

第六章

发 育

第一节 细胞分化与胚胎发育

- 一、生物体发育的基本阶段
- 二、动物的发育
- 三、植物的发育

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
- 二、发育的基因表达调控
- 三、细胞信号转导
- 四、激素信号对发育的控制作用

第三节 几种发育模式生物的特征

- 一、线虫
- 二、果蝇
- 三、斑马鱼
- 四、小鼠
- 五、拟南芥

第四节 干细胞和动物克隆

- 一、干细胞的种类与特性
- 二、干细胞培养和应用
- 三、动物克隆技术

发育是有机体以遗传信息为指导，按特定时间与空间顺序进行自我构建和自我组织的过程。发育生物学是连接微观与宏观的桥梁。

第五章我们主要介绍了单个细胞中基因的表达和调控过程，从分子水平认识基因的复制、转录、翻译等机理有可能从本质上揭示生物遗传信息传递和代谢调控的奥秘。然而，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，但正是这些细胞中基因的差异表达和特异蛋白质的合成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**（图6-1）。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。因此，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。另外，自从地球上生命出现以后，在特定的环境中短时间尺度的生物个体发育和长时间尺度的生物系统演化一刻也没有停止，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。

近年来，分子生物学与细胞生物学先进技术的运用促进了发育生物学的发展，使其成为现代生命科学的前沿领域。这一章要将以前所学的细胞与分子生物学知识向多细胞动植物的个体动态变化过程延展，在了解动物和植物如何由受精卵发育成为生物胚胎以后，介绍有关控制生物个体发育的细胞与分子机制，接着还要认识几种典型动植物作为发育模式系统的特征，最后再简单介绍有关干细胞和克隆动物等现代发育生物学领域的热点问题。



图6-1 正在发育的人体胚胎

第一节 细胞分化与胚胎发育

一、生物体发育的基本阶段

我们日常所见的多细胞动物和大多数植物都是由一个细胞（受精卵）发育而来的。受精卵（fertilized egg）内融合了来源于精子的一套染色体和来源于卵细胞的一套染色体。二倍体染色体承载的基因组，为新生命个体的发育提供了完整的遗传信息。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（embryo）的过程称为**胚胎发育**（embryonic development）。胚胎发育阶段以后，生物的发育还会持续进行。例如，一些成体动物的骨髓可以不断地产生新的血细胞；多年生木本植物每年都保持着旺盛的顶端生长和加粗生长。尽管如此，发育生物学与胚胎学（embryology）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理的研究，因为从一个受精卵到生物胚胎形成是生命体变化最大的时期，胚胎是动植物从受精卵发育到成体并最能反映基因差异表达的过渡体。

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（morphogenesis）和细胞分化这三个基本阶段（图6-2）。其中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、结构或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**。持续的形态发生为有机体的多样性提供了可能，最终完成了胚胎的发育，导致生物雏形的形成。

如图6-2所示，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。在胚胎发育的早期，形态发生便为生物体基本形态的形成做好了准备。例如，动物囊胚的哪一端将发育成为头部，植物胚的哪一端将发育成为根部，这些都是在胚胎发育的早期，甚至在受精卵第一次分裂以后，便已经被确定下来。因此，细胞分裂、细胞迁移、细胞分化、细胞凋亡即细胞的程序性死亡等在所有多细胞生物的形态发生中具有非常重要的作用。

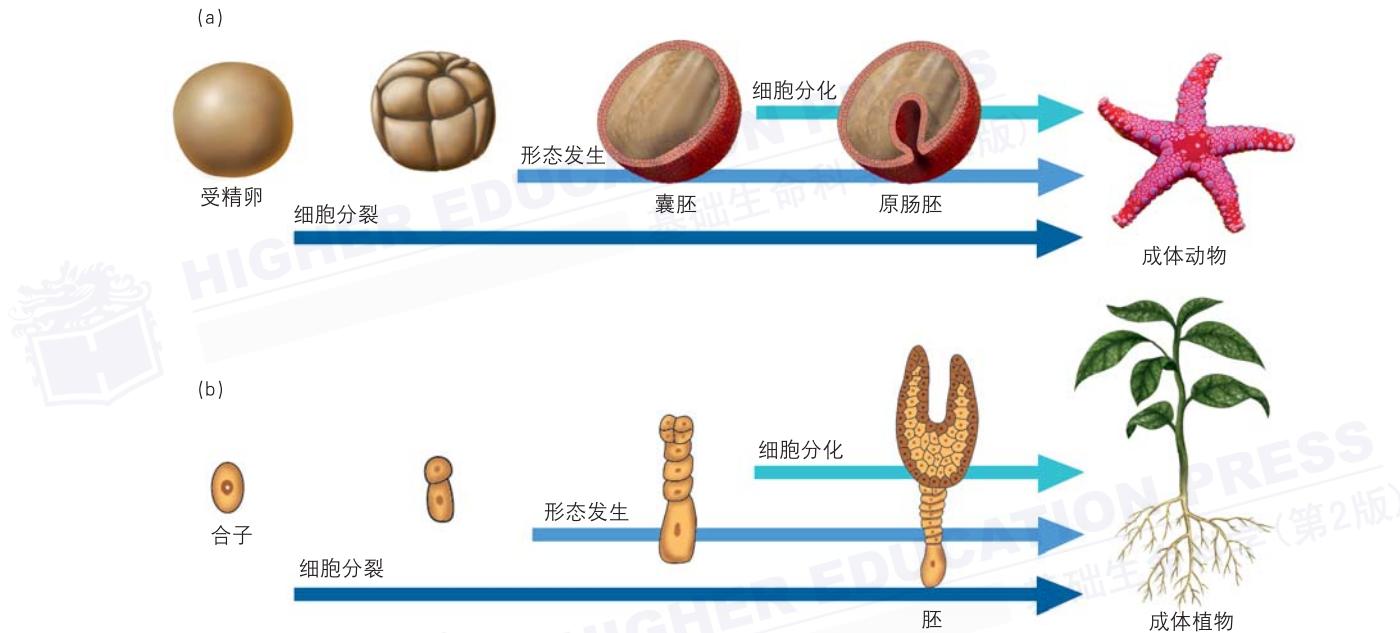


图 6-2 动物与植物发育的重要阶段 动物和植物的发育都包括细胞分裂、形态发生、细胞分化三个基本阶段。严格地说，有些生物的细胞分化在受精卵第一次卵裂就开始了。为了便于直观理解，此图从分裂后的细胞产生可观察到的差异开始标示细胞分化的箭头。(a) 动物胚胎的发育一般要经过卵裂与囊胚期、原肠胚期以及器官建成期等主要阶段，一旦动物体发育成熟，其大部分细胞就不再分裂和分化，有限的细胞分化仅在局部范围进行，动物体不再无限制地生长。(b) 植物体的发育在种子内完成，它不像动物胚胎发育那样发生细胞的迁移。植物体发育成熟后，其顶端分生组织的细胞分裂和分化还可以持续地发生，不断形成各种器官并维持植物的持续生长。

从总体上看，动物的发育和植物的发育在其过程和机制方面还是有很大的差别。一方面，动物往往通过细胞迁移 (cell migration) 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，即细胞迁移为动物器官的发生提供了细胞来源；而植物胚胎发育的过程中没有细胞迁移现象的发生。由于植物不能像动物那样自由的运动，其发育和生长更加受到环境的控制。另一方面，植物的生长和形态发生持续整个生命周期，并非像动物那样主要局限于胚胎发育期。例如，植物茎尖和根尖的顶端分生组织 (meristem) 可以不断地通过细胞分裂和分化，产生根、茎、叶等新的器官，在植物体发育成熟以后还能保证其不断地长高和长大。而进入成年的动物个体，不再无限制地生长或长出新的器官。

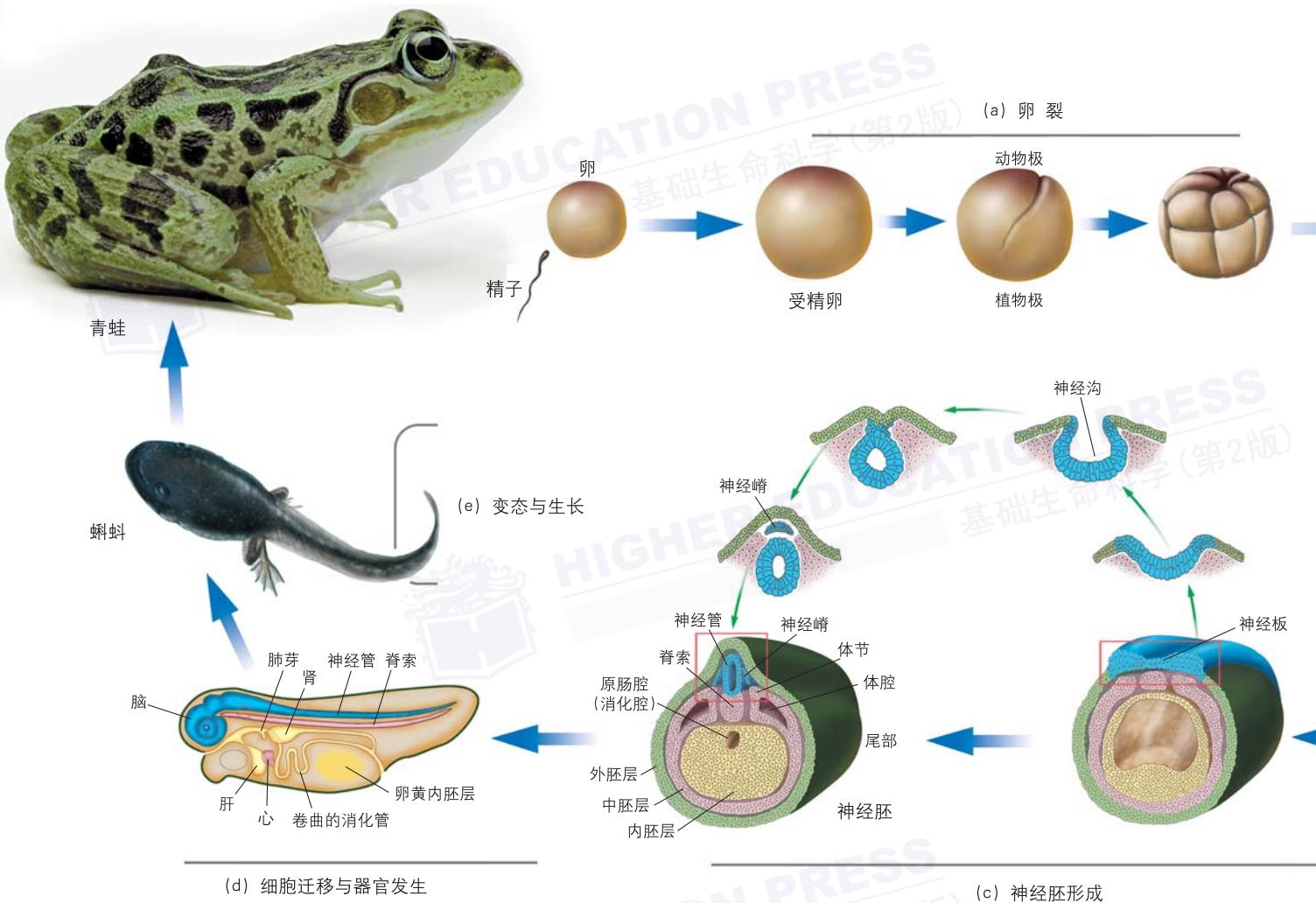
接下来，本书将分别介绍动物和植物发育的一般概况。出于对人类自身认识的需要，发育生物学家对动物胚胎的发育过程和机制的研究更加深入和广泛。

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 (cleavage) 形成多细胞囊胚 (blastula)，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 (gastrula)，然后经过神经胚 (neurula) 期初步确立体形特征，再经过进一步的器官发生 (organogenesis) 以后，便完成了胚胎的发育。之后，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 (egg)，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。

图 6-3 显示了以蛙为代表的脊椎动物发育的一般过程。蛙卵直径为 1~2 mm，细胞核位于卵的上部。卵的上部称为动物极 (animal pole)，由于含较多蛋白质和色素呈深色。卵的下部称为植物极 (vegetal pole)，包含大量卵黄 (yolk) 等营养物质，呈淡黄色。蛙卵受精后 24 h 内就开始卵裂，有些动物甚至受精后 1 h 就开始发生卵裂。受精卵第一次卵裂是从动物极向植物极方向的纵裂，1 h 后的第二次卵裂还是纵裂，然后进行一次横裂成为 8 细胞胚。随后继续多次快速的纵裂和横裂，形成大量较小的卵裂球或称囊胚细胞 (blastomere)。由于动物极细胞分



裂比植物极快而向外凸起，使动物极一端的内部形成充满液体的囊胚腔，蛙胚发育经过卵裂期形成了囊胚。8~16细胞期着床前的哺乳动物胚胎的形状似桑椹，又称桑椹胚（morula）。细胞尚未出现可明显观察到的分化是卵裂至囊胚形成阶段最显著的特征。

受精卵经过大约12次分裂形成囊胚以后，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过程，囊胚细胞的分化更明显。首先，分裂速率较快的动物极细胞向图6-3所示的灰新月带（gray crescent）迁移，促使这部分陷入囊胚内，接着带动囊胚细胞向内延伸，这时，原有充满液体的囊胚腔逐渐变小和消失。经过原肠胚形成阶段一系列连续的细胞分裂、分化、迁移和重排，最终发育形成了原肠胚的3个胚层（germ layer）。未迁入内部的动物极细胞分布于蛙胚的表面，构成外胚层（ectoderm）。灰新月带内

陷后留在蛙胚表面的原动物极细胞合拢成圆形的胚孔（blastopore），胚孔的上部称为背唇（dorsal lip），在胚孔中央的原植物极富含卵黄的细胞称为卵黄栓（yolk plug）。从胚孔背唇两侧内迁的原动物极细胞形成中胚层（mesoderm）。进入囊胚中的原植物极细胞在持续前伸的同时还沿着囊胚的两侧向上包卷，最终形成封闭的内胚层（endoderm）及原肠腔。三胚层建成是胚胎发育最重要的阶段，以后各胚层逐步发育形成各器官系统：外胚层产生表皮和神经系统，胚孔最终将发育成动物的肛门；内胚层产生消化管及其他器官如胰、肝、肺、呼吸道、尿道等；中胚层产生脊索（notochord）、骨骼、肌肉、循环系统、排泄系统和生殖系统等。在中胚层中还逐渐分化出分节排列的体节（somite）。

原肠胚形成后，其背部外胚层细胞分化成神经板（neural plate），并开始拉长加厚，神经板下陷为“U”形

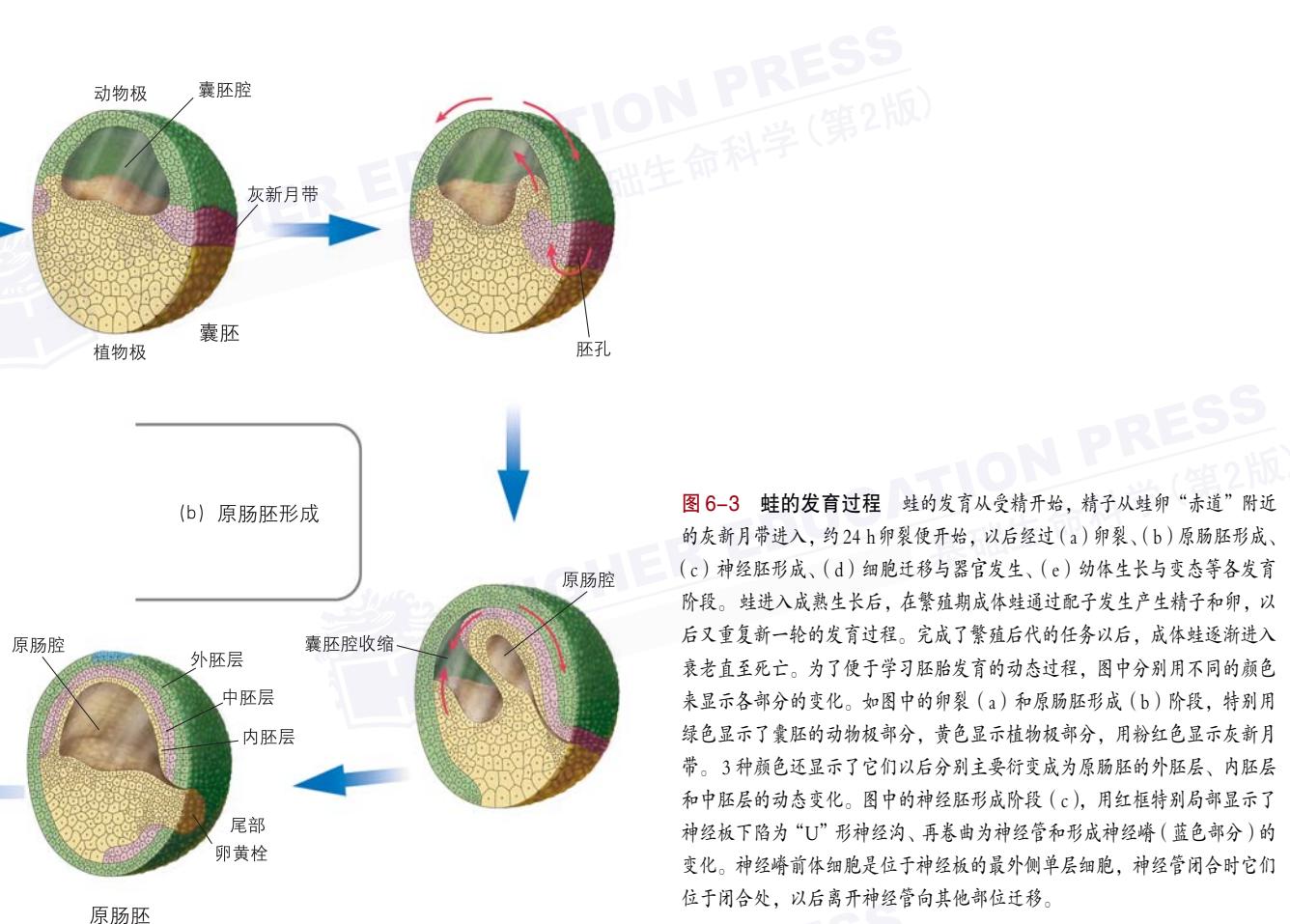


图 6-3 蛙的发育过程 蛙的发育从受精开始，精子从蛙卵“赤道”附近的灰新月带进入，约24 h卵裂便开始，以后经过(a)卵裂、(b)原肠胚形成、(c)神经胚形成、(d)细胞迁移与器官发生、(e)幼体生长与变态等各发育阶段。蛙进入成熟生长后，在繁殖期成体蛙通过配子发生产生精子和卵，以后又重复新一轮的发育过程。完成了繁殖后代的任务以后，成体蛙逐渐进入衰老直至死亡。为了便于学习胚胎发育的动态过程，图中分别用不同的颜色来显示各部分的变化。如图中的卵裂(a)和原肠胚形成(b)阶段，特别用绿色显示了囊胚的动物极部分，黄色显示植物极部分，用粉红色显示灰新月带。3种颜色还显示了它们以后分别主要衍变成原肠胚的外胚层、内胚层和中胚层的动力变化。图中的神经胚形成阶段(c)，用红框特别局部显示了神经板下陷为“U”形神经沟、再卷曲为神经管和形成神经嵴(蓝色部分)的变化。神经嵴前体细胞是位于神经板的最外侧单层细胞，神经管闭合时它们位于闭合处，以后离开神经管向其他部位迁移。

神经沟 (neural groove) 并最终卷曲为神经管 (neural tube); 在原肠的背侧，早期从胚孔背唇卷入的原动物极细胞 (中胚层细胞) 分化成棒状的脊索，并形成了神经系统的雏形。进一步发育过程中，神经管前端膨大为脑 (brain)，其余部分演变成脊髓 (spinal cord) 等中枢神经系统。此时，动物体前后、背腹分化明显，完成了神经胚期的发育过程后，动物的体形特征基本确立。

脊椎动物的器官发育还伴随着细胞迁移的过程，如神经嵴细胞 (neural crest cell)、白细胞 (leukocyte)、淋巴细胞 (lymphocyte) 等都是长距离的迁移细胞。原始生殖细胞通过迁移入性腺 (gonad) 发育成为配子细胞；动物面部的骨骼也是由头背部的神经嵴细胞迁移衍变而来的，色素细胞也由神经嵴细胞分化而成。以神经胚形成作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，整个动物体的雏形便发育完全，胚胎发育过程便完成了。以后经过幼体生长、蝌蚪变态发育为成体蛙，经过成熟发育期和繁殖后代以后，它们最终进入衰老和死亡。动物胚胎的发育从第一次卵裂开始就按照一定的模式 (pattern) 和程序在进行，这种模式和程序保证了细胞分裂、分化、迁移及囊胚、原肠胚、神经胚的形成和器官发生都按照特定的时空顺序展开。

三、植物的发育

植物的发育也是从受精卵开始的。我们常见的典型被子植物 (angiosperm) 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

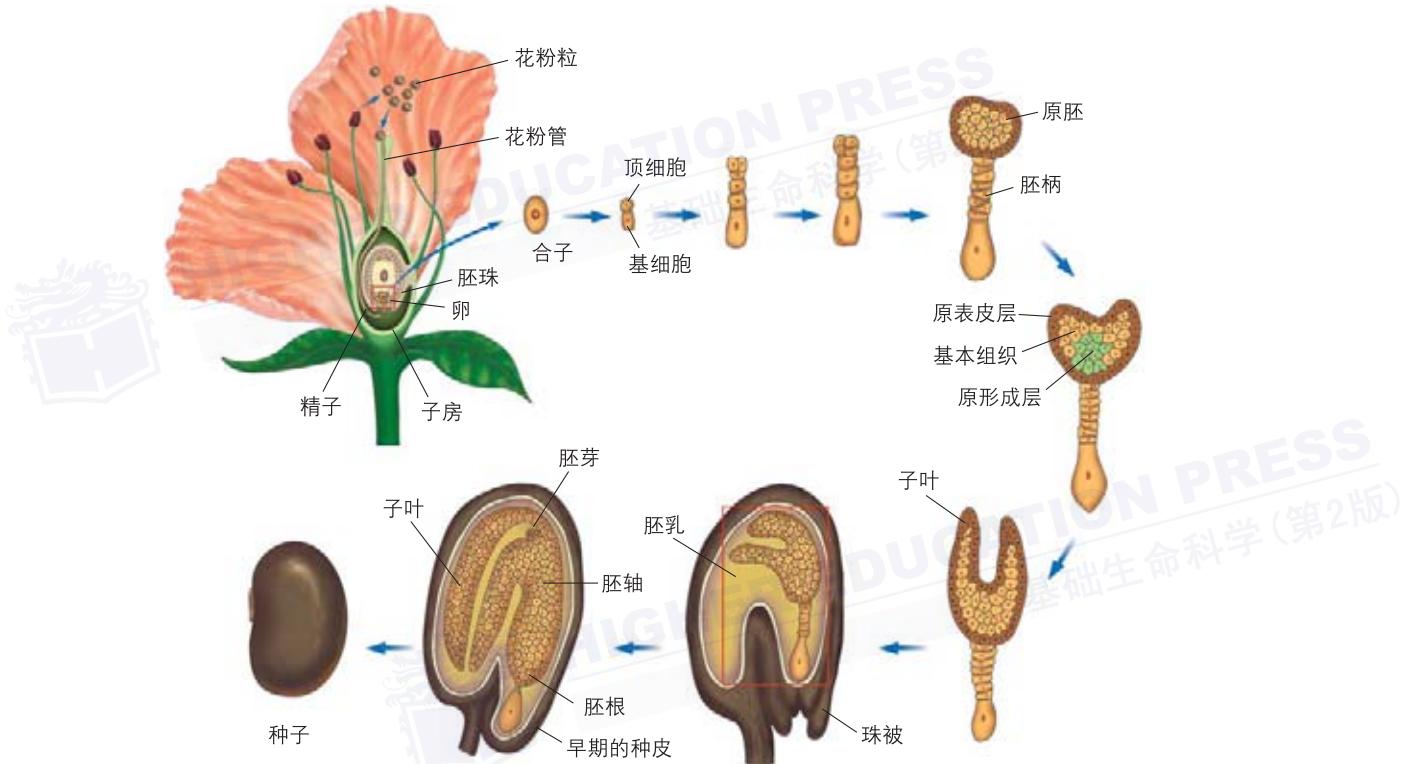


图 6-4 被子植物胚的发育和种子的形成 图中用小红框标明的局部，显示了受精后的合子在花中经过分裂、分化，成为胚胎的过程。在花中，由花粉粒萌发形成的花粉管中的精子到达胚珠，与卵结合形成合子，合子经过一系列的分裂分化步骤，形成保存在种子内的胚胎。新形成的种子具有与环境相适应的最大存活力。保存在种子中胚胎的表皮原以后将发育成植物个体的表皮组织，原基本组织细胞将发育成植物根、茎、叶中的基本组织，原维管组织细胞将发育成根、茎、叶中的维管组织。

一步生长并发育产生成熟的根、茎、叶、花等植物器官。

图 6-4 显示了被子植物胚的发育和种子形成的过程。在花的子房 (ovary) 内，胚珠 (ovule) 中的卵细胞受精后形成合子，合子通常会经过一段休眠后开始进行第一次横分裂，形成一个较大的基细胞 (basal cell) 和一个较小的顶细胞 (terminal cell)。顶细胞原生质浓厚，富含核糖体，顶细胞分裂最终产生了胚体。同时基细胞也横向分裂形成了胚柄 (suspensor)，胚柄除了起固着胚的作用外，还从胚囊、珠心及植物母体内吸取营养传送到胚体。随着胚的进一步分化成熟，胚体两侧部位细胞生长和分裂要快于中央部位细胞，它们渐渐突起形成为子叶 (cotyledon)。形成心形双子叶的发育成为双子叶植物 (dicotyledon)，仅形成一片子叶的发育成单子叶植物 (monocotyledon)。在子叶出现后不久，胚进一步发育伸长，上部形成胚芽顶端分生组织，而胚轴的下端也形成了具分生组织的胚根，胚中同时还具有原分生组织，此时胚的发生已经建立了新植物个体的雏形。在胚和胚乳发育

的同时，胚珠的珠被发育成种皮。当胚珠发育成种子 (seed)，花的子房同时发育成果实。

具有胚根 (radicle) 和胚芽的种子已经孕育了一个微小的新植物个体，种子的萌发并不是新植物体生命活动的开始，而是成熟的种子经休眠后继续分化和生长。度过休眠且具有生活力的种子在足够水分与氧气、一定温度条件下就开始萌发。种子从萌发到发育成幼苗是一个复杂的过程。种子首先吸水膨胀，呼吸作用加强，胚细胞开始活跃地分裂，胚根和胚芽相继顶破种皮，下胚轴 (hypocotyl) 或上胚轴 (epicotyl) 有时形成弯钩来保护柔弱的顶端生长点。种子萌发后，胚根随细胞分裂而伸长，向下生长，成为幼苗的根。子叶开始生长和分化，胚乳养分因降解而逐渐耗尽。胚轴伸长后将子叶推出地面，子叶出土后便可进行光合作用。随着幼苗的形成，当第一片真叶从茎尖长出暴露于阳光下，幼苗便可以通过光合作用为自己提供部分养分，这时植物开始从异养生长转为自养生长。胚芽和胚根的顶端分生组织维持植物

的初生生长，由子叶或真叶、芽和根组成的幼苗继续生长分化成为包含表皮、维管和基本组织系统的根、茎、叶各器官齐全的植株（图 6-5）。

大多数植物在一生中都可保持连续地生长和发育。相比之下，大多数动物的生长则是有限的，即动物的个体到一定的体积后其生长就停止了。尽管整个植物体具有持续生长的特性，但植物的某些器官，如叶片和花，生长也是有限的。植物持续生长并不意味其长生不老，各种植物都有一定的生命周期，最终会衰老和死亡。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（图 6-6）。在成熟的植物体内，总保留一部分不分化并具有分裂能力的细胞。从分生组织分裂产生的细胞中，有的能持续分裂，保持着很强的分裂能力，它们被称为原生分生组织；有的生长并初步分化，形成初生分生组织，这些初生分生组织以后逐渐失去分裂能力，形成植物器官中的其他成熟组织。

被子植物的孢子体（sporophyte）由种子萌发而来，即我们常见的二倍体植株。当其由根、茎、叶的营养生长过渡到生殖生长期，在孢子体上形成了特化的繁殖器官——花，其部分特殊细胞通过减数分裂，形成单倍体的

图 6-5 种子萌发成为幼苗 (a) 休眠后的种子在足够水分、氧气和一定温度条件下萌发，种子先吸水膨胀，种皮变软，胚细胞活跃地分裂，胚根和胚芽相继顶破种皮，胚根细胞分裂伸长，向下生长，成为幼苗的根。接着子叶开始生长和分化，胚乳养分逐渐耗尽，上下胚轴伸长后将子叶推出地面。由子叶或真叶、芽和根组成的幼苗继续生长分化成为根、茎、叶各器官齐全的植株。(b) 幼苗继续生长成为包括表皮、维管和基本组织系统的植株。三大组织系统连续地贯穿在整个植物体的根、茎、叶中。表皮组织是覆盖和保护着植物各部分的一层排列紧密的表皮细胞。维管组织贯穿于植物体的两种疏导组织即木质部和韧皮部，共同构成了植物的维管组织系统，它具有输送水分及养分和机械支持的功能。基本组织填充在表皮组织和维管组织之间，占据了植物体的绝大部分，其主要由具同化（如光合作用）、贮藏、通气和吸收功能的薄壁细胞组成，还包括具机械支持功能的厚壁细胞和厚角细胞。

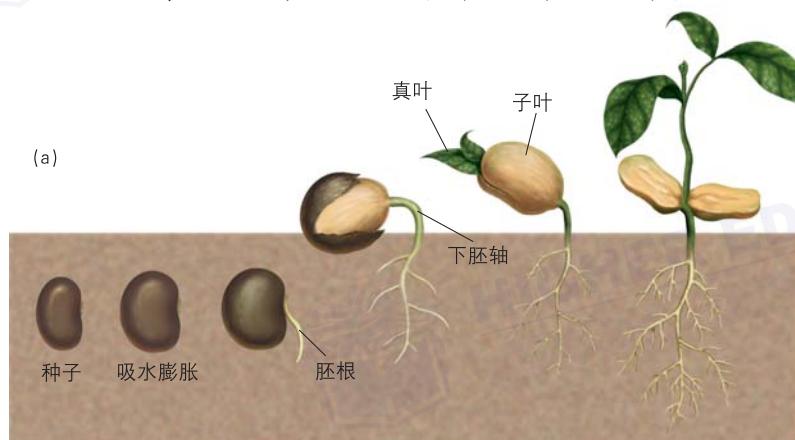


图 6-6 植物的生长与分生组织的位置 图中的黄色部分显示了分生组织的部位。顶端分生组织位于根尖和茎的芽中，细胞经过横分裂，使植物体纵向生长。在大多数木本植物中，除了具有这种顶端分生组织进行的初生生长外，还具有由侧生分生组织进行的次生生长。细胞通过径向分裂，使根、茎进行加粗生长。侧生分生组织通常是一些已经分化的细胞又恢复了分裂能力，因此又称为次生分生组织。根、茎的加粗生长属于次生生长。



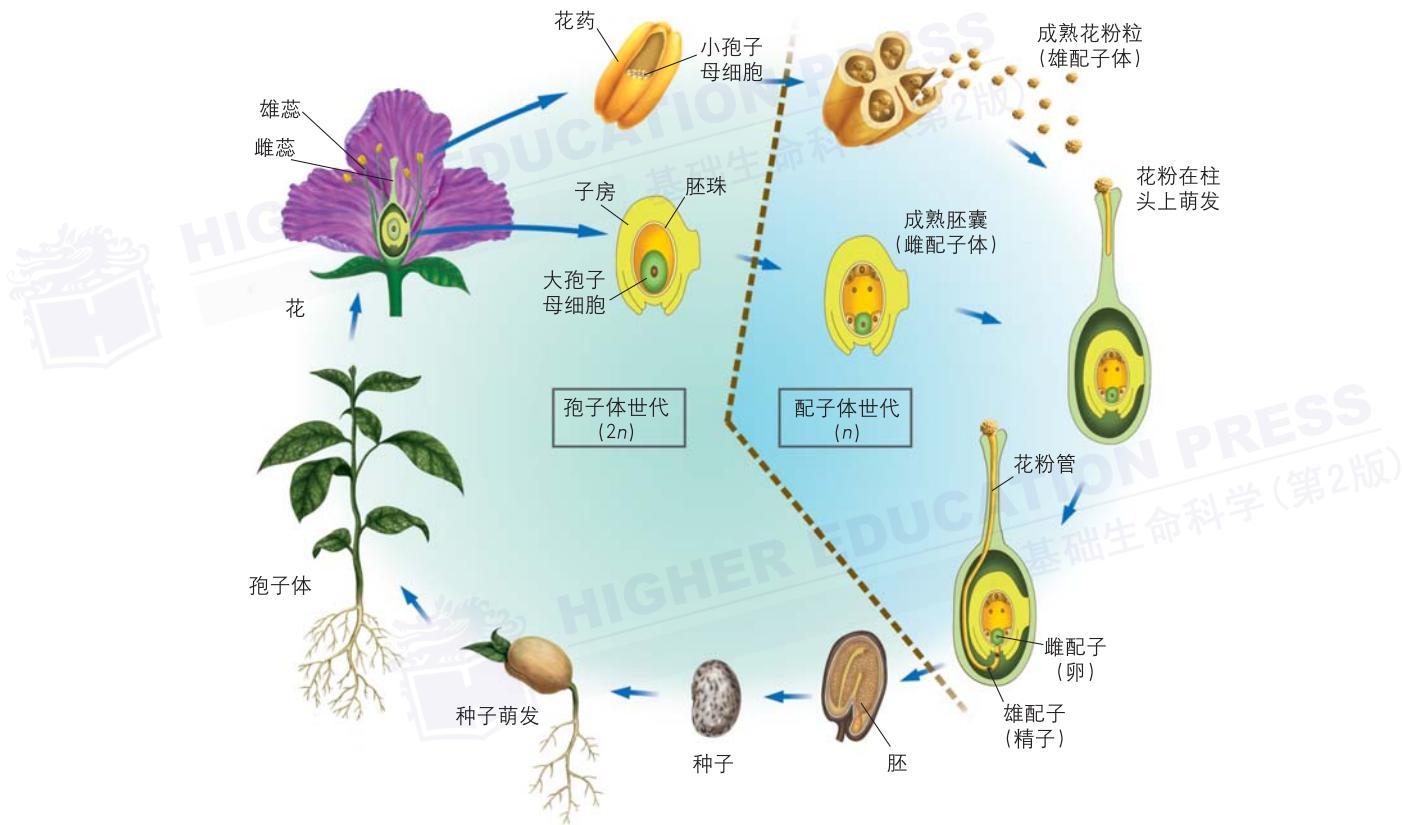


图 6-7 被子植物的繁殖过程和生活史 被子植物的发育从受精卵(合子)开始, 分裂发育成保存在种子中的胚。种子萌发后, 二倍体的孢子体幼苗由营养生长变为成熟的植株, 进入到生殖生长期。花是被子植物最重要的生殖器官, 当花中的雄蕊和雌蕊发育成熟, 花药内部的花粉囊中一个二倍体的小孢子母细胞(花粉母细胞)经过减数分裂形成4个单倍体的小孢子。每个小孢子成熟后又经过一次有丝分裂形成两个花粉细胞, 其中一个大的花粉细胞以后发育成花粉管, 另一个小的花粉细胞成为生殖细胞, 生殖细胞再分裂一次, 形成两个精子。同时, 雌蕊子房的胚囊中一个二倍体的大孢子母细胞经过减数分裂, 产生4个单倍体的大孢子。其中3个退化, 仅有一个继续发育成胚囊。再有丝分裂3次形成了具8个核的胚囊。位于胚囊中部的两个核(称为极核)形成一个中央细胞; 位于珠孔端的3个核也形成3个细胞, 其中一个为卵细胞, 另两个为助细胞。相对于珠孔的另一端(合点端)的3个细胞形成3个反足细胞。传粉和受精时, 花粉在柱头上吸水膨胀, 并在花粉粒的萌发孔处生成细长的花粉管, 其向下生长, 进入柱头并由珠孔到达胚囊。此时, 花粉管中的一个精子与卵结合形成受精卵即成为二倍体的合子, 合子将来发育成为产生新个体的胚; 另一个精子与中央细胞极核结合, 成为三倍体的受精极核, 并进一步发育成为胚乳。双受精是被子植物特有的现象, 它保证了新个体从父母亲本中获得双重遗传信息。图中的浅蓝色和浅绿色背景分别显示被子植物生活史的配子体世代(单倍体世代)和孢子体世代(二倍体世代)。在被子植物的生活史中, 孢子体世代(二倍体世代)与配子体世代(单倍体世代)交替出现, 配子体世代不发达, 雌雄配子体不能独立生活, 都寄生在孢子体上, 且特化成花的一部分。

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, 它们分别是花中雄蕊(stamen)部分的花粉粒(pollen)和雌蕊(pistil)部分的胚囊。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。花粉粒和胚囊经过有丝分裂, 分别产生单倍体的配子, 即精子和卵。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(图 6-7)。

第二节 发育的细胞与分子生物学机制

尽管不同的生物其发育的具体途径和特征各不相同, 针对发育的细胞与分子生物学研究的一系列最新成果显示, 许多生物的发育都享有共同的细胞与分子机制。

一、细胞命运决定、诱导和发育模式

多细胞生物的发育是从受精卵发育成具有各种组织和器官的整体有机体的过程，因此，受精卵是具有发育潜能的全能细胞 (totipotent cell)，这也意味着它的基因组的全部基因都具有表达的潜力。大多数动物细胞在囊胚形成前一般只有细胞分裂而没有分化，即在早期胚胎中，卵裂球细胞的命运没有特化，细胞都是全能的。例如从哺乳动物的8细胞桑椹胚中分离出的任何一个细胞都可以发育成为完整的生物个体。但从原肠胚细胞重排成三胚层后，由于细胞的分化，即原肠胚的细胞之间产生了稳定性差异，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** (cell fate determination)，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。此时细胞虽然没有体现出可分辨的分化特征，但经过细胞决定，已经具备了向某一特定方向分化的能力。我们可以通过蛙胚细胞的移植实验来证实细胞决定的发生 (图6-8)。在蛙原肠胚早期，将预计会发育成表皮的细胞移植到另一宿主原肠胚预计发育为脑组织的区域，结果被移植的细胞在宿主原肠胚中发育成脑组织，说明被移植前，这些

细胞的发育命运尚没有被确定，移植后，它们的发育受周围环境的控制，在预定为脑组织的发生区域随周围细胞一起发育成脑组织。但在蛙原肠胚晚期再进行同样的移植实验，结果被移植的细胞在早期原肠胚受体中仍然发育成表皮，表明在细胞移植前细胞决定就发生了，而且这些被移植的细胞在另一宿主胚胎的其他区域仍不会失去它们的“原定决定”。

那么，细胞决定是如何发生、又是由什么因素控制的呢？在细胞分化前用细胞决定阶段的胚胎材料进行移植实验和分离实验有助于认识发育过程中细胞决定的机制。研究显示，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。受精卵每次卵裂，经过DNA复制以后，其细胞核物质包括基因组都均匀地分配到子细胞中，因此子细胞的细胞核是等能的。从已经分化的体细胞中分离出的细胞核仍能培育出新的生命个体（如多莉羊，见本章第四节），证明了细胞核的全能性。但是，卵裂时受精卵细胞质物质的分布可以是不均匀的，即各种物质在细胞质中有一定的区域分布差异，因此细胞质分裂 (cytoplasmic segregation) 时分配到子细胞中的细胞质可以是不均一的。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** (determinant)。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（即区域化）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（见图6-3）。一个典型

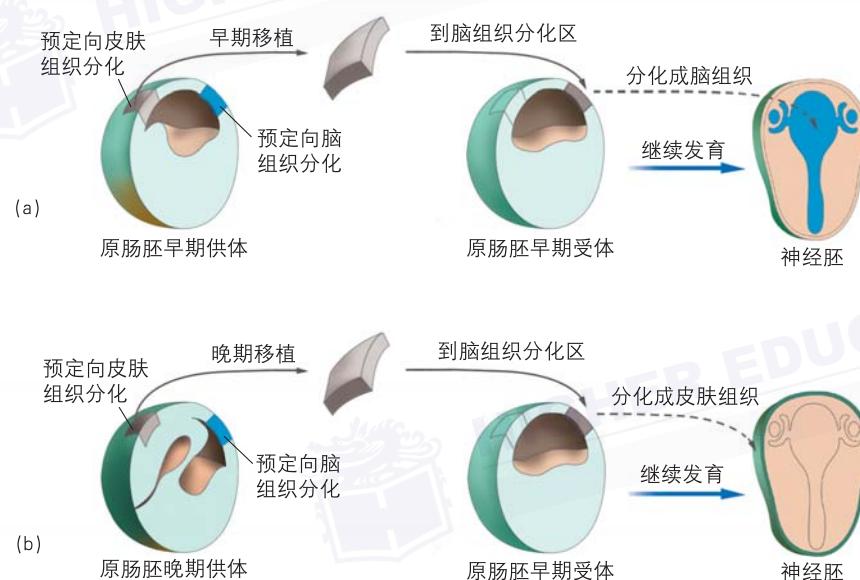


图6-8 证明细胞决定发生的蛙胚细胞移植实验 (a) 把原肠胚早期预计将来发育成表皮的区域细胞移植到另一蛙胚的脑组织预定发生区，被移植的细胞与相邻细胞一起共同发育成脑组织。(b) 把原肠胚晚期预计将来发育成表皮的区域细胞移植到另一蛙胚的脑组织预定发生区，被移植的细胞不受该区域和相邻细胞的控制，仍按原先确定的途径发育成为表皮。

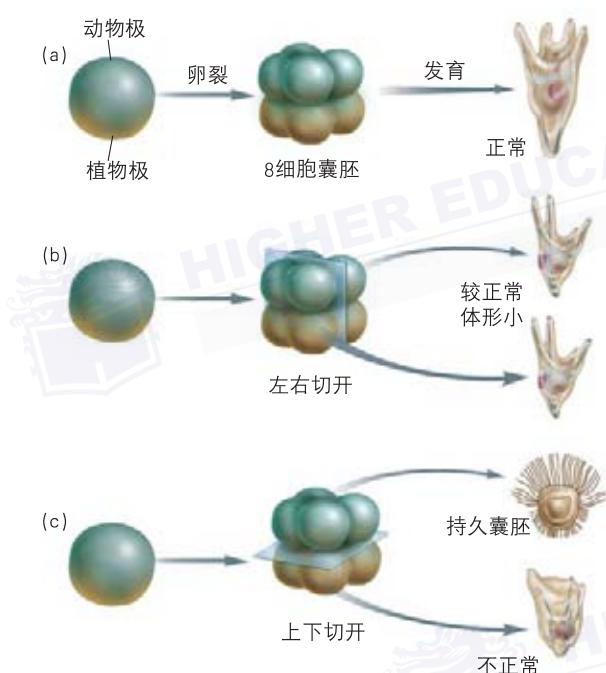


图 6-9 揭示细胞质作用的海胆胚胎发育实验 (a) 8 细胞囊胚正常发育成完整的幼虫 (对照组)。(b) 8 细胞囊胚左右分开, 分别发育成相同的较小完整幼虫 (实验组 1)。(c) 8 细胞囊胚上下分开, 上部发育成多纤毛持久囊胚, 下部发育成不完整的幼虫 (实验组 2)。

的例子是对海胆胚胎的发育实验(图 6-9):用玻璃针把卵裂发育到 8 细胞的海胆囊胚沿动、植物极轴左右对半分开,结果左右各 4 个细胞的两部分都发育成为了完整的幼虫,它们只是比正常的幼虫小一些。在另外一组实验中,用玻璃针把卵裂发育到 8 细胞的海胆囊胚沿赤道面上下对半分开,结果上下各 4 个细胞的两部分发育的命运是不一样的,它们都不能发育成为完整的幼虫,上部的动物半球形成了球状的多纤毛持久囊胚,下部的植物半球形成了具有食管、外胚层和某些骨骼的不完整幼虫。进一步实验发现,按不同方向切割未受精的卵,分开的两部分分别受精后也得到了类似的发展结果。进一步的问题在于,细胞质中决定细胞命运的决定子是什么?已有的研究显示,卵母细胞的细胞质中除了贮存有营养物质和多种蛋白外,还含有多种 mRNA,其中多数 mRNA 与蛋白质结合,处于非活性状态,这些隐蔽的 mRNA 不能被核糖体所识别。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。

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,正如图 6-9c 所示,就不会继续发育成完整的胚胎。这种卵裂球不同部分嵌合才能完整发育的方式又称为**镶嵌型发育**(mosaic development)。但是研究显示,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。在这种**调整型发育**(regulative development)的细胞命运决定方式中,相邻细胞相互作用的重要性可以被以下实验所证实。如果将一个爪蟾早期囊胚的动物极、植物极部分分开后分别培育,则动物极囊胚细胞只能发育分化成具有外胚层特征的细胞,植物极囊胚细胞只能发育分化成具有内胚层特征的细胞,而没有任何囊胚细胞可以发育分化成具有中胚层特征的细胞。有趣的是,如果将动物极、植物极部分分开后放在一起共同培育,其中一部分动物极细胞就会发育分化成具有中胚层特征的细胞。正是相邻两类细胞的相互作用启动了某些细胞发育途径的开关。这种相邻细胞相互作用决定分化方向的过程称为**诱导**(induction)。脊椎动物眼的晶状体的形成也是典型的诱导发育(图 6-10)。在蛙胚中,正在发育的前脑在两侧发生突起形成视泡(optic vesicle, 又称为眼泡),它们逐渐膨胀最终与头部表面细胞相互接触,

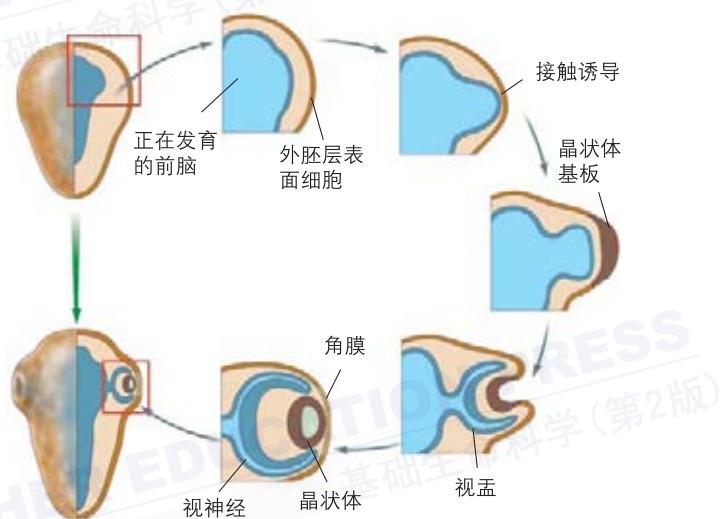


图 6-10 蛙胚眼晶状体的诱导发育 正是由于前脑突起与外胚层表面细胞接触传递信号,使后者发育成为晶状体,接着进一步诱导了角膜的发育。

被接触的这部分表面细胞变厚，形成了晶状体基板 (lens placode)，其向内弯曲、折叠闭合，并从表面脱离，产生了晶状体的前体结构，最终导致晶状体的发育完成。实验显示，在视泡突起与表面细胞接触前将其切除，或者在突起的视泡与表面细胞之间放入一层无透性的隔离膜，都会阻止晶状体基板和晶状体的发育，说明表面细胞发育成晶状体基板前收到了来自视泡的称为胚胎 **诱导子** (inducer) 的信号。接着，分化发育的晶状体又可以诱导其外层角膜的发育。诱导必须通过细胞的相互作用来实现。诱导可以分级进行，初级诱导可以进一步启动下一级 (次级) 诱导的发生。

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** (pattern formation)。胚胎发育中的位置效应 (position effect)、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。

一些研究显示，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** (morphogen)，分泌成形素的一组特殊细胞称为**组织者** (organizer)。由于成形素的可扩散性和渗透性质，因此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。研究发现，成形素浓度的高低即待发育的胚胎区域离组织者的位置远近是决定该区细胞发育命运的重要因素。例如，非洲爪蟾早期囊胚的高成形素动物极区域以后发育成为脊索，中等浓度区域以后发育成肌肉，低浓度区以后发育成表皮 (图 6-11)。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**。一些成体动物肢体切除后可以再生，再生时创口先形成一肢芽，然后重现了切除部分的胚胎学发生过程，产生了一个新的肢体。这种肢体再生与该生物模式形成完全吻合：前肢在躯体的前部形成，后肢在躯体的后部形成。这说明了位置效应在模式形成中的重要控制作用。

有机体的发育不完全限于细胞分裂增殖后的分化，**细胞凋亡**即发育过程中细胞程序性死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，它与由于外部环境的物理、化学或病理等破坏性因素造成细胞的损伤和死亡截然不同。细胞凋亡过程中，细胞质收缩，染色质

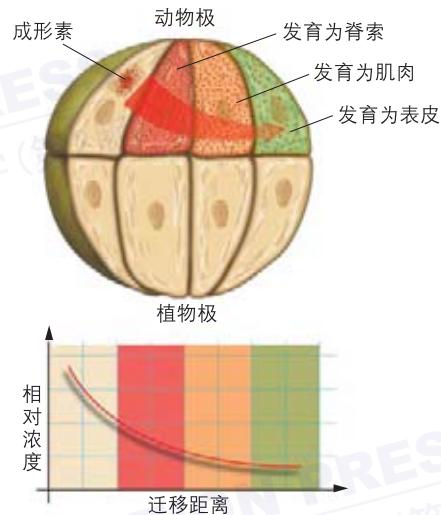


图 6-11 非洲爪蟾早期囊胚不同部位的位置效应即成形素浓度决定了该部位细胞的发育命运示意图 需要说明的是，非洲爪蟾等动物的早期胚囊中可以有 2 个甚至 2 个以上的组织者即成形素产生中心，成形素也可能有多种。

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。提取凋亡细胞的 DNA 进行常规的琼脂糖凝胶电泳，可检测到呈梯状排列的 DNA 片段条带。细胞凋亡在有机体发育进程中经常发生。例如，成人体内的骨髓中时刻有大量的细胞不断凋亡，约 50% 的细胞在脊椎动物神经系统的发育过程中凋亡了。小鼠囊胚早期原先实心的内细胞团发育成中空的囊状结构是通过内部细胞凋亡来实现的。特殊基因指令控制的细胞凋亡使线虫从受精卵到成熟个体形态的发育得以完成 (见本章第三节)。人胚胎发育时手和足的形成更体现了细胞凋亡对模式形成的作用。在胚胎期，最初人的手和足呈铲形，各手指和足趾蹼连在一起。在胚胎发育的第 41 到 56 天，各手指和足趾间的细胞发生凋亡，各手指和足趾相互分开，形成了手和足的特征形态 (图 6-12)。这一过程体现了细胞凋亡对手和足空间排列结构模式形成的作用。深入的研究发现，手指和足趾间的细胞凋亡是由一类称为 Caspase 的蛋白酶启动的。

许多生物发育的模式形成都是由特殊基因的差异表达控制的，关于基因表达调控对模式形成的作用将在下一段和第三节进一步介绍。



图 6-12 在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

发育的基础在于细胞分化，细胞分化的本质是细胞中特异蛋白质的合成，也就是基因组中少数特定基因的选择性表达。不同细胞中的特定基因表达受到各种机制的调控（见本书第五章第四节内容），包括转录调控、RNA修饰和加工等等。因此，有机体发育的机制最终要在分子生物学水平上来阐明。

myoD 是科学家最早发现的一个控制肌细胞发育的主导基因（master control gene）。该基因的表达产物 MyoD 蛋白是一个控制基因表达的转录因子，在胚性前

体细胞中，该蛋白一旦被合成，虽然细胞的外观并没有发生任何改变，此时细胞决定就已经发生了，即胚性前体细胞变成了成肌细胞（myoblast）。在分子生物学水平上分析，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（这种调节又称为正反馈）。MyoD 蛋白具有螺旋-转角-螺旋结构域基序，它结合到受控基因的调控区后，首先启动了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。成肌细胞中的这些肌肉蛋白合成后，成肌细胞便聚合为成熟的多核肌细胞，又称为肌纤维（图 6-13）。上述

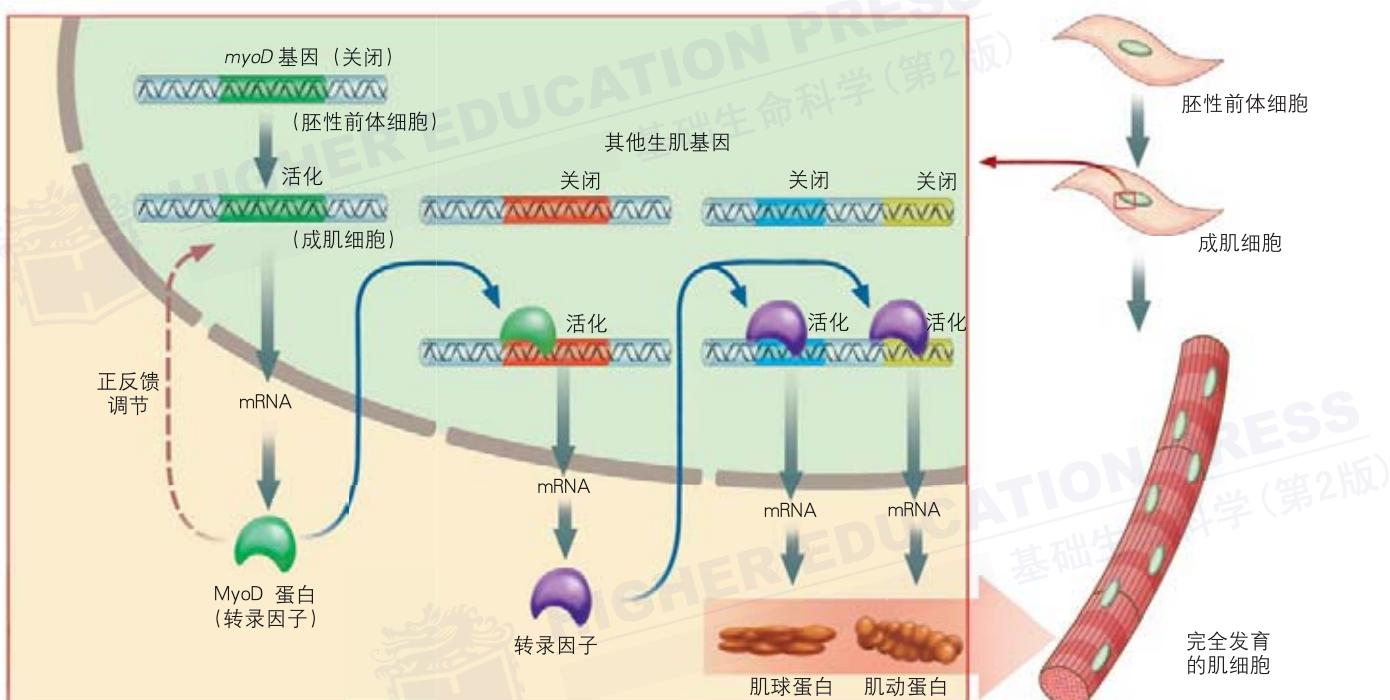


图 6-13 主导基因 *myoD* 对肌细胞分化的调控

基因表达调控及肌细胞发育的过程一开始就是由 *myoD* 基因设定和决定的,因此 *myoD* 是一种肌细胞发育的主导基因。更令人惊奇的是, MyoD 蛋白还能改变一些已经分化的非肌细胞的发育。例如, 将 MyoD 蛋白引入到成脂肪细胞或成肝细胞中, 结果这些细胞转变成了肌细胞。将 *myoD* 基因引入体外培养的成纤维细胞, 这些成纤维细胞没有分化成肌细胞, 但是将 MyoD 蛋白引入到体外培养的成纤维细胞中后, 肌细胞的分化便开始了。科学家认为, MyoD 蛋白启动了一组基因调节蛋白的转录, 正是这一组基因调节蛋白共同协作, 决定了肌肉发生基因的活化。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。

果蝇发育的基因表达调控研究为从分子水平上深入揭示有机体发育的机制提供了许多典型的证据。我们来看一看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(segmentation)的影响。

果蝇的胚胎发育过程包括: 卵细胞受精后经过多核阶段和卵裂形成囊胚, 经过建立体轴和身体分节产生体

节分明的胚胎, 再经过幼虫和蛹的阶段, 发育成为成体果蝇。在果蝇母体的卵泡中, 与卵细胞相邻的营养细胞内 *bicoid* 基因(又归为卵极基因 egg-polarity genes)先转录产生 *bicoid* mRNA, *bicoid* mRNA 作为决定子进入卵细胞并分布于卵的前区, 卵受精后, 刺激其翻译产生 Bicoid 蛋白, 该蛋白作为一种成形素, 在受精卵前区建立了浓度梯度, 即前极 Bicoid 蛋白浓度最高, 沿卵的纵轴向中区浓度逐渐减低。实验证明, 正是由于 *bicoid* mRNA 及其蛋白产物在受精卵前区的定位和另一些其他成形素(如 *oskar* 蛋白、*hunchback* 蛋白等)在后区聚集等, 这些基因产物扩散产生的浓度梯度控制着沿受精卵纵轴不同部位各卵裂球内核基因的选择性差异表达, 从而建立起果蝇胚胎的前后轴, 即确定了果蝇胚胎的头部和尾部(图 6-14)。*bicoid* 基因突变引起 Bicoid 蛋白缺陷显示, 发育成的幼虫无头和胸, 顶节(原头区)被一个反向的尾节所代替。如果将纯化的正常 *bicoid* mRNA 注射到处于卵裂的胚胎的尾部, 结果可以获得两端各有一个顶节(头部)的双头胚胎。

Bicoid 蛋白是一个转录因子, 调控着果蝇胚胎体节基因的差异性表达。在果蝇体轴建立以后, Bicoid 蛋白利用其螺旋-转角-螺旋结构域基元结合到一组包括间隙

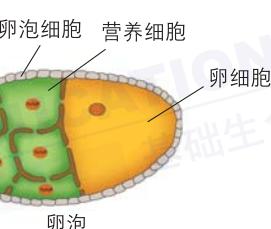
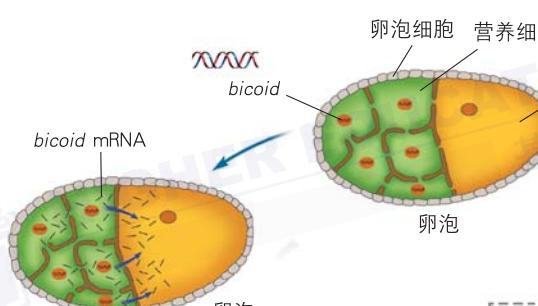
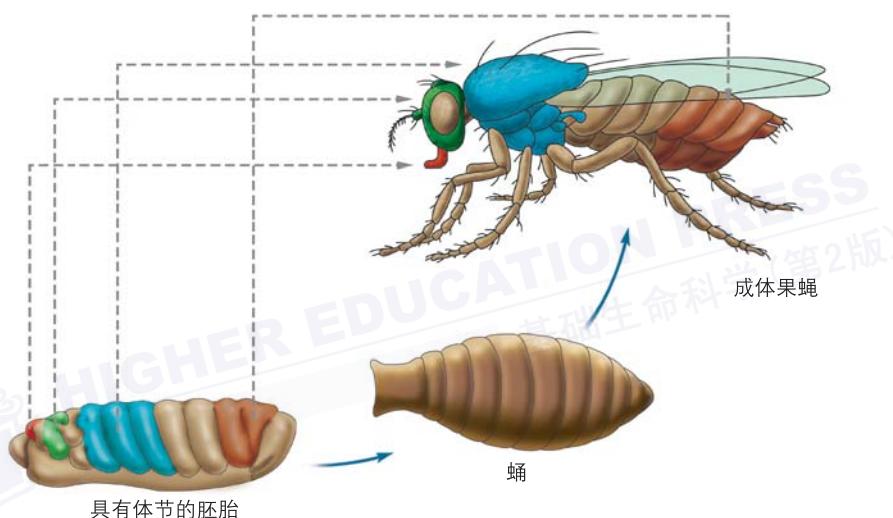


图 6-14 果蝇胚胎发育阶段体轴建立的分子机制 果蝇胚胎发育的各阶段即从卵泡细胞发育到具体轴的胚胎是 *bicoid* 基因表达调控的结果。



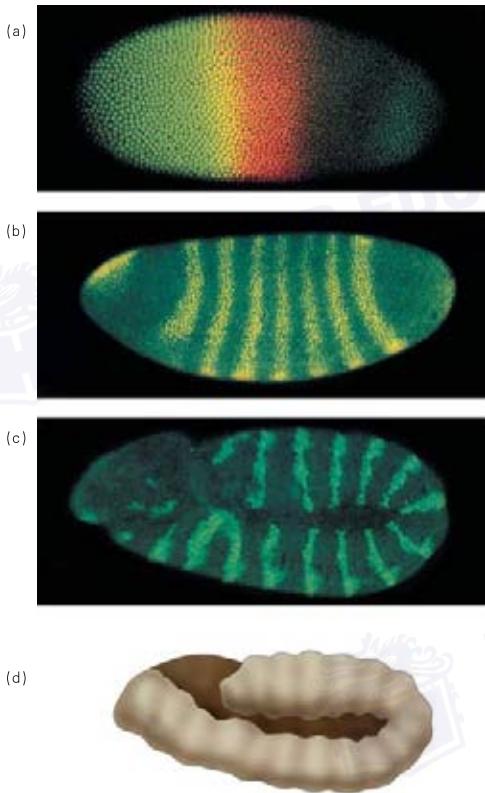


图 6-15 果蝇体节基因级联表达导致胚胎分节 果蝇胚胎体节基因顺序级联表达产生各蛋白条带, 荧光原位杂交显示胚胎分节的现象。(a) 间隙基因首先表达。(b) 接着配对法则基因表达。(c) 最后体节级化基因表达。(d) 分节形成后胚胎的模式图。

基因 (gap gene)、配对法则基因 (pair-rule gene) 和体节级化基因 (segment-polarity gene) 在内的 3 类体节基因的启动子上。由于其转录因子的作用和浓度梯度效应, 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 (图 6-15): 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; 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 条纹; 最后是体节级化基因表达, 反映出划分体节的最后界线。实验证明, 这些基因在转录因子的调控下, 经过级联表达, 最终形成分节的果蝇胚胎。德国科学家 Christiane Nüsslein-Volhard 教授和美国科学家 Eric F. Wieschaus 教授等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。

科学家发现, 在体轴和体节的模式基本形成以后, 最后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 (homeotic gene)。它们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, 即同源异形基因最终决定各体节将发育成哪一种形态, 如该体节发育成无翅的前胸还是有翅的中胸, 或者成为有平衡器的后胸。任何一个同源异形基因的显性突变都可能导致某器官产生在不该出现的部位。例如, 在双胸复合体 (bithorax) 基因群中, *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。而在触角足复合体 (antennapedia) 基因群中, *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 (图 6-16)。

果蝇的同源异形基因都定位在第 3 号染色体上, 控制体轴前部形态的触角足复合体基因群含有 5 种基因, 控制体轴后部的双胸复合体基因群含有 3 种基因。这些

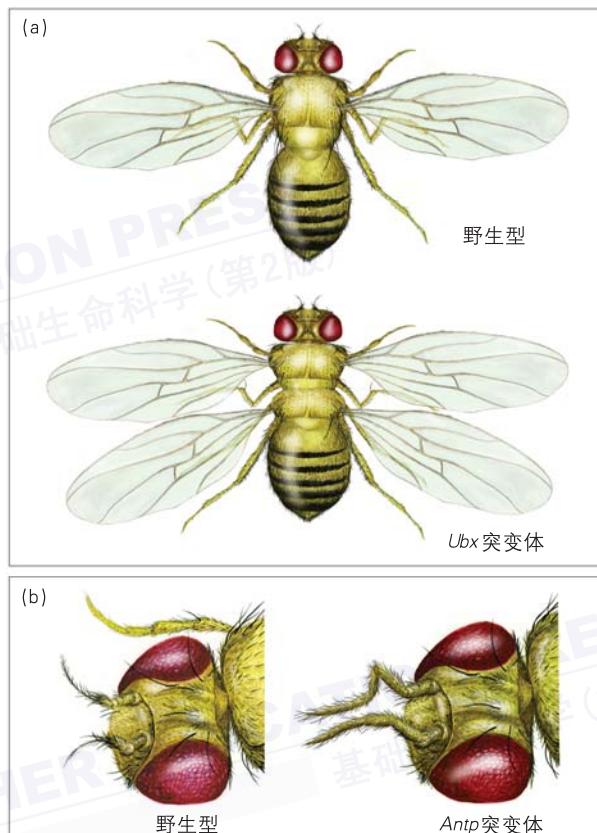


图 6-16 果蝇同源异形基因突变导致某些器官的异常产生 (a) 与正常果蝇的形态比较, *Ubx* 基因突变导致多长出额外的一对翅膀及胸节。(b) *Antp* 基因突变使本该长触角的部位长出了一对附肢。

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。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，这个共同的DNA片段称为**同源盒**(homeobox，又称同源异形盒)。同源盒具有180bp，编码一个可以与DNA结合的由60个氨基酸组成的多肽结构域。除了果蝇外，许多其他无脊椎动物和脊椎动物也都具有这样的同源盒序列。比较各种动物的同源盒编码的蛋白质氨基酸序列可以发现，它们有60%~98%相同性(参见图6-33，并比较果蝇和小鼠同源异形基因的相同性)。哺乳类动物中的人和老鼠与昆虫在进化时间上相差约6亿年，它们在控制身体各部位发育的同源异形基因的同源盒序列上的保守性反映了它们在进化的历史上都来源于一个共同的遥远祖先。这种保守性在长期的进化中仍然被保留下来，足以说明了其生物学的重要意义。

与动物一样，在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**(organ-identity gene)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，即决定花原基分生组织细胞的发育命运。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(*Arabidopsis*)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(图6-17)。实验显示，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。例如，缺失A类基因的突变使得原着生花萼的花轮部位分生组织发育成了雌蕊，原着生花瓣的花轮部位分生组织发育成了雄蕊。植物器官特征基因也是一些编码转录因子的主导基因，它们通过转录因子表达后与DNA的启动子或增强子结合来调控花器官的发育。

细胞凋亡的基因控制研究显示，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-9三个基因的作用最重要。ced-3、ced-4的激活是线虫细胞凋亡启动和继续所必需的。如果ced-4基因发生突变，则

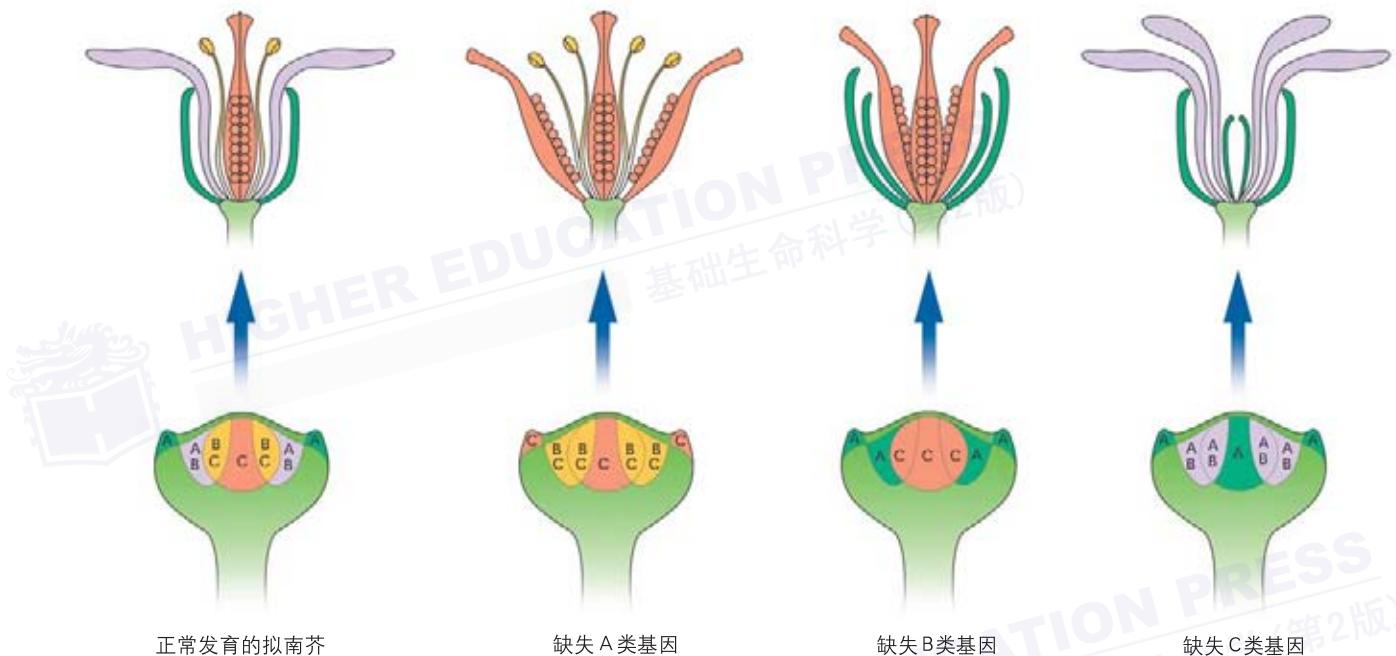


图6-17 拟南芥器官特征基因对花萼、花瓣、雄蕊、雌蕊4种花器官发育的控制 ABC三类器官特征基因定位并作用于花轮相应部位的花原基分生组织细胞，决定该部位的发育命运。A类基因控制着花萼的发育、A类与B类基因共同控制花瓣的发育，B类与C类基因共同控制雄蕊的发育，C类基因控制雌蕊的发育，形成了野生型植株花萼、花瓣、雄蕊、雌蕊4种花器官在花轮上由外向内正常分布的整齐花。花器官特征基因突变导致花萼、花瓣、雄蕊、雌蕊的缺失和异位：缺失了A类基因使原着生花萼的部位发育成了雌蕊，原着生花瓣的部位发育成了雄蕊；缺失了B类基因，原着生花瓣的部位长出花萼，原着生雄蕊的部位长出了雌蕊；缺失了C类基因，原着生雄蕊的部位长出了花瓣，原着生雌蕊的地方发育成了花萼。

导致正常细胞凋亡出错，使线虫发育过程中本应该死亡的细胞也存活下来。与 *ced-4* 基因作用相反，*ced-9* 基因可抑制细胞凋亡的发生，而 *ced-9* 基因突变失活会导致正常情况下应存活的细胞发生凋亡，结果造成了线虫的死亡。另一种 *bcl-2* 编码的人类蛋白与 *ced-9* 基因编码的蛋白相同，也可以对凋亡起相反的阻抑作用。虽然人类与线虫在进化时间上相差 6 亿年，但它们都具有相同的控制细胞凋亡的基因。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，具有高度保守性。目前发现的 Caspase 家族成员一共有 14 种，按照被发现的先后顺序被命名为 Caspase-1，Caspase-2，直至 Caspase-14。在正常情况下，它们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（图 6-18）。作为细胞凋亡的执行者，Caspase 最终可以通过水解维持细胞基本结构和功能的蛋白质而瓦解细胞结构。

三、细胞信号转导

主导基因编码的转录因子调控相关基因的表达或某些基因的直接表达，是决定细胞分化及有机体发育的命运最重要的因素，而这些基因的启动通常需要细胞信号的作用。高等动物和植物由数以亿计的细胞组成，其中每一个细胞都不是孤立的单位。为了生存，每一个细胞

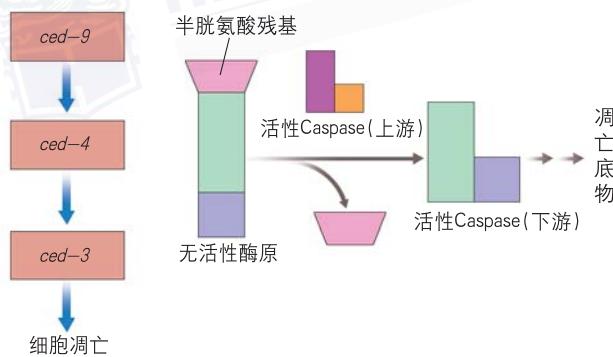


图 6-18 Caspase 被激活的级联反应 在细胞凋亡过程中，上游有活性的 Caspase 作用于无活性的酶原（下游无活性的 Caspase），特异地剪切其半胱氨酸残基，使其被激活成有活性的 Caspase（下游）。如此依次再激活更下游的 Caspase，最终将细胞凋亡信号传递给凋亡底物。

都必须与环境及相邻细胞保持通讯联系和相互作用。各种特化的细胞既有明确的分工又要保持相互间的联系和协作。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**。了解细胞信号转导过程有助于认识代谢反应发生的原因，了解细胞的生长、分裂、分化、死亡调控规律和探讨多细胞有机体的发育、繁殖、衰老的分子机理。生物体的发育在时间和空间上是一个高度有序并整体协调的变化过程，在这里初步了解细胞的信号系统和信号分子的传递等基本内容是十分必要的。

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）多种多样，包括蛋白质、小肽、核苷酸、类固醇、某些离子和可溶性气体分子等等。由细胞合成的这些分子包括内分泌（endocrine）信号、自分泌（autocrine）信号和旁分泌（paracrine）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**。旁分泌信号也是数量最多和最重要的一类信号分子。细胞间或细胞外信号分子的浓度通常都非常低，一般在 10^{-8} mol/L 以下。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。细胞表面受体类型可分为离子通道偶联受体（ion-channel-linked receptor）、G 蛋白偶联受体（G-protein-linked receptor）和酶联受体（enzyme-linked receptor）等。其中 G 蛋白偶联受体和酶联受体是两个研究较多的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 蛋白介导的信号转导途径中，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转导途径中，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，就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地被磷酸化或去磷酸化。一般情况下胞内信号蛋白通过获得磷酸基团被激活，失去磷酸

基团而失活,造成下游的信号蛋白磷酸基团的依次转移,形成磷酸化级联反应。如此便使信号蛋白逐级激活(或抑制),最终将信号传递到细胞核内,调控特异的基因,从而改变细胞的行为,如导致细胞的分化,促进有机体的发育等等。胞内信号蛋白的磷酸化通常通过两种途径进行,一种是在蛋白激酶的作用下,共价结合ATP提供的磷酸基团(图6-19a);另一种是在信号诱导作用下,与GTP结合以取代信号蛋白上原先的GDP(图6-19b)。以下让我们仅以G蛋白偶联受体介导的信号转导途径为代表,了解细胞信号转导的一般规律。

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。当激素分子等信号分子与细胞表面G蛋白偶联受体结构域结合后,受体蛋白的构象便发生了改变。这种新形式受体的催化结构域部分通常能够与位于膜内侧的G蛋白相互作用。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。当 α 亚基与GDP(鸟嘌呤二磷酸)结合时G蛋白没有活性;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 α 亚基与GTP结合,接着,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。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(图6-20)。细胞中存在着许多种G蛋白,有的对腺苷酸环化酶起活化作用,也有的起阻抑作用,因此可以控制多种代谢过程。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Ca²⁺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(IP₃)从内质网释放Ca²⁺,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Ca²⁺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

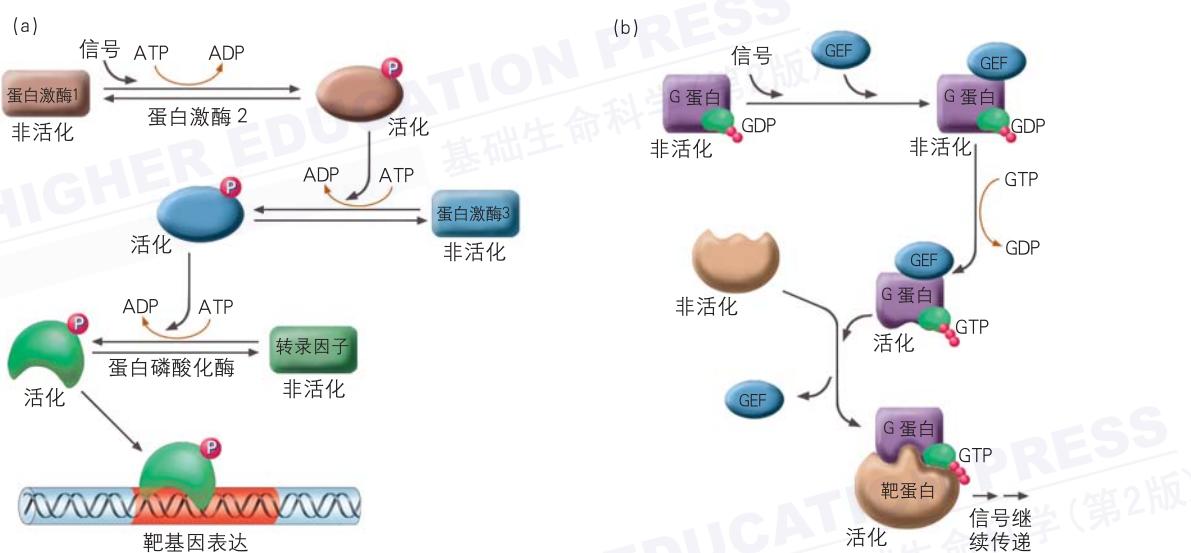


图6-19 一系列磷酸化与去磷酸化作用即磷酸化级联反应导致信号蛋白逐级激活后将信号传递到细胞核内 (a) 在酶联受体介导的信号转导途径中,胞外信号传来时,在蛋白激酶和蛋白磷酸化酶作用下,通过将一些酶或蛋白的磷酸化与去磷酸化(即磷酸基团的转移),控制着这些信号蛋白的活性,将胞外信号传入胞内。介导这种磷酸化通路的激酶主要包括丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶和酪氨酸蛋白激酶。(b) 在G蛋白介导的信号转导途径中,G蛋白偶联受体接受胞外信号后,在鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEF)的作用下,G蛋白上的GDP被GTP替换,导致G蛋白激活,活化的G蛋白再去活化胞内的靶蛋白,将信号传入胞内。

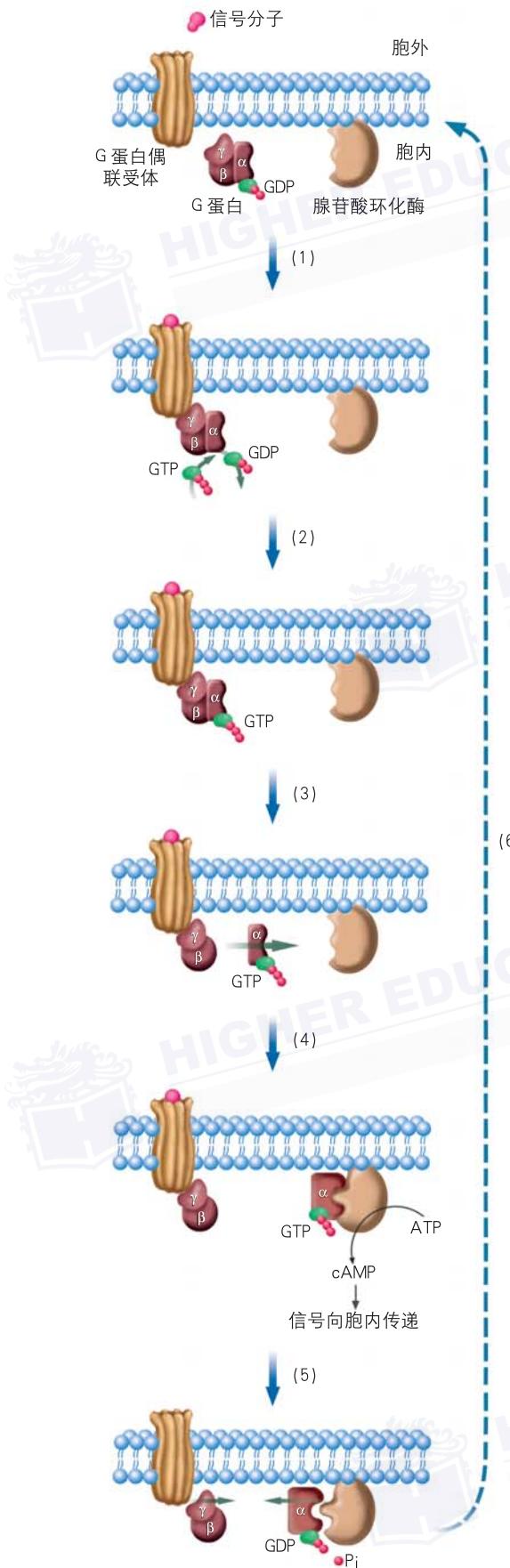


图 6-20 在 G 蛋白偶联受体介导的信号转导系统中 G 蛋白的活化过程和 cAMP 的产生 图中箭头右侧括号中的数字代表 6 步变化：(1) G 蛋白偶联受体接受胞外信号后与 G 蛋白结合。(2) G 蛋白上的 GDP 被 GTP 替换。(3) 与 GTP 连接的 α 亚基脱离 G 蛋白。(4) α 亚基与膜内侧的腺苷酸环化酶结合使之被激活，后者催化 ATP 产生 cAMP，cAMP 将信号传入胞内。(5) α 亚基上的 GTP 被水解脱去一个磷酸变成 GDP，接着与腺苷酸环化酶结合的 α 亚基和与 G 蛋白偶联受体结合的 β 和 γ 都脱离各自结合的蛋白相向移动接近。(6) 三个亚基结合成的异三聚体 G 蛋白又游离在膜内侧，回复到第一步变化前的状态。

号转导系统的**第一信使** (first messenger), cAMP 和 Ca^{2+} 是细胞信号转导系统的**第二信使** (second messenger)。

让我们以肝细胞对肾上腺素 (epinephrine) 信号应答促使糖原分解和调节糖代谢为例，了解激素信号与靶细胞受体结合到最终发生细胞应答反应的细胞信号转导全过程。作为第一信使的激素在血液中的含量虽然极低，但通过细胞的信号传导途径，微弱的化学信号可以被逐级放大。科学家通过对肾上腺素作用于肝细胞和肌细胞的机制的研究发现，个别肾上腺素分子与肝细胞质膜上的受体结合后，立刻大大增加了细胞中 cAMP 的浓度。cAMP 使得一种 cAMP 依赖性蛋白激酶 A (protein kinase A, 缩写 PKA) 活化，活化的 PKA 又诱导活化了一种磷酸化激酶，后者再激活糖原磷酸化酶。在活化的糖原磷酸化酶的作用下，肝细胞中的糖原被分解，释放出葡萄糖分子。cAMP 可以同时作用于两种蛋白激酶，一方面促进糖原的分解，另一方面又抑制葡萄糖合成为糖原，这两方面的效应增加了肝细胞及血液中葡萄糖的水平。这就是当我们面临危险或处于紧急状态时，神经系统调节分泌肾上腺素，促进血糖水平上升的原因。后来的定量研究证实，一分子肾上腺素与单个靶细胞受体结合后，可以活化多个 G 蛋白分子，而每一分子 G 蛋白都可以激活一分子腺苷酸环化酶；虽然每两分子 cAMP 可激活一分子蛋白激酶，但是每一分子活化的蛋白激酶却可以同时激活许多分子的糖原磷酸化酶，每一分子的糖原磷酸化酶作用于糖原后立即产生出更多的葡萄糖分子。通过上述一系列逐级放大反应，单个肾上腺素分子便可导致成千上万个葡萄糖的产生。从某种意义上讲，细胞的信号转导途径也就具有放大器的效果。另一重要方面，作用于靶细胞表面的水溶性激素通过细胞的信号转导途径形成 cAMP 后，cAMP 借助于 PKA 的活化，形成了有活性的 cAMP 应答元件结合蛋白 (cAMP response element binding protein, CREB)，CREB 作为基因表达的调控因子，作用于细胞核

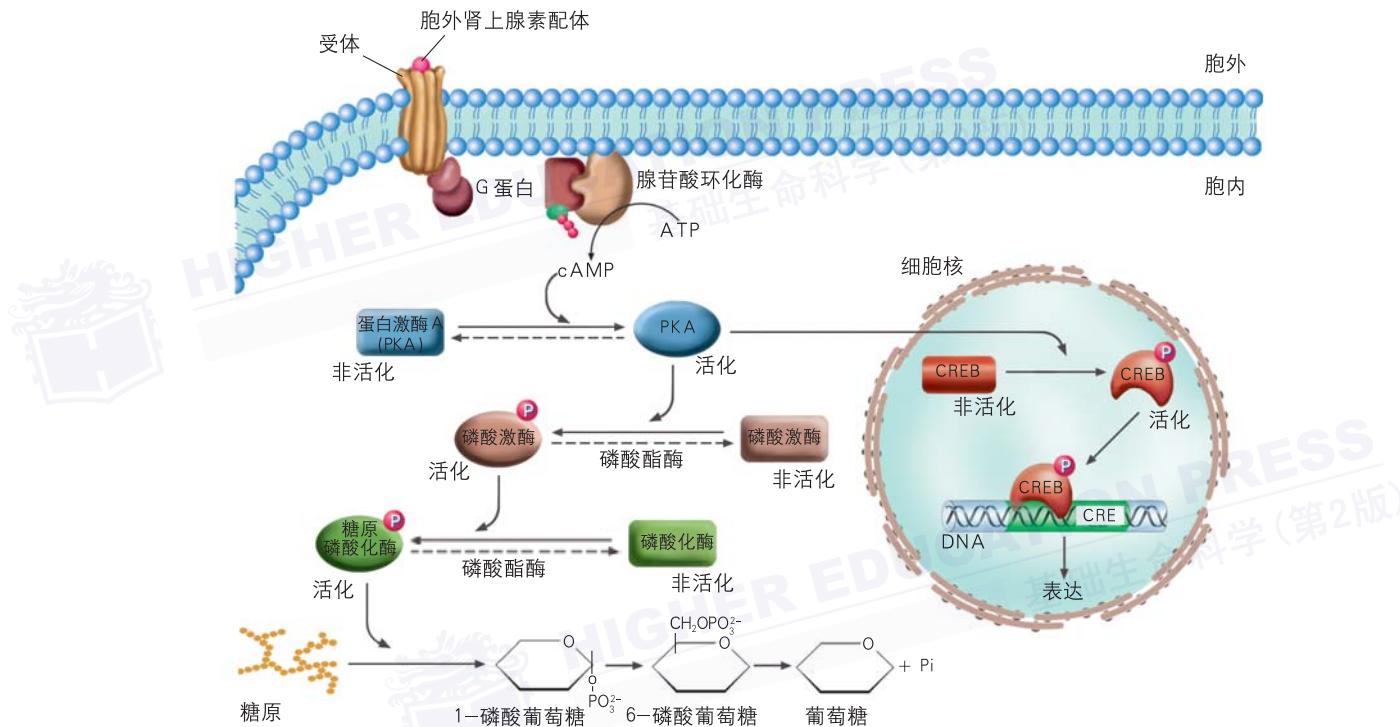


图 6-21 肝细胞对肾上腺素刺激产生应答的信号转导过程 胞外肾上腺素配体与肝细胞表面受体结合，刺激 cAMP 产生，cAMP 作为胞内第二信使，一方面通过级联的磷酸化和去磷酸化作用将信号传递到靶蛋白磷酸化酶，使之活化，促进了糖原的分解。另一方面，通过活化的 PKA 进入核内调节靶基因的表达，即形成了有活性的 cAMP 应答元件结合蛋白（CREB）并作用于细胞核内的靶基因的 cAMP 应答元件（CRE），启动了靶基因的转录和翻译，表达出蛋白质（酶）进而催化相关的糖原代谢反应。除此以外，活化的 PKA 还可以调节糖原合成的代谢（图中未显示）。

内靶基因的 cAMP 应答元件 (cAMP response element, CRE)，启动了靶基因的转录，生成新的特异性 mRNA。这些 mRNA 再转移到细胞质中指导蛋白质的翻译，新合成的蛋白质发挥酶的催化作用来调节有关代谢反应，最终也体现了对微量激素信号作用的应答 (图 6-21)。

前面已经学过，细胞凋亡是发育过程中细胞对内外刺激应答产生的程序性死亡过程，细胞凋亡的每一步都受到多种细胞信号的调控。科学家发现，在离子辐射、温度升高、病毒感染或有毒药剂等不利环境中，被激活的巨噬细胞可以产生的一种蛋白称为肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)，TNF 可以作为第一信使，与哺乳动物细胞表面一种称为 TNFR1 的跨膜受体蛋白结合。TNFR1 是介导细胞凋亡的 TNF 受体超家族成员。TNF 与 TNFR1 结合后，受体构象发生改变并聚合成为三聚体，每一个 TNF 受体亚基在其膜内侧的胞质部分都成为一个由约 70 个氨基酸组成的“死亡结构域”，它又能与 TRADD (TNFR1-associated death domain protein) 和 FADD (Fas-associated death domain protein) 这两种胞质接头

蛋白通过同源的死亡结构域相互作用，导致后者的构象发生变化，促使 FADD 的死亡因子结构域与无活性的 Caspase-8 前体 (酶原) 上同源的死亡因子结构域相互作用，导致 Caspase-8 前体的半胱氨酸残基被特异性剪切，再经过装配形成含有 4 段多肽链的活化 Caspase-8。接着，上游的 Caspase 依次激活下游 Caspase，通过级联反应，将凋亡信号逐级传至凋亡底物，最终导致细胞凋亡的发生 (图 6-22)。值得提出的是，TNF 与细胞表面受体 TNFR1 结合不但可诱导细胞凋亡途径，还能活化其他细胞信号转导途径。另外，科学家还发现了另一条以线粒体为核心的细胞凋亡途径，即胞外的死亡信号通过 Bcl-2 蛋白家族成员的介导促使线粒体向胞质释放细胞色素 c，在 dATP 的参与下细胞色素 c 再与胞质因子 Apaf-1 结合，诱导相关 Caspase 蛋白的活化，启动细胞的凋亡。

协调多细胞有机体代谢、生长和发育过程的信号转导途径多种多样，多细胞生物的信号转导系统是一个完整、精细和相互协调的网络，其相关内容非常丰富，进一步学习可以阅读有关细胞信号转导的专著。

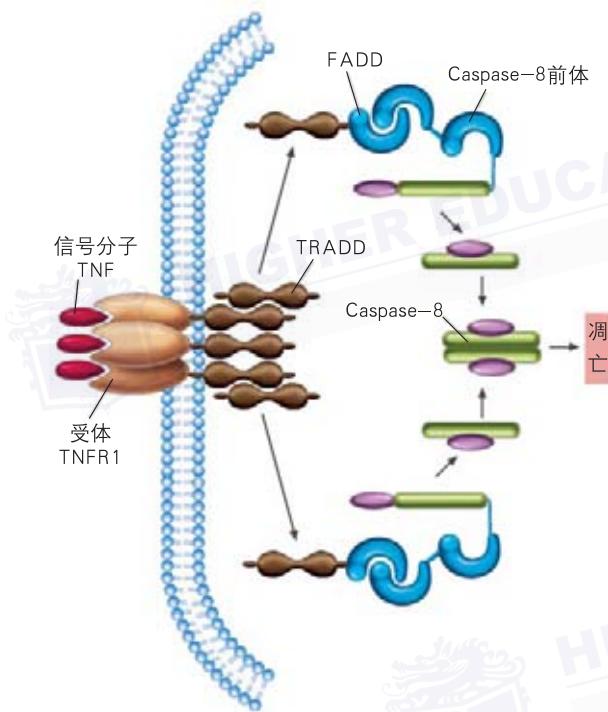


图 6-22 膜蛋白受体介导细胞凋亡的信号转导途径简示图 信号分子 TNF 通过与细胞膜上相应受体 TNFR1 结合，激活的受体与 TRADD 和 FADD 胞质接头蛋白相互作用，使无活性的 Caspase-8 前体（酶原）被切割并组装成活性显著增高的 Caspase-8，后者激活 Caspase-3 及基本的凋亡程序。

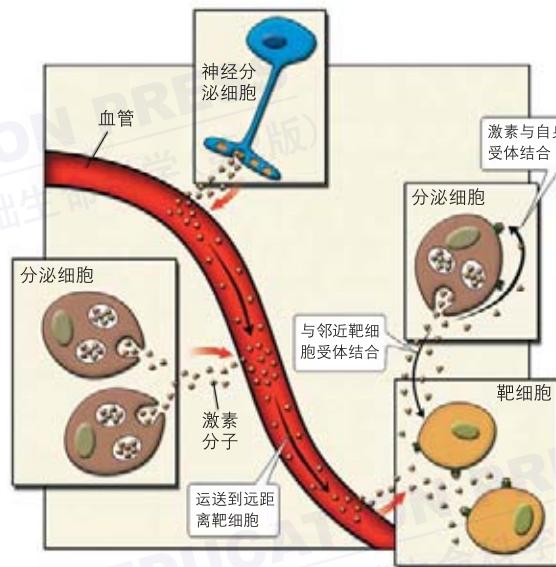


图 6-23 激素信号系统 激素信号对发育的控制一般通过两套系统来完成，一套是分泌细胞（腺细胞）通过分泌激素直接对靶细胞产生作用；另一套是神经分泌细胞通过合成和分泌激素，传递神经信号，对远距离靶细胞产生作用。

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。

研究发现，在腔肠动物和扁形动物体内已经有了激素活动的迹象，在其他较高等的无脊椎动物中普遍存在着多种激素。例如，幼龄环节动物沙蚕的脑神经节能分泌促进沙蚕生长及再生的激素和抑制性发育的激素。一些软体动物和节肢动物能分泌促进色素细胞变化的激素。在无脊椎动物中，研究较多的是控制鳞翅目昆虫发育过程的一些激素。家蚕由幼虫成蛹再发育为成虫（蚕蛾）的过程中要经历多次蜕皮和变态，昆虫体内脑神经分泌细胞分泌的脑激素（brain hormone）、前胸腺（prothoracic gland）分泌的蜕皮激素（ecdysone）和咽侧体（corpora allata）分泌的保幼激素（juvenile hormone）共同调节控制着家蚕由幼虫变成蛹、再发育为成虫的主要过程。首先，由家蚕的脑神经分泌细胞分泌出脑激素（又称促胸腺激素，贮存于由脑延伸成的心侧体中），该激素刺激家蚕前胸腺分泌蜕皮激素，蜕皮激素可促进幼虫多次蜕皮发育。与此同时，咽侧体也分泌保幼激素，保幼激素具有控制和维持幼虫阶段，使之不发育为成虫的作用。只

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（target cell），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，这种反应可以表现为动物细胞开始分化，生理上发生某种变化或者产生出某种行为。动物激素是分泌到动物体内环境系统中的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，通过血液的运输到达全身各组织器官，但每种激素只能作用于各自特定的靶细胞、组织或器官。由于很微量的激素分子便能对多种酶进行诱导或激活，因此，尽管人和动物体内激素的含量非常少，却能控制和调节很多靶细胞的代谢活动。另外，神经分泌细胞（neurosecretory cell）也可以制造和分泌激素，通过血液运输作用于相应的靶器官或靶细胞。与腺细胞分泌激素有所不同，神经元通过传递神经信号，在其末端产生神经递质分子，神经递质再与靶分子结合，作用于靶神经细胞，最终使机体作出反应（图 6-23）。因此，动

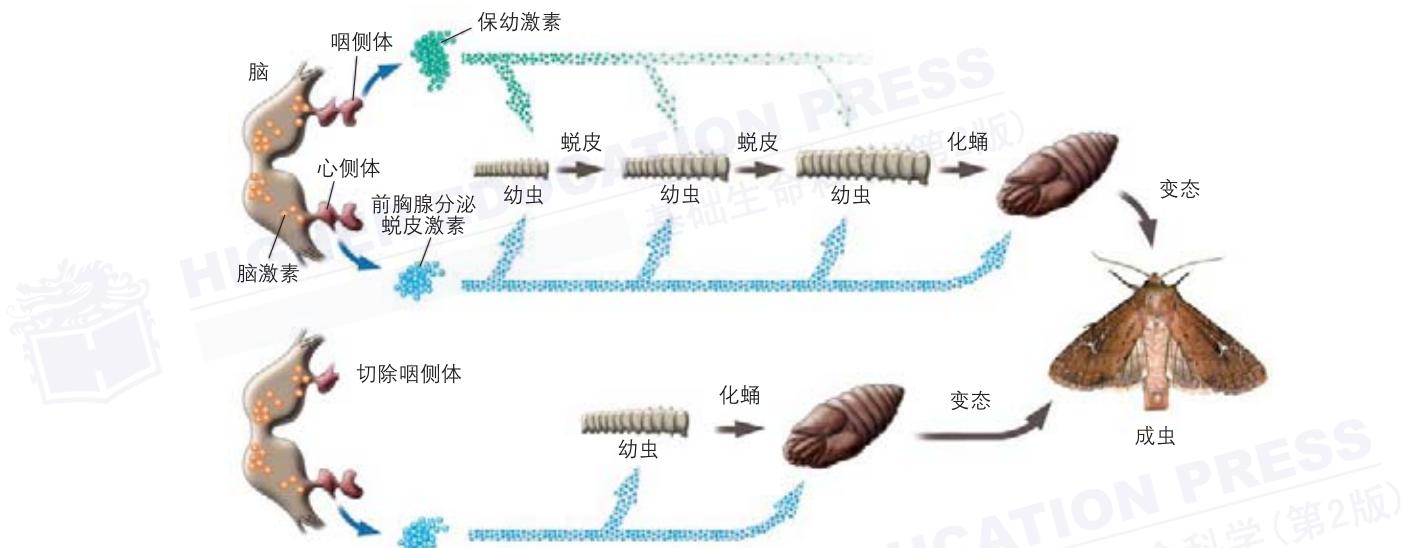


图 6-24 家蚕多次蜕皮和变态的发育过程受三种激素的调节控制 家蚕体内脑神经细胞、前胸腺和咽侧体分别分泌脑激素、蜕皮激素和保幼激素等，协调控制家蚕的蜕皮与变态。细节见正文。

有在保幼激素浓度降低后，在蜕皮激素的作用下，幼虫才能成为蛹；在体内完全缺乏保幼激素的情况下，蜕皮激素能进一步促进蛹变态为成虫。一位英国剑桥大学的生理学家曾设计和进行了这样的实验，在幼虫发育的早期阶段，他摘除了其体内的咽侧体，结果，由于体内缺乏咽侧体分泌的保幼激素，早期发育的幼虫不再经过多次蜕皮便立即变态发育为蛹和成虫（图 6-24）。在另一个实验中，他先从一个处于早期发育阶段的幼虫体内摘除其咽侧体，然后将这个咽侧体植入经过多次蜕皮到发育后期的另一个幼虫的体内，结果，接受了新咽侧体的幼虫由于体内仍然含有保幼激素，便不再立即变态为蛹和成虫。这些操作延长了幼虫的发育阶段。上述研究揭示了昆虫脑激素、蜕皮激素和保幼激素三者相互制约、共同调节昆虫变态发育的过程。

植物细胞的信号转导和动物细胞的信号转导一样，对于植物的代谢、生长、发育具有非常重要的作用。例如，植物的脱落酸通过细胞转导途径使叶片气孔在几分钟内关闭，原因在于激素的刺激诱导了保卫细胞中 K^+ 的流失。植物生长素诱导细胞壁的酸化导致细胞的伸长也是细胞信号转导途径所介导的结果。首先，生长素与细胞膜上特殊的受体蛋白结合，使第二信使激活，浓度增加；它一方面导致质子泵活化，向细胞壁输出 H^+ ，细胞壁的酸化使细胞壁成分松散，有利于细胞的伸长；另一方面，高尔基体被刺激分泌更多的小泡和细胞壁生成的

相关成分，保证了细胞壁伸长和维持了细胞壁的厚度；同时，信号转导途径还活化了 DNA 结合蛋白，诱导启动了特殊基因的转录和翻译，表达出了细胞生长所需要的蛋白。

细胞信号转导途径作为生命科学最活跃的领域之一，其每一步重要进展都有助于揭示重要的生命现象。同时，植物的信号转导研究在农业方面及动物的信号转导研究在医药等方面都显示出了良好的应用前景。

第三节 几种发育模式生物的特征

检索近十几年来发育生物学领域所取得的一系列最重要研究成果可以发现，它们的研究对象几乎都集中在线虫、果蝇、斑马鱼、小鼠、拟南芥等少数的几种生物上。由于一些特殊的优点，这几种生物已成为发育生物学研究的主要模式生物。利用模式生物开展发育机制的研究具有便捷、高效、深入、系统和有利于成果的延展与应用等优势。因此，这些模式生物的基本特征应该成为现代生命科学必不可少的学习内容。

一、线虫

作为发育生物学研究模式生物的一种线虫，称为华美广杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*, 以下简称线虫)，它在分类学上归于线形动物门 (Nematheleminthes)、线

虫纲(Nematoda)、小杆线虫目(Rhabditida)、广杆线虫属(Caenorhabditis)。体长为1mm，呈两端尖、两侧对称的粗线状。具三胚层、原体腔。消化系统管状，前端有口，后端有肛门。经体表进行气体交换，无专门呼吸器官。无专门的循环系统，以原体腔液为介质在细胞组织中进行代谢物质的运输和交换。排泄系统为纵行的排泄管。神经系统简单，以神经环为中枢向前后各伸出6条神经，通过体壁的肌肉收缩进行运动。线虫以雌雄同体为主，即每条线虫同时含有精子和卵细胞，体内受精，在生殖腺管内发育成胚胎。线虫的基本发育过程包括受精卵、胚胎、幼虫和成虫等阶段。成体线虫自由生活于土壤中。

线虫体小透明，便于观察体内单个细胞的分裂和分化过程，可追踪发育进程得知成体的各部分器官是如何从受精卵分裂分化而来的。例如，观察发现，一些外表皮组织是受精卵分裂8轮后一部分分化的细胞组成的，而完成另一些外表皮组织的分化形成过程则需要14轮的细胞分裂。形成线虫进食器官——咽道的细胞从受精卵第一

次分裂开始经历了9~11轮的细胞分裂，而生殖腺的发育则需要长达17轮的细胞分裂分化过程。线虫有1090个前体细胞，其中131个细胞出生后的几分钟内便发生了凋亡，因此雌雄同体的成年个体共含有959个体细胞，其中有302个神经细胞构成了线虫的神经系统，这些神经细胞数是407个前体神经细胞中105个发生了凋亡后的数目。

由于线虫身体是透明的，很容易观察到细胞分裂分化产生各种组织的过程。科学家根据对线虫细胞分裂和个体发育的观察结果，精确地绘制了线虫发育的细胞谱系。在简略的细胞谱系中，每一轮细胞分裂后，继续可以向产生生殖细胞方向分裂的细胞，即延续其种系的细胞称为**种系**(germ line)细胞，发育命运已经确定为体细胞并决定了其分化方向(即预定将分化成哪一类组织)的细胞为**生成细胞**(founder cell)。该谱系反映了细胞命运确定的时间、预定组织器官类型及总体细胞数。在图6-25中，如果用不同的色块覆盖代表一群同种组织或器官的文字，并与另外绘制的线虫形态图解中相应组织或

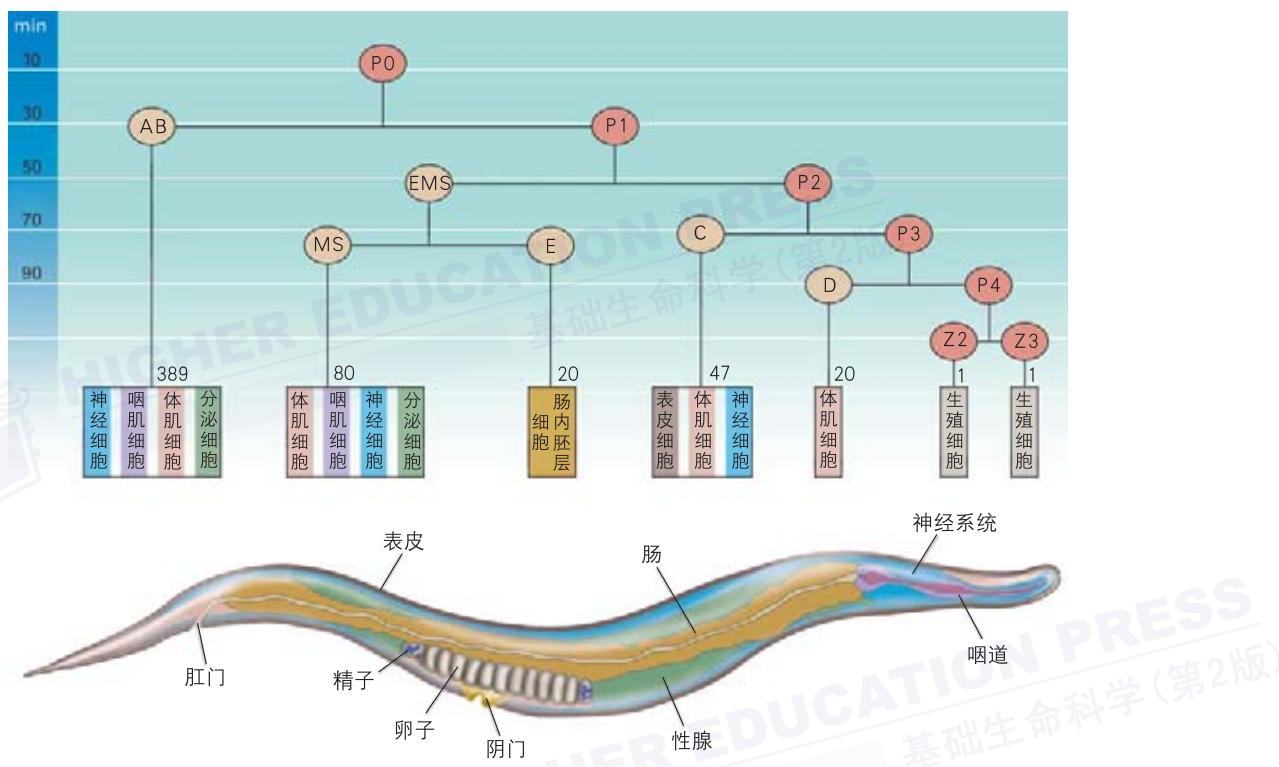


图 6-25 线虫的细胞分化谱系和对应的线虫形态图解 线虫发育过程中，种系细胞包括在细胞分裂分化的路线图(上图)中从受精卵到原始的生殖细胞走向上的所有细胞，分别以P₀, P₁, P₂, P₃, P₄命名，它们都被赋予了传代即延续种系的任务。在细胞分裂分化的路线图上的其他新产生的细胞(体细胞)都将分化组成不同的组织，AB, EMS, MS, E, C, D分别代表不同分化方向的生成细胞。图中色块的不同颜色代表了不同的组织或器官，并与线虫雌雄同体个体的形态图解(下图)中相应组织或器官的颜色对应一致。

器官的颜色一一对应，便可获得简略的线虫细胞分化路线图和对应的线虫发育图解。另外，跟踪观察从受精卵开始的每一次细胞分裂，用同一水平的横线代表每一轮细胞分裂，以竖直线长度代表每一轮细胞分裂之间相对的时间长度，分叉末端的竖直线代表完全分化并构成了相应组织的细胞，再用不同的色块覆盖一群同种组织或器官细胞的代表文字，便可获得更详细的线虫细胞分化路线图。它可以显示线虫各种组织和器官的细胞来源、数目、细胞分裂的次数、细胞分化的时间和彼此间的相互关系（图 6-25）。

华美广杆线虫作为发育研究的模式生物主要有以下优点：①生物个体体小透明，便于跟踪观察细胞的分裂和分化过程；②生命周期短，一般为 3~4 天，胚胎发育速度快；③可用培养皿进行实验室内的培养和筛选，可冷冻保存和常温下复苏；④有雌雄同体和雄性个体两类生物型，它们之间的交配增加了基因重组的机会；⑤它是第一个基因组被完整测序的多细胞动物；⑥便于构建多种突变体。

二、果蝇

从 20 世纪初到现在约 100 年的时间里，果蝇（*Drosophila melanogaster*）就一直是遗传学研究的重要材料。说起遗传学，人们都会想到摩尔根、果蝇、染色体、基因等。在现代生命科学的前沿领域，特别在生物发育机制的研究中，果蝇也发挥了不可替代的重要作用。本书图 6-14, 15, 16 显示的成果仅是以果蝇为研究对象在生

物发育机制研究方面无数重要成就的代表。在过去十多年中，科学家们从细胞生物学和分子生物学角度对果蝇发育的模式和基因控制过程等有了更完整和更深刻的理解。因此，有人将果蝇称为遗传学和发育生物学领域的王中王。

果蝇在分类学上归于节肢动物门（Arthropoda）、昆虫纲（Insecta）、双翅目（Diptera）、果蝇科（Drosophilidae）、果蝇属（*Drosophila*）。果蝇身体分头、胸、腹三部分，外表上可包括 14 个体节。头部附肢特化成触角和口器，复眼大，呈红色。胸部包括 3 个体节，中胸节着生一对前翅，前、中、后每对胸节上附生一对足，成年个体共有三对步行足。果蝇的腹部由 8 个体节组成，为营养和生殖区。果蝇雌雄异体，体内受精。雌性成虫产出的受精卵只需要 1 天便可完成胚胎发育即孵化出幼虫。以后一龄幼虫经过 2 次蜕皮的二龄幼虫和三龄幼虫阶段形成蛹，这一过程需要 5~6 天时间。蛹再经过大约 2~3 天的变态期孵出成虫。成年果蝇体长 2~3 mm，在自然界以腐烂的果实为食，成虫存活期一般为 7~9 天（图 6-26）。

在果蝇幼虫发育的变态期，在胚胎发生完成以后及幼虫发育到成虫前，一些扁平的盘状前体细胞群组成了未分化的成对结构分布在幼虫内腔中，由于这些盘状的前体细胞群决定了以后成虫器官的结构，因此被称为成虫盘（imaginal disc）。占据着幼虫体腔特定部位的成虫盘分别发育成果蝇的翅、足、眼等等（图 6-27）。研究证明，由成虫盘等前体细胞发育为成体器官结构受到遗传基因的严格控制，迄今为止已经有 50 个决定果蝇成虫结

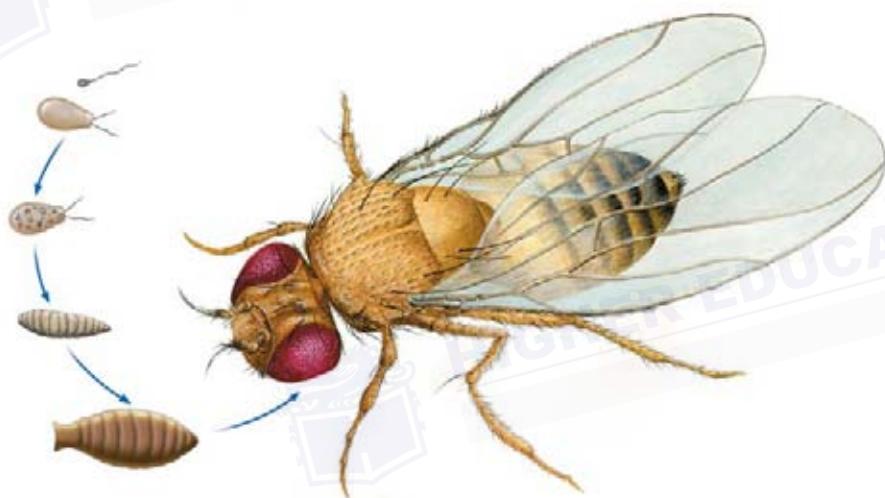


图 6-26 果蝇发育的不同阶段 果蝇具有简短的生命周期，气温 25℃ 条件下，整个生命周期约为 2~3 周。其中胚胎发生只需 1 天，幼虫 2 次蜕皮成蛹约需 5 天，然后变态、孵化到成虫生长共持续约 9 天。

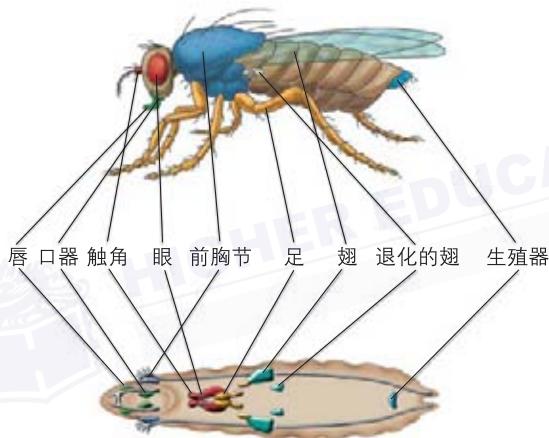


图 6-27 幼虫体腔内的各对成虫盘相应发育为成虫的不同器官结构

构与功能的成虫盘基因被鉴定。这些基因的突变能够改变果蝇的形态和功能特征。决定果蝇发育最重要的基因包括影响身体分节和个体模式形成的基因，如 *bicoid* 基因、间隙基因、配对法则基因、体节级化基因和多种同源异形基因等等。果蝇的基因组为 180 Mb，其中约为 120 Mb 富含编码基因的常染色质部分已经被完全测序，已知果蝇基因组有 13 600 个基因。

一个世纪以来，果蝇一直是遗传学研究最重要的对象，果蝇遗传学研究的优势如染色体的基因定位、分子标记、众多的突变体和表型特征以及许多成熟的遗传学分析和基因操作技术等也为揭示果蝇发育的分子机制提供了机会。果蝇基因的分子克隆和功能分析在分子水平上勾绘生物体的发育过程提供了可能。而果蝇中与发育相关的基因及其功能与哺乳动物特别是人类在许多方面是相同的，最早在果蝇和哺乳动物中都发现的同源异形基因就是一个最典型的例子。分子进化的保守性使得它们具有一些相同或类似的结构蛋白、转录因子、调控目标、离子通道、信号转导途径等等，果蝇与哺乳动物间分子进化的保守性必然体现在发育、生理、对药物的反应等诸多方面。最新的研究显示，果蝇与哺乳动物在体节、附肢、心脏、眼、神经系统等的发育上也是高度保守的。因此，果蝇作为发育的模式生物具有更好的延展性和应用前景。

果蝇为基因学说的创立和发育生物学分子基础的确定作出了不可替代的贡献，它之所以被遗传学家和发育生物学家所垂青，在于果蝇作为模式生物的突出优点：①个体小，生命周期短，易于大量培养和进行突

变体的筛选；②胚胎发育速度快，同时易于观察卵裂、早期胚胎发生、躯体模式形成和各器官结构的变化；③易于进行基因诱变并获得变化的表型特征，具有各种大量的突变体；④仅有 4 对染色体，组成简单。基因组测序已于 2000 年基本完成；⑤卵子和幼虫变态期成虫盘等都是研究细胞分化的绝佳材料；⑥相对于哺乳动物而言，果蝇在基因的分子进化，细胞的生长、代谢、分化、繁殖和器官发生等方面具有保守性，其研究成果不但对于揭示自身的发育生物学机制具有重要的意义，对于探讨其他生物的遗传发育规律也具有重要的指导价值。

三、斑马鱼

线虫和果蝇都属于无脊椎动物。在脊椎动物中，斑马鱼 (*Danio rerio*) 属于易于同时结合胚胎学和遗传学方法跟踪研究其发育过程和机制的模式生物。20 世纪 70 年代，美国俄勒冈大学的 George Streisinger 教授首先以斑马鱼为对象开展遗传与发育的研究并建立了相关的研究技术，他的研究成果在发育生物学领域引起高度关注和反应，许多科学家也加入到对斑马鱼发育生物学问题的研究中来。后来，对果蝇发育研究取得突出成就的诺贝尔奖获得者、德国科学家 Christiane Nusslein-Volhard 对斑马鱼开展饱和诱变（即足量诱变剂处理）研究，获得了首批发育突变体，在脊椎动物中确立了斑马鱼作为重要发育模式生物的地位。

斑马鱼为小型热带鱼类，因体表有类似斑马的条纹而得名，属脊索动物门 (Chordata)、脊椎动物亚门 (Vertebrata)、硬骨鱼纲 (Osteichthyes)、鲤科 (Cyprinidae)、短担尼属 (*Danio*)。成年斑马鱼体长 4 cm 左右，生活周期为 12 周，养殖花费少，能大规模繁育（图 6-28）。成熟的雌鱼一次可产数百粒卵，体外受精，体外发育，胚胎发育速度快。卵和发育的胚胎完全透明，便于观察每一个细胞的发育命运。斑马鱼卵子大，比一般哺乳动物卵子大 10 倍左右，受精卵分裂及胚囊发育集中在动物极一端，随着细胞分裂和细胞层向植物极外包，在胚胎期，卵黄的上半部分被胚盘覆盖；随后发生原肠作用，背部细胞内卷，两侧和腹部细胞向背部中线及动物极方向迁移，同时外包继续，到尾芽期时完成三个胚层的形成，卵黄全部被细胞包裹，之后开始器官形成（图 6-29）。

作为重要的模式生物，仅仅便于跟踪观察胚胎发

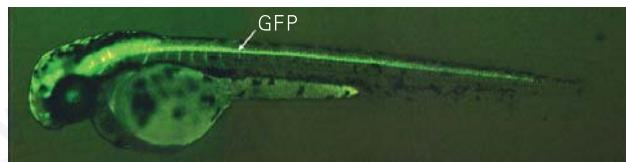


图 6-28 实验室内大量养殖的斑马鱼



图 6-29 斑马鱼的生活史 斑马鱼胚胎发育迅速, 从受精卵开始到幼鱼孵出仅需 2~3 天。

育和细胞分化的命运还是不够的, 它还需要具有分子遗传学研究的优势, 科学家才能从本质上揭示该生命个体发育的机制, 认识生物发育过程中的基因调控规律。而斑马鱼恰恰满足了这方面的需要, 它能像果蝇一样通过诱变剂(如乙基亚硝基脲)的处理, 获得大量的各类突变体。对筛选出的表型异常突变体进行变异基因的分析并做克隆、表达等分子生物学研究, 就可以发现相关基因对发育过程的控制作用。除了饱和诱变外,

图 6-30 转基因斑马鱼 利用 *gata-2* 神经特异性增强子和 *Gfp* 基因制备的转基因斑马鱼胚胎在受精后 48 h 时 GFP(绿色荧光蛋白)表达, 中枢神经系统在紫外光下绿色的荧光清晰可见。(本图片由清华大学孟安明教授惠赠。)

科学家还建立了斑马鱼的基因转移技术。例如, 利用斑马鱼 *gata-2* 基因的神经特异性增强子和绿色荧光蛋白基因构建转基因斑马鱼, 能够在胚胎的中枢神经系统中特异性表达绿色荧光蛋白, 它可以用于适时动态观察神经系统的发育并研究有关基因对神经系统发育的影响(图 6-30)。

总之, 作为发育模式生物, 斑马鱼的主要优点包括:

- ①容易在实验室养殖, 繁殖力高, 一条雌鱼一次可产数百粒卵, 可持续提供大量胚胎材料供分析研究之用。
- ②卵和胚胎透明, 体外受精, 体外发育, 便于在不受损害的情况下进行连续跟踪观察。
- ③卵子比一般哺乳动物卵子大 10 倍, 外源物质包括外源基因可以通过显微注射引入到胚胎中。
- ④胚胎发育速度快, 24 h 便可完成从受精卵到形成主要组织器官的发育过程, 幼鱼发育到性成熟期约需 3~4 个月。
- ⑤成体斑马鱼个体小, 便于大规模养殖和大规模人工诱变和突变体的筛选。
- ⑥胚胎学和遗传学操作技术成熟先进。
- ⑦基因组全系列测定已经完成。
- ⑧可用来建立筛选治疗人类疾病药物的模型, 用于化学物品的毒理学研究等。

四、小鼠

哺乳动物均为胎生(vivipary), 胚胎在母体子宫内发育时接受来自母体充足的营养, 因此不易于跟踪观察胚胎发育的全部过程。尽管如此, 由于人类属于哺乳动物, 为了深入了解人类的发育机理和促进医学进步, 必须建立来源于哺乳动物的发育模式生物。在医学科研中, 长期以来小鼠就是理想的实验动物模型(图 6-31), 它能够在室内快速地大量繁殖而不受季节的影响。随着现代分子生物学技术和细胞生物学技术在小鼠上的成功应用, 小鼠现已成为发育生物学的模式生物。

小鼠(*Mus musculus*)属脊索动物门、脊椎动物亚



图 6-31 实验用小鼠 实验动物房人工养殖的小鼠繁殖时，每窝可产出 8~12 只幼鼠，每年产仔可多达 8 次。按照遗传学规定的标准，实验小鼠可划分为远交群、近交系和同源基因导入系等。在研究机构，实验小鼠的饲养具有非常严格的生态环境标准，饲养高等级的无菌小鼠需要装备先进的动物房，还需要有专业的实验技术人员进行极为严格的管理。

门、哺乳纲 (*Mammalia*)、鼠科 (*Muridae*)、鼠属 (*Mus*)。小鼠出生后 6 周达到性成熟，雌鼠约每 4 天排卵一次。小鼠卵细胞在输卵管内受精 18 h 后发生第一次卵裂，直至 8 细胞期的卵裂球仍具有全能性。这时如果把 8 个细胞相互分离，每一个细胞都可以发育产生遗传背景相同的小鼠。受精后 4 天半，包括早期胚胎的胚泡便植入母鼠的子宫壁。在第 7 天的时候，开始进行原肠化和器官发生。期间胚胎经历翻转变化，这一阶段大约需要 3~4 天时间。然后再经过 6 天在羊水中完成胚胎阶段的发育。小鼠从受精到胎儿产出约需 19 天时间。

科学家用白色皮毛小鼠的 8 细胞期囊胚和黑色皮毛小鼠的 8 细胞期囊胚去透明带后进行融合，融合后的囊胚植入准备受孕的母鼠子宫内继续发育，最后产出有两对父母的一只小鼠，它具有黑白镶嵌的皮毛，这样的动物称为嵌合体 (chimeras) (图 6-32)。

本章第二节已经介绍，控制多种动物前后各体节形态模式的主导基因是一系列同源异形基因。许多无脊椎动物和脊椎动物也都具有这样的同源盒序列。图 6-33 比较了哺乳动物代表种——小鼠和无脊椎动物代表种——果蝇的同源异形基因，它们在染色体上的分布和对各自体节形态的对应控制非常类似，反映了同源异形基因上同源盒序列的保守性。除了对小鼠发育的一些主导基因的研究取得了重要进展，科学家在转基因小鼠的构建方面也产生了令人兴奋的新成果。所谓转基因小鼠，就是

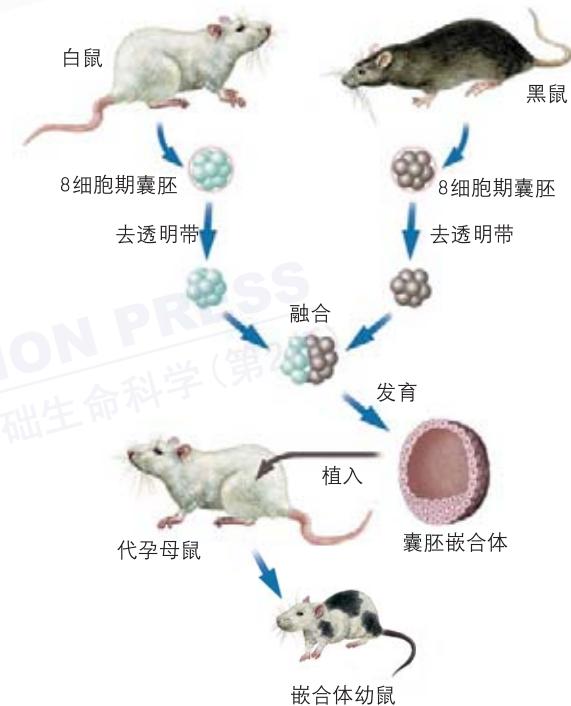


图 6-32 形成嵌合体小鼠的胚胎融合实验 将黑、白小鼠的 8 细胞期囊胚分别用酶除去透明带后进行融合，再植入另外一只代孕母鼠的子宫内，让其继续发育直至产出幼鼠。产出的幼鼠是有 4 个父母的嵌合体，皮毛黑白相间。

通过向受精卵或小鼠早期囊胚的细胞核中导入克隆的外源基因，该基因与启动子的 DNA 片段相连接，在受体细胞中控制表达。以后，这个被改造的受精卵或囊胚被移

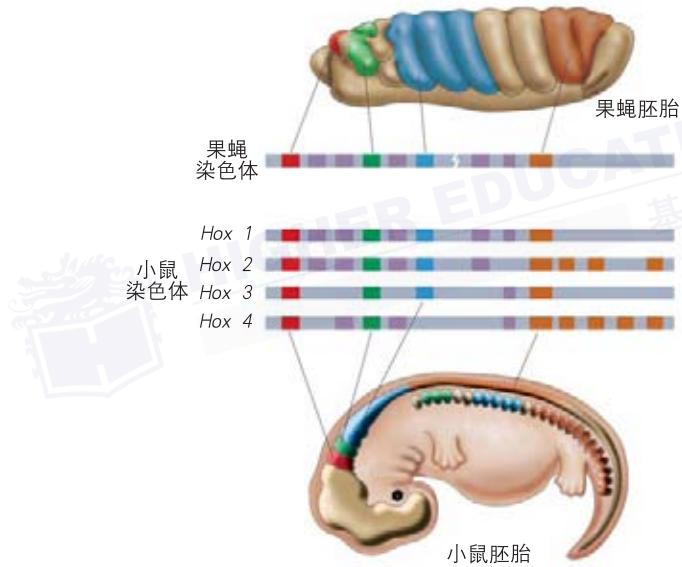


图 6-33 小鼠和果蝇同源异形基因在染色体上的分布及其对体节发育相应部位的控制 图的上半部分显示分布在果蝇 1 条染色体上的 *HOM* 基因(同源异形基因)及其对果蝇体节发育相应部位的控制。图的下半部分显示分布在小鼠 4 条染色体上的 *Hox* 基因(同源异形基因)及其对小鼠体节发育相应部位的控制。图中不同基因片段用不同颜色表示，并与它们所表达控制的相应体节颜色相一致。

植到代孕母鼠的子宫内继续发育，产生的后代(F_1 代)对于该基因是杂合子。 F_1 代的反复相互交配可能产生该外源基因的纯合体，这个外源基因就成为个体基因组的一部分，成为永久携带这个基因的转基因小鼠。目前，科学家已经可以把许多不同的外源基因包括与人的器官发育或重要疾病相关的基因转入小鼠中。科学家还利用对小鼠原有基因敲除(gene knockout)的技术来研究这些基因在发育过程中的作用。通过将感兴趣的小鼠DNA调控序列与一些表达报告蛋白的外源基因构建在一起产生转基因小鼠，由于这些外源基因表达的报告蛋白便于检测，如绿色荧光蛋白可在紫外光照射下显荧光，与特异性抗体结合的蛋白可发生免疫反应等等，跟踪分析外源报告基因表达的结果，便可以了解这些DNA在小鼠胚胎发育过程中的表达模式。

小鼠作为哺乳动物发育的模式生物归结于它的快速繁殖，长期以来作为医学研究的动物模型及其相关的实验操控技术成熟，嵌合体小鼠、转基因小鼠和克隆小鼠等许多研究成果已扩展到发育生物学领域。小鼠必将对人类发育机制的探究和人类重大疾病的治疗作出重要的贡献。

五、拟南芥

以上介绍的模式生物都属于动物界。虽然发育的研究以动物为多，但光合自养的植物在发育生物学中也具有重要的地位。开展植物发育的研究对于认识植物生长发育的规律和调控机制、提高经济作物的产量和质量等方面具有重要的意义和价值。虽然许多经济作物包括豌豆、玉米、水稻、大麦、小麦、烟草等等都是重要的研究材料和实验模型，但综合比较生长、发育和分子遗传学实验技术的优势来看，植物学家们更看重一种开花的草本植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)。自 1987 年在美国密歇根召开的第三次国际拟南芥大会以后，特别是近十年来，科学家以拟南芥为对象开展的分子生物学研究和发育生物学研究成果累累，拟南芥已成为公认的植物发育首选模式生物(图 6-34)。



图 6-34 拟南芥 20 多年前，植物学家就开始寻找理想的模式植物，最后对拟南芥情有独钟。拟南芥植株小，生活周期短，生长易于控制，遗传变异技术成熟，使其成为发育的模式植物。

拟南芥属被子植物中的双子叶植物纲 (Dicotyledoneae)、芥科 (Cruciferae, 也有人称之为十字花科)、芥属 (*Arabidopsis*)。拟南芥分布范围较广, 适应于不同地区和气候条件下生长, 与大多数被子植物相比, 其生命周期较短, 一般6周便可以完成一个生命周期。拟南芥的生命周期具有一年生开花植物的特征 (见图 6-7), 它经历了配子发生、双受精、胚胎形成、种子成熟、种子萌发、叶丛植株形成、主茎生长和成熟开花等阶段。成熟的拟南芥个体一般高 10~30 cm, 可以在温室中大批量地培养, 还可以在培养皿和三角瓶中进行生长。拟南芥的花小, 花的高度只有 2~4 mm, 总状花序, 花萼 4 枚, 花瓣 4 枚, 雄蕊 6 枚 (4 长 2 短), 2 心皮, 自花授粉, 也可人工异花授粉完成杂交实验。人工诱变后也可以在自交的子 2 代中直接筛选突变株的纯合子。

用化学方法和物理方法对拟南芥的种子和幼苗进行处理, 很快可以获得人工诱变的突变株。如用化学诱变剂乙基甲磺酸酯浸泡种子或用 X 光等照射, 可以改变拟南芥的表型特征, 产生一些特殊的形态突变株和化学突变株等。利用 DNA 体外重组及转基因技术向拟南芥导入外源目的基因的技术也非常成熟和方便, 与植物的生长、发育相关的突变株几乎都可以得到。过去的 20 多年内, 通过多种手段获得、积累并被鉴定的拟南芥突变株有几千种, 它们分别在配子体的发生, 胚的发育, 种子的形成, 根、茎、叶、花、果实的形态, 细胞的化学组成、代

谢途径、对环境信号的应答方面与野生型相比, 发生了明显可检测的变化。因此非常有利于进行发育和调控机制的分析。前面提到的利用各种突变体和花原基分生组织原位杂交技术对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 (见图 6-17)。另外有的转基因突变体出现不对称叶; 有的花瓣的颜色一半为白色, 另一半为黄色; 有的植株显著矮化等等。美国斯坦福大学的专家在突变诱导的研究中发现, 对经过诱导突变的拟南芥每天人为地触摸两次, 实验组植物体的高度比对照组 (未实施每天人为触摸的植物) 低 3~4 倍 (图 6-35a)。研究进一步揭示, 这种植物体生长发育的差异与 5 个特殊基因的诱导密切相关。对拟南芥植株实施物理上的接触后, 一种特殊的信号转导途径被激活, 该途径所涉及的一系列特殊蛋白质的结构变化和代谢反应最终引起细胞核内基因组的响应, 调控着拟南芥的生长和发育过程。另外, 耶鲁大学的专家在拟南芥中发现的称为 *cop9* 信号传导复合体是结构和功能缜密的细胞信号调节网络的一部分, 参与了拟南芥幼苗光调控的发育过程。*cop9* 是一种具有抑制拟南芥依赖于光的形态发生的信号传导体。黑暗中生长的野生型拟南芥幼苗下胚轴极度伸长, 顶端成弯钩状, 子叶不发达; 相反, 在光下生长的拟南

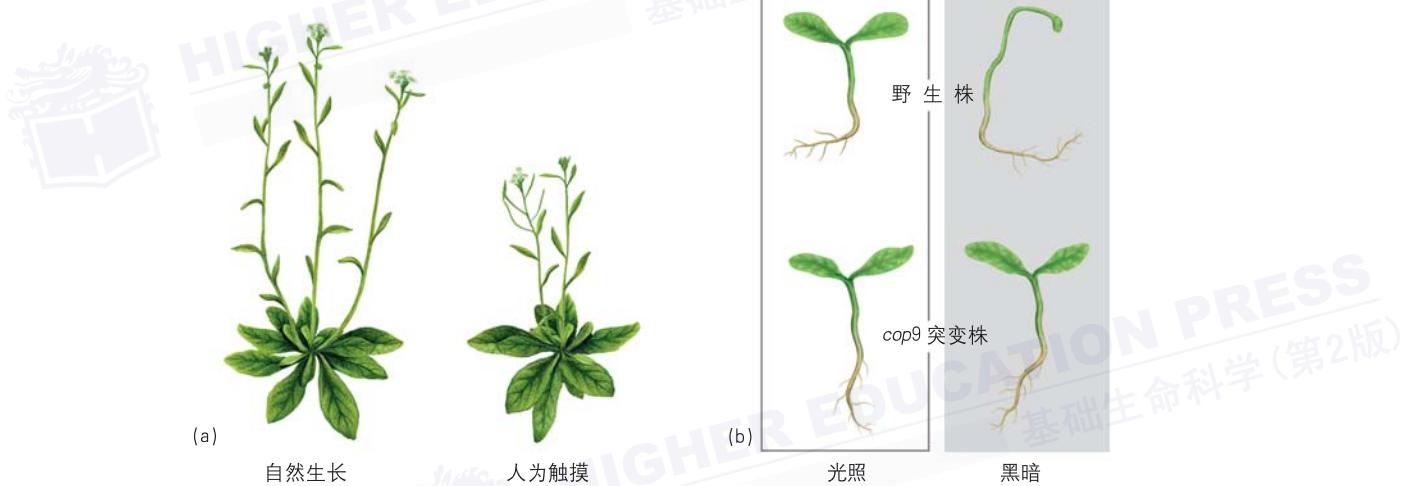


图 6-35 与基因突变相关的拟南芥两组实验 (a) 对经诱导突变的拟南芥植物的接触改变了基因的表达, 左图为未实施每天人为触摸的拟南芥 (对照组), 右图为实施每天人为触摸的拟南芥 (实验组)。(b) 野生型植株在光照条件与黑暗条件下的植株形态差别显著, *cop9* 突变株则没有显著差异。

芥幼苗下胚轴短，无顶端的勾，子叶发达并有发达的叶绿体。如果利用转基因技术造成 *cop9* 基因突变，黑暗中生长的拟南芥 *cop9* 突变体形态却与光照条件下的幼苗形态基本相同，即它们的下胚轴都较短，子叶都较发达（图 6-35b）。

2000 年，拟南芥全基因组测序完成，它也成为第一个基因组全系列被测定的植物。拟南芥的基因组很小，包括了 25 000 个编码基因，仅为水稻基因组的 1/4。与果蝇的 13 600 个基因和线虫的 18 400 个基因相比较，拟南芥中的许多基因与果蝇、线虫及其他动物在功能上具有类似性。特别值得关注的是，拟南芥基因组中有 1 500 多个基因是编码转录因子的特殊基因。通过对拟南芥基因组蛋白质编码区的基因构成和功能分析，已经鉴定了许多编码各种代谢途径酶的基因，这些酶分别在光合作用、呼吸作用、植株的光形态建成、物质的跨膜运输、细胞壁的形成、中间产物代谢、次生物质代谢、无机盐吸收、脂类、氨基酸、核苷酸和辅助因子等基本生化原料的合成中发挥着关键的作用。利用拟南芥丰富的基因组信息，已制备出大量各种核酸探针（关于 DNA 探针的制备等参见第十二章相关内容），它们在其他植物甚至动物中发现与发育相关的重要基因方面非常有用，这方面的工作将对整个植物功能基因组的研究作出重要的贡献。

第四节 干细胞和动物克隆

早在 1997 年，多莉羊克隆成功，让全世界人都为之惊叹。1998 年科学家们首次分离获得了人的胚胎干细胞。2004 年 2 月 11 日，来自美国华盛顿媒体的报道说，美国与韩国的科学家宣布，他们已成功地克隆出人类早期胚胎，并从中提取出人类胚胎干细胞。干细胞和克隆动物技术的新突破是生命科学、特别是发育生物学与医学发展的重要里程碑，这一领域更重要的突破还在酝酿中。

一、干细胞的种类与特性

前面已经介绍，在动物胚胎发育早期，受精卵分裂产生了细胞团即卵裂球，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**。通俗地说，干细胞是在生命的发育和成长中起“主干”作用的原始细胞，它具有自我更新、高度增殖和多向分化的潜能。如同一棵树的树干，可以长出新枝、树叶和花，干细胞充当了未来分化细胞预备队的角色，也有人称干细胞为未来的“组织工厂”。

按照其组织来源，干细胞可分为胚胎干细胞、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。在一定条件下，成体干细胞可以产生新的干细胞，也可以按一定的程序分化，形成新的功能组织细胞，用以保持组织和器官的生长或用于对损伤或衰退细胞的修复和补充。

如上所述，在哺乳动物中，**胚胎干细胞**（embryo stem cell, EC）来源于胚胎发育早期的内层细胞团，它具有全能性，可以自我更新并分化成为体内各种组织（图 6-36a）。胚胎干细胞又是全能干细胞，分化能力强，可以无限增殖并分化成 200 多种细胞类型，从而形成机体的任何组织或器官，包括形成新的生殖细胞。目前关于胚胎干细胞的研究大多以小鼠为实验模型，最早建立的干细胞是小鼠的畸胎瘤干细胞。动物胚胎干细胞可通过选择性流产、体外受精、将体细胞核移植到卵质内再植入代孕动物子宫等方法获取。人类受精卵经 5~6 天分化后的胚胎被称为**胚泡**，是一个针尖大小的卵裂细胞球，含有 100 多个细胞，这些细胞群中含有适合于研究用的干细胞。从胚泡中取出的干细胞可以在培养皿中生长成多种不同的器官或组织细胞，包括心肌细胞、肝细胞、胰腺细胞、肌细胞、血细胞、表皮细胞、神经元细胞等等。

造血干细胞（hemopoietic stem cell）由胚胎干细胞发育产生，是所有血细胞的起源细胞。造血干细胞具有自我更新能力，主要存在于骨髓、外周血和脐带血中。造血干细胞能够产生红细胞、白细胞和血小板等，如果没有造血干细胞，我们就无法存活（图 6-36 b）。成年人体造血干细胞的 80% 以上贮存在骨髓中，早期的造血干细胞移植又叫做骨髓移植。利用骨髓移植可以治疗白血病。通过静脉注射等方法将正常造血干细胞输入人体内，可以替代病人原来的病理性造血干细胞，恢复病人的正常造血与免疫功能。在骨髓中还存在着另一种**间充质干细胞**（mesenchymal stem cell），它具有分化成中胚层和神经外胚层组织细胞的能力，如生成肌细胞、成骨细胞、

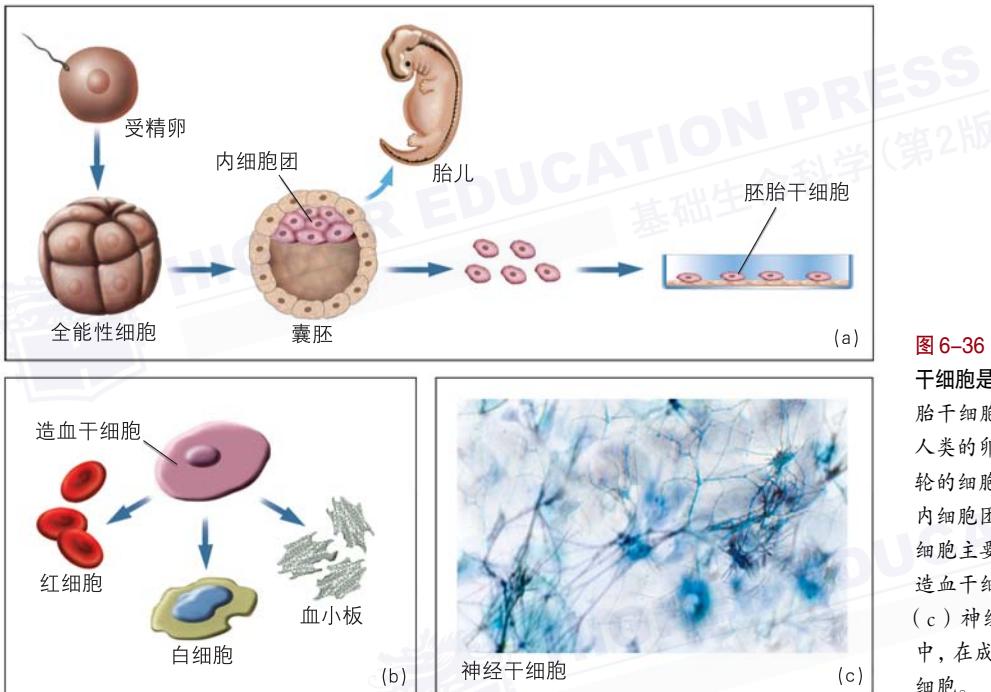


图 6-36 胚胎干细胞、造血干细胞和神经干细胞是生物最主要的三类干细胞 (a) 胚胎干细胞是受精卵分裂产生的全能细胞。人类的卵细胞在受精的4~5天后，经过几轮的细胞分裂形成中空的胚泡，胚泡中的内细胞团主要用于形成胚体。(b) 造血干细胞主要来源于骨髓、外周血和脐带血。造血干细胞移植可以治疗多种血液疾病。(c) 神经干细胞主要存在于胎儿脑组织中，在成人的脑和脊髓中也发现了神经干细胞。

成神经胶质细胞等等。移植到体内的骨髓间充质干细胞可在多种造血以外的组织处定位和分化，产生相应的组织细胞。骨髓间充质干细胞易于分离、保存和培养。

与胚胎干细胞和造血干细胞相比，神经干细胞的研究起步较晚。神经干细胞主要存在于胎儿的脑组织包括大脑皮层、纹状体和小脑中，取材难度大（图6-36c）。在体外诱导和移植实验中，神经干细胞也表现出令人惊叹的分化潜力。神经干细胞功能的损伤会引起严重的中枢神经系统疾病。

按其分化潜能的大小，干细胞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，它可以分化出多种血细胞。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，如干细胞可以连续分裂若干代，也可以较长时间内处于静止状态。干细胞的体外培养技术已经成熟，对干细胞的基因转移和突变等一般都不影响其发育潜能。干细胞的分裂可以是对称的，也可以是不对称的。在不对称分裂中，两个子细胞中，往往一个仍然是未分化的干细胞子代，另一个是祖细胞（progenitor cell），即某种末端分化细胞的祖先细胞，正是这些定向祖细胞的分裂，为组

织的再生和损伤修复提供了补充的功能末端细胞。所谓**末端细胞**，是指在发育完成的组织中表达其特征基因、没有继续分裂能力、寿命较短的细胞。因此，干细胞在分化形成末端细胞时，必须经过一种中间类型的细胞——定向祖细胞，然后由定向祖细胞进一步分化为成熟的末端细胞（图6-37）。与定向祖细胞相比，干细胞具有较长的生命周期及相对慢的增殖速度。

二、干细胞培养和应用

目前科学家对干细胞的培养和应用以胚胎干细胞和造血干细胞为主。最早被分离培养的干细胞是小鼠畸胎瘤干细胞，它是发育不正常的无序胚胎，具有肿瘤的某些特性。之后英国剑桥大学的专家从小鼠胚泡的内细胞团中分离出可在体外培养的胚胎干细胞。它们的培养需要有滋养层细胞或白血病抑制因子。滋养层细胞不能分裂增殖，但能分泌白血病抑制因子。另外的研究发现，还有多种生长因子和细胞黏附蛋白等是调控干细胞增殖或分化行为的外在因子。在前期研究的基础上，科学家们相继建立了猪、牛、绵羊、山羊、猴和人的干细胞系和培养系统（图6-38）。人类干细胞的培养与应用，一方面具有重大的医学价值，另一方面涉及科学道德、伦理、公共卫生安全等十分敏感的问题，因此引起人们的高度

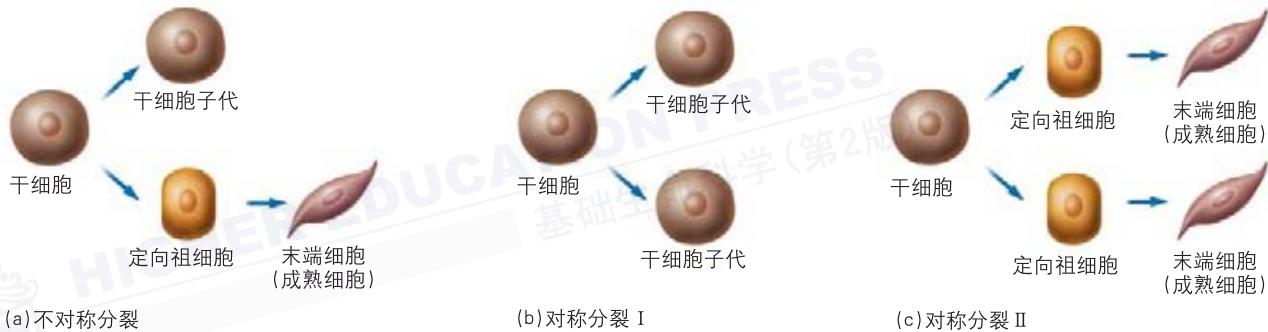


图6-37 干细胞的发育命运 (a) 干细胞不对称分裂,往往产生一个干细胞子代和另一个定向祖细胞,定向祖细胞再分裂产生末端细胞(成熟细胞)。(b) 干细胞对称分裂,可以产生2个相同的干细胞子代。(c) 干细胞对称分裂,也可以产生2个定向祖细胞,由定向祖细胞分化产生末端细胞。

关注。在应用性研究的实验中,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体外受精产生的胚胎;③将人的体细胞核植入卵质内产生的克隆胚胎。目前研究中普遍使用的胚胎是人工授精的冷冻胚胎,而使用人类细胞克隆的胚胎在一些国家受到立法禁止。

造血干细胞是一类非常有医学临床应用价值的干细胞。运用流式细胞仪和磁性分选技术可以从骨髓、外周血、胎儿肝脏中分离得到早期造血干细胞。科学家已经能够在体外对造血干细胞进行大量的扩增和培养。在加入多种造血因子的条件下,造血干细胞还可以在体外产生多种定向分化的血细胞。外周血干细胞和脐带血干细胞移植的安全性较好,有可能将来在临幊上代替骨髓移植。把外源基因导入造血干细胞进行基因重组和修饰,就有可能进行某些特殊疾病的基因治疗。输血是抢救失血过多病人的有效治疗方法,造血干细胞的培养和应用有可能从根本上解决医院血源不足的问题。

图6-39 简略的示意利用胚胎干细胞恢复病人损伤组

织的一般过程。首先从冷冻的胚泡中分离出少量干细胞,经过培养和增殖获得足量的干细胞,再经过诱导分化培养,获得定向分化的专能干细胞、祖细胞或定向分化的组织细胞。还需要从病人体内获得相应的自识别基因转入干细胞中,使人工培养的干细胞进入人体后不发生免疫排斥反应。它们在植入到病人体内后依附而生,能分裂增长生成肌细胞、血细胞和神经元等组织细胞,代替、补充或修复病人相应的病变组织,达到治疗疾病的效果。

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。例如,早在1967年,华盛顿大学的专家就报道了用正常人的骨髓移植方法试图治疗病人的造血功能障碍。1978年,第一例体外受精的试管婴儿在英国出生。1989年,科学家应用人类胚胎癌细胞系产生了来源于人体各胚层的组织。1998年,威斯康星大学的专家完成了人类胚胎干细胞在体外的生长和增殖。1999年,科学家用小鼠肌肉干细胞成功培育分化出血细胞和形成神经胶质细胞,用成人骨髓中分离出的单个间质细胞培

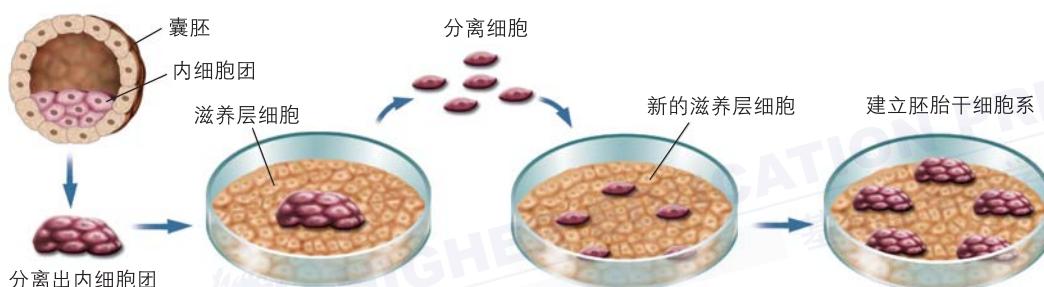


图6-38 胚胎干细胞分离和培养示意图 英国剑桥大学专家在分离培养胚胎干细胞时发现,干细胞在含有滋养细胞的培养基中不发生分化但能分裂增殖,因而保持了干细胞的特性。如果去掉滋养细胞,又不加入白血病抑制因子,体外培养的干细胞就会发生分化。

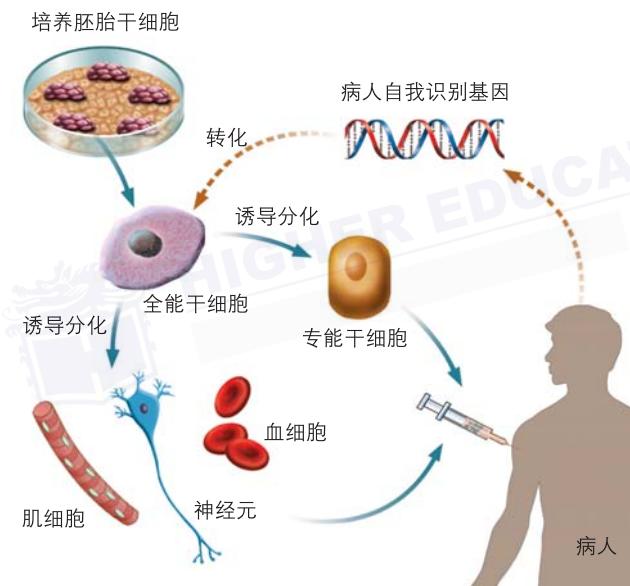


图 6-39 利用胚胎干细胞修复病人损伤组织过程的示意图

育分化出人体骨骼组织。以后，哈佛大学医学院的专家组利用干细胞治疗帕金森综合征发现，将干细胞植入小鼠脑中，结果4个月后大部分小鼠体内出现了能制造多巴胺的神经元并表达出帕金森综合征患者大脑中所缺失的标志蛋白质。2001年，科学家发现某些病人臀部和大腿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。另外的研究显示，将胰岛素基因转入小鼠干细胞中，将这些能分泌胰岛素的干细胞植入患糖尿病的小鼠胰腺中，结果小鼠的糖尿病症状消失了。干细胞移植还被证明可以恢复患病瘫痪小鼠的神经功能和运动能力。近年来更重要的一项研究结果令人兴奋，骨髓干细胞可以在心脏病人心梗后受损的心脏组织中生成新的血管和心肌细胞，减少了心肌疤痕，心血管功能改善效率达30%~40%。2004年，*Nature Biotechnology*杂志还公布了一项干细胞用于毛发再生的新发现，证实了科学家们此前有关毛囊中可能存在干细胞的猜测。科学家已用克隆技术获得人类胚胎干细胞的实验成功说明，治疗性克隆已从理论上的可能变为现实，干细胞应用研究的成果将为医学界带来巨大的改变，为许多疑难疾病的治疗提供有效的手段。

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。虽然干细胞的培养和应用已经取得了可喜的进步，但种种应用尝试仍然处于初步的探索阶段，相关的技术还不够成熟，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。虽然在理论上具有可行性，但利用干细胞进行器官克隆和移植目前还是人类的美好愿望。生命科学的进步将最终为人类实现这一美好愿望提供可能。

三、动物克隆技术

1962年英国生物学家John Gurdon等首次报道了动物克隆。他们将成年非洲爪蟾完全分化的肠细胞的细胞核植入去核的爪蟾卵中，获得了发育完全正常的个体。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。全球各大新闻媒体纷纷以头号新闻转载和传播了这一重大科学突破，消息传开，立刻惊动了全世界，有人为之高兴和欢呼，有人为之担忧。

Wilmut和Campbell等人克隆“多莉”羊应用的是一种“核移植”技术。所谓核移植(nuclear transplantation)，就是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中的细胞核，形成一个重建的“合子”。从理论上来说，供体细胞核具有基因组全套遗传信息，可以指导胚胎发育形成与核供体动物完全相同的个体(拷贝)。尽管理论上是可行的，但实际操作和实现动物的克隆并非是一件简单的工作。研究人员花了很多年的时间，尝试核移植操作，他们收集脆弱的卵细胞，除去里面的遗传物质，另引入一个哺乳动物的供体细胞核，然后将重建的“合子”植入一个“代孕母亲”的子宫内。研究人员做了一个又一个这样的核移植试验，克服了许多技术操作难题，虽然实现了以胚胎细胞为供体的核移植，并发育得到了新一代生物个体，但他们始终没有实现哺乳动物体细胞的克隆，即没有能实现由哺乳动物体细胞为核供体来重建“合子”并发育成核供体动物的“拷贝”。

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。

在前人克隆动物多次失败的基础上，Wilmut等人对

直接从体细胞进行核移植操作技术和步骤进行了不断的探索和重要改进。他们先从一头苏格兰黑面母羊（卵供体）体内获得了一些卵细胞，在显微镜下用毛细吸管除去了卵细胞中原有的细胞核（图 6-40）；接着，将来自一头 6 岁的白色芬兰母羊（核供体）的冷冻乳腺上皮细胞取出，并进行营养限制性培养。然后通过电脉冲技术使芬兰母羊乳腺细胞中的核释放并融合进入到去核的苏格兰黑面母羊卵细胞的细胞质中。电脉冲还进一步刺激了这种重组卵细胞一周内分裂了 3 次，形成 8 细胞的“胚”。8 细胞的“胚”最后被植入到另一头苏格兰黑面母羊（代孕母亲）的子宫内进一步发育。Wilmut 等人一共进行了 277 次这样的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”。“多莉”是与核供体动物（白色芬兰母羊）一样的复制品，具有与供体核相同的全套遗传信息。如此，全球第一例由体细胞克隆的哺乳动物终于问世了，它宣告了生命科学和生物技术的又一次大跨越。

“多莉”羊的克隆绝不是偶然的，Wilmut 等人分析了前人未能成功的可能原因，经过反复研究发现，重组卵细胞最初 3 次分裂时虽然完成了 DNA 复制，但它们的转录并没有开始，即基因未开始表达；与此同时，供体核 DNA 开始丢失来源于乳腺细胞的调节蛋白，正是这些乳腺细胞的调节蛋白最初阻止了核基因的表达；在重组

卵细胞开始第 3 次分裂时，卵细胞质中的蛋白因子便全部替换了原乳腺细胞的调节蛋白，于是重新编排核 DNA，使胚细胞开始表达自己的基因，进而调控胚在代孕母亲子宫中的进一步发育。因此，他们除了采用电脉冲细胞融合技术和选择细胞刚分裂 3 次时进行移植外，还在核移植前对乳腺细胞进行了特殊的处理。例如，他们将这些乳腺细胞先保持在含有 10% 牛血清的培养基中，在与卵细胞融合前，将牛血清的质量浓度降低到 0.5%，这种牛血清饥饿处理使乳腺细胞处于细胞周期的 G₀ 阶段。G₀ 阶段是细胞停止分裂但仍保持代谢活性的休眠阶段，此时，细胞核内会发生一系列化学变化，导致其中基因启动程序重新编排，有利于细胞融合后卵细胞质中的蛋白因子能够再次启动乳腺细胞核的分子开关，进而对胚的发育进行调控。

除了在生物技术方面的重大突破外，“多莉”羊克隆成功之所以轰动了世界，还因为大家普遍关心另外两个重大问题：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？第一个问题的答案是明确的。从理论上讲，既然绵羊可以被克隆，同属于哺乳动物的人类的克隆最终也能成功，而且有关试管婴儿的试验和人类生殖控制等技术也都比较成熟，在技术层面上的问题都可以得到解决。有人还专门设计了克隆人或器官的技术路线与步骤。但是回答第二个问题就不那么简单

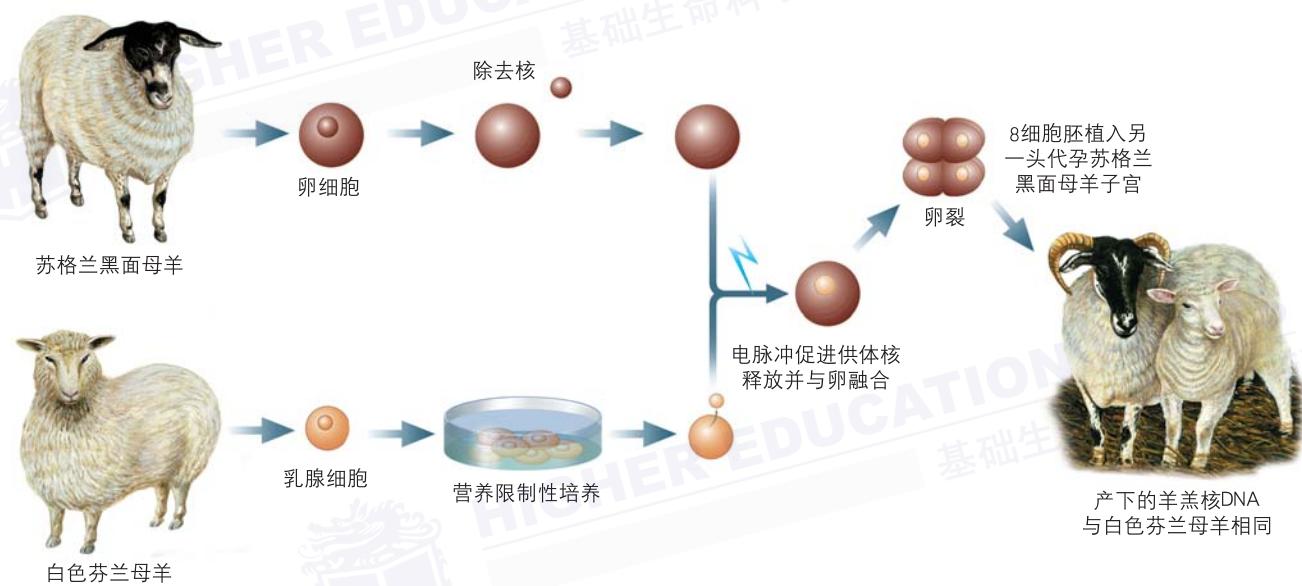


图 6-40 克隆羊技术示意图

了。这里涉及到一系列人类过去尚未遇到的重要问题，包括伦理道德、人类自身安全、克隆人是否健康、是否易引发基因突变等等，该问题将在第十二章中进一步讨论。

了解了“多莉”羊的克隆以后，让我们再来讨论**克隆**本身的含义。如果您翻开词典，查找克隆一词的含义，您会见到这样一句简单的解释：一群无性繁殖的细胞系。它的原意是指细菌等单细胞生物通过无性繁殖，产生了一群遗传背景完全相同的细胞。一群无性繁殖的细菌在琼脂培养基上又称为一个菌落。因此在细胞水平上的克隆是指来源于单一的共同祖先细胞分裂所形成的遗传背景相同的一群细胞。而在分子水平上的克隆一般指DNA克隆（或基因克隆），其含义是将某一特定的DNA片段（或基因）通过重组DNA技术插入一个载体（如DNA质粒）中，再将携带特定DNA片段的载体转入宿主细胞（如大肠杆菌）中，当宿主细胞通过无性繁殖产生一群遗传背景相同的许多细胞时，每一个细胞的载体都含有这一特定的DNA片段，即产生了许多相同的DNA片段拷贝，这就是DNA克隆。DNA克隆是借助于细胞水平上的克隆而完成的。在个体水平上的克隆是指基因型完全相同的2个或多个生物群，也可指一个生物的人工“复制品”。如

动物早期胚胎分割、干细胞培养或像“多莉”羊那样通过细胞核移植到去核卵细胞中，再通过代孕母体产出遗传背景相互完全相同的后代，或产出与核供体动物遗传背景完全相同的后代，这些都是克隆动物。无论如何，动物克隆不经过有性生殖的基因重新组合，新个体的遗传背景没有变异。

自从“多莉”羊克隆成功以后，其他各类克隆动物也相继问世。目前全世界体细胞克隆牛的数目已达到约300头。已有3个实验室报道克隆猪获得成功。虽然猪的体细胞克隆比羊和牛的难度大，成功率较低，但猪的器官大小和功能与人体较为接近，猪的器官可作为医学上异体器官移植的供体，猪的体细胞克隆应用价值更大。小鼠是非常好的实验动物模型，克隆鼠的研究已经在全球的多个实验室获得成功。另外其他各类动物的克隆研究和转基因动物的克隆也不断取得新的进展。

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。例如，可用于器官克隆和移植，大量生产克隆动物，大量生产转基因动物，制备发育生物学体外模型系统，制备药理学实验模型系统，培育家畜优良品种，保护和拯救珍稀濒危动物等等。

思考与讨论



1. 请指出发育与分化两个基本概念的差别与联系。
2. 动物的胚胎发育一般包括哪些阶段？
3. 植物与动物在发育过程中的主要差别是什么？
4. 请指出决定子与成形素的区别。
5. 请举例说明2种主导基因对发育的调控机制和过程。
6. 请绘简图示意G蛋白偶联受体和酶联受体介导的信号转导系统。
7. 作为发育的模式生物，线虫、果蝇、斑马鱼、小鼠、拟南芥各有哪些优点？请分析它们的共同优点。
8. 请说明干细胞的类型和特征。
9. 请绘简图示意“多莉”羊克隆的步骤。
10. 为什么发育生物学近年来成为现代生命科学的前沿和热点领域？
11. 请讨论发育与进化的联系。
12. 为什么说发育是连接微观与宏观的桥梁？

练习题

1. 名词解释：

发育 胚胎发育 细胞分化 形态发生 细胞命运决定 决定子 镶嵌型发育 诱导 诱导子
模式形成 成形素 组织者 位置效应 细胞凋亡 主导基因 同源盒 器官决定基因 信号转导
自分泌信号 内分泌信号 旁分泌信号 G蛋白偶联受体 第一信使 第二信使 种系 生成细胞
同源异形基因 干细胞 胚胎干细胞 胚泡 造血干细胞 间充质干细胞 末端细胞

2. 下列不属于胚后发育的是()。

- a. 鱼的受精卵发育成鱼苗
- b. 蝌蚪从卵膜里孵化出来后发育成青蛙
- c. 家蚕发育成蚕蛾
- d. 小鸡破壳而出后发育成鸡

3. 青蛙由于()的发育而具有了感受刺激并发生反应功能的神经系统。

- a. 内胚层
- b. 中胚层
- c. 外胚层
- d. 外胚层和内胚层

4. 蛙受精卵的特点是()。

- a. 动物半球颜色深、卵黄多、朝上
- b. 植物半球颜色浅、卵黄少、朝下
- c. 动物半球颜色深、卵黄少、朝上
- d. 植物半球颜色浅、卵黄多、朝上

5. 在动物胚胎发育过程中，早期原肠胚的细胞从一个部位移动到另一个部位时，被移植的细胞能适应新的部位并参与那里的器官形成。但如果在原肠胚的末期，把未来将发育为蝶螈下肢的部分肢芽细胞移植到另一个蝶螈胚胎上不发育为下肢的区域，这些细胞将发育为一条额外的腿。这说明()。

- a. 原肠胚末期，已有了组织和器官的形式
- b. 此时的肢芽细胞是全能的
- c. 原肠胚末期出现的细胞分化不可逆转
- d. 原肠胚已出现了三胚层

6. 在海胆动物早期胚胎发育过程中，细胞质中决定细胞命运的特殊信号物质是()。

- a. DNA
- b. mRNA
- c. 蛋白质
- d. 未知化合物

7. 果蝇体节基因级联表达控制体轴的建立称为()。

- a. 模式形成
- b. 转录调节
- c. 诱导
- d. 细胞凋亡

8. 细胞的分化总是涉及到()。

- a. 原肠胚的形成
- b. 环境因子
- c. 基因组中某些基因的丢失
- d. 基因组中少数基因的选择性表达

9. 同源异形基因()。

- a. 只是控制果蝇体节形态模式的基因
- b. 在植物中称为器官决定基因，它总是造成花器官发育的异常
- c. 就是同源盒
- d. 是与许多生物形态模式相关的控制基因表达的转录因子

10. 作为发育生物学研究的模式生物，以下（ ）不是必需的。
- a. 胚胎的分化易于被观察
 - b. 分布广泛，易于收集样品
 - c. 生活周期较短，生活史清楚
 - d. 基因组相对较小或已知其全部或大部分基因组序列
11. 有人将果蝇称为遗传学和发育生物学领域的王中王，是因为（ ）。
- a. 易于进行基因诱变，具有各种大量的突变体
 - b. 胚胎发育快，易于观察卵裂、早期胚胎发生、躯体模式形成和各器官结构的变化
 - c. 个体小，生命周期短，易于大量培养
 - d. 仅有 4 对染色体，组成简单。基因组测序已于 2000 年基本完成
 - e. 上述 4 点



相关网站

<http://www.biology.arizona.edu/developmental-bio/developmental-bio.html>
<http://www.devbio.com/>
<http://zygote.swarthmore.edu/>
<http://www.sdbonline.org/>
<http://www.luc.edu/depts/biology/dev.htm>