

- [9] Dudley, M. W. et al., 1986, *Plant Physiol.*, 81: 335.
- [10] Green, T. R. and C. A. West, 1974, *Biochem.*, 13: 4720.
- [11] Archer, B. L. and E. G. Cockbain, 1969 *Methods Entomol.*, 15: 476.
- [12] Madhavam S. et al., 1984, *Plant Physiol.*, 75: 908.
- [13] Cane D. E., 1983, *Biochem. Soc. Trans.*, 11: 510.
- [14] Gershenzon, J. et al., 1989, *Plant Physiol.*, 89: 1351.
- [15] Chappell, J. et al. 1989, *Plant Cell reports*, 8: 48.
- [16] Skrukud, C. L. et al., 1988, *Plant Physiol.*, 74: 306.
- [17] Gleizes, M. et al., 1983, *Biochem. Soc. Trans.*, 11: 590.
- [18] Mettal, U. et al., 1988, *Eur. J. Biochem.* 170: 613.
- [19] Goodwin, T. W., 1958, *Biochem. J.*, 70: 612.

## 梯度场区和同源异型框基因

E.M.De Robertis, E. A. Morita + K.W.Y cho

### 引言

本文的目的在于提高现代发育生物学家们对形态发生梯度场区 (gradient field) 这个古老概念的关注。图 1 是 1934 年对两栖类神经胚的描绘。实验胚胎学已揭示出在任何分化信息出现以前, 胚胎发育早期已有器官形成场区的存在把蝾螈胚胎的组织块异位移植, 在发育晚期, 这些细胞场区将生成不同的器官如前肢、后肢、尾平衡器以及鳃等。这些“形态发生场区”的细胞均能“调整”, 即经过一系列的人工手术仍可发育为正常结构。例如: 把场区的一部分切除或把未决定的组织移入场区, 都能形成正常结构。假如把场区分成很多部分, 也会得到多个完整的结构。很多书籍提到这种观察结果 (Huxley 和 de Beer, 1934; Weiss, 1939; Child, 1941) 尤其是 Huxley 和 de Beer 的《实验胚胎学的基本原理》有丰富的内容, 值得大力推荐。

在 40 年代胚胎场区的研究逐渐失去了黄金时代。大概因为它们被认为是抽象的、几乎是玄奥的、只能在移植以后才能被揭示的形态发生的动力。这种同样的性质也可用已经引起广泛注意的分级的位置信息 (Positional information) 模型来解释 (Wolpert, 1969, 1989)。对分化中细胞场区分析的另一重大进展是极坐标 (Polar coordinate) 模型的提出 (French et al, 1976), 它能够解释环形和辐射形的一系列位置信息, 不再借用梯度的概念, 在对一个场区经过手术操作后

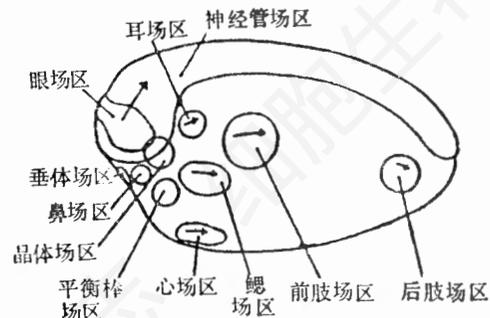


图 1 两栖类神经胚示实验分析发现的主要形态发生场区的位置 (据 Huxley 和 de Beer, 1934)

即可观察到调整现象。

目前, 分子标记的发展使得追踪在发育晚期形成各器官的胚胎细胞场区成为可能。在这方面综述一下胚胎场区的某些特性可能是有用处的。

### 胚胎中的场区

形态发生场区的概念来源于 Ross Harrison (1918) 对蝾螈前肢发育的研究。他指出在早期神经胚中胚层套 (也称侧板或体壁层) 中有盘状的一群细胞移植到胚胎的不同区域后已经获得了形成前肢芽的潜能。尽管此时侧板中胚层只由完全相同的一层细胞组成, 但产生前肢的区域却占有非常准确的位置, 在第三到第五

• 本文译自 Deve., 1991, 112:669—678.

体节的腹侧(Harrison, 1918; Stocum 和 Fallon, 1982)。图1表示 *Amlystoma maculatum* 神经胚前肢环形场区的位置。当把这一区域的中胚层细胞通过皮肤外胚层的一条狭缝植入到较后的位置, 在游泳幼虫的体侧将长出一个额外前肢。

前肢场区具有很有趣的性质。把正常能形成肢体细胞的中央部分全部除去以后, 其周围中胚层细胞能保留失去信息再生的潜能而产生一个完整的前肢。Harrison(1918)说过, “在形成肢体细胞的周围有一个组织区带, 能代替形成肢体, 其强度向外逐渐减小。”假如把一个肢体场区分割成两个并移植到其他位置, 将形成两个完整的肢体。相反, 两个半场区以正确的定向移植, 可以得到一个单一的肢体。Harrison 称之为“自我分化均等潜能系统”其中每一部分可产生任何一部分。“场区”一词后来就被用以说明这些特性, 首先 Spemann(1921)用之于描述两栖类原肠期背部具有组织者能力的区域, 后来 Paul Weiss 借以解释有关再生和器官基芽形成的观察(Weiss 综述, 1939)。进一步的移植研究表明最大的前肢形成的潜能位于前肢场区的前方背部区域, 并且从这点逐渐减小(Swett, 1923)。这又导致形成一种见解, 即每个场区包含器官形成潜能的梯度, 即“梯度场区”(Huxley 和 de Beer, 1934)。

最近一个说明肢体场区调整能力的例证是北加里福尼亚的一个池塘有具超数腿的蝌蚪(Sessions 和 Ruth, 1990)。树蛙和蝾螈的蝌蚪都有这种现象。已经表明这种畸形是因为一种寄生扁虫钻入发育中的肢芽, 并把它们分成很多区域。有时候一个肢芽可产生五个发育正常的腿(Sessions 和 Ruth, 1990)。

### 成体中的梯度场区

能够再生的成体动物也显示有梯度场区的存在。我们在此仅考虑两种情况, 把涡虫一分为二以及成体蝾螈神经偏转的结果。

讨论涡虫的实验是因为它们提供了沿身体主轴分级的位置信息的事例。众所周知, 将涡虫横切, 其前半部将再生出尾巴而后部则再生出头。两个不同的动物按图2中位置接近的a和b切面进行切割也是如此。a和b切面之间的细胞将增殖, 在一种情况形成头, 而在另一情况则形成尾。因为这两种情况下增殖的细胞基本相同(图2), 因此究竟形成头或尾并不依赖于切口处细胞的类型, 而是依赖于它们与其他胚胎部分的前后轴关系。这个结果与前面提到的肢体场区移植

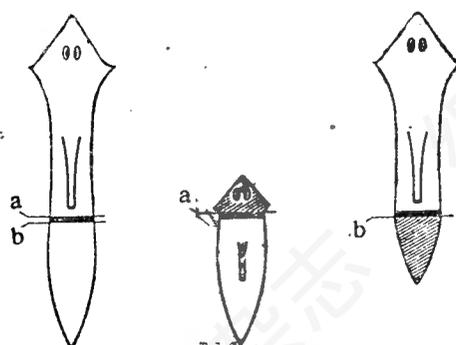


图2 涡虫的再生

动物被分成两半后, 相同部分的细胞(a和b平面之间, 即涂黑部分的细胞)能再生出头或尾(阴影部分)。这一实验说明, 细胞不是预先决定形成头或者形成尾, 而是由它们与A-P轴场区的关系所定。位于中间的那个涡虫受到再生头部的影响可再生出一个新的咽。(据 Huxley 和 de Beer, 1934)



图3 涡虫头部场区的调整, 在前端切多个切口, 动物产生了10个头

(据 Huxley 和 de Beer, 1934)

实验略有不同, 在后者细胞经异位移植后仍可形成肢体。但是, 涡虫体和其他场区在手术后有同样的调整能力。

涡虫再生的速率和完整性依赖于切口在前-后轴(即A-P轴)所处的位置, 提示再生潜能轴梯度的存在(child 1915, 1941)。动物能够再生出头的百分率随切面的后移而下降(Slack 综述, 1987)。而且这种轴梯度的表现与场区类似, 因为, 如图3所示, 假如在头部区段深切多个切口, 将有许多的头形成。

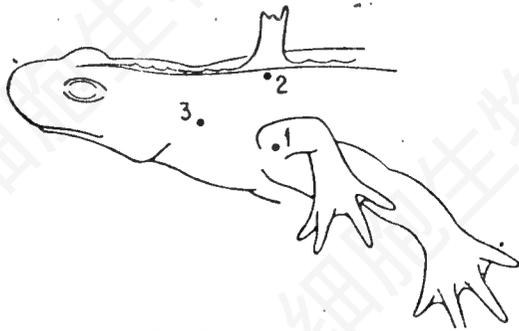


图4 成体蝾螈神经的偏离可刺激新结构的产生

假如把 *Triturus cristatus* 的鳃神经切割并偏移, 使它的末端位于近前肢基部(1), 会诱导出超数前肢。如果把神经移到背鳍的真皮中(2), 另一额外的背鳍也会形成。如果把神经偏移到远离肢体的部位(3), 它离开肢体场区就无法诱导出任何额外结构。(据 Guyenot et al, 1948)

在无尾类, 胚胎场区可保持到成体。把 *Triturus cristatus* 的神经从正常位置偏移使之到达真皮之下的实验可证明胚胎场区的存在。假如把一根坐骨神经偏移到靠近大腿基部的区域, 能诱导出一条超数后腿 (Guyenot 和 Schotte, 1926) (在蝾螈, 可以辨认前肢和后肢, 因为前者有 5 个趾, 而后者只有 4 个)。假如把神经导入尾区, 会诱导出另一条尾巴。假如把它偏移到背鳍处, 也会产生另一背鳍。同样, 假如把鳃神经偏移到近前肢或肩胛处, 也会诱导出超数前肢(4个趾), 如图4所示。假如把鳃神经末端放在近背中线上则可诱导出背鳍, 假如将之放在远离前肢和背鳍处, 即在它们各自的场区以外, 则什么也诱导不出(图4, Guyenot, 1927; Guyenot et al, 1948)。

在这些实验中据认为神经自身无专一的趋向作用, 它的作用依赖于它所刺激的中胚层类型。中胚层的潜能只能通过实验操作才得以表现。从这些研究中得到的结论是, 蝾螈具有, 甚至成体, 也具有前肢场区、后肢场区、背鳍场区和尾场区(Guyenot, 1927)。

#### 脊椎动物中的同源异形框基因

我们对梯度场区的兴趣开始于对同源异形区蛋白 *XIH box I* 的研究。它在某些四足动物表达有前肢的 A-P 梯度(Oliver et al, 1988 a)。 *XIH box I* 是从脊椎动物 DNA 中分离出的第一个基因, 因为它与果蝇的同源异形框(homeobox)有同源性(Carrasco et al, 1984)。我们及时得到检测这种爪蟾(*Xenopus laevis*)基因蛋白产物的抗体探针的(Oliver et al, 1988 b)。

重要的是, 这种抗体也可与其他种类动物的同源蛋白起反应, 如小鼠、鸡和斑马鱼, 从而为脊椎动物比较胚胎学提供了分子水平的信息。

小鼠及一些脊椎动物的基因组中大约有 *Antenna-pedia* 类型的 40 个同源异形框基因(Wright et al 综述, 1989 a; De Robertis et al, 1990; Kessel 和 Gruss, 1990)。它们编码在胚胎专一的 A-P 区表达的转录因子。这些基因分四簇定位, 每簇 10 个基因, 位于 5' 端的基因表达胚胎后面的区域, 越靠近 3' 端的基因表达越靠近前端的部分(Gaunt et al, 1988; Graham et al, 1989; Wilkinson et al, 1989)。这个基因组的组成与果蝇的同源异形框极为相似(lewis, 1978; Gehring, 1987), 提示这个基因排列起源于共同祖先。因为哺乳类不是由昆虫进化而来, 因此共同的祖先至少要追溯到如象扁虫这类的生物体。不知已具有明确 A-P 极性的原始后口动物如轮虫纲是否有同源异形框复合体。

至少在一些脊椎动物中, 同源异形框的功能是对沿 A-P 轴专一细胞的鉴别。不管是丧失功能(给爪蟾胚胎注入抗体, Wright et al, 1989 b), 还是获得功能(转基因小鼠中的过度表达, Kessel et al, 1990)的表型均说明脊椎动物的基因与果蝇的同源异形框基因的功能相似。而且, 小鼠和人类同源异形框基因在转基因果蝇内过表达会导致细胞命运的同源转化(Malicki et al, 1990; McGinnis et al, 1990)。

#### 脊椎动物肢体和鳍中的同源异形区蛋白的梯度场区

*XIH box I* 蛋白以一条狭带的形式在爪蟾胚胎尾芽期的躯干前部的细胞核中表达。这条细胞带包括中胚层、前部脊髓和神经嵴(De Robertis et al, 1988 a)。约三星期后前肢从这一区域伸出时, 我们意外地发现在前肢芽中胚层原来明显均一的细胞核中, *XIH box I* 蛋白按 A-P 梯度分布。梯度最大处在前肢芽, 随肢体逐渐向外生长而减弱(Oliver et al, 1988 a)。

侧板中胚层中 *XIH box I* 蛋白的表达远在前肢芽形成以前, 连同发现在后来的发育中有蛋白梯度的存在, 这些事实提示同源异形框基因与实验胚胎学家们所描述的梯度场区可能有一定关系(Oliver et al, 1988 a)。最能说明可能存在这种关系的例子是对鱼类胸鳍芽发育的研究(Molven et al, 1990)。鱼类胸鳍在进化上是四足动物前肢的前身, 由侧板中胚层的一

群细胞增殖而来,这在蛙鱼胚胎已经得到证实(Harrison, 1895)。

在这些研究中斑马鱼胚胎比爪蟾是更好的材料。因为斑马鱼的胸鳍芽早在胚胎发育中就形成了,而蝌蚪前肢芽在三个星期后作为变态过程的一个部分才出现。另外,早期鱼胚的侧板中胚层,围绕着卵黄铺展成均匀的一薄层细胞,十分便于观察研究。在19小时的胚胎中,一个XIH box-I阳性核的环形区能在侧板中胚层上辨识出来。这比在形态上能识别出胸鳍芽提前10小时。这个环形细胞群在整个发育中能被追踪,它相当于胸鳍的区域(Molven et al, 1990)。25小时的胚胎前部区域染色变深,细胞开始增殖,48小时出现了发育完好的鳍芽。在比较后的发育时期,鳍芽的前部和近躯体的部分表达最强。这个表达模式与在青蛙、鸡或小鼠前肢芽所见到的非常相似。除了指出在脊椎动物的进化中基本发育机制的保守性,斑马鱼的研究还说明同源异型框基因的表达能确定形态发生场区的划分(Molven et al, 1990)。

其他一些同源异型框基因也可在肢体发育过程中表达(Eichele, 1989)。用人类Hox 4.4基因抗体检测出一种与前肢XIHbox I蛋白梯度极性相反的蛋白梯度(Oliver et al, 1989)。Hox 4.4梯度在爪蟾、小鼠和鸡前、后肢芽的远侧部和后部最强。尽管缺少直接证据,但Hox 4.4和XIH box I蛋白相反的梯度很可能参与发育肢体的位置信息的认定。

曾有人提出用维生素A酸处理鸡翅芽的前区导致形态发生的改变,而且假设维生素A酸的扩散性的梯度提供了肢芽中的A-P位置信息(Eichele综述, 1989)。但最近的试验表明,用于前肢芽中的维生素A酸并不能在整个肢芽中建立新的维生素A酸梯度,而能改变邻近细胞的命运(Waneck et al, 1991; Noji et al, 1991)。因此,扩散性形态建成素梯度的存在受到了挑战。同源异型区蛋白的梯度尽管尚未证明影响形态发生,但对某种分级位置信息在肢芽中的必然存在却提出了有力的论证,因此研究在肢体发育中建立同源异型区蛋白梯度的位置信号系统是值得的。

Duboule和其合作者已指出,在Hox 4.4表达之后,位于染色体5'端的3个基因(最近被重新命名为Hox 4.5, 4.6和4.7, Duboule et al, 1990)在肢头伸长时连续地被激活(Dolle et al, 1989)。由此可见,这些基因的表达时间是依据它们在基因复合体所占有的顺序。Hox 4基因也沿着躯体A-P轴表达,且沿同样顺序布署(4.4比4.5靠前,4.5比4.6更靠前等等)。

从肢体同源异型区蛋白梯度的研究得到了意想不到的结论,在主体A-P轴发育中起作用的同一组基因,在肢体的生长中也起作用。

### 果蝇中的肢体场区

早期果蝇胚胎对发育的遗传研究有如此巨大的优越性,但在移植的研究中却不如两栖类。因此在果蝇胚胎中对应的胚胎场区的尚未发现是不足为奇的。但是,蟑螂肢体再生的实验有力地证明,至少在生命较晚的时期,昆虫的腿具有细胞场区的调整特性(Bohn, 1974; French et al, 1976)。最近对Distalless基因的研究表明蝇类胚胎的确有细胞场区参与附肢的形成。

Distalless突变可引起肢体远端片段丢失。已经得到能造成缺损程度分级系列的等位基因组合(Cohen和Jurgens, 1989)。Distalless基因编码一种同源异型区蛋白(Cohen et al, 1989)。它的同源异型框与原型Antennapedia有很大差异。在早期胚胎中,Distalless表达细胞的环形区清楚地划分出将来的腿、下颚、唇和触角等附肢的位置。这些环形区在胚胎表面的位置是被精确控制的。例如,一排Wingless表达细胞刚好穿过腿原基的中心。Wingless的表达对Distalless正常激活是必要的(Cohen, 1990)。也就是说一个细胞外蛋白编码的基因,可能做为信号,参与核区转录因子的正确表达。哺乳类中与Wingless同源的基因是一个癌基因,int-1(Rijsewijk et al, 1987; McMahon和Moon, 1989)。其他基因,如背腹位置系统基因和双胸系统基因也都参与Distalless在腿原基中表达的调控(Cohen, 1990)。

### 发育中羽芽的梯度场区

在动物和植物的新生器官如叶、根、触角和肢体,以及有些例子是完全新的个体,都可以从局部加厚所谓的“芽”发育而来。芽一出现就产生新的轴模式(Child, 1941),这为研究位置信息如何确定提供了机会。

鸟的羽毛是从一片胚胎皮肤发育形成最初中胚层细胞的一个“场区”得到了诱导能力,与外胚层相互作用,变厚而成为一上皮芽基(Sawyer和Fallon, 1983)。中胚层细胞增殖,产生羽芽并伸出皮肤表面。尽管在组织学分析中羽芽中胚层是完全均质的,但是却已经注意到分子的不均一性。纤连蛋白丰集在后部(Manger et al, 1982),而N-CAM却集中在前部中胚层(Chuong和Edelman, 1985)。N-CAM在羽芽的极性

分布和前肢芽中的 *XIHbox I* 梯度两者的相似性, 为分析羽毛发育中同源异型区蛋白的表达提供了初步的动力。

羽毛形成的第一个信号是羽毛场区或真皮中成片的 *XIHbox I*-阳性细胞的出现。整个场区的细胞核都表达 *XIH box* 蛋白, 甚至直到可见的芽体开始形成时。当芽生长时后部染色消失。*XIH box I* 成梯度分布, 在前部和近侧部表达最多 (Chuong et al, 1990)。进一步研究表明, 在前部羽芽中 *N-CAM* 表达所占有的区域要比 *XIH box I* 梯度区域小一些。在发育过程中, *Hox 4.4* 蛋白极性化集中于后部和远侧部中胚层 (Chuong et al, 1990)。这两种同源异型区蛋白的互补分布使人联想到它们在前肢芽发育中的梯度分布 (Oliver et al, 1989)。

#### 沿主体轴的同源异型框表达的梯度

大多数关于小鼠同源异型框的基因在妊娠中期的胚胎中表达的原位杂交研究说明脊髓中 mRNA 成梯度分布。最高量相当于前端的表达界限, 通常往后端逐渐减少 (e.g. Breier et al, 1988)。在总 mRNA 水平上全是如此, 但很难引用于单个细胞的水平。在斑马鱼, 有一种大的感觉神经原称为 Rohon-Beard 神经原。它们的功能是在游泳运动中负责感觉传入, 并因很大而且位于脊髓背部所以极易识别。Rohon-Beard 神经原表达 *XIH box I* 抗原, 而且显示出一个很有趣味的模式 (Molven et al, 1990)。最前面的神经原不表达抗原, 但是, 在前部的脊髓中, 突然开始表达 *XIH box I*, 而且越往后表达越弱, 直至消失。虽然所有 Rohon-Beard 神经原功能相同, 但是依据在 A-P 轴位置不同, 其表达 *XIH box I* 也不同。似乎这些细胞中的 *XIH box I* 基因能感受到存在于体轴的位置信息梯度, 这种梯度影响其表达水平。

在爪蟾早期发育中, 另一个同源异型框基因, *Xhox 3* 具有与体轴相反方向的表达梯度 (Ruizi Altaba 和 Melton, 1989 a)。这个基因有一个和果蝇 *evenskipped* 相关的同源异型框, 在发育的很早期表达, 在神经中期胚胎后部 mRNA 水平最高。抗体染色表明这个梯度在胚胎中胚层中建立, 沿着向前的方向逐渐消失 (Ruizi Altaba et al, 1991)。功能丢失或功能获得两项实验都支持这种观点, 即这一基因在 A-P 轴形成中起重要作用 (Ruizi Altaba 和 Meton, 1989 b; Ruizi, Altaba et al, 1991)。

由此看出, 脊椎动物主体轴在胚胎发育中似乎具

有能够激活同源异型框基因的位置信息的 A-P 梯度。

#### Spemann 的组织者场区

在两栖类早期原肠胚的背部, 有一个结构潜能场区 (Spemann, 1921; Holtfreter 和 Hamburger, 1955; Wakahara, 1989; Stewart 和 Gerhart, 1990)。它决定从背唇卷入最终成为将来的 A-P 体轴的细胞的范围。这个背部组织者区域显示了许多形态发生场区的性质: 假如把一个组织者分成几个片段, 移植后每个都可导致新个体体轴的形成, 部分组织者可以去除, 一个比例正常的轴系统仍可产生; 未定型的胚胎细胞移植到背唇将变成部分组织者, 两个组织者场区能融合形成一个轴系统 (Spemann, 1938; Holtferter 和 Hamburger, 1955)。

组织者场区的产生已经是大量研究的课题。这要追溯到引起卵皮质流动的受精过程 (Gerhart et al 综述, 1989)。将来形成背面的部分往往在精子入孔的对面, 在这里皮质流动使大的卵黄颗粒和动物极细胞接触紧密。32 细胞期, 最靠背部植物极的两个裂球获得了诱导其他细胞的潜能。据认为这个“Nieuwkoop 中心” (Gerhart et al, 1989) 释放 TGF- $\beta$  家族的生长因子, 诱导其上面的细胞使具有“spemann 组织者”的活性 (Smith et al, 1989; Thomsen et al, 1990)。在囊胚晚期用外科手术把组织者去掉一些, 会得到一系列具有前体轴缺陷的蝌蚪 (Stewart 和 Gerhart, 1990)。

组织者至少在两栖类是最经得起分子水平分析检验的形态发生场区。虽然抗体染色有兴趣的图形显示同源异型区蛋白和梯度场区有一定关系, 但还没有直接证据说明在形态发生中的因果关系。已经知道生长因子参与组织者的产生。也知道爪蟾中生长因子可以激活同源异型框基因的表达 (Rosa, 1989; Ruizi Altaba 和 Melton, 1989; Cho 和 De Robertis, 1990)。最近发现同源异型区蛋白的过表达可以给予爪蟾胚胎细胞以轴诱导的性质 (cho et al, 1991), 而且组织者专一的同源异型框基因在爪蟾原肠期表达 (Blumberg et al, 1991), 这些都鼓励我们设想这一领域的进展即将到来。

#### 结论和展望

将来要了解的主要问题之一是, 在均匀的间质细胞群体中核蛋白的一个环形场区或一个核蛋白的梯度是如何建成的。揭示出导致细胞间的信号传递机制对理解位置信息的实质将会有启发。

一个明显的候选者是维生素 A 酸, 它对肢发育

(Eichele, 1989)以及对同源异型框基因复合体的表达都有很大影响(Simeone et al, 1990)。在发育中的鸡翅芽中植入一颗含维生素A酸的小球,能使XIH box I表达梯度扩展很大,伴随这一现象的是在牺牲肢芽其余部分的情况下,形成过多前肩结构的畸形(它们是XIHbox I——表达细胞的正常命运)(Oliver et al, 1990)。就Hox 4复合体而言,在鸡翅芽前端植入一颗含维生素A酸的小球能诱发一系列同源异型框基因的活性。它导致Hox 4表达的镜像重复(mirror image duplication),这与维生素A酸引起的趾的重复正相关联(Izpisua-Belmonte et al, 1991; Nohno et al, 1991)。

很多其他分子也可能有关, N-CAM、肽生长因子,胞外蛋白Wingless(脊椎动物中是int-1)都已提到过。很多配体尚未搞清的受体已被分离出来(Evans 1988)。在果蝇中参与核调节蛋白激活(如notch, sevenless和bride-of-sevenless,参阅Banerjee和Zipursky, 1990)的细胞表面分子具有(Coffman et al, 1990)或者设想具有脊椎动物的同源分子。已经知道约有50种突变影响小鼠肢体的发育,也许有些突变就影响这个细胞间信号系统。表达与同源异型框基因的启动子融合的报告基因(reporter genes)梯度的转基因小鼠有助于这类分析。

这篇文章中,我们主要阐述了XIH box I基因,

脊椎动物约有40种不同的Antennapedia型同源异型框基因,没有理由认为它们的表达模式会没有多少意义。XIH box I之所以特殊,是因为较早的就有了与多种脊椎动物的同源基因存在交叉反应的抗体。

在胚胎发生中,XIH box I在具有很不同发育潜能的几个区段表达。首先,它在躯体前部将体轴分成一个同源异型区蛋白表达带,包含中胚层、中央神经系统和神经嵴,能观察到它沿着身体末端逐渐减少。其次,它在随着肢芽的发育产生的前肢的侧板中胚层中表达,在中胚层核中形成一个A-P表达梯度。最后,在羽毛的发育中,真皮中的环形区表达之后是羽芽的生长,并在每个羽芽中产生新的A-P梯度。这样,实验胚胎学称为形态发生梯度场区(Harrison, 1918; Huxley和de Beer, 1934)似乎具有一定分子基础,能够用可见的抗体标记物追踪。看来对于脊椎动物建立模式的问题已在胚胎发生中被一再应用,也许是在这些进行模式形成的细胞场区内提供了A-P极性。

我们已经讨论了同源异型区蛋白的梯度表达和移植实验中所表明的形态发生场区行为之间的相互关系。我们也强调了目前还没有直接的证明连接二者的因果关系。本文的目的在于激励大家思考和探索梯度场区——一个时机已经成熟地开展分子水平研究的发育问题。

(王莹译,曾弥白、姚曾序审校)

## 研究工作

# 人血管内皮细胞生长因子的提取及活性测定

张 惕 金慰芳 朱涵能 盛民立

(上海医科大学放射医学研究所 200032)

由单层内皮细胞组成的血管内膜,形成血液和组织之间的分界面<sup>[1,2]</sup>,成为有选择性的屏障。内皮细胞的结构及功能的改变在创伤愈合<sup>[3]</sup>,血栓的形成<sup>[2]</sup>、动脉粥样硬化<sup>[4,5]</sup>和辐射引起的出血<sup>[6,7]</sup>等方面都起一定的作用。然而,进行这些方面的研究需要大量体外培养的内皮细胞,但是人脐静脉内皮细胞(HUVEC)一直被证实很难进行长期离体培养,因此要解决

这个问题必须要有一种能提高体外培养HUVEC的有丝分裂能力的物质。

1979年,Maciag.T<sup>[8]</sup>等人在低温条件下,从新鲜牛脑中提取出一种分子量约为75KD,对热不稳定,能刺激HUVEC在体外生长的酸性蛋白,并称它为内皮细胞生长因子(EGCF),从而有效地解决了这个问题。本实验根据我室的条件,从新鲜小牛脑中提取出内