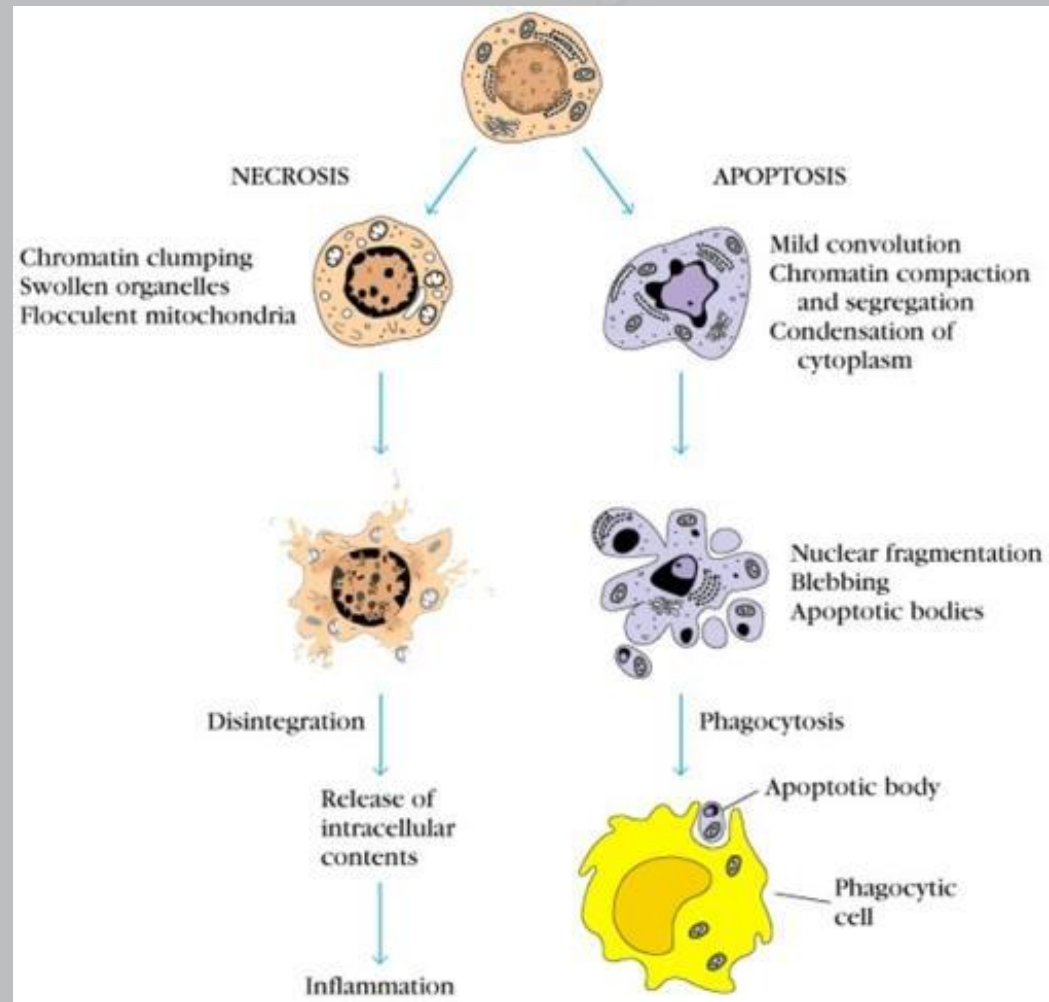
◆ EndoG是从线粒体释放的能够直接剪切DNA的另一种蛋白，Endo的释放可由氧化应激来触发。



(二) 细胞坏死

细胞凋亡与细胞坏死的区别

- a. 形态变化
- b. 生理后果



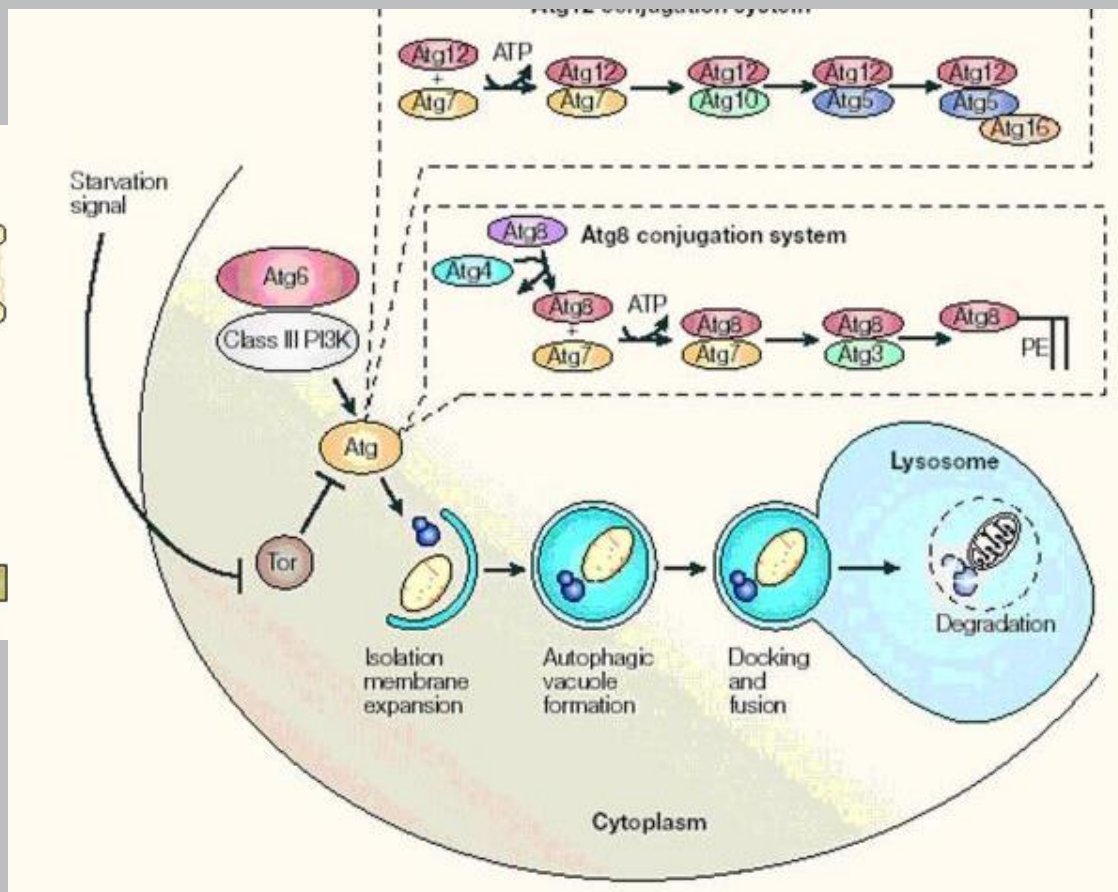
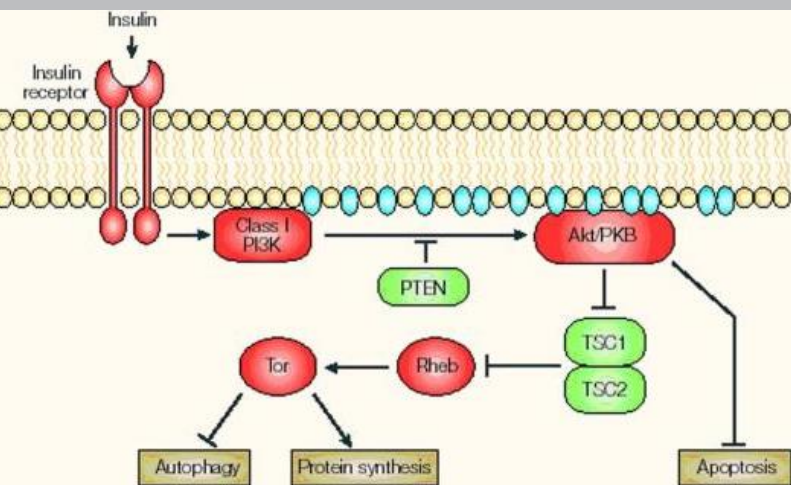
(二) 细胞坏死

表15-2 细胞凋亡和细胞坏死的区别

区别点	细胞凋亡	细胞坏死
起因	生理或病理性	病理性变化或剧烈损伤
范围	单个散在细胞	大片组织或成群细胞
细胞膜	保持完整，一直到形成凋亡小体	破损
染色质	凝聚在核膜下呈半月状	呈絮状
细胞器	无明显变化	肿胀、内质网崩解
细胞体积	固缩变小	肿胀变大
凋亡小体	有，被邻近细胞或巨噬细胞吞噬	无，细胞自溶，残余碎片被巨噬细胞吞噬
基因组DNA	有控降解，电泳图谱呈梯状	随机降解，电泳图谱呈涂抹状
蛋白质合成	有	无
调节过程	受基因调控	被动进行
炎症反应	无，不释放细胞内容物	有，释放内容物。

(三) 细胞自噬

自噬过程的信号调控途径



（一）植物细胞的程序性死亡

植物细胞PCD的分子机制还不甚清楚，与动物细胞相比，植物死亡细胞的残余物被细胞壁固定在原位，不是被周围细胞吞噬，而是被自身液泡中的水解酶消化。

在过敏反应中：可观察到染色质凝聚，DNA 降解为50Kb片段，细胞质膜及液泡膜皱缩破裂，质壁分离，末期细胞内含物泄露到质外体中。

在管状细胞分化的PCD过程中，细胞壁增厚，随着液泡膜的破裂，核DNA被迅速降解，细胞内含物被水解消化，最后仅剩细胞壁。

能诱导植物细胞发生PCD的因素有多种，主要包括活性氧和植物激素等。

（二）酵母细胞的程序性死亡

酵母细胞PCD的形态学特征与动物细胞凋亡类似：DNA 发生凝聚、边缘化和断裂，细胞色素c从线粒体释放等。

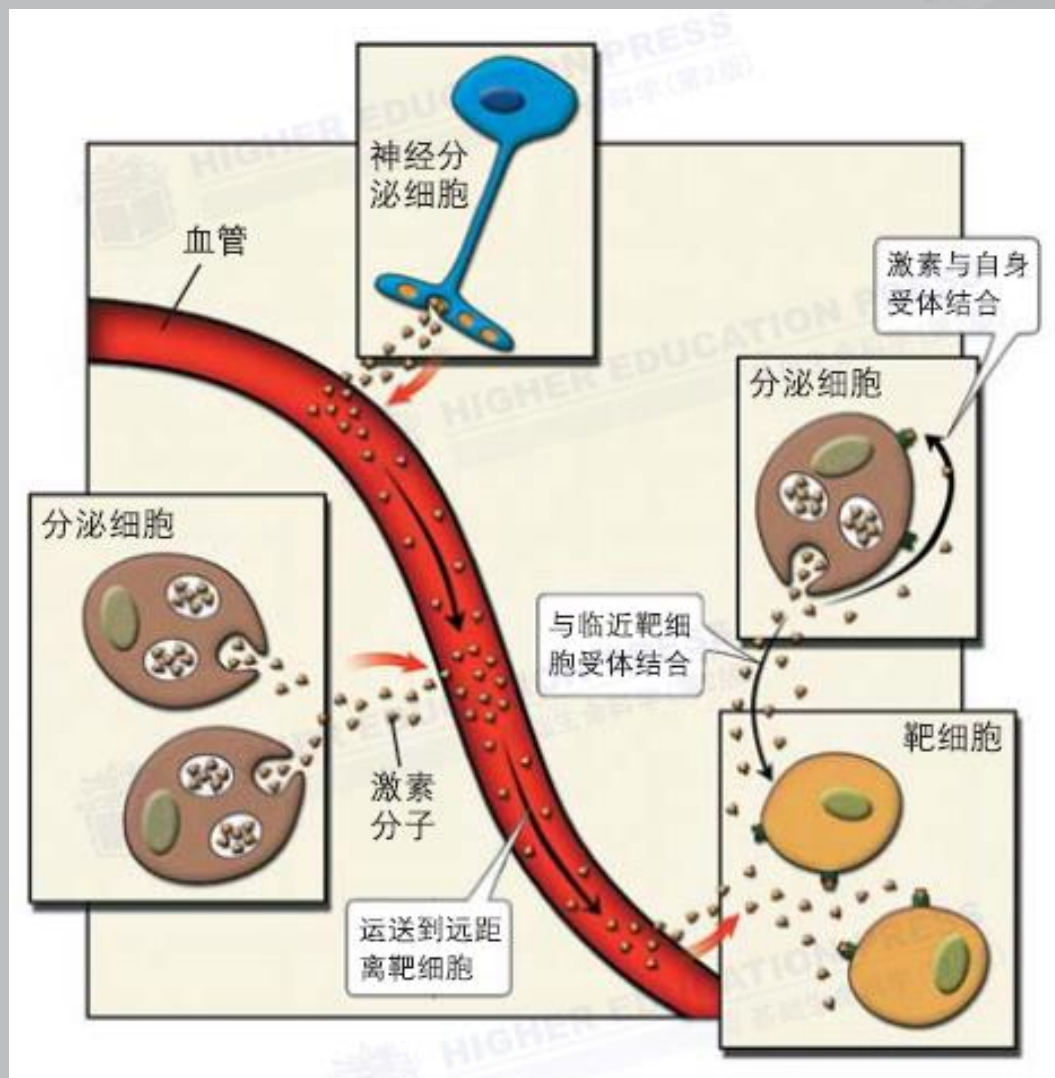
研究表明酵母细胞PCD机制与动物细胞的凋亡机制有类似之处。但还未发现类似动物细胞Caspase的关键执行因子。

酵母PCD的生理意义，有研究者认为单细胞生物“主动自杀”能够清除适应不良的个体以及控制群体的数量，特别是在应急状态下能够将有限的营养供给具有最佳适应性的个体。

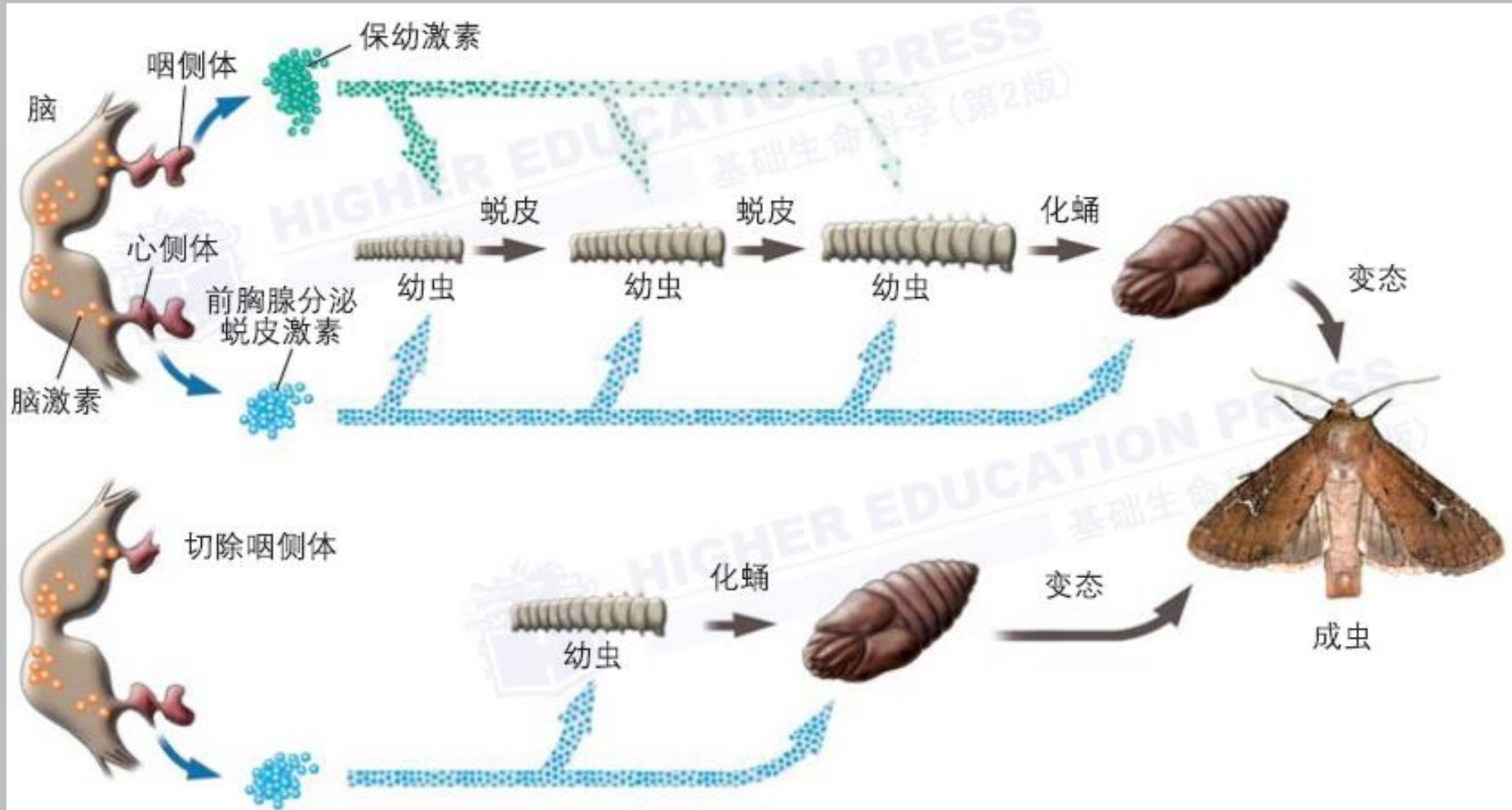
四、激素信号对发育的控制作用

- 动物激素是由多细胞动物内分泌系统产生的化学物质。
- 具有化学信号性质的激素可以作用于某些特定的靶细胞，靶细胞通过其特殊的受体与激素结合后启动一系列代谢活动来对激素信号作出反应。
- 动物激素是一种微量化学调节物质。绝大多数情况下，激素进入循环系统，每种激素只能作用于各自特定的靶细胞、组织或器官。
- 神经分泌细胞也可以制造和分泌激素。
- 动物体具有**内分泌**和**神经**两套系统的协调作用。两者的主要差别在于：从内分泌系统分泌激素、血液运输、与靶细胞结合引起代谢变化到最终的目标器官作出反应所需要的时间较长，而神经信号传递引起目标器官作出反应所需要的时间非常短。

激素信号系统



家蚕由幼虫成蛹再发育为成虫的多次蜕皮和变态过程受3种激素的调节控制。



五、细胞衰老的概念及特征

细胞衰老 (cell ageing, cell senescence) 一般含义是复制衰老 (replicative senescence, RS)，指体外培养的正常细胞经过有限次数的分裂后，停止分裂，细胞形态和生理活动发生显著改变的现象。

Hayflick界限： Hayflick的工作表明，细胞，至少是培养的细胞，不是不死的，而是有一定寿命的；他们的增殖能力不是无限的，而是有一定的界限，这就是著名的 Hayflick界限。

细胞衰老过程形态结构方面的变化

主要表现在细胞皱缩，膜通透性、脆性增加，核膜内折，细胞器数量特别是线粒体数量减少，胞内出现脂褐素等异常物质沉积，最终出现细胞凋亡或坏死。

- (一) 细胞核的变化：核增大，核膜内折，染色质凝聚、固缩、碎裂、溶解
- (二) 内质网的变化：rER总量减少
- (三) 线粒体的变化：数量减少，体积增大
- (四) 致密体的生成：由溶酶体或线粒体转化来
- (五) 膜系统的变化：粘度增加，流动性降低

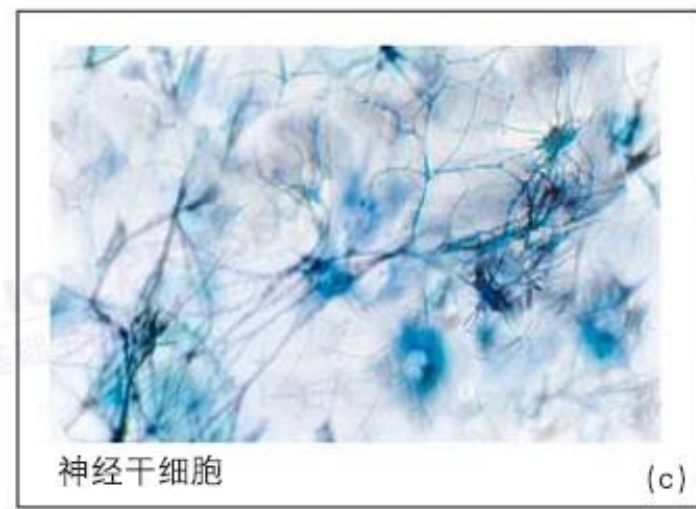
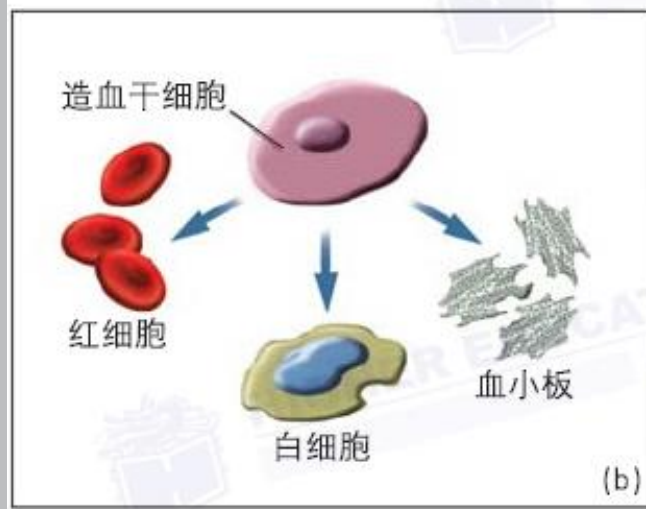
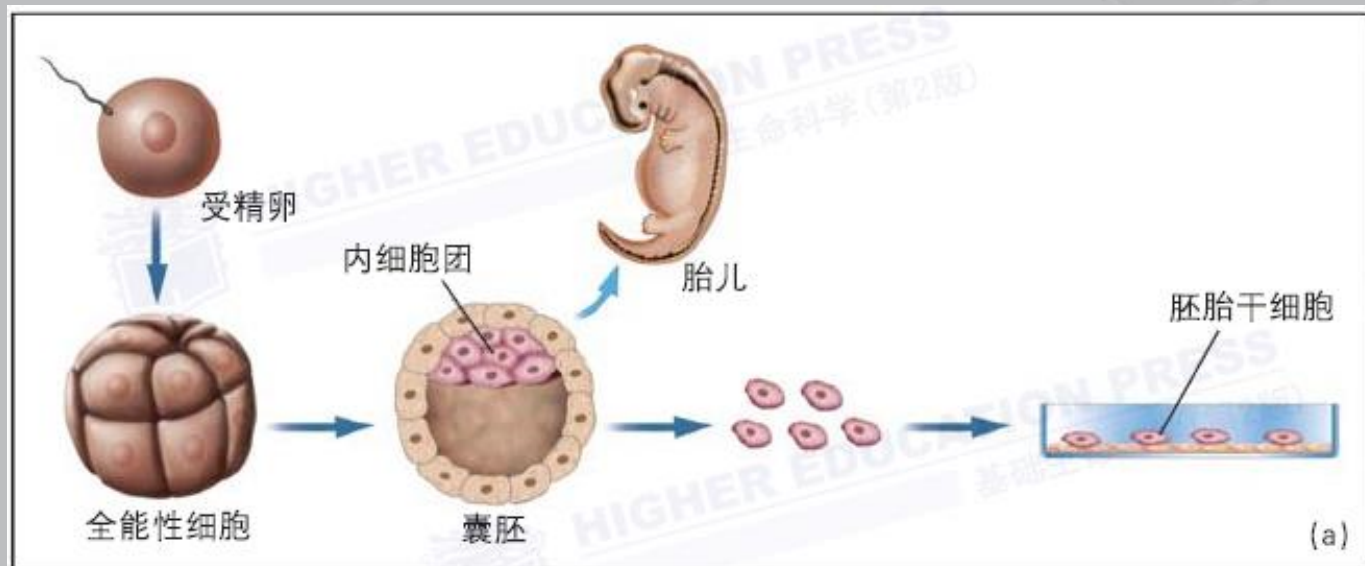
此外，细胞间的间隙连接减少，连接的膜内颗粒聚集体变小。

第四节 干细胞和动物克隆

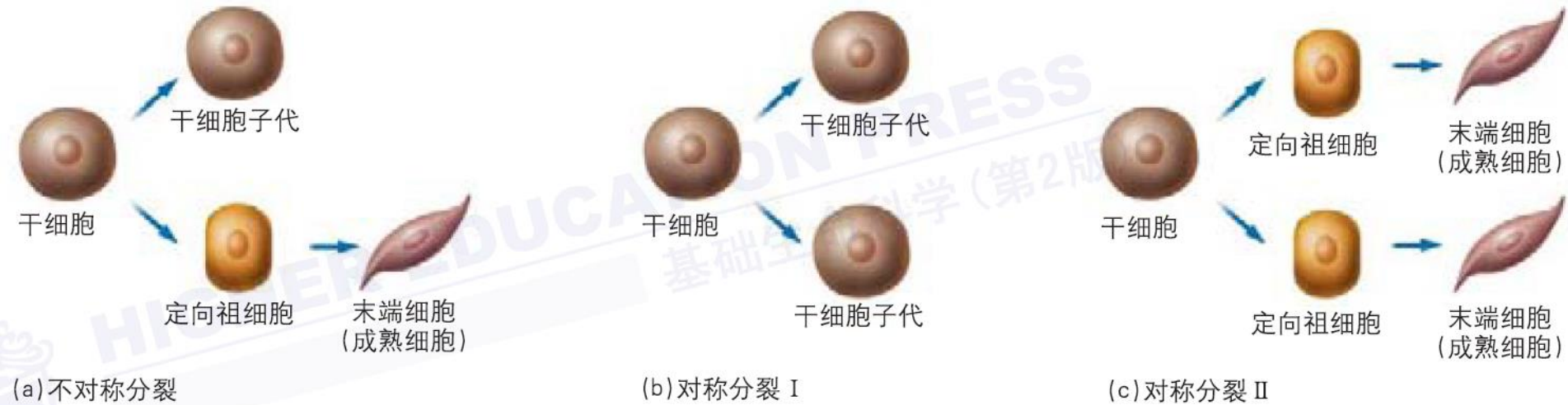
一、干细胞的种类与特性

- 在动物胚胎发育早期，受精卵分裂产生了卵裂球，如果将卵裂球中这些相同的细胞相互分离，其中每一个细胞都可以独自继续分裂和分化，发育成正常的生物个体。这种具有无限的或可被延长的自我更新和分化能力并可分化产生至少一种特化的细胞称为**干细胞**。
- 具有自我更新、高度增殖和多向分化的潜能。
- 按照干细胞的组织来源，它们可分为胚胎干细胞、造血干细胞、表皮干细胞、神经干细胞等多种类别。
- 除了胚胎干细胞外，造血干细胞、表皮干细胞、神经干细胞等又称为成体干细胞。

胚胎干细胞、造血干细胞、神经干细胞是最主要的三种



- 按干细胞分化潜能的大小可以分为**全能干细胞**、**多能干细胞**和**专能干细胞**。例如，胚胎干细胞就属于全能干细胞。骨髓造血干细胞属于多能干细胞，神经干细胞和表皮干细胞等属于专能干细胞。
- 干细胞除了本身不处于分化途径的终端，具有增殖分裂的能力和发育的全能性或多能性外，还有其他一些共同特性：
 - 可以连续分裂若干代，也可以较长时间处于静止状态；
 - 干细胞的基因转移和突变等一般都不影响其发育潜能；
 - 分裂可以是对称的，也可以是不对称的。
 - 在不对称分裂中，两个子细胞一个仍然是未分化的干细胞子代，另一个是**祖细胞**；定向祖细胞的分裂，为组织的再生和损伤修复提供了补充的功能**末端细胞**。

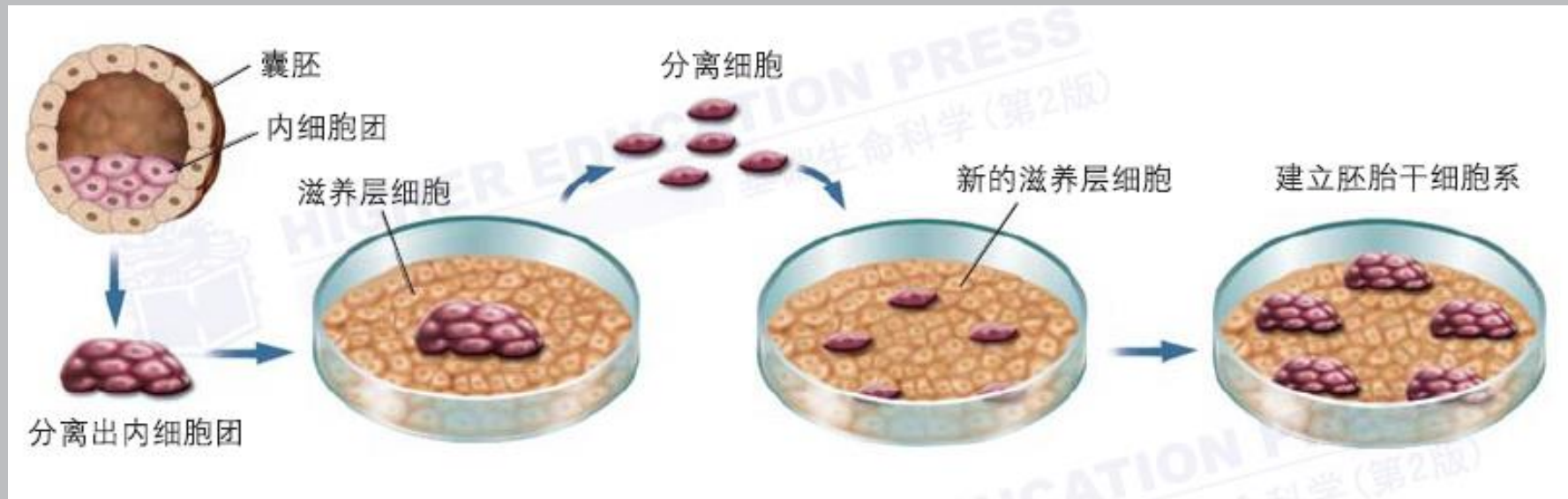


干细胞的命运：对称分裂和不对称分裂。

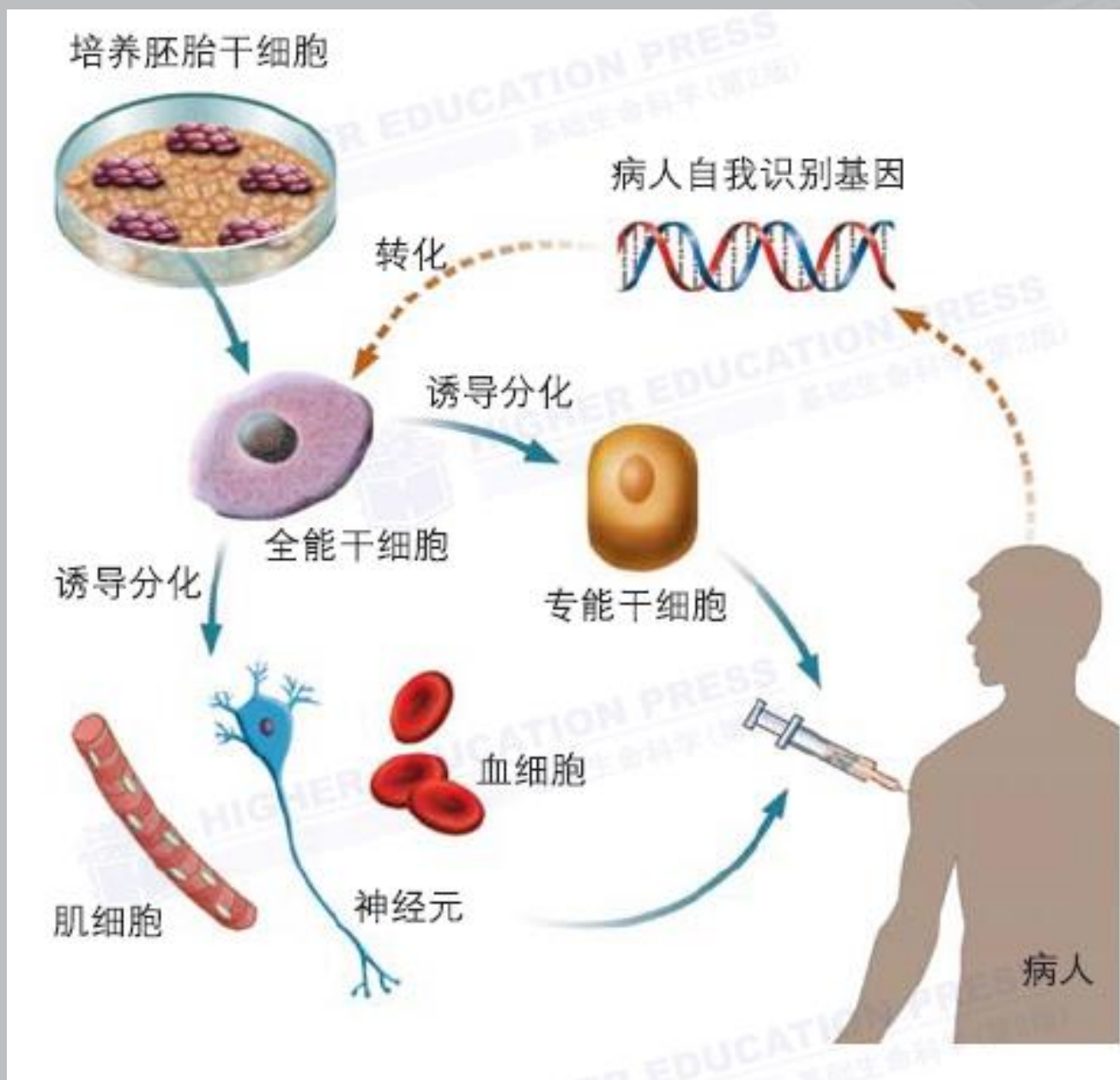
返回

二、干细胞培养和应用

- 目前，对干细胞的培养和应用以胚胎干细胞和造血干细胞为主。相继建立了猪、牛、绵羊、山羊、猴和人的干细胞系和培养系统。
- 人类胚胎干细胞主要来源于：①选择性流产的人类胚胎组织。②体外受精产生的人类胚胎。③将人的体细胞核植入卵质内产生的克隆胚胎。



- 对于人类干细胞的培养与应用，一方面具有重大的医学价值，如利用胚胎干细胞恢复患者损伤组织；另一方面人类干细胞的研究涉及科学道德、伦理、公共卫生安全等十分敏感的问题，因此更加引起人们的关注。
- 几十年来，干细胞的基础研究和应用研究不断取得突破性的进展：
 - 1967年，骨髓移植；
 - 1978年，第一例体外受精的试管婴儿在英国出生；
 - 1989年，用人类胚胎癌细胞系产生了各胚层组织；
 - 1998年，人类胚胎干细胞在体外的生长和增殖；
 - 1999年，用小鼠肌肉干细胞培育分化出血细胞和形成神经胶质细胞；
 - 2001年，发现患者臀部和腿部脂肪中含有类似干细胞的细胞，这些细胞可以发育成软骨和肌肉组织；
 - 2004年，干细胞用于毛发再生的新发现。



利用胚胎干细胞恢复患者损伤组织的一般过程示意图

返回

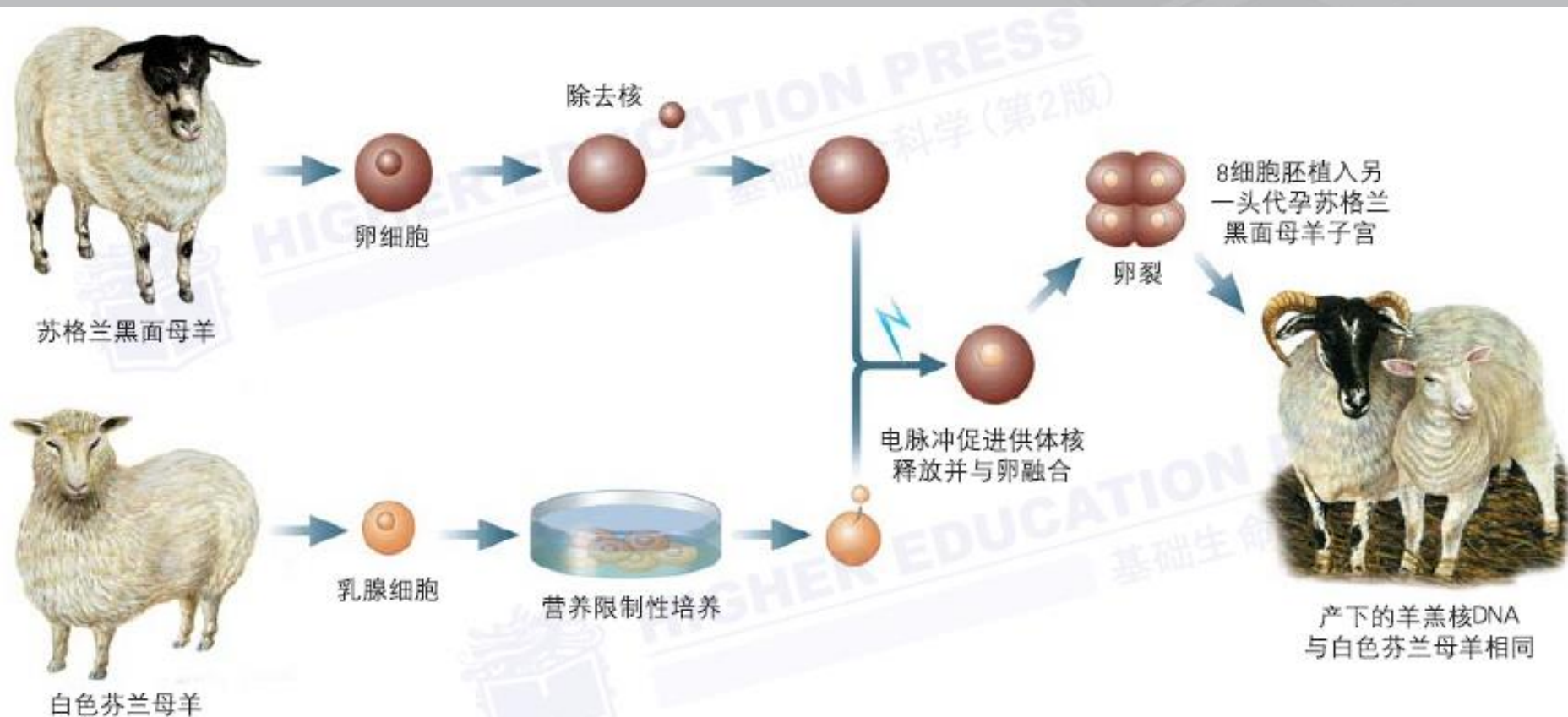
■ 干细胞研究对于人类具有巨大的应用潜力，目前研究的重点主要集中在以下几方面：

- （1）建立多种胚胎干细胞系。
- （2）干细胞定向诱导成组织细胞的分子机制。
- （3）成体干细胞分化的相关条件。
- （4）建立成体干细胞库。
- （5）解决干细胞移植的免疫排斥问题。
- （6）动物和人体的临床治疗实验。

■ 要完成利用干细胞技术的临床治疗应用，科学家还面临着许多挑战和各种问题。

三、动物克隆技术

- 1997年2月23日，苏格兰Roslin研究所的Wilmut和Campbell等人在英国的《*Nature*》杂志宣布：世界上首例来源于哺乳动物体细胞的克隆羊“多莉”问世了。
- **核移植**：利用一个动物的体细胞的细胞核（供体核）来取代受精或未受精卵的细胞核，形成一个重建的“合子”。
- 克隆原意是无性繁殖系。克隆动物就是不经过生殖细胞的受精过程而直接由体细胞获得新的动物个体，这个新个体是核供体动物的拷贝。
- Wilmut等人一共进行了277次乳腺**细胞核移植实验**，获得了29个发育为8细胞的“胚”，分别植入13头代孕母亲的子宫中。1996年7月5日，原始记录为6LL3的羊羔出生了，它被命名为“多莉”。



克隆羊技术示意图

■ 除了在生物技术方面的重大突破外，绵羊“多莉”克隆成功之所以轰动了世界，还因为大家普遍关心的另外两个重大问题：

（1）既然绵羊的体细胞可以被成功地克隆成一个新的个体，是否意味着人类也可以克隆自己呢？

（2）是否应该允许进行克隆人的实验？

■ 自从“多莉”羊克隆成功以后，其它各类克隆动物也相继问世：克隆牛、克隆猪、克隆鼠等。

■ 干细胞克隆和动物克隆技术在医学、制药、工业、农业及畜牧业领域具有广泛的应用前景。

本章摘要

大多数的动物是通过有性繁殖，从一个受精卵开始，经过细胞分裂、细胞分化和形态发生等阶段完成胚胎发育。脊椎动物的发育以受精为起点，单细胞受精卵经过卵裂形成多细胞囊胚、原肠胚、神经胚和器官发生阶段以后，完成胚胎的发育。性成熟的动物个体的生殖细胞通过减数分裂产生单倍体配子—精子和卵，再经过受精作用又融合形成二倍体的受精卵，开始了新一轮发育过程。

被子植物的受精卵通过分裂、细胞分化和形态发生三个过程发育为种子。有胚乳种子由胚、胚乳和种皮三部分组成，种子萌发时，由胚乳提供营养物质，胚发育形成植物幼苗。当幼苗长出真叶后可以进行光合作用，植物从异养生长转为自养生长；幼苗进一步生长并发育产生成熟的根、茎、叶、花等植物器官。在生殖生长期，孢子体上形成了特化的繁殖器官—花，花上的特殊细胞通过减数分裂，形成单倍体的孢子，孢子经过有丝分裂形成了多细胞的雄配子体和雌配子体，当花的雄蕊和雌蕊发育成熟，花粉便从花粉囊中散出，并被传送到花的柱头上。花粉粒（雄配子体）和胚囊（雌配子体）经过有丝分裂，分别产生单倍体的配子。以后，精子与卵结合形成受精卵，成为二倍体的合子，植物的生活史又开始新一轮的循环。

在动物早期胚胎中，细胞都是全能的。细胞决定是随着胚胎的发育，细胞发育的潜能逐渐受到限制的过程。有些物种受精卵细胞质的不均一性对于早期胚胎的细胞决定具有根本的作用。细胞质中决定细胞命运的特殊信号物质称为决定子。在某些动物受精卵的动物极和植物极分布着不同的决定子，正是由于这种极化的差别，造成了卵裂后动物极细胞与植物极细胞发育的不同命运。

在整个有机体发育的过程中，细胞在时间和空间上有秩序地分化，从而导致有机体的器官组织等结构有序的空间排列，形成有机体特定形态的统一性，称为生物的模式形成。诱导相邻细胞发育的信号分子是可扩散的蛋白质—成形素。成形素浓度的高低是决定该区细胞发育命运的重要因素。动物形态的发生除了细胞分裂和生长的作用外，胚胎发育过程中的细胞移动起主要作用。

依靠某主导基因的调控表达，通过产生特定调节蛋白引发其他调节蛋白（转录因子）组合的级联反应和组合调控，从而不断地启动细胞分化，是有机体发育过程中基因调控的基本规律之一。细胞凋亡是另一类控制和影响发育的特殊细胞分化现象。细胞凋亡是特定的细胞在基因信息的控制下自动结束生命的过程。

化学信号分子与细胞表面或细胞内的受体相结合将外界信号转换为细胞能感知的信号并作出相应的反应，这一过程称为信号转导。G蛋白偶联受体和酶偶联受体是两个最重要细胞表面受体蛋白家族，它们各自介导不同的细胞信号转导途径。在G蛋白介导的信号传导途径中，G蛋白偶联受体接受胞外信号后，蛋白质构像发生改变导致G蛋白被激活，G蛋白去活化效应器蛋白，产生胞内信号继续向胞内和核内传递。在酶联受体介导的信号传导途径中，受体一旦与配体信号结合，就获得了酶的催化活性，激活胞内的效应蛋白，将信号继续向胞内和核内传递。

线虫、果蝇、斑马鱼、小鼠、拟南芥等是发育生物学研究的模式生物。这些模式生物的共同的特点是体积小，生命周期短，易培养，易进行基因操作，易观察，并且基因测序均已完成等。

干细胞具有自我更新、高度增殖和多向分化的潜能。干细胞的分化先经过中间类型定向祖细胞，然后进一步分化为成熟的末端细胞。动物克隆技术属于无性繁殖范畴，能实现基因型复制。转基因克隆技术是转基因技术和动物克隆技术的有机结合，它以转基因细胞为核供体，采用体细胞核移植技术产生转基因克隆动物。