

《发育生物学》

Developmental Biology

湖南师范大学生命科学学院

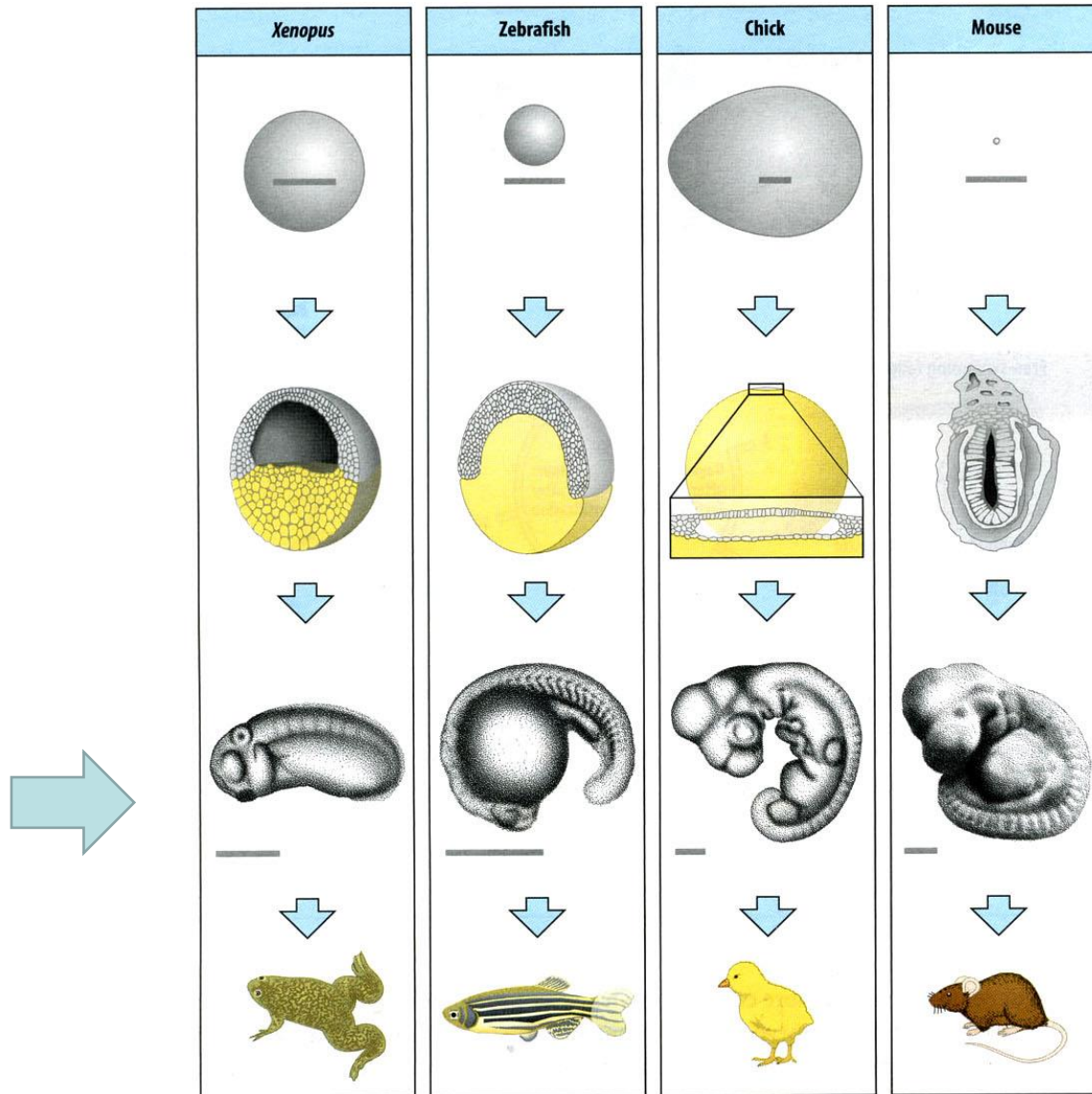
发育生物学教研组

2020年4月

脊椎动物形体模式的建立

The phylotypic stage

系统发生型时期



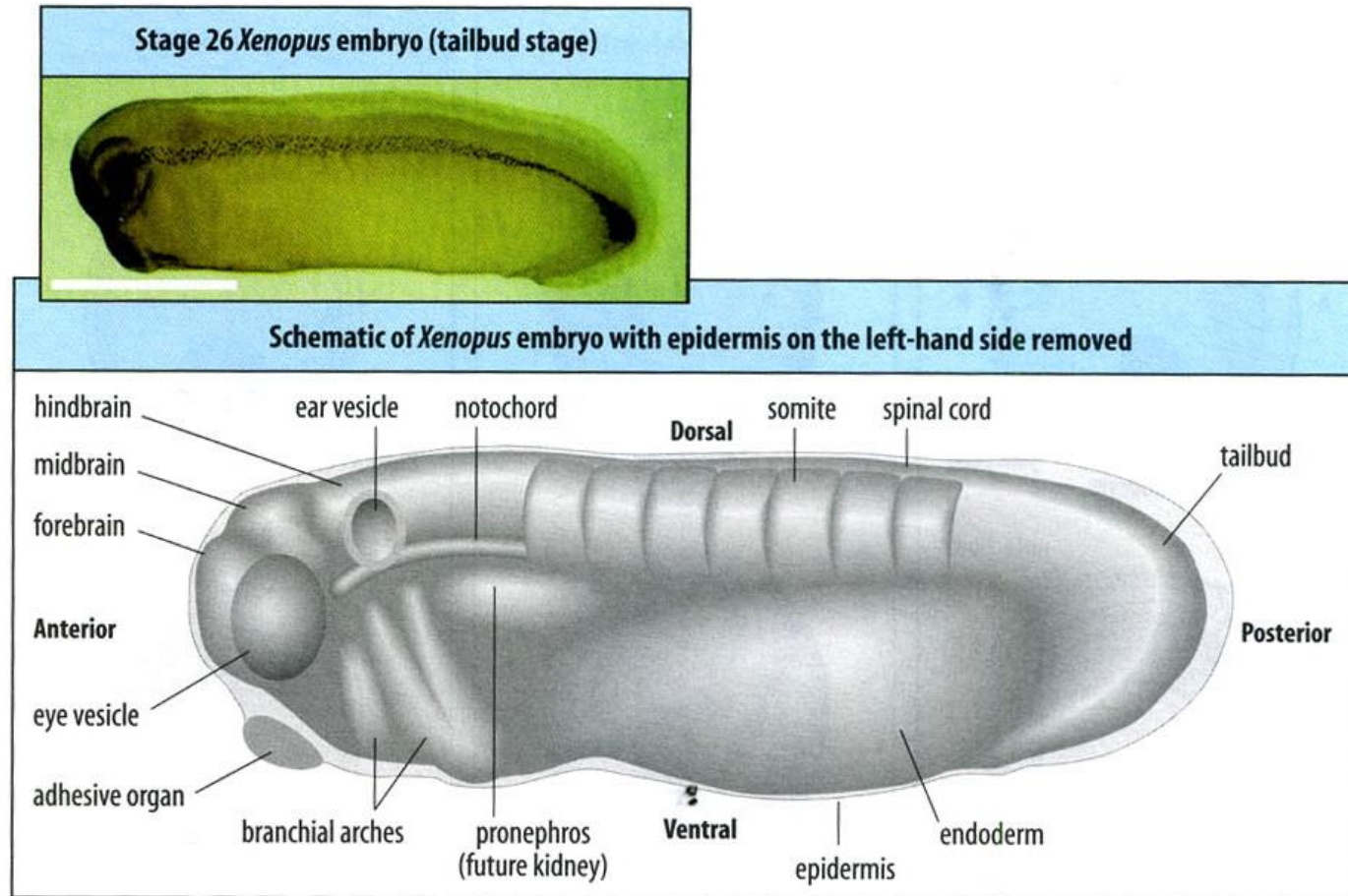
脊椎动物形体模式



背腹极性
dorso-ventral

口确定腹侧

第七章 两栖类体轴的形成



早期胚胎学研究年代表

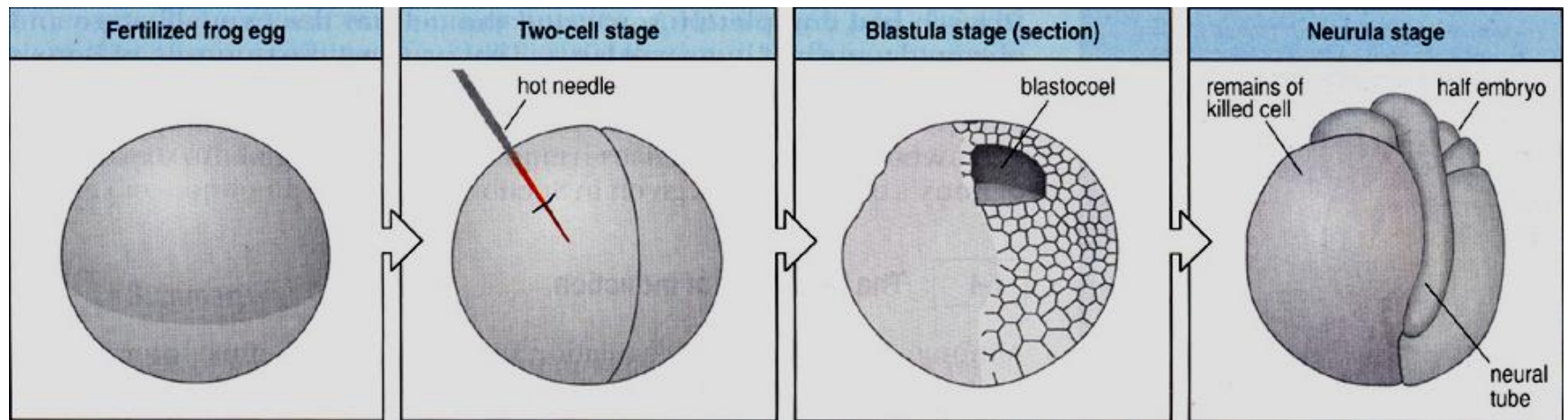
Chronology of Events	
B.C.	
460-370	Hippocrates, Regimen, obstetrics and gynecology.
384-322	Aristotle, treatise on embryology, view of epigenesis.
380-287	Theophrastus, seed germination and development in plants.
A.D.	
1600	H. Fabricius, mechanics of development in chick.
1626	Joseph of Aromatari, miniature chick in egg.
1651	W. Harvey, epigenesis, “all creatures come from eggs.”
1651	N. Highmore, pangenesi.
1664	H. Power, “complete heart” in chick egg.
1666	J. Swammerdam, preformation theory from frog development.
1667	N. Steno, introduced term “ovary” for female reproductive gland.
1672	R. de Graaf, Graafian follicles thought to be eggs.
1674	N. de Malebranche, “box within box” theory.
1677-83	A. von Leeuwenhoek, observed sperm and commented on fecundation.
1682	M. Malpighi, microscopic observations of chick embryology.
1691-94	R. Camerarius, sexual reproduction in plants.

Ernst Haeckel (1834-1919) 认为个体发生可以看到该物种的演化过程-**发生重演学说**。(1866年)。



对胚胎的研究依赖于观察——比较胚胎学阶段

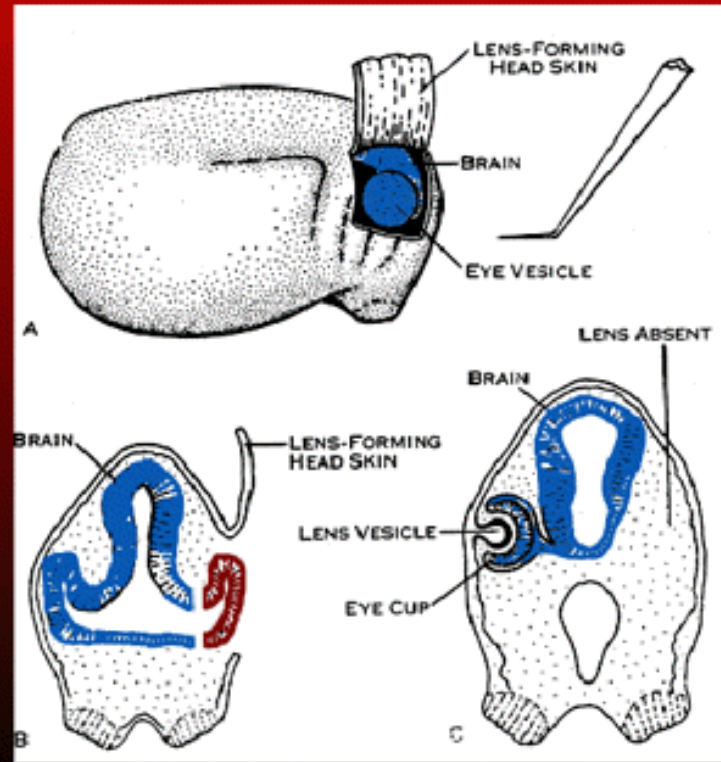
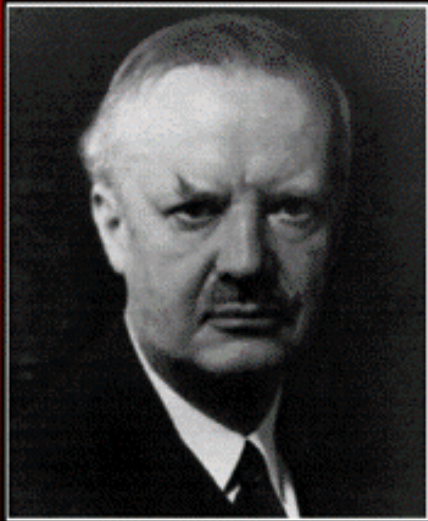
W. Roux (1887, 早期蛙胚操作)



一批学者开创**实验胚胎学**

HANS SPEMANN, 1901

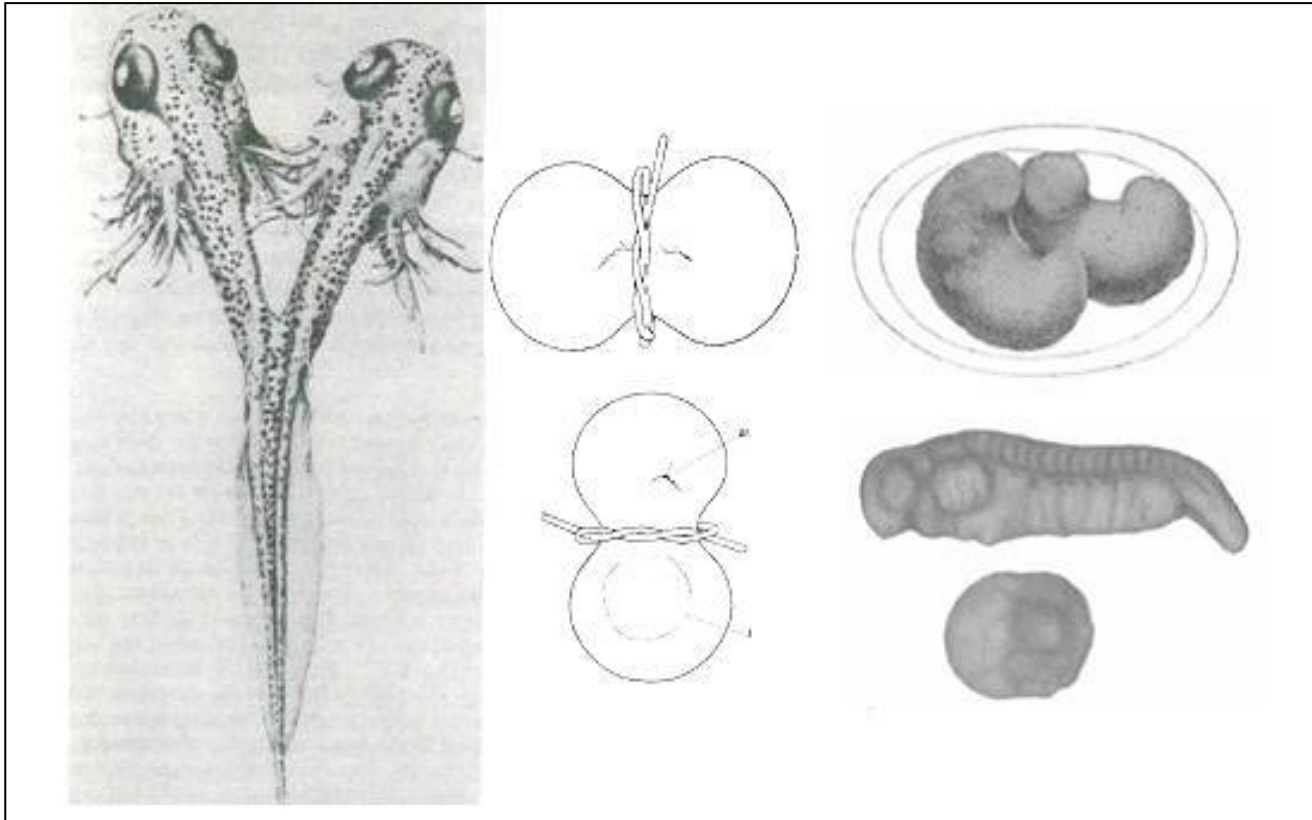
LENS INDUCTION



德国胚胎学家Hans Spemann(1869.6.27-1941.9.12)

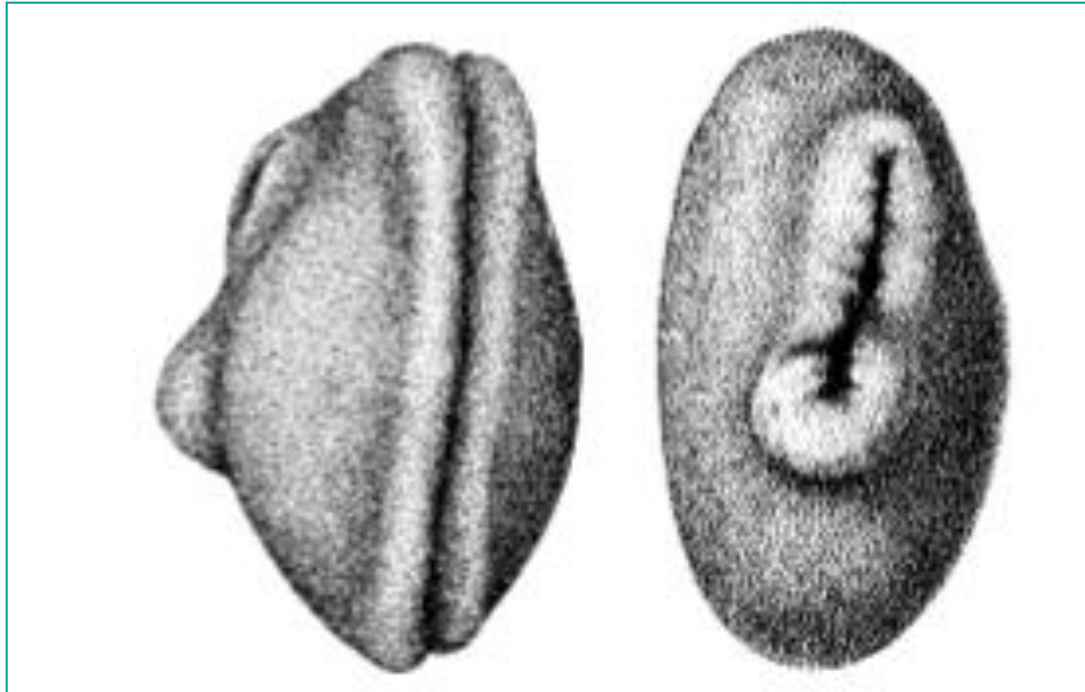
他中学毕业后曾一度从事出版业工作，后在海德堡慕尼黑大学攻读医学。读完医科的前期课程之后到维尔茨堡大学攻读动物学、植物学和物理学。在就学期间接受T.H.博韦里建议，研究猪蛔虫的胚胎发育(博士论文)，就此打下**坚实的形态学基础**。

Spemann 重复Roux 的实验，将结扎实验延伸到不同胚胎发育阶段，发现背腹发育的差异。

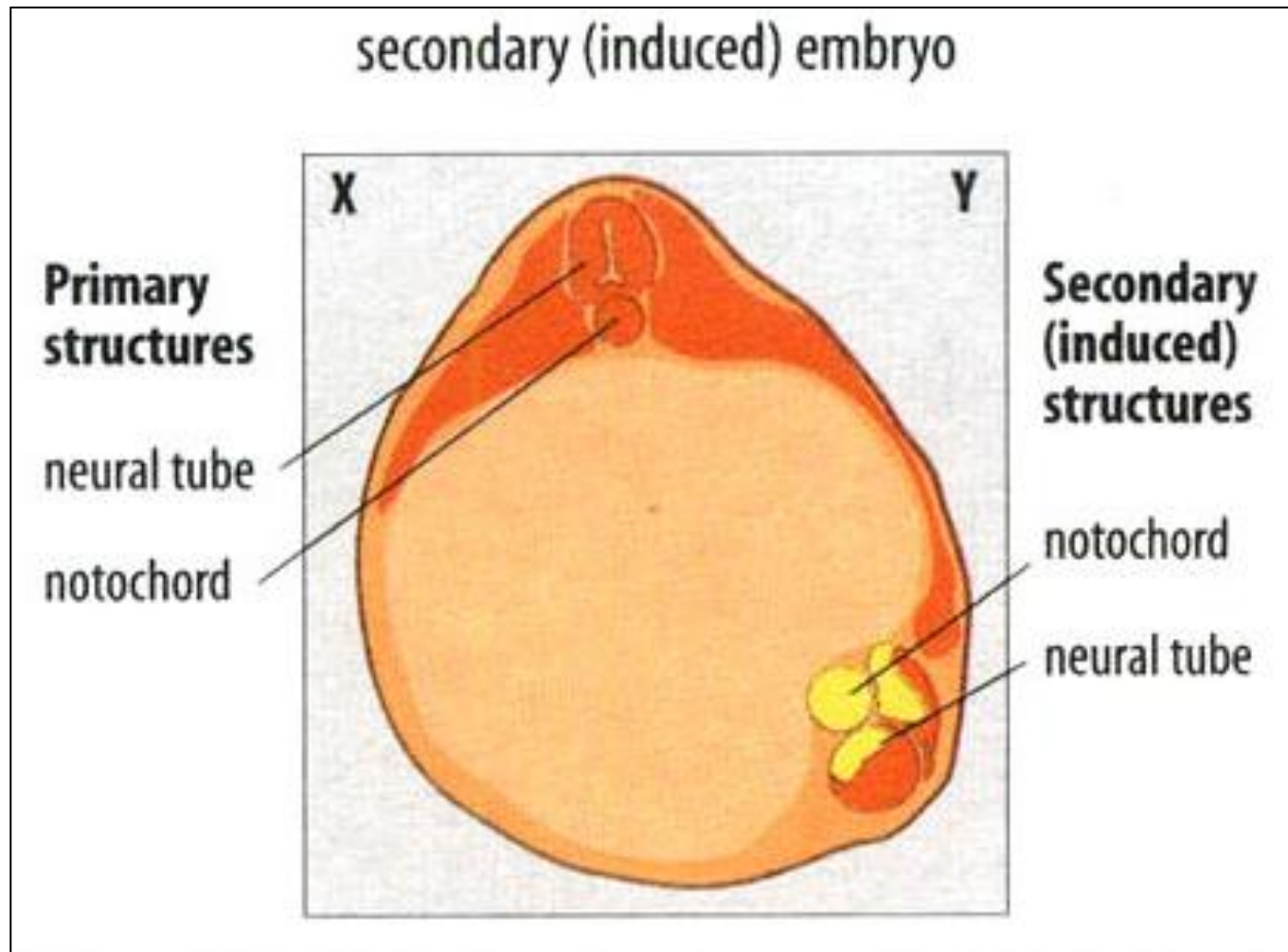


Spemann的结扎实验 (1903-1924)

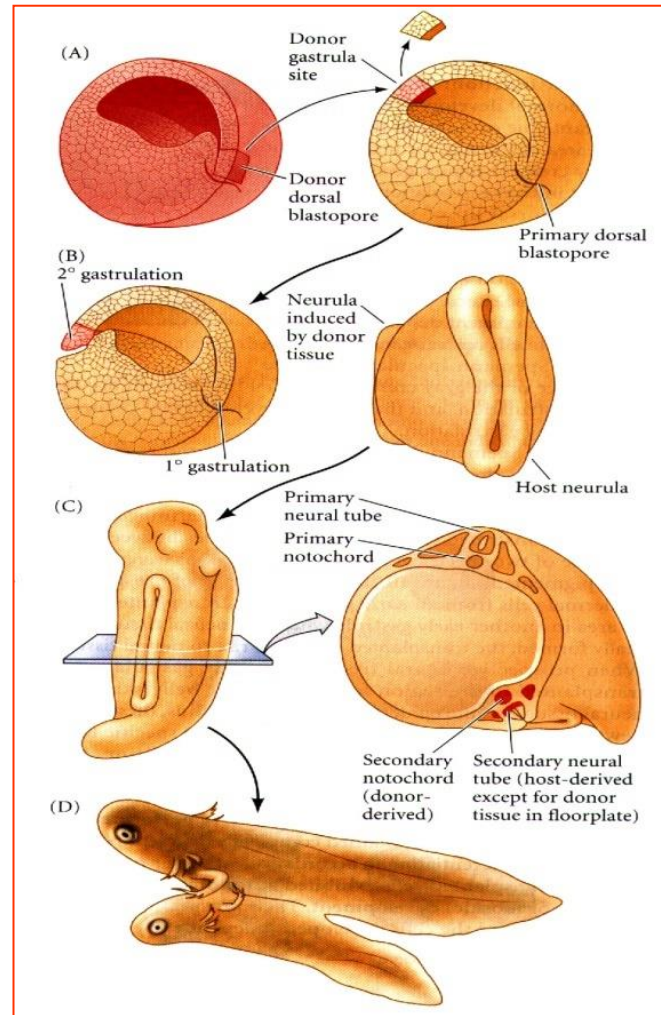
Spemann (1918年) 重复 (Lewis, 1907) 的背唇移植实验, 在蝾螈中同样获得**第二根神经管**。同样认为背唇本身直接发育成了脊索和神经管。**未意识到出现胚胎诱导现象。**



Spemann 让学生Mangold (1921年), 继续进行背唇移植实验, 将来源与色浅的T *cristatus* 的背唇移植到色深的T *taeniatus*.



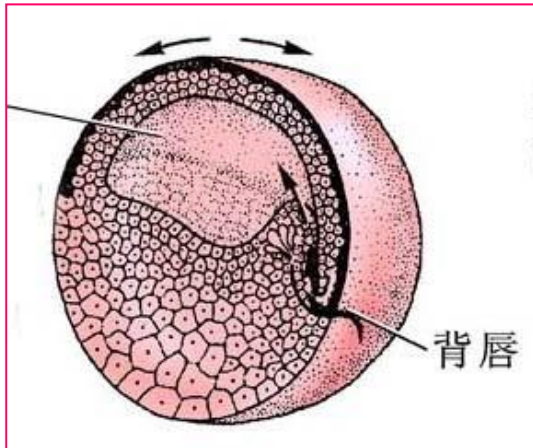
Spemann and Mangold, 1924年, 蝾螈, 胚孔背唇移植



◆获1935年诺贝尔生理学-医学奖

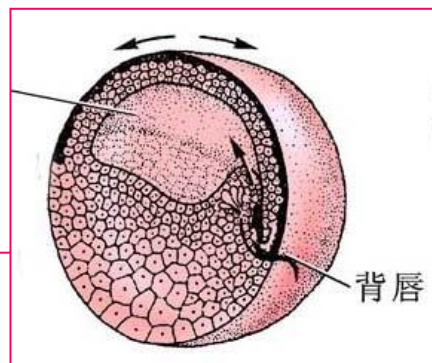
施佩曼（Spemann）把胚胎的背唇区域称为**组织者**

- **背唇**具有一种特殊的能力，不仅能够诱导外胚层形成神经组织，而且还能组织整个胚胎。



-----**组织者(organizer)**

组织者的作用



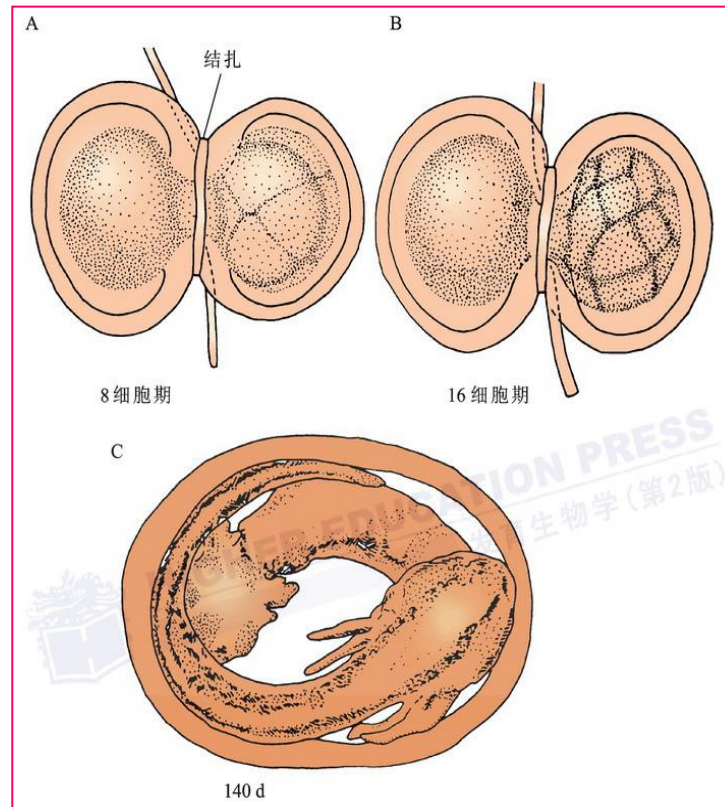
- 启动原肠作用;
- 发育成背部中胚层部分;
- 诱导其上的外胚层发育为神经板, 进而形成神经管和中枢神经系统;
- 诱导周围区域的中胚层细胞背部化, 分化成轴旁中胚层。

文昌鱼、原口动物、两栖类的胚孔背唇

鸟类、哺乳类原条上的原结

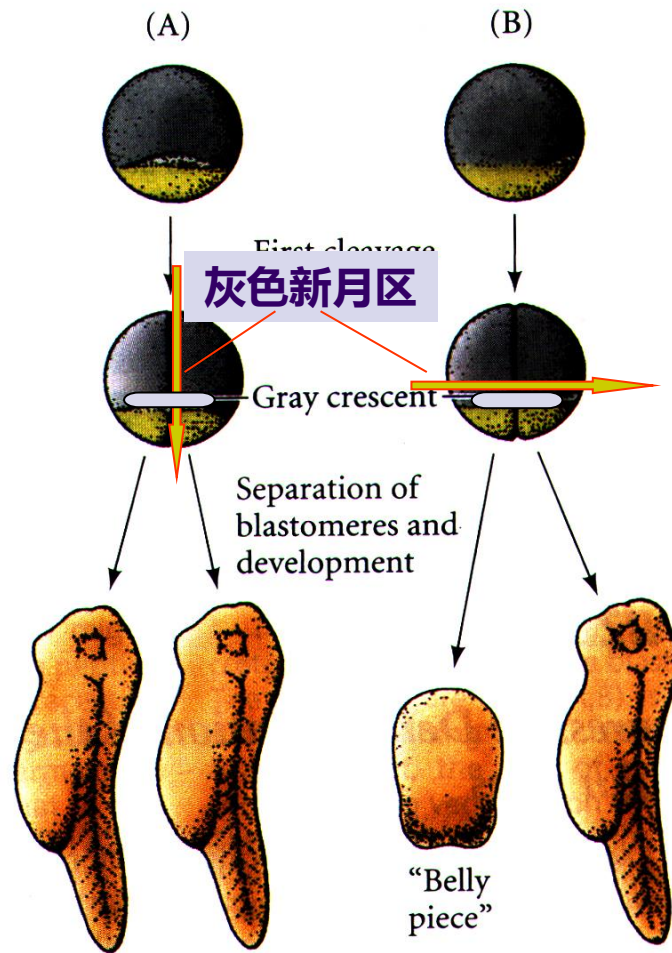
鱼类的胚盾

组织者



蝾螈8-16细胞分割

受精卵结扎为背腹两半、只有背方一半能产生出正常胚胎



显然，灰色新月区域的某些物质为胚胎正常发育必不可少。

施佩曼（Spemann）的工作受到同行的赞赏，他因实验胚胎学的成就，于1935年获得诺贝尔奖。但到了30年代后期，他的组织者理论逐渐失去了吸引力。一些胚胎学家(主要是在美国)开始注意将胚胎学与当时新兴的学科—遗传学结合起来。

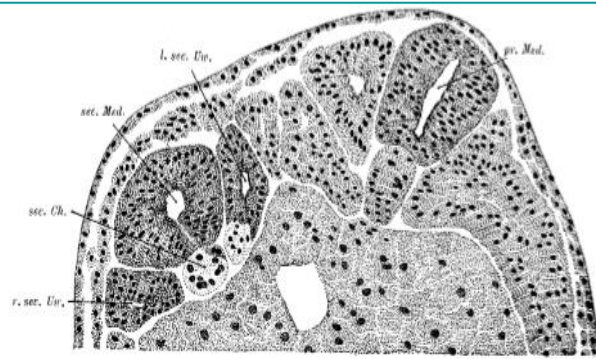
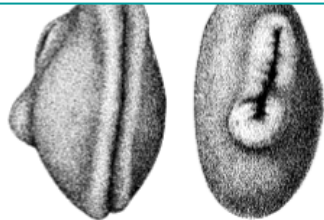


Fig. 18. Um 83. Cross section in the middle part of the embryo (cf. Fig. 16). The primary axial organs are at the upper right of the figure and the secondary axial organs are at the upper left. The implant (light) is in the left secondary somite (l. sec. Uv) and in the secondary notochord (sec. Ch.). 100X.



Figs. 19 (left) and 20. Um 132. The taeniatus embryo at the neurula stage; the secondary neural folds are viewed from the right side (Fig. 19), and from above (Fig. 20). 20X.

ventral side of the embryo, from left posterior to right neural folds have approached each other (Fig. 20) between them are on the left ventral side of the embryo. The anterior ends of the secondary neural folds have approached each other (Fig. 20). After another 24 hours, the embryo has flattened out and the secondary neural folds have approached each other above the surface. At approximately 28 hours, paired pits and a tail bud appear on the left side, somites are visible on the right side, paired otocysts are at the same level as the tail bud. After 30 hours, the embryo has grown some more. At 32 hours, a primary embryo was fixed. The dorsal surface is visible. Immediately after fixation, the following features are visible:

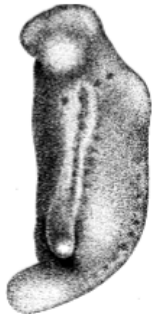


Fig. 21. Um 132b. The taeniatus embryo shown in Figs. 19 and 20, developed further; viewed from the left side. Surface view of the secondary embryo, with tail bud, neural tube, somites, and otocysts. 20X.

The embryo is ventrad (Fig. 21) with the tail bud distinct, and continuously becoming an anlage which

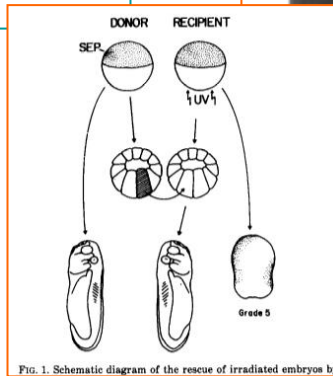


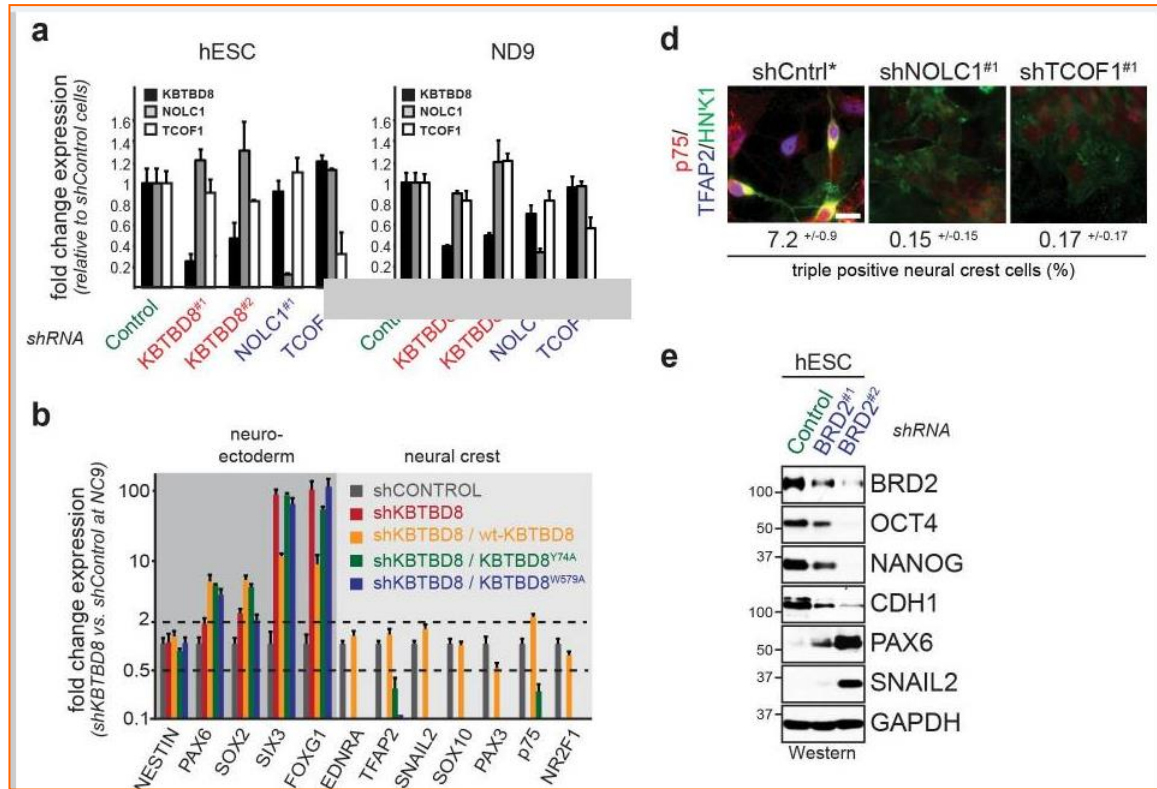
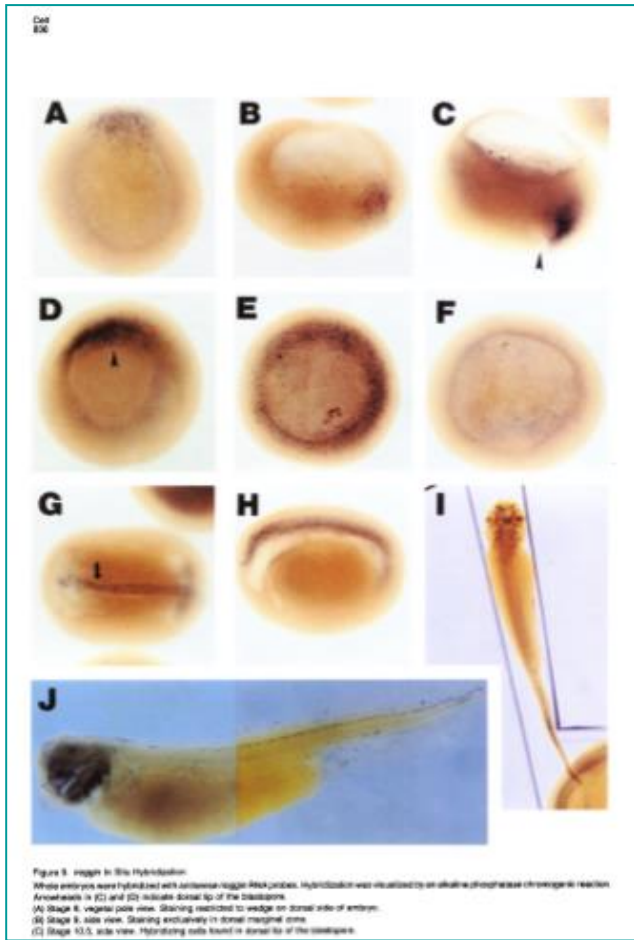
Fig. 1. Schematic diagram of the rescue of irradiated embryos by blastomere transplantation.



Fig. 2. Blastomere transplantation and results. (a) Vegetal pole view of an irradiated recipient embryo with a cavity in the vegetal hemisphere into which two dorsal-most vegetal blastomeres (t) from an unirradiated donor are being implanted at the 64-cell stage (x, vegetal pole). Bar, 0.3 mm. (b) Vegetal pole view of irradiated dorsal-most blastomere recipients at the early gastrula stage (stage 10 1/2). Like normal unirradiated embryos, these recipients show a typical dorsal blastopore lip (db) where invagination occurs first. The host-graft boundary is visible.

Berkeley学院, California 1987
非洲爪蟾, 美国

Spemann and Mangold 1924 (蝾螈, 德国)



Berkeley学院, California, Cell1992
非洲爪蟾, 美国

Berkeley学院, California, Nature 2015
非洲爪蟾, 美国

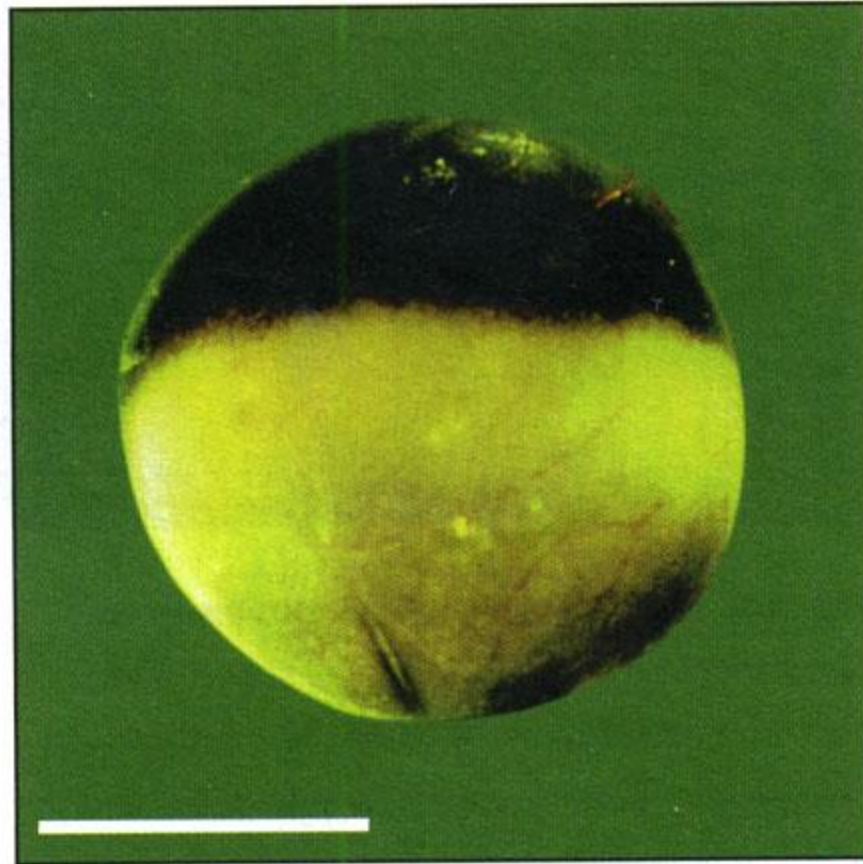
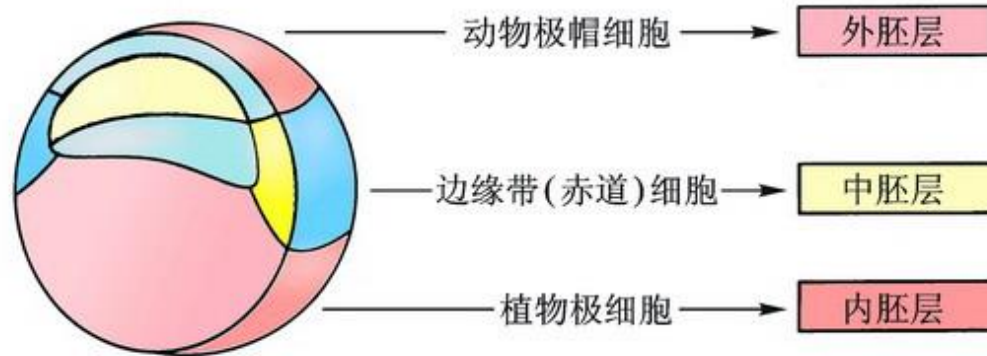


Fig. 3.4 A late-stage *Xenopus* oocyte. The surface of the animal half (top) is pigmented and the paler, vegetal half of the egg is heavy with yolk. Scale bar = 1 mm.

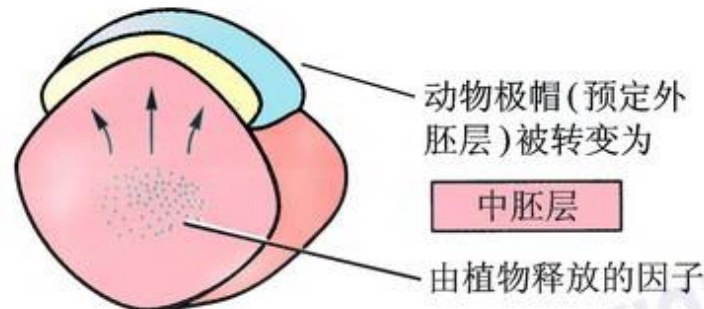
Photograph courtesy of J. Smith.

1940年代至1970年代的三十年为胚胎发育研究的寒冷期。但其中出现了一个重要代表人物，荷兰的Piter Nieuwkoop发现植物极诱导动物极产生中胚层。

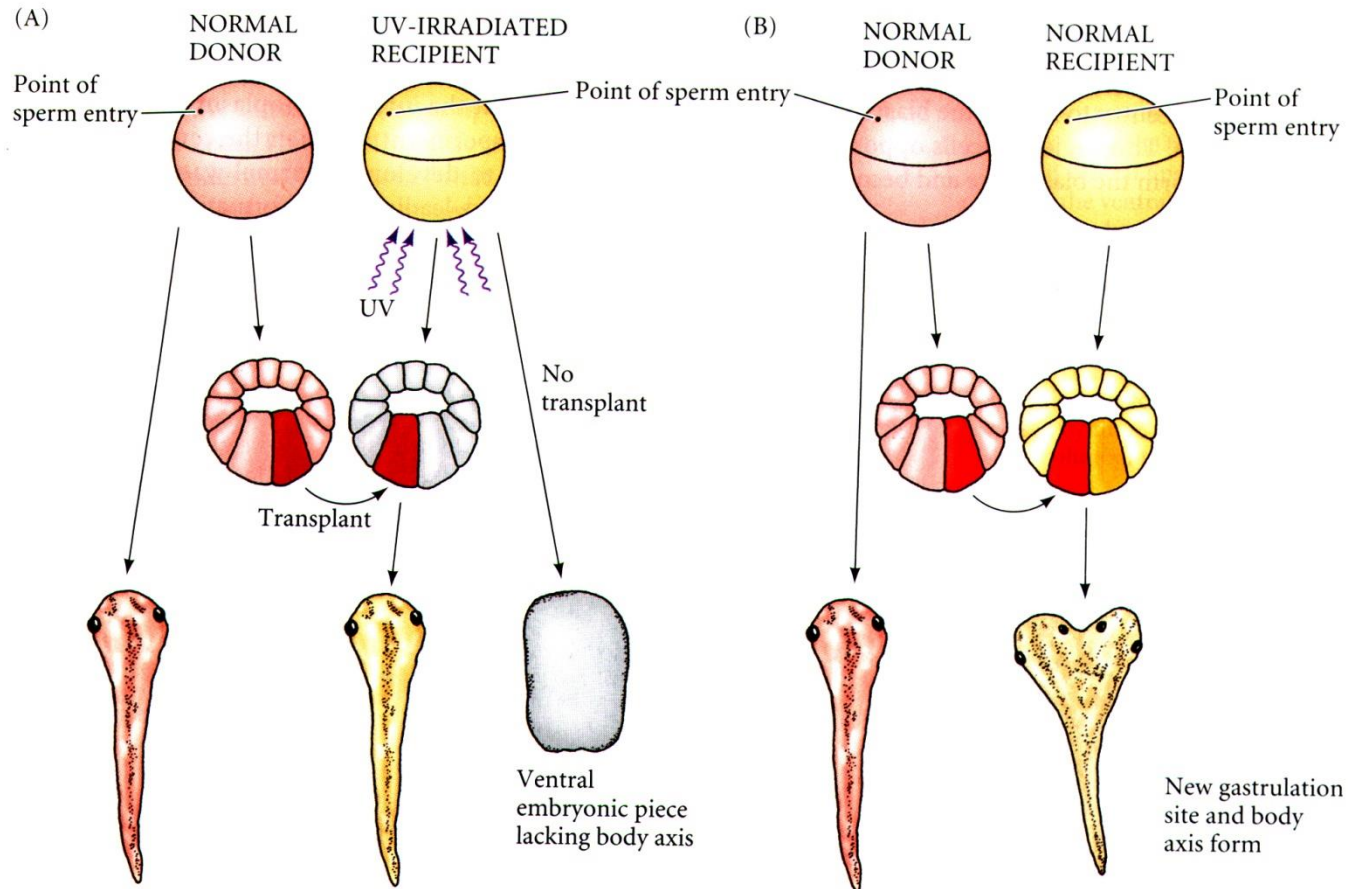
A 分离的囊胚部分培养时产生不同的组织



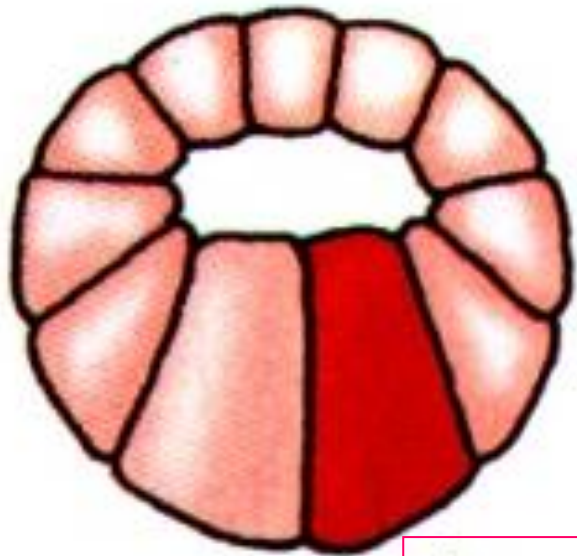
B 动物极部分和植物极部分结合产生中胚层



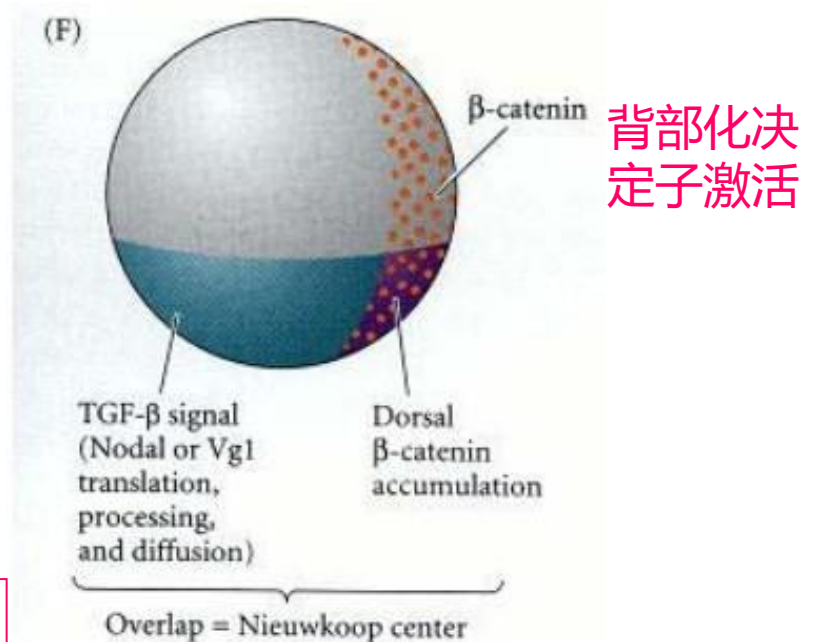
原肠胚组织者的出现已经确定了背腹轴的形成，因此背唇区域移植实验需要在更早期进行研究。



64细胞期移植实验，1984年，
Berkeley学院, California, 非洲爪蟾，美国

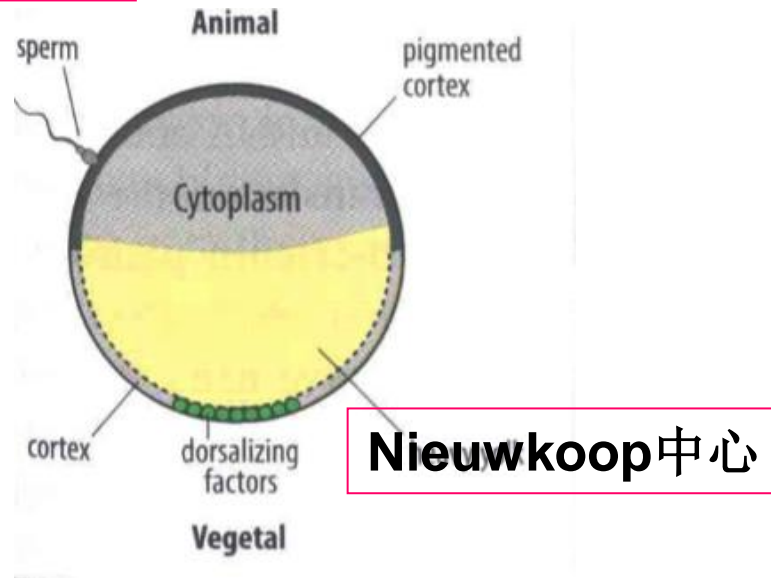


Nieuwkoop中心



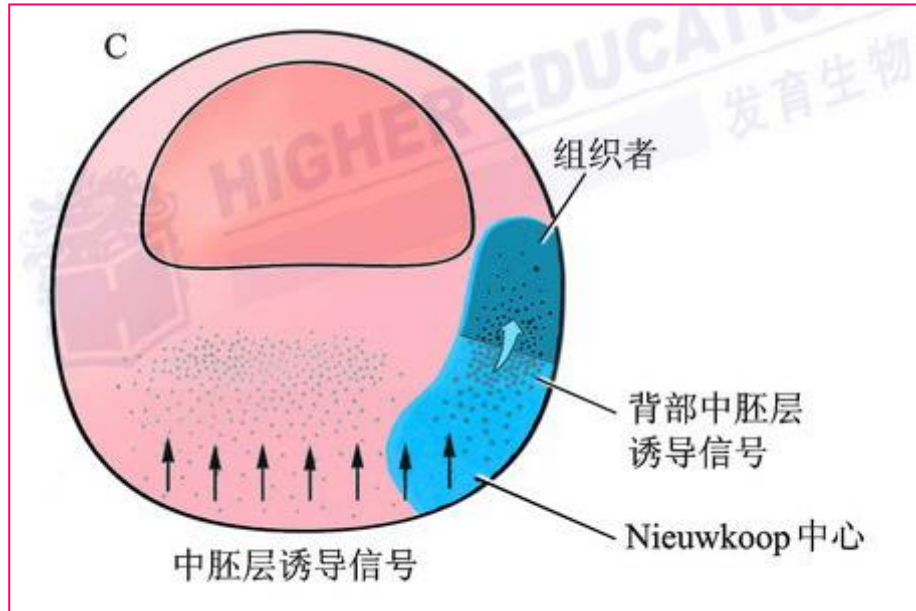
一个偶然的发现开启了对背轴形成分子机理的理解。研究癌基因的英裔美国分子生物学家Andrew McMahon与研究蛙胚的Randall Moon合作，将认为在老鼠过高或者异位表达导致乳腺癌的**int-1基因所转录的mRNA注射到爪蟾受精卵**，结果胚胎形成两个背轴（McMahan and Moon, 1989），这一意外的发现后来被认为是激活了背轴形成的通路。从研究病毒导致老鼠癌症发现的int-1与研究果蝇翅膀形成发现的wingless基因都为**Wnt家族因子**。

精子入卵点



精子入卵点的对面有一个兼具动物极和植物极细胞质的特殊区域。在卵裂形成多个卵裂球以后，这一区域的卵裂球由于动物极、植物极细胞质的混合而导致卵裂球内的背部化决定子激活。这些含有已激活的背部化决定子的植物极细胞质区域即为Nieuwkoop中心。

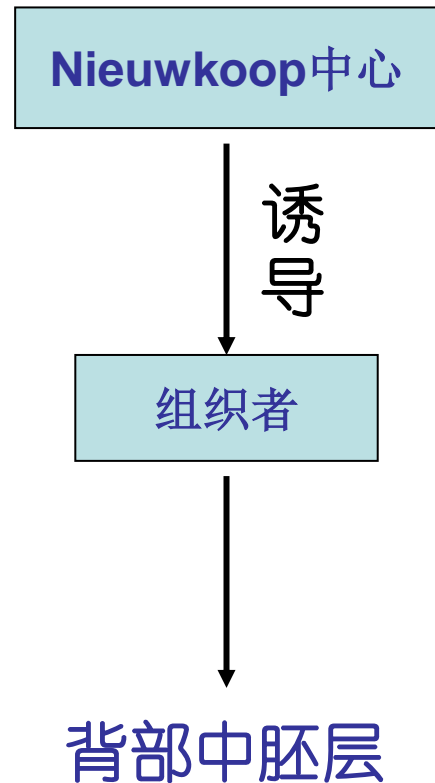
Nieuwkoop中心对组织者具有特殊的诱导能力。



Nieuwkoop中心的关键因子有哪些？

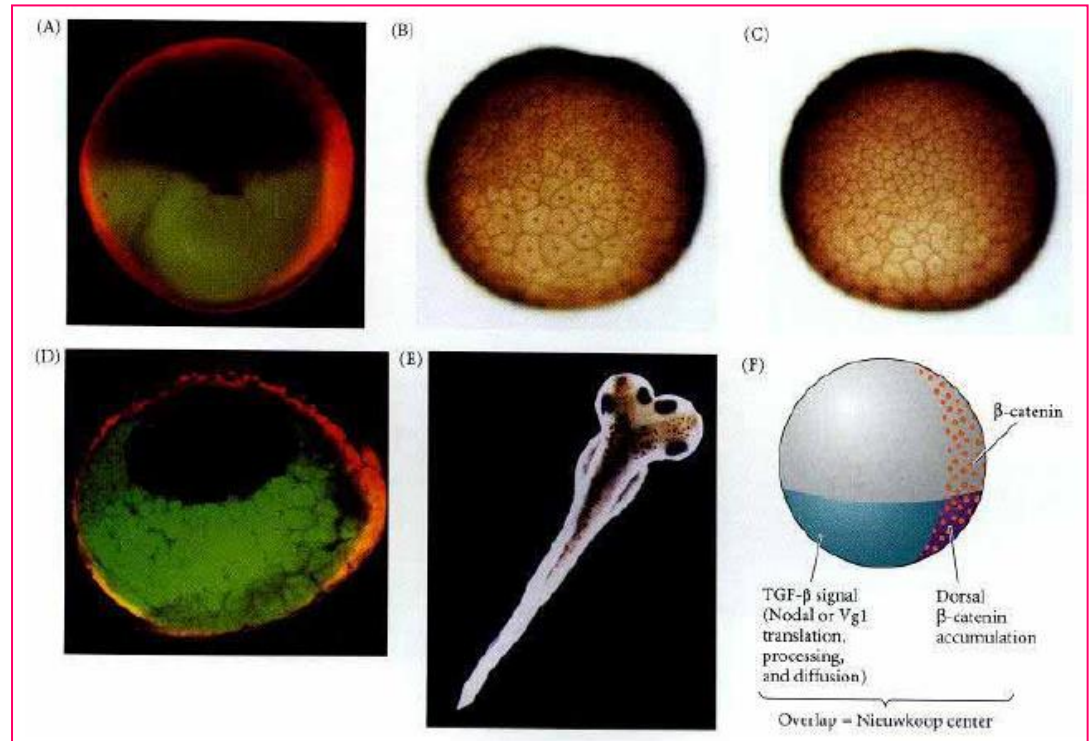
为什么定位在精子入卵点的对侧？

怎样出现的动物极、植物极细胞质的混合？

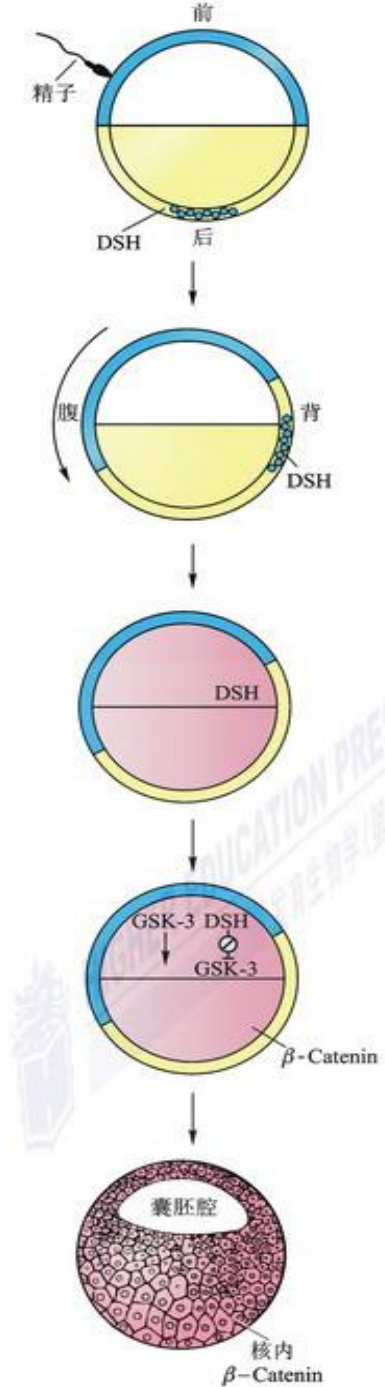


β -catenin是存在于Nieuwkoop中心的重要决定因子。

β -catenin,是一种母体效应基因,它是一个多功能蛋白,除了介导细胞黏附外,还是Wnt信号转导路径中的一个转录因子,参与基因表达的调节。

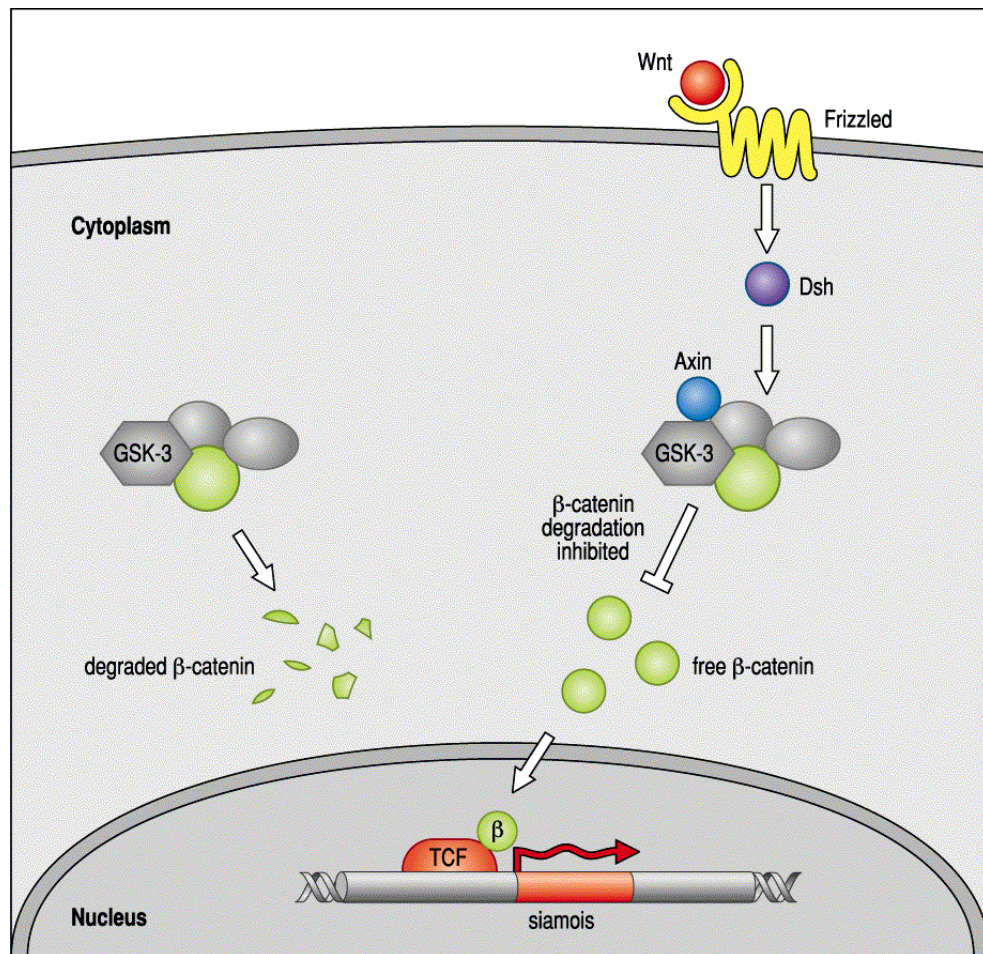


在非洲爪蟾的卵子中, β -catenin的mRNA作为母体的基因产物均匀的分布于全卵, 受精后, 其翻译成蛋白质, 并积累于未来胚胎的背侧进入细胞核。 *why?*



蛋白质 Disheveled
(Dsh) 随皮层转动由植物极移到动物极区域。

Wnt信号通路



背部区域

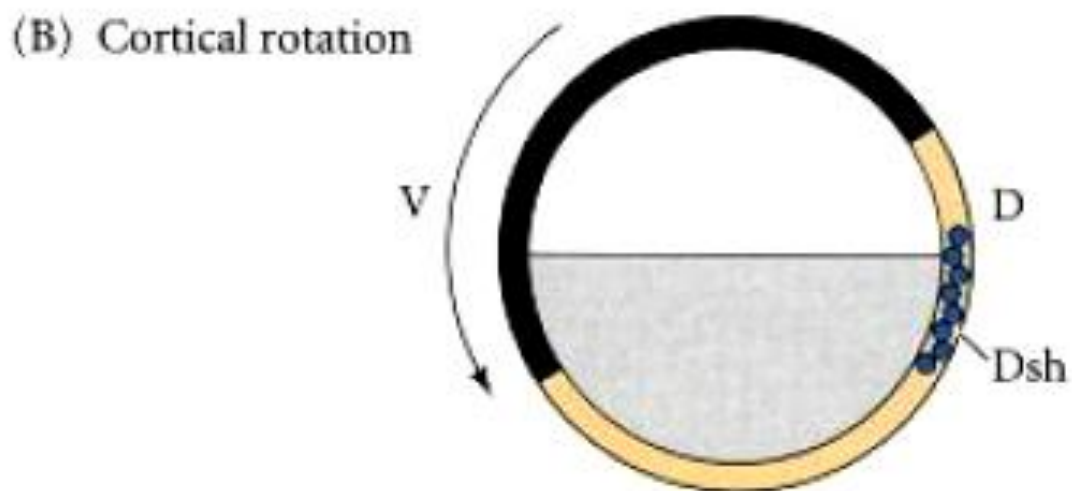
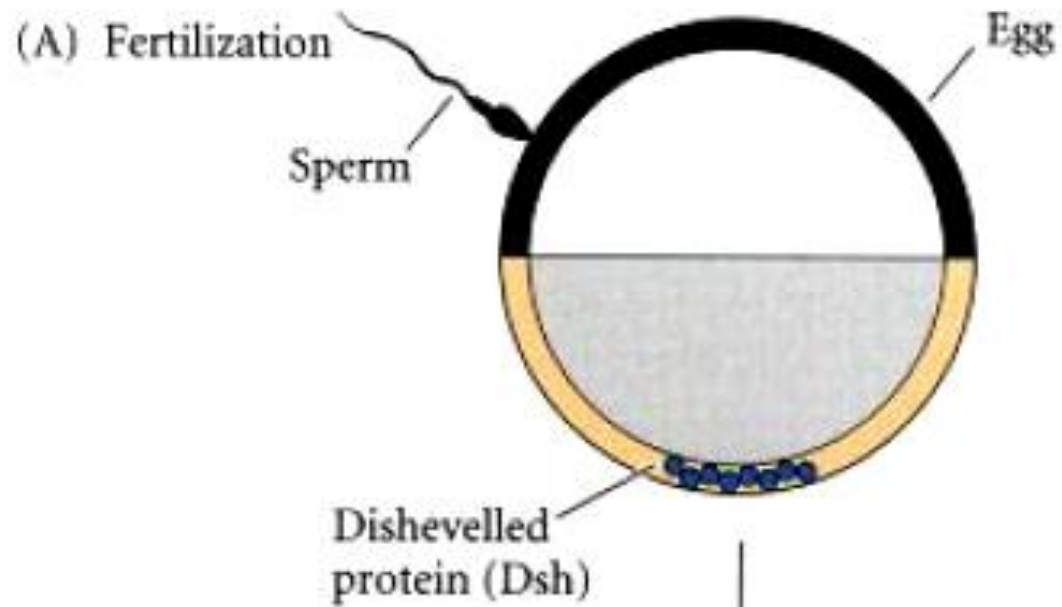
Dsh(Dishevelled) protein

(—)

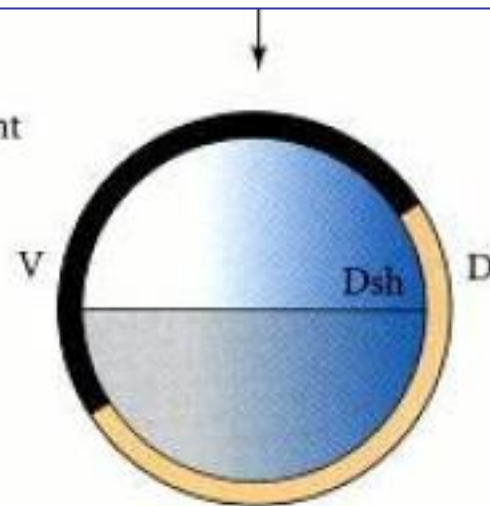
GSK-3 (糖原合成激酶)

(—)

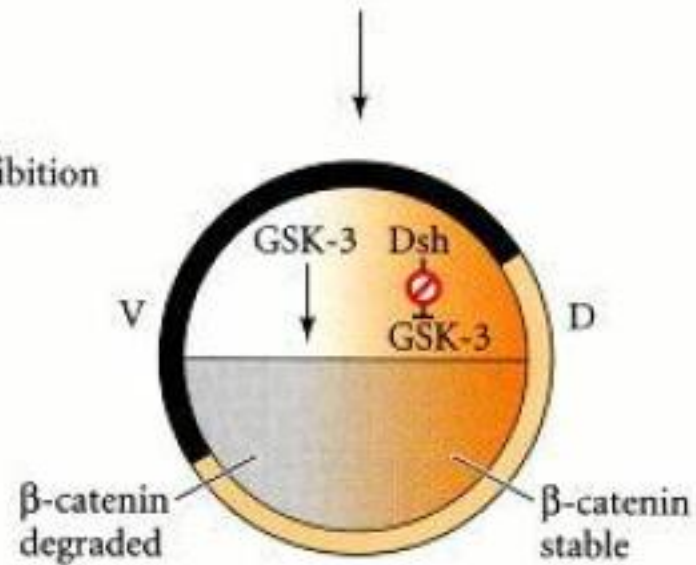
β -catenin

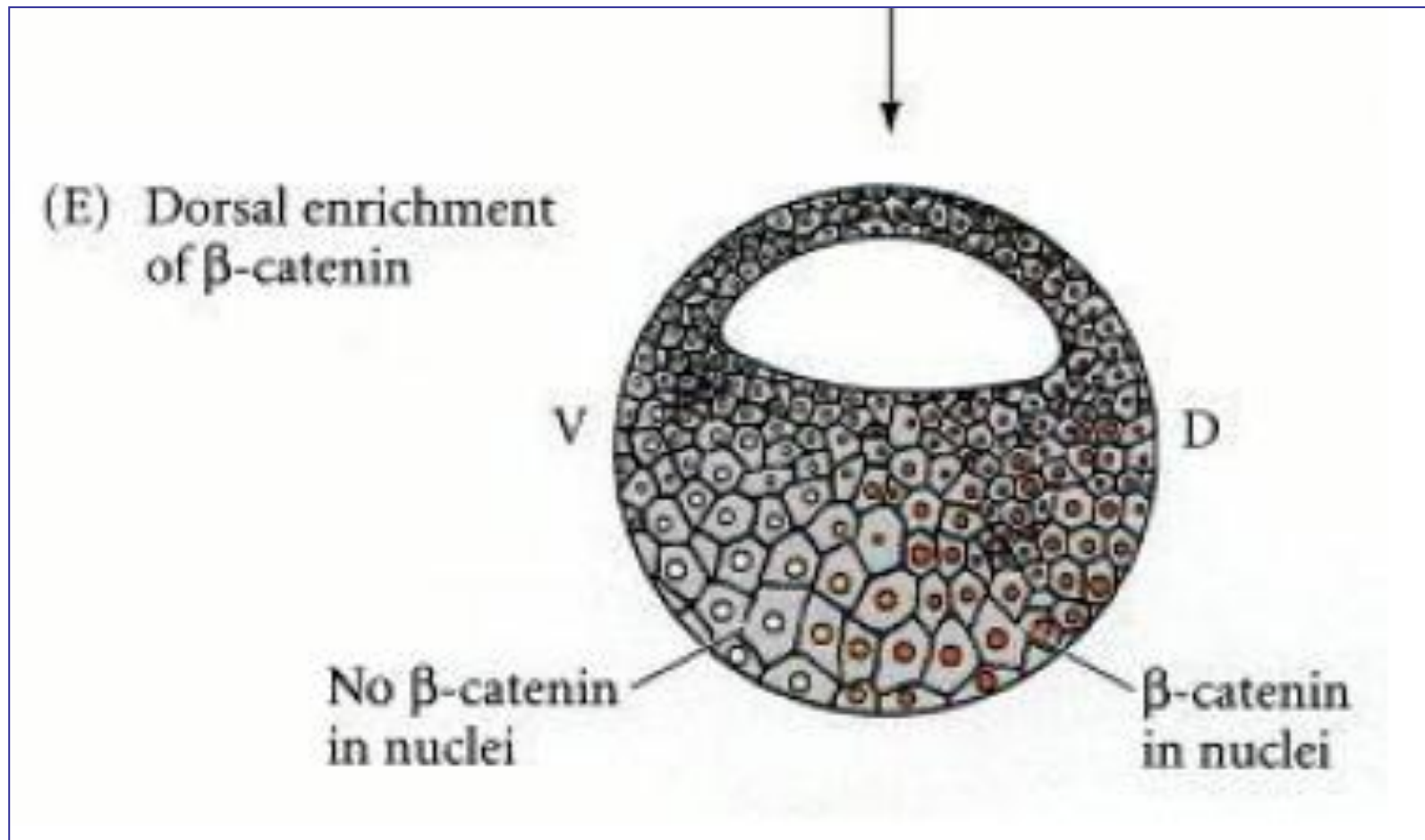


(C) Dorsal enrichment
of Dsh



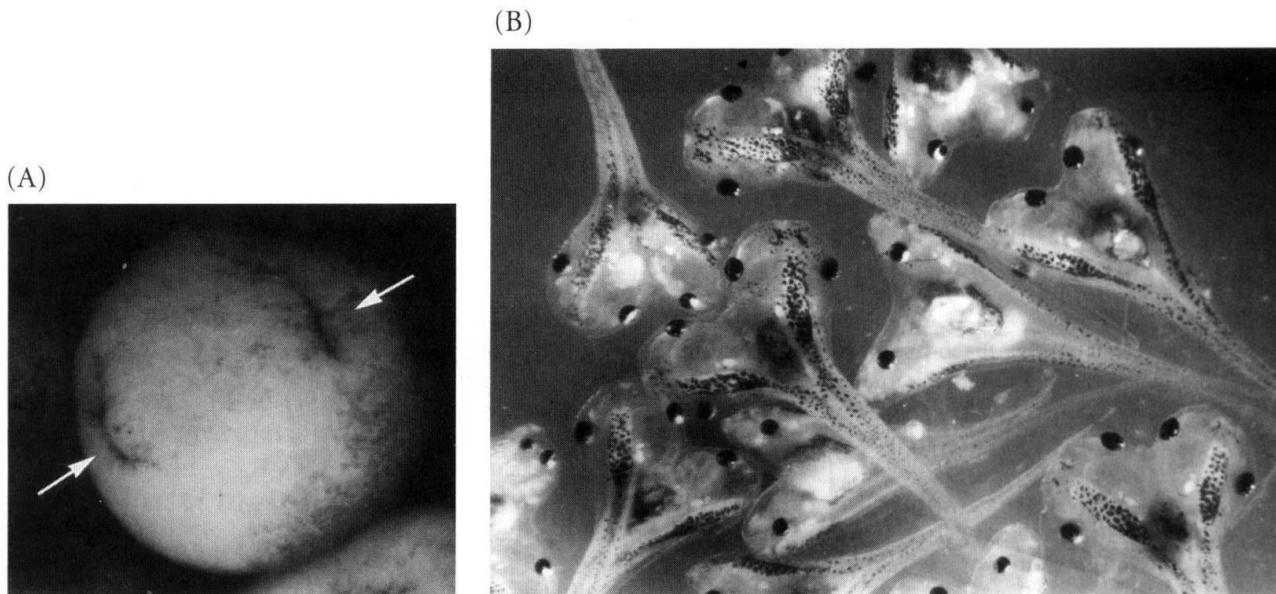
(D) Dorsal inhibition
of GSK-3





DSH将 β -CATENIN定位于胚胎背部的机制

Nieuwkoop中心是由于精子入卵使卵子在重力作用下旋转而产生兼具动物/植物极细胞质的特殊区域，该区域含有已激活的背部化决定子----背部中胚层诱导信号（ **β -catenin蛋白**）。



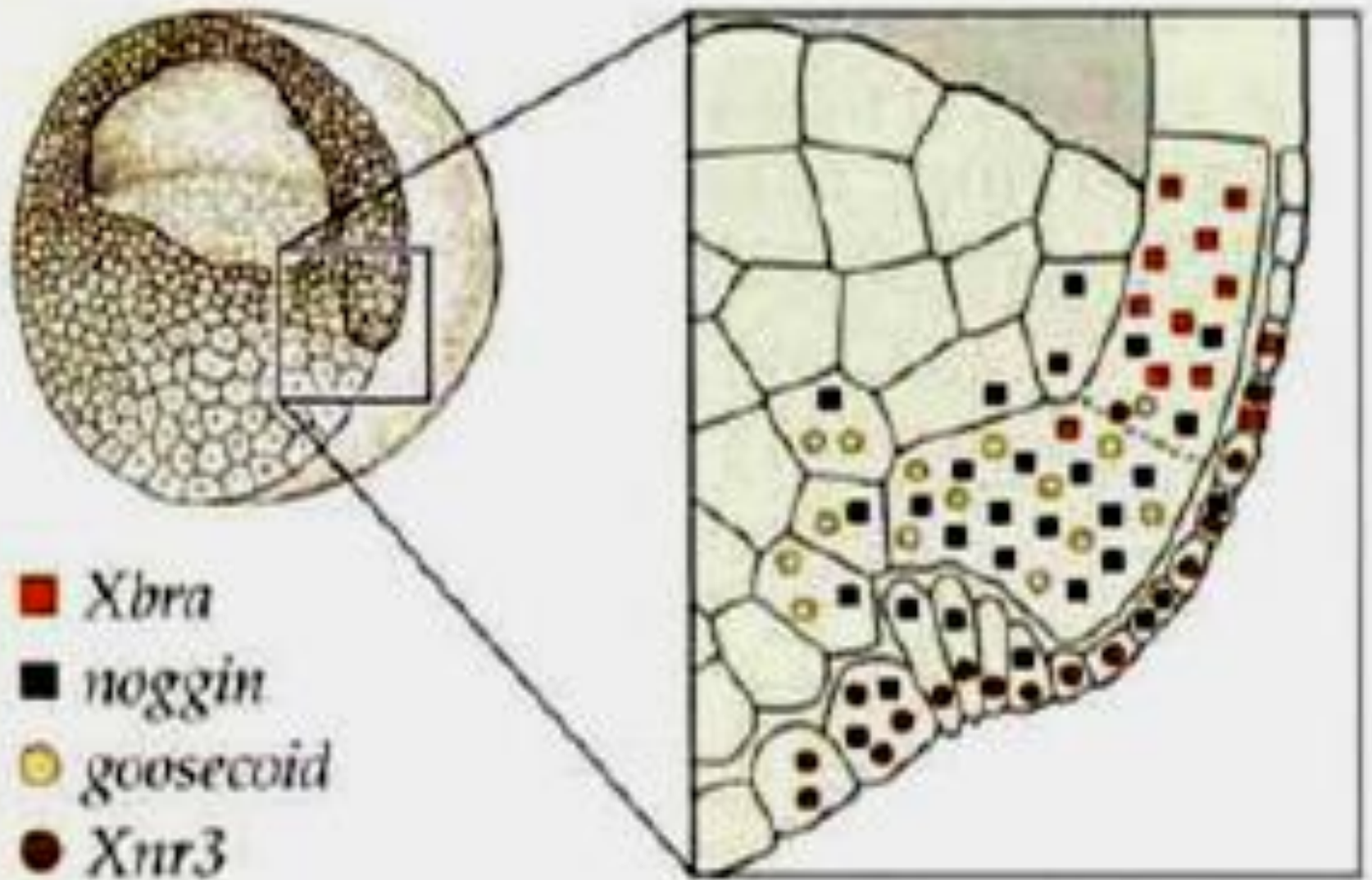
Nieuwkoop中心的特化与皮层转动有关：

离心形成两个Nieuwkoop中心。

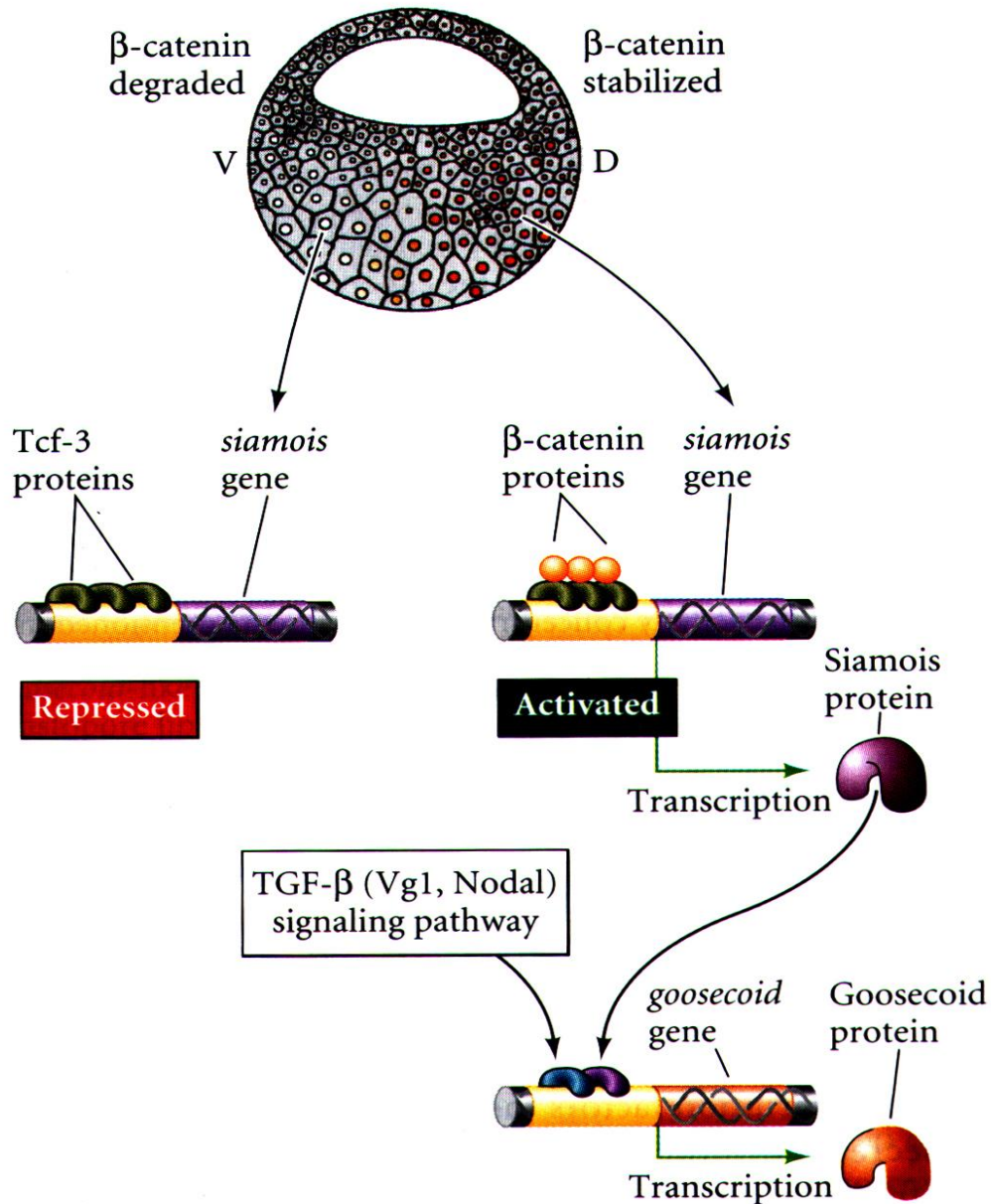
限制皮层转动，Nieuwkoop中心不形成，导致异常发育。

Nieuwkoop中心 → **β -catenin** → **组织者**

β -CATENIN 作为Nieuwkoop中心的关键因子，怎么诱导下一步组织者的建立？



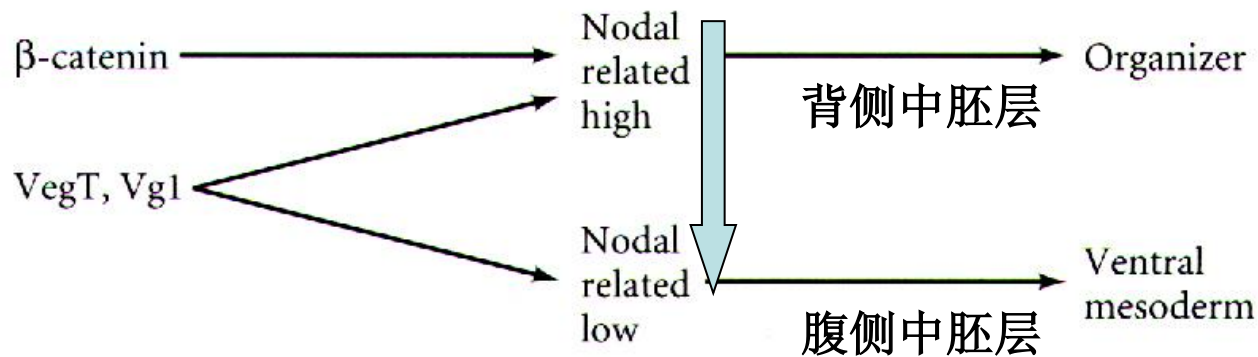
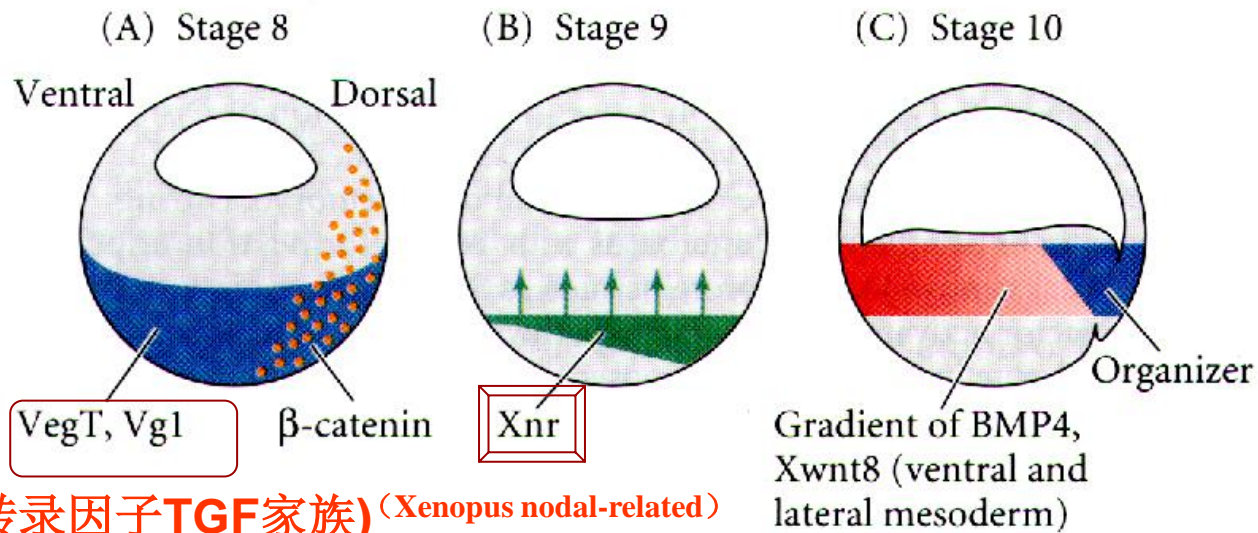
组织者的精细结构。组织者特异基因的表达，可以把早期组织者细分成含有不同信息组合的亚区。

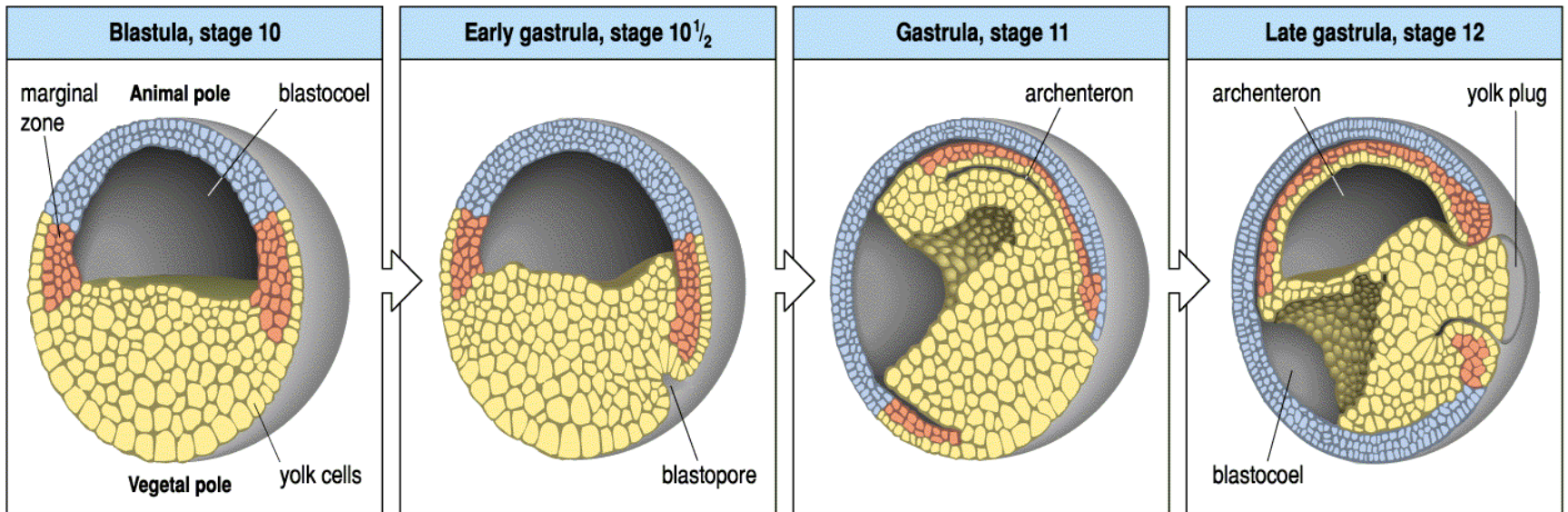


组织者的建立

组织者特异的转录基因表达

激活特异基因





早期原肠胚胚孔背唇诱导头部结构形成

-----头部组织者

晚期原肠胚胚孔背唇诱导躯干和尾部结构形成

-----躯干和尾胚组织者

初级胚胎诱导的过程

Nieuwkoop中心的形成



中胚层形成的诱导（组织者）

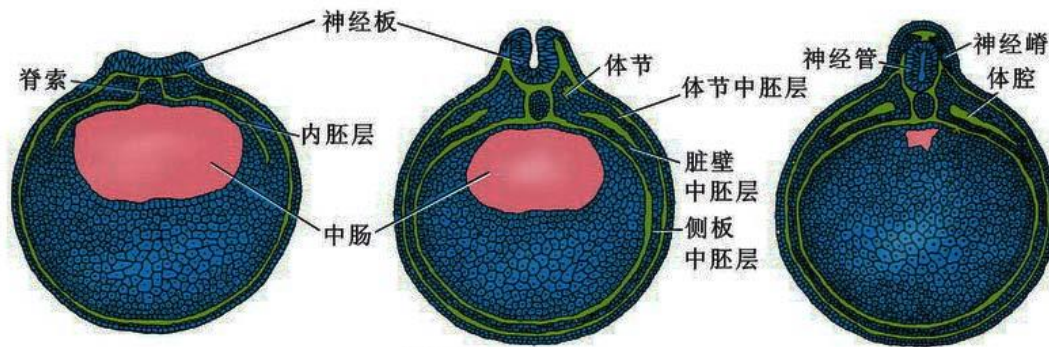


背部化和头尾化诱导



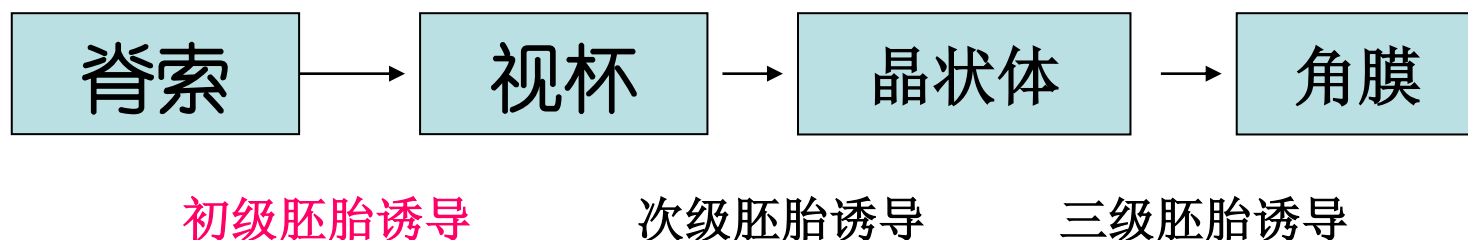
神经形成的诱导

初级胚胎诱导奠定了胚体的中轴结构，为开启器官的形成奠定发育的基础。

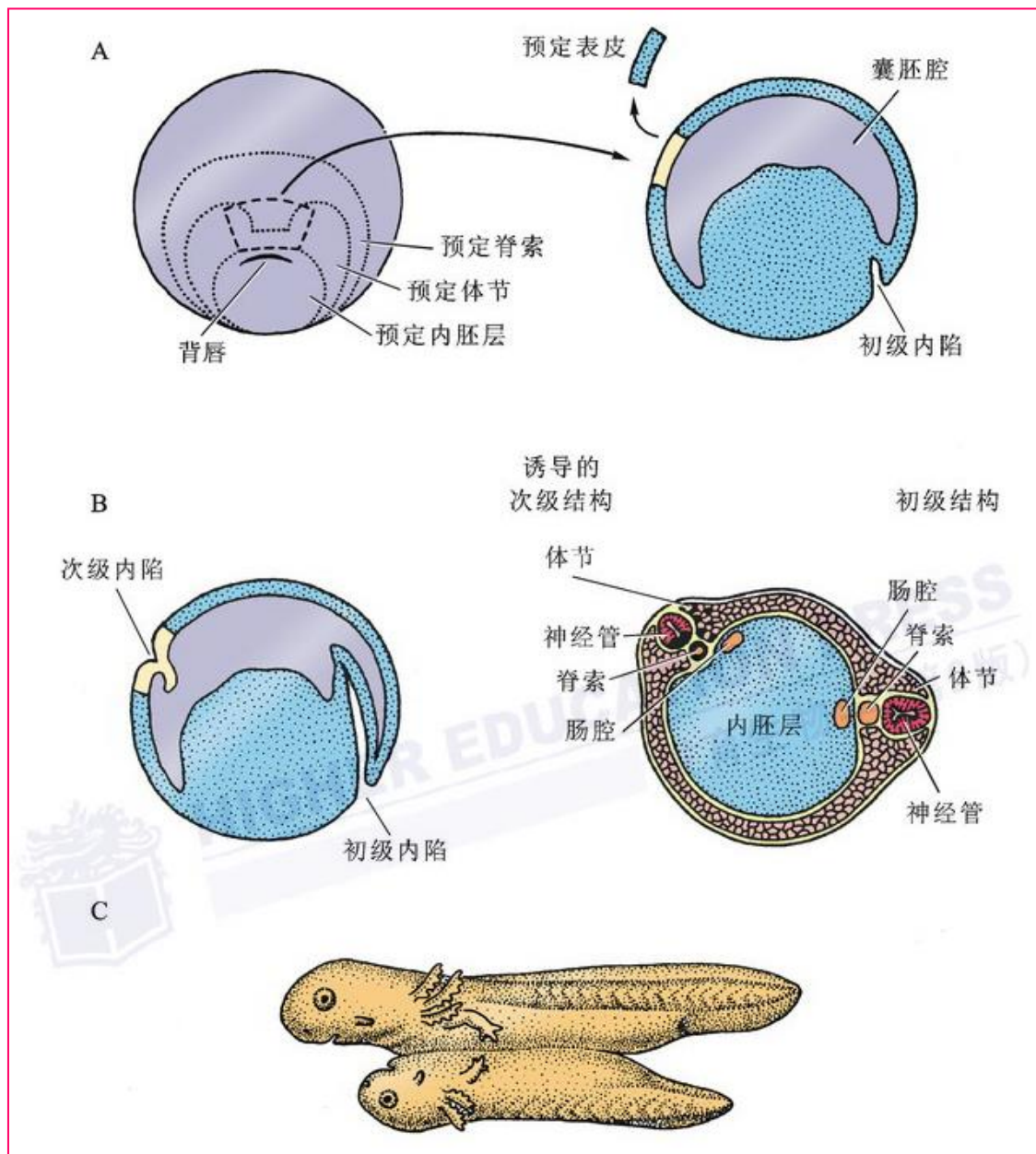
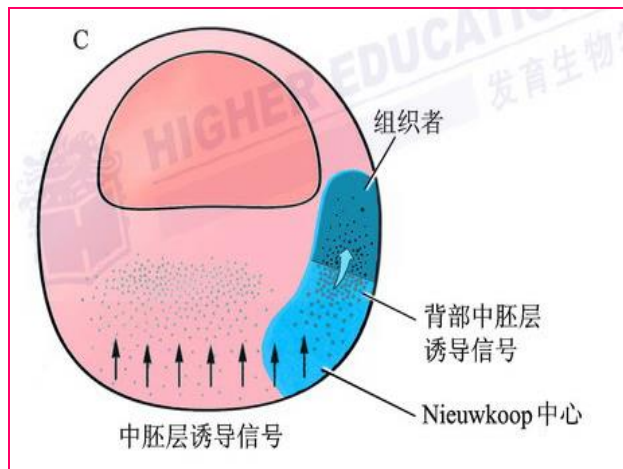


初级胚胎诱导是指**脊索中胚层**的形成及其诱导其表面覆盖的外胚层发育为神经组织的胚胎诱导作用。

在动物胚胎的发育过程中存在着大量的连续的诱导作用。



Spemann还研究了眼球与晶体之间的诱导作用。



延伸阅读:

Science突破 | 孟安明/陶庆华组合作发现“葫芦娃”基因，解决早期胚胎发育重大问题—专家解读点评
原创 徐鹏飞等 **BioArt** 2018-11-23

RESEARCH ARTICLE

Maternal Huluwa dictates the embryonic body axis through β -catenin in vertebrates

Lu Yan^{1,*}, Jing Chen^{1,*}, Xuechen Zhu^{2,*}, Jiawei Sun¹, Xiaotong Wu¹, Weimin Shen¹, Weiying Zhang¹, Qinghua Tao^{2,†}, Anming Meng^{1,†}

¹Laboratory of Molecular Developmental Biology, State Key Laboratory of Membrane Biology, Tsinghua-Peking Center for Life Sciences, School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China.

²MOE Key Laboratory of Protein Sciences, School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China.

*†Corresponding author. Email: mengam@mail.tsinghua.edu.cn (A.M.); qhtaolab@mail.tsinghua.edu.cn (Q.T.)

* These authors contributed equally to this work.

– Hide authors and affiliations

Science 23 Nov 2018:
Vol. 362, Issue 6417, eaat1045
DOI: 10.1126/science.aat1045