

在系统演化和个体发育中细胞遗传信息的变化

陈 汉 源

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

染色体基因携带的遗传信息编码在 DNA 核苷酸顺序上,由此转录成互补顺序的 mRNA,指导专一蛋白的合成。因而基因最终决定着细胞和机体的表型特征。由于科学的进展,细胞的遗传信息日益具备明确的物质内容,过去曾泛指染色体(质),嗣后则衡之以 DNA 含量,目前常以 DNA 顺序复杂性表示之,后者约相当于单一顺序 DNA 的核苷酸对数^[1]。至于遗传信息以何等状态存在于细胞内,究竟是稳定的?还是可变的?以何者为经常?以那种为偶然?历来对此有不同见解,至今仍然争论未决。

就系统演化而论,生物通过遗传才能保持种属的相对稳定,同种生物各个机体细胞的染色体组型是相同的,每单倍体 DNA 含量(C 值)也是恒定不变的。但变异是种属演化的根源,由于基因突变,并经重组、选择和隔离引起种群分化和形成新种。通常在较低等生物的演化中,随着机体结构和功能愈益繁复,细胞遗传信息含量—C 值也渐趋增加,而高等生物的变化则远非如此,出现 C 值矛盾现象^[1]。如硬骨鱼和两栖类的 C 值远超鸟类和哺乳类。同属各种生物的 C 值可以相差很大,甚至有的种内个体之间也会有所不同。

至于在个体发育中,由一个受精卵分化形成上百种不同结构和功能的特化细胞。从爪蟾的核移植试验,烟草和胡萝卜的单个体细胞或花粉的体外培养,表明已分化的细胞仍具有发育全能性。而且,细胞的分化状态也可改变,已特化的细胞仍能化生。显示在特化细胞中,原有的遗传信息并未改变,只是有选择地表现不同的基因活性,从而合成专一蛋白。如肌肉

细胞合成肌动蛋白和肌浆球蛋白,软骨细胞合成软骨素等。而且,即使功能旺盛的特化细胞仍只有单一的基因复本,如鸭网织细胞虽能合成 3×10^8 血红蛋白分子,却仅有少于 10 个珠蛋白基因复本。然而,另有充分的事实支持相反的观点。通常细胞分化状态是稳定的,分化特征能够长远地传递给子代细胞,说明特化细胞已发生不可逆的遗传本质的变化。实验证明在细胞分化中,遗传信息含量可以发生短时期的,半永久的,甚至永久性的变化^[2,3],这些变化或能逆转,也可固定下来,今择其要者分述如下。

(一) 系统发育中的遗传变异

种属演化基于种质细胞的遗传变异,包括:

(1) 基因突变。如血红蛋白和肌红蛋白基因是由同一祖先珠蛋白基因,经过重复、易位及点突变形成的。(2) 染色体畸变。如人 5 号染色体长臂与黑猩猩 9 号染色体长臂为同源,来自共同祖先,但经历染色体融合或裂解,以及易位。(3) 基因数量的扩大。如大肠杆菌每种 tRNA 基因只有一个,果蝇则有 13 个^[4]。每单倍体所有 rRNA 基因数目上,果蝇有 130 个,爪蟾却有 450 个。

在无脊椎动物演化中, C 值通常递增;但陆生脊椎动物之间,机体结构愈加特殊化的种属, C 值反而下降。整个生物界 C 值分布如下^[4]: (1) 原核细菌为 0.003—0.01pg (1 微微克 = 10^{-12} 克), 平均约 0.007pg, 如大肠杆菌 0.004pg。(2) 菌类为 0.09—100pg, C 值分布甚广。(3) 多数动物和某些植物为 1—5pg。其中 a. 爬虫类, 鸟类和哺乳类为 0.1—3pg。b. 软

体动物、环节动物和甲壳纲多为6pg。(4)一些动植物C值很大,达到10—100pg。如无尾类19—100pg,裸子植物4.2—50pg,被子植物1—89pg。鲵(*Amphiuma*)89pg,贝母属(*Fritillaria darissi*)89pg。曾经认为细胞核内DNA包含:(1)原级DNA约占6%,以编码蛋白或用于控制,这为机体生存所必需。(2)次级DNA约占94%,这对生存并非绝对必需,是由前者复制而来,但易于变化或失去。

(二) 半永久的遗传变异

通常新种的形成是漫长的过程,一时颇难觉察。但在较短时期内,亚麻可发生半永久的变异。当将野生的可塑型亚麻种子,在温室发芽期间,用高氮肥料可诱发成巨型植株,而高磷肥料则长成矮型作物^[5],前者比后者长度上高4倍,在体重上大6—8倍,在核内DNA含量上增加16%,其中rDNA则增高70%。如果两者的种子在低温中发芽,则又回复到可塑型。反之,如于温室中发芽,则不能复原。显示这种遗传变异可以半永久地遗传于后代。

与此类似的是核糖体基因的矫正。果蝇在每个NOR内(核仁组织者)成簇排列着130—250个18S和28S rRNA基因。而短毛突变型(bb隐性)NOR的rRNA基因则远低于130个。但其后代的雄性纯合子突变型可以回复到野生型。后者的rRNA基因数目已经矫正,达到130个以上^[6]。这矫正现象可遗传于后代,也可再失去。上述现象应与体质细胞的rRNA基因补偿区别,后者是不能遗传下去的。同样,rDNA的矫正亦出现于酵母中。这些现象或可视为种属演化中遗传变异的缩影。

(三) 核糖体基因的倍增

卵母细胞在成熟分裂的粗线期开始,在核内rDNA大量倍增,到双线期以后,又渐恢复原状。所转录的大量rRNA则储存在卵质中,以供后来胚胎发育之需要,但这并不影响

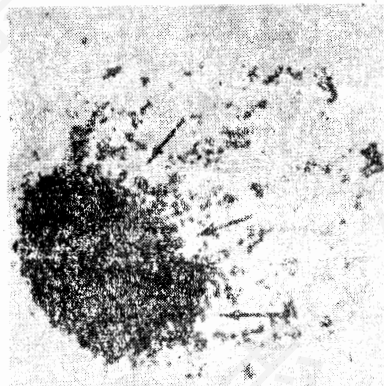


图1 爪蟾卵母细胞和³HrRNA杂交,银粒位于rDNA团块上

种属的演化。该现象分布很广,如爪蟾的卵母细胞核内,可形成独特的核帽结构(图1),使核内DNA总量从12pg增加到43pg。后来核帽散开,在核液中形成一千多个游离核仁,其内的环状双股DNA中,含有rRNA基因。爪蟾每单倍体原有450个28S和18S rRNA基因,经过滚环原理倍增后,卵母细胞约共有rRNA基因达 1.1×10^6 个^[7]。至于爪蟾精母细胞亦有较小量的基因倍增。

此外,蟋蟀和大蚊科卵母细胞核内出现额外的rDNA小体^[8],各占全核DNA的25%

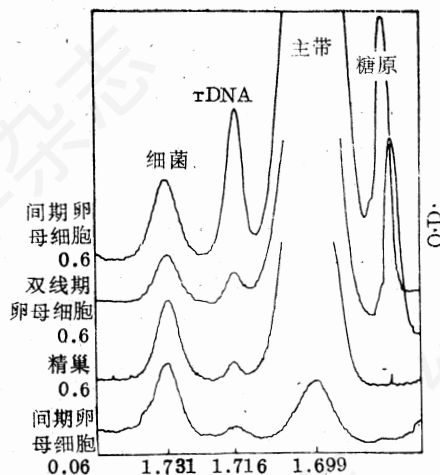


图2 蟋蟀生殖细胞DNA的密度梯度分析
间期卵母细胞含丰富的rDNA(1.716),其他为主带DNA(1.699),细菌DNA(1.731作标准)和糖原

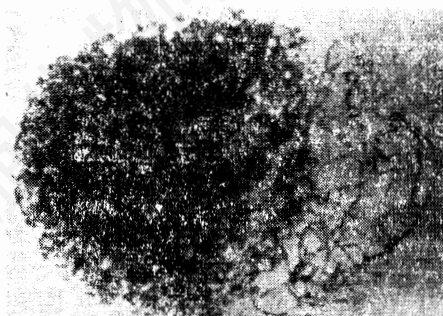


图3 水甲虫卵母细胞的Giardina小体, 细线为联会的染色体

和59%。前者每单倍体由171个rRNA基因倍增到800个复本(图2)。龙虱科水甲虫卵母细胞的额外rDNA特称Giardina小体(图3), 呈现特殊的细胞学特征。其他还有硬骨鱼和软体动物也都有基因倍增。核糖体基因倍增除发生于种质细胞外, 也出现于体质细胞中, 如洋葱根尖后生木质部细胞。

(四) 染色体削减、丢失和异染色质化

早已发现蛔虫胚胎的种质细胞保留全部染色质, 而体质细胞则削减异染色质部分(图4)。

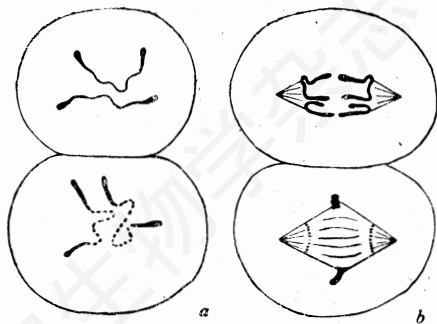


图4 马副蛔虫卵裂的染色质削减

- 第二次卵裂中期, 上面为种质细胞, 下面为体质细胞, 常染色质部分切断成许多小片
- 第二次卵裂后期, 下面的质细胞削减凝缩的异染色质, 常染色质小片则移向两极

因而两者各包含不同的遗传物质。马副蛔虫, 人蛔虫和猪蛔虫的体质细胞分别削减85, 34和33% DNA, 后者所削减的DNA均属重复顺

序, 或谓有一半是单一顺序^[9], 这些被削减的DNA为种质细胞的成熟所必需, 而与体质细胞的进一步分化无关。染色质削减现象亦出现于剑水蚤中。

更有甚者, 双翅目瘿蚊科胚胎在第五次卵裂时, 已进入胚质或极质的2个原始生殖细胞仍保留全部40个染色体, 而其他14个原始体质细胞则丢失32个E染色体, 只留下8个S染色体。尖眼蕈蚊科的染色体丢失更为复杂, 在间期核内, 凝缩的染色体穿过核膜到达细胞质中(图5), 最后消失。由于种质和体质细胞各丢失不同数目的L和X染色体, 因而两者各有不同的染色体组型。植物玫瑰亦有类似情况出现。

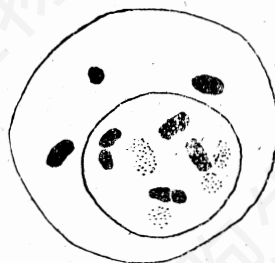


图5 尖眼蕈蚊科胚胎体质细胞丢失染色体, 凝缩的染色体穿过核膜到达细胞质中

至于盾蚧科雄虫体质细胞丢失一半染色体, 故成单倍体, 而蜡蚧科雄虫的父源染色体全都异染色质化。有袋类袋狸雌兽体质细胞丢失父源X染色体, 雄兽则丢失Y, 结果都成XO型。而袋鼠雌兽的父源X染色体异染色质化。雌性哺乳类体质细胞的两个X染色体之一随机失活, 这些都是永久的变化, 在动物一生中不能逆转^[10]。上述三类现象的表现形式虽各异, 其共同效果适与基因倍增相反, 均使体质细胞有效的遗传信息含量减少, 推想可能具有共同的分子机制——修饰酶和限制酶系统。

(五) 多线染色体的不同复制

多倍体和多线染色体细胞具有高度生物合

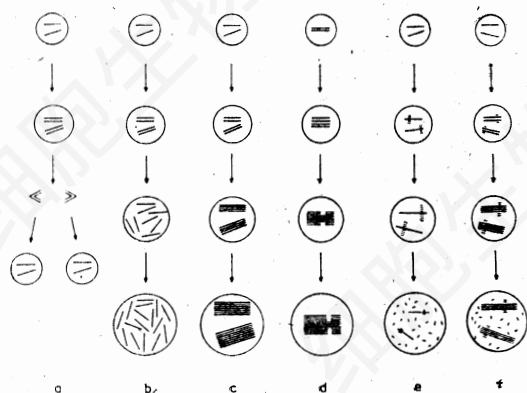


图 6 多倍体和多线染色体 DNA 的复制

- 由二倍体分裂形成两个相同的细胞
- 由二倍体完全复制成多倍体细胞
- 由二倍体完全复制成多线染色体细胞
- 多线染色体内一些 DNA 复制不足
- 二倍体的一些 DNA 倍增，并从染色体游离
- 多线染色体的一些 DNA 额外倍增，并从染色体游离

成能力，是细胞终端分化的特殊形式。通常认为双翅目多线染色体乃由二倍体完全复制而成，估计其 DNA 含量成 2^n 增加，但是实验证明其中有不同的复制(图 6)，各种不同的染色质或 DNA 组份的复制速度有所差别。结果造成相互之间在含量比例上的变化。

在一方面，细胞光度法结果显示，果蝇的唾液腺和大脑神经胶质细胞，以及蝗虫的中肠膨囊细胞核的 DNA 含量的增加明显脱离 2^n 比例。这主要由于其中异染色质复制不足。应用分子杂交表明，在果蝇(*D. virilis*)的 X 多线染色体中， β 异染色质相对地较少复制， α 异染色质甚至完全不复制。对其 DNA 进行密度梯度分析显示，所有三种卫星 DNA 在成虫体内不同组织中分布很不均等(图 7)。经过形状和大小的对比看出，果蝇(*D. melanogaster*)的 X 染色体的异染色质片段，原寡角摇蚊(*Procladius olivacea*)的第三对染色体和果蝇(*D. nasuroids*)的一对 V 型大染色体在二倍体细胞中都占有相当大的比例，而在多线染色体内复制比例均甚低。

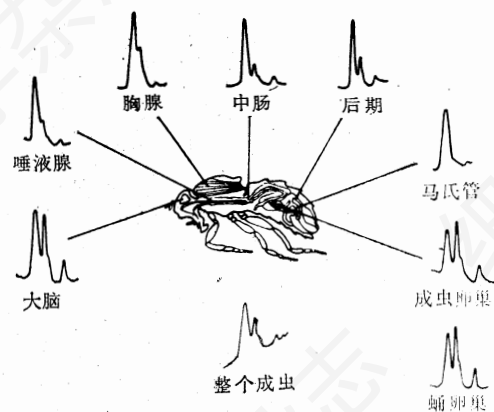


图 7 果蝇成虫和蛹各器官 DNA 的密度梯度分析

左侧第一峰为主带 DNA，其他为卫星 DNA。显示卵巢和大脑的卫星 DNA 比其他组织较高

另一方面，情况刚巧相反。一种摇蚊(*Chironomus melanotus*)多线染色体的着丝粒异染色质特别增大成 H 小体。西瓜果实多倍体细胞比分生细胞的异染色质显得额外丰富，显示异染色质相对地复制过度。以上说明在多线染色体和多倍体中，常染色质和异染色质的复制各不相同。

(六) DNA 胀泡和对应带的同质多形

多线染色体的胀泡代表基因功能的表现活性，而 DNA 胀泡则为结构基因选择性倍增的形态表征。如尖眼蕈蚊科幼虫多线染色体的少数几个带能形成 DNA 胀泡(图 8)，除合成



图 8 尖眼蕈蚊科幼虫唾液腺多线染色体的 B₂ DNA 胀泡

RNA 外，并提高胸腺嘧啶核苷的渗入，待此等胀泡消退后，这些带内 DNA 比原来增高 2—4 倍。现已证明，由 DNA 胀泡 B₂ 所转录的 mRNA 能合成专一的多肽 5。而多肽 4 的合成则由 C₃ DNA 胀泡所控制^[11]。

与上述现象直接相关,两个同源多线染色体的对应胀泡或对应带常呈同质多形,在尖眼蕈蚊中,一个胀泡的DNA含量明显大于另一对应胀泡。两个品系摇蚊(*C. thummi thummi*)和(*C. thummi piger*)的C值原来相差27%,在其杂交体的两个同源多线染色体之间,某些对应带的DNA含量可以相差2,4,8或16倍^[1]。甚至在同一品系不同储备体摇蚊的杂交体中亦是如此。如果说“一个带代表一个基因”,这些结果正好说明两个等位基因的信息含量明显不同。

(七) 专一顺序和结构基因的倍增

鸡胚肢芽的间叶细胞在分化成软骨细胞的决定时刻,核内中等重复顺序发生倍增。如果此时以溴脱氧尿嘧啶核苷处理肢芽,则阻止软骨的分化。与此相似,鸡胚神经网膜的神经上皮分化成典型的视网膜细胞,后者能被氢化可的松诱导产生谷酰胺合成酶。这时同样也有中等重复顺序的倍增。而且细胞的形态分化和酶诱导均可被溴脱氧尿嘧啶核苷所阻止^[12]。这些中等重复顺序可能用于控制,以打开或关闭专一的基因活性,从而决定细胞的分化前途。

至于在体外培养的小鼠成淋巴细胞(二倍体)中,抗药型比敏感型在氨甲喋呤抗性上大100,000倍,二氢叶酸还原酶活性高300倍,前者的酶蛋白含量占全部可溶蛋白的10%,酶的mRNA和基因复本均增加几百倍。其他如小鼠S180和L1210,以及中国仓鼠肺和卵巢细胞中均有类似的基因倍增。在稳定的抗药型细胞中,这些倍增的基因复本位于染色体的额外均质染色区中,在不稳定的抗药型中,基因复本位于双体微小染色体上^[13],这些倍增DNA达到1000kb(一千碱对),而一个酶基因包括编码和插入顺序仅有45kb。限制性内切酶分析表明均质染色区和双体微小染色体的DNA顺序相似,这是显示结构基因倍增的突出例证。

(八) 体细胞遗传重组

种质细胞经过遗传重组,造成后代的个体差异,而体细胞的遗传重组,可能导致细胞分化。如人早期胚胎合成血红蛋白 $E_2(\alpha_2\epsilon_2)$,新生儿合成 $F_1(\alpha_2\gamma_1^1)$ 或 $F_2(\alpha_2\gamma_2^2)$ 。成人则合成 $A_1(\alpha_2\beta_2)$ 或 $A_2(\alpha_2\delta_2)$ 。推测在未分化的成红细胞细胞中, α 基因分开排列,其他 ϵ , γ^1 , γ^2 , β 和 δ 基因则前后依次连锁着。当细胞开始分化后,位于前方的基因逐步被切除,后方的基因才能相继与起动基因连接,因而逐一表现功能^[14],才能依次合成各种血红蛋白。

遗传重组也出现于B淋巴细胞中,这在受到特定抗原刺激后,分化成浆细胞,每一细胞各产生一种特异抗体。在杂合细胞中,抗体的轻链和重链基因虽各有许多同族异型基因簇,但只有其中之一被激活,称为等位基因相斥,如小鼠骨髓瘤细胞只产生 κ 轻链。而且,在未分化的小鼠淋巴细胞内,抗体基因DNA所包含的许多不同的恒定区和可变区,各自分别成簇排列在染色体上,在受到特异抗原免疫的细胞中,通过形成DNA侧环,并被切除后插入等重组过程,致使基因DNA重新排列,将特异的恒定区和可变区DNA片段连锁在一起,最后装配成专一免疫球蛋白基因^[14,15]。因而每个浆细胞就只能产生一种专一抗体了。可见遗传重组是高度特化细胞合成特殊功能的专一蛋白的必要手段。

(九) 代谢DNA和遗传DNA

原生动物的纤毛虫的多倍体大核能转录大量RNA,专管营养代谢,而二倍体小核不合成RNA,只负责有性繁殖。表明DNA在细胞功能上有代谢和遗传之分,前者易于变化,后者较为稳定。但是,从二倍体大核原基形成大核并非是简单地多倍化,核内染色质经过错综复杂的改造过程。尾棘虫的大核形成经历三个阶段:(1)大核原基内有1/3染色体复制成多线染色体,其余染色体逐渐消失。(2)所有多线

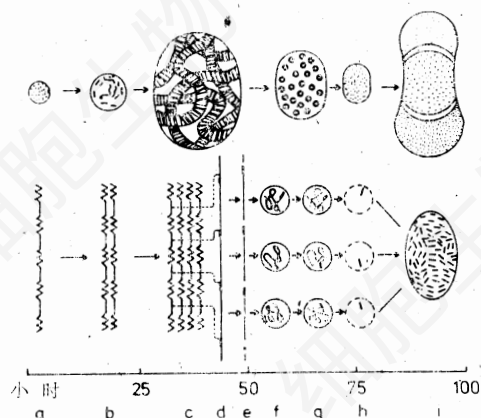


图9 尾棘虫在大核成熟过程中染色体(上)和DNA(中)的变化,以及发育时期(下)

- 接合后形成的合核,每一染色体由一细长纤维组成
- 早期多倍化,染色纤维增多
- 形成多线染色体~带,一带间
- 带一带间单位是一个基因,其间以重复顺序连接
- 多线染色体崩解
- 带一带间单位被膜包围分割成囊
- 重复顺序分解
- 核内小囊破裂
- 由未分解的DNA倍增成大核

染色体被分割成许多小囊泡,而且溶失90% DNA。(3)由剩留的DNA(2C)复制为成熟大核(60C)(图9)。这些过程分别相当于染色体丢失,染色质削减和染色质的不同复制。假如大核每单倍体只有1个DNA分子,那末大核的顺序只及小核顺序的1.6%,由这些顺序复制4096倍形成整个大核^[1]。至于尖毛虫属小核DNA含量为2C,含有三种卫星DNA,大核则为180C,只有主带DNA。两者的顺序复杂性分别为 $(3-25) \times 10^8$ 和 6×10^7 。DNA分子长度各为45和0.75微米。这表明从合核失去90%以上基因组,再由剩留的DNA复制1—2千次形成大核^[1]。结果大核就只保留代谢DNA,而丧失全部遗传DNA了。

在多细胞动物中,除固有的遗传DNA之外,仍然显示代谢DNA的变化和作用。我们发现雌性高氏后异刺线虫肠细胞核DNA随生殖周期而起落。在排卵、卵裂和胚胎发育时

期,核内DNA增高达8C。当孵化成幼虫,并排出体外后,又下降到2C。雌虫的生殖器官细胞亦有类似变化^[16,17]。

(十) 环境因素的影响

常春藤的幼年和成年植株的形态迥然各异。前者叶掌状,茎爬行,后者叶卵圆形,茎直立。当成年植株经过切割后,再生的新枝仍为成年型。若以赤霉素或高温处理,则可转变为幼年新枝。而且,幼年和成年叶细胞核DNA含量也有差别,分别为8.0和6.7pg^[18]。经复性动力学测得的基因组大小各为5.10和1.83pg。查明前者为二倍体,后者是四倍体,但后者并非由前者的全部DNA的完全复制,而由其中部分顺序倍增所形成。显示常春藤随着年龄的增长,核内遗传信息经过复杂的重建,从而导致植株形态的结构改变。

至于在体外培养的兰科原球茎中,经2,4-双氯苯氧基乙酸处理,促使正分化的实质性细胞的异染色质比常染色质多复制5次,前者达1024C,后者为32C,羟基脲可阻遏这现象的发生。此外,曾经报道外源DNA可诱导细胞分化。从菸草的生长花芽的茎杆提取DNA,处理营养枝上的叶芽,促使后者开花^[19]。将这DNA加热后速冷,则作用增高,经DNase消化后,其作用消失。但从营养枝杆来的无此效用。显示不同组织来源的DNA对细胞分化的诱发作用是不同的。

总之,关于细胞遗传信息的稳定和可变两种对立概念争论的深入,能够加速揭示种属演化的内在规律,而且势必推进细胞分化原理的阐明。曾经提出细胞分化的假设^[20],认为细胞内存在DNA修饰酶系统,经过DNA-胞嘧啶甲基化酶和DNA-甲基胞嘧啶氨基水解酶作用,以S-腺苷基甲硫氨酸为甲基的供体,修饰DNA顺序的碱基,可能由此启动胚胎的发育程序,并决定细胞的分化途径。假设常能推动科学研究的发展,但要经过正确周密的实验来证明,并将接受客观事实的严格检查。

参 考 文 献

- [1] Bostock, C. J. and A. T. Summer, 1978. "The eukaryotic chromosome." 13—66, 233—264.
- [2] D'Amato, F., 1977. "Nuclear cytology in relation to development." 111—202.
- [3] Nagl, W., 1977. "Endopolyploid and polytrent in differentiation and evolution." 1—283.
- [4] Ayala, F. J., 1976. "Molecular, evolution." 179—199.
- [5] Cullis, C. A., 1975. in Markham, R., D. R. Davies, D. A. Hopwood and R. W. Horne, "Modification of information content of plant cell." 27—36.
- [6] Ritossa, F. M., 1968. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 60: 509—516.
- [7] Brown, D. D. and I. B. Dawid, 1976. in Fulton, C. and A. O. Klein, "Explorations in developmental biology." 165—173.
- [8] Cave, M. D., 1979. *Chromosoma*, 71: 15—27.
- [9] Roth, G. E., 1979. *Chromosoma*, 74: 355—371.
- [10] Sager, R. and R. Kitchin, 1975. *Science* 189: 426—433.
- [11] Winter, C. E., A. G. de Bianchi, W. R. Ierra and F. T. S. Lara, 1977. *Chromosoma*, 61: 193—206.
- [12] Strom, C. M., Moscona, M. and A. Dorfman, 1978. *P. N. A. S.*, 75: 4451—4454.
- [13] Schimke, R. T., 1980. "7th international Chromosome Conference oxford," 6.
- [14] Metzler, D. E., 1977. "Biochemistry." 1000—1045.
- [15] Brack, C., Hiram, M., Lenhard-Schuller, R. and S. Tonegawa, 1978. *Cell*, 15: 1—14.
- [16] 陈汉源、朱季美, 1965. 实验生物学报, 10: 205—214.
- [17] 陈汉源、张昂、王根凤, 1980. 实验生物学报, 13: 167—183.
- [18] Kessler, B. and S. Recles, 1977. in De-lachapelle, A. and M. Sorsa, "Chromosome today." 6: 227—246.
- [19] Wardell, M. L., 1976. *Plant physiol.*, 57: 835—861.
- [20] Halliday, R. and J. E. Pugh, 1975. *Science*, 187: 226—232.

天然杀伤(NK)细胞的研究进展*

叶 庆 炜

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

细胞免疫生物学领域中的又一最新发展, 是在研究特异性细胞毒性效应中, 发现了另一种与特异性免疫作用无关的天然细胞毒性机制。介导这种天然细胞毒性反应的效应细胞, 在表面特性和功能上显然不同于T、B淋巴细胞和巨噬细胞。它来自正常动物或人体的脾脏、淋巴结、周围血液、骨髓和肺脏中。这种细胞的天然细胞毒活性不依赖于抗体或补体, 能够在体外溶解或破坏各种靶细胞(包括肿瘤细胞、造血干细胞、被细菌或病毒感染的细胞等), 因此被称为天然杀伤细胞(Natural Killer Cell, 简称NK细胞)。鉴于这种NK细胞不仅是机体抗御肿瘤监管机制中的重要效应细胞之一,

而且在调节正常干细胞增殖和分化, 维持自身稳定中起着重要作用。因此, NK细胞具有颇为广泛的生物学意义。

一、NK细胞的表面特性

对于NK细胞的特征有着不同的描述, 但啮齿动物和人类的NK细胞也存在着许多共同的性质。已经发现, 先天性无胸腺小鼠中的NK细胞往往具有较高活性, 这显示了NK细胞的非T细胞性质。通常, 在抗Thy-1血

* 本文承姚鑫教授审阅, 葛锡锐同志提出宝贵意见, 谨致谢意。