



英国、瑞典细胞生物学领域研究的 现况和发展趋向 (I)

中国科学院赴英国、瑞典细胞
生物学考察组

姚鑫 陈瑞铭 王亚辉

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

李靖炎

(中国科学院昆明动物研究所)

根据中国科学院与英国皇家学会、瑞典皇家科学院的协议,由我院派出细胞生物学考察组,一行四人,赴两国考察。从去年10月13日出国,11月20日回国。在英国逗留三周,访问了伦敦、牛津、剑桥、爱丁堡和格拉斯哥五城市,十五个研究单位。其中包括MRC哺乳动物发育研究组,伦敦大学动物系, Chester Beatty 肿瘤研究所,帝国癌症基金会 Lincoln Inn Field 癌症研究所;牛津大学 Sir William Dunn 病理学院;剑桥大学遗传系、MRC 分子生物学研究室、Strangeways 研究室、以及 ARC 动物生理研究所;爱丁堡大学遗传系及动物遗传研究所、分子生物学系,动物系和 MRC 哺乳类基因组研究组;格拉斯哥大学细胞生物学系和 Beatson 肿瘤研究所,还参观了 ARC 所属藻类与原生动物培养中心。在瑞典两周期间,访问了斯德哥尔摩和乌布萨拉两城市的十一个研究单位和一个工厂。其中包括 Karolinska 医学研究院的肿瘤生物学系、医学生物物理学系、医学细胞遗传学系、免疫生物学系以及 Karolinska 医院的肿瘤病理研究所;斯德哥尔摩大学 Wenner Gren 研究院的亚显微结构系和免疫学系;乌布萨拉大学的动物系、分子生物学系和微生物学系以及瑞典农业大学化学与分子生物学系;还有 Pharmacia 药厂。参观期间,两国科学家都给予我们十分热情友好的接待,多数实验室为我们的访问作了充分的准备和详细的介绍,并赠送我们许多图书、资料,以及药品、菌种等。可惜由于全部日程安排非常紧凑,许多单位只能是走马观花,浮光掠影。加以这些单位的研究工作涉及面很广,我们四人的专业和知识面有

局限,因此颇有如入宝山,应接不暇,美不胜收之感。这里只能就闻见所及,对两国细胞生物学的概貌和动向,作一个简略的介绍。

细胞生物学是用现代物理、化学方法,从分子水平、亚显微水平和细胞整体水平来研究细胞的生长、发育、遗传、变异、运动、以及免疫等基本生命现象的生物学的一门新的分枝。从五十年代以来,它的产生和发展,可以说是细胞学和分子生物学不断融合的结果。英国和瑞典在这两个领域都有深厚的传统,拥有许多国际性研究中心,先进设备和正在生命科学的前沿工作着的权威科学家。他们研究的问题、观点和动态,也大致反映了当前细胞生物学发展的趋向。

这次对两国的访问,给我们第一个深刻的印象就是细胞生物学和分子生物学这两门分枝学科的相互渗透,愈来愈深,研究领域犬牙交错,很难划分。这从所参观单位的名称和工作内容就可以看出来。许多分子生物学研究所,都设有专门实验室研究细胞的生长、分化和运动等问题,而一些细胞生物学研究单位也有不少深入到分子水平的工作。愈来愈多的分子生物学家以细胞为研究对象。他们非常熟悉生长、发育和遗传等生物学问题,而许多细胞生物学家,尤其是年青一代,也非常明瞭和熟练地掌握分子生物学的概念和技术。不少古典细胞学问题,如早期发育中核质关系,性染色体和胚胎分化的关系等问题。在细胞生物学家和分子生物学家的通力合作下,都取得了惊人的进展。

另一个突出的印象是 DNA 重组技术和单克隆抗体技术在细胞生物学中的广泛应用。过去十年,在分子遗传学发展基础上形成的 DNA 重组技术(或称基

因工程),使有可能将分离的基因转移到细菌中扩增,得到足够数量的供研究的纯基因。这就为研究高等生物的基因结构,以及生长、发育和肿瘤发生的遗传控制,提供了有效的手段。单克隆抗体技术(monoclonal antibody technique)是英国剑桥分子生物学研究室 Kohler 和 Milstein 1975 年在体细胞杂交技术的基础上建立起来的。这一新技术除应用于免疫生物学(淋巴细胞亚群和巨噬细胞表面标记及受体的分化、细胞相互作用因子等),还广泛应用于发育生物学、肿瘤生物学和移植免疫方面,细胞表面抗原的研究。可以说几乎我们参观过的所有研究单位都有人应用这一技术来研究细胞生物学或分子生物学问题。除去生物学基础研究之外,它对于医学也有很大应用价值。例如,不久将可望用单克隆抗体来解决肿瘤诊断(如白血病分类)、器官移植中组织分型等医学难题。因此,有的科学家把单克隆抗体技术和 DNA 重组技术,相提并论,誉为促进现代生物学的革命变化的两大新技术。

至于一般实验室设备,也比较先进。给我们印象很深的是组织培养不用专门隔离的消毒室,而是在一般实验室中安放一个垂直式超净台就可以顺利进行,既节约空间,又方便。各种生化仪器在数量上也很充分,例如爱丁堡大学分子生物学系就有各种超离心机 11 台,其它高速低温离心机十余台。药品、材料供应充分。加样自动化,大大提高了工作效率。电子计算机的应用,所参观的实验室多限于数据处理。在细胞生物学的应用方面,只有在格拉斯哥大学细胞生物学系看到一台图象识别仪正按装调试,准备研究细胞分类和染色体识别。在乌布萨拉大学分子生物学研究所见到一台计算机图象显示系统(Computer graphic system)能将 X 射线衍射数据在荧光屏上从任一角度显示大分子的构象。不过这已不属于细胞生物学的范围了。

除细胞生物学与分子生物学的交叉渗透外,细胞生物学和医学生物学的紧密结合是两国的又一特点。瑞典的 Karolinska 医学研究院,建立于 1810 年,历史悠久,是国际上久负盛名的生物医学中心。七十年代初期,瑞典政府又在乌布萨拉大学建设一个现代化的生物医学中心,集中分子生物学、细胞生物学、病毒学、微生物学、生理学、病理学、药理学等在一起,还设有一个公用的计算中心,共同研究生物学和医学问题。英国政府的医学研究委员会(MRC)也十分重视生物学基础研究和医学的联系。它的办法与瑞

典有些不同,不是建立规模庞大的生物医学中心,而是在大学和研究所内资助已有良好基础和发展条件的实验室,开展医学生物学研究。例如,剑桥分子生物学研究室是分子生物学的发祥地, MRC 就在那里附设一个肿瘤生物学研究组;伦敦大学生殖生物学有基础,就在那里设立一个哺乳类发育研究组,如此等等。两国办法虽有不同,重视生物学基础研究和医学的结合却是共同的,是很有远见的。

正由于上述几方面的原因,细胞生物学研究工作也就大都分散在分子生物学、遗传、发育、免疫、肿瘤等单位进行,接受医学和农业等政府部门的资助。研究的问题和涉及面,非常广泛。为了方便起见,分为几个方面简述于后。

一、真核基因组及染色体的结构和功能

由于过去三十年分子生物学的进步,在微生物上阐明了遗传的物质基础和蛋白质合成的遗传控制的一般规律,真核生物基因组结构及其功能表现的调控,尤其是染色质的结构对基因转录活动的调控,已成为细胞生物学家和分子生物学家目前共同关心的主要课题。英国格拉斯哥 J. Paul 教授领导的 Beatson 肿瘤研究所在这方面进行了系统的和非常出色的工作。

1. 染色质结构与血珠蛋白基因表达的调控

近十年来,该研究所以血珠蛋白基因作模型,研究哺乳动物和人类正常发育和异常发育(红血球遗传缺陷和 Friend 红白血病)中基因表达的调控问题。

研究真核基因调控的困难,首先在于结构基因的含量不到细胞核 DNA 总量的百万分之一,用通常的生化方法,很难想像能得到纯基因进行研究。七十年代初期出现的 DNA 重组技术提供了在细菌内纯系扩增基因,得到足够数量的纯基因进行实验的机会。据 Paul 教授介绍,为了抢时间,他们利用新建实验楼地下室,自行设计改装,花费了四万英镑和 18 个月时间于 1977 年底建成了设备完善,切合实用和安全要求,能进行人类基因操作的负压实验室。主人热情地带领我们实地参观了这一实验室,详细地解释了整个实验室的结构、安全警报系统和应急措施,并作了示范。所有排出的空气必须通过最严密过滤去除最小的病毒颗粒。所有用过的器械、液体等必须经过高压消毒才能取出。工作人员也必须通过“空气锁”(向内流动的负压气流)进出。目前,他们已经利用这一实验室在细菌扩增了小鼠和人类正常的血珠蛋白基因以及人的异常血珠蛋白基因(地中海贫血病),并正计划测定

血珠蛋白基因的全部顺序,包括结构基因和调控部分。

真核细胞基因调控研究的另一困难是染色体结构比原核生物的相应结构复杂得多,除 DNA 外,还存在于组蛋白和非常多种多样的非组蛋白(酸性蛋白)。J. Paul 实验室利用重组的染色质系统,比较不同组织的酸性蛋白对珠蛋白基因转录活动的影响,证明只有用造血组织(胎儿肝)的酸性蛋白参与重组的染色质才能转录珠蛋白 mRNA,而其他组织的酸性蛋白都不行。如果把造血组织的这种专一的酸性蛋白引入非造血组织的重组染色质中,就能选择地激活珠蛋白基因的转录活动。这些事实表明酸性蛋白中存在有组织专一性的成分,重组时能选择地识别并激活特定的基因的功能活动。酸性蛋白和 DNA 的这种相互作用的本质还不清楚。目前他们正用含小鼠珠蛋白基因 DNA 片段和酸性蛋白重组成只含单个基因的“微染色体”来研究酸性蛋白与 DNA 哪一区域结合,以及这种相互作用对珠蛋白基因活动的影响。另一方面,他们还用含珠蛋白基因 DNA 片段做成的吸附柱试图把酸性蛋白混合物中的有效成分“钓”出来。

地中海贫血症是在热带和亚热带疟疾流行地区常见的遗传性贫血症,其特点是某些血红蛋白肽链的丢失或缺,造成血球脆弱,易被破坏。Paul 与牛津大学 D. Weatherall 合作,证明某些地中海贫血症是由于 α -珠蛋白基因的缺失。某些 β^0 地中海贫血症中,网织红细胞内虽然缺少 β -珠蛋白 mRNA,不能合成 β -链,但是不能发现 β -珠蛋白基因本身的缺失。这很可能是基因调控部分发生了突变。研究这一类遗传疾病,对于弄清楚人类的基因调控是有助益的。

2. 染色体高度重复顺序DNA(卫星DNA)

真核细胞染色体结构的另一特点是存在高度重复顺序(卫星 DNA),它们的功能至今尚无满意的解释。爱丁堡 MRC 哺乳类基因组研究组的 E.M. Southern 和 H. J. Cooke 博士等兼用细胞杂交和 DNA 重组技术研究这一问题,取得进展。他们把人成纤维细胞和小鼠细胞融合,从杂交细胞中选择出保留一个(如 x 或 y 染色体)或少数几个人染色体的细胞株,然后,从这些杂交细胞株分离 DNA。杂交细胞 DNA 用限制性内切酶消化后,再通过分子杂交和凝胶电泳分离出人的专一的卫星 III DNA (satellite III DNA)。将这一 DNA 片段和噬菌体(λ gtWES)重组后,转移到细菌内扩增。经过这样复杂手续得到的纯卫星 III DNA 片段,便可以用来做限制性内切酶切点图谱、原位杂交和顺序分析,从而确定其在染色体上的分

布和结构。用上述方法, H. J. Cooke (1979) 证明从纯化的人卫星 III DNA 纯系扩增得到的两个 DNA 片段,用分子杂交检测,彼此没有交叉反应,一个来自 1 号染色体,另一个来自 y 染色体。目前,他们正在分离人 X 染色体的高度重复顺序,并研究 DNA 甲基化和 X 染色体失活的关系。这方面我们以后还要提到。

3. 细胞核中染色质的结构状态

真核细胞间期核内,染色质的结构状态还不甚清楚。牛津大学病理学院 P. R. Cook 博士提出一个新技术,能得到完整无损的核内 DNA 纤维供电子显微镜研究。他们用非离子型去污剂和 2M NaCl 处理人 HeLa 细胞使它们解体,释放出除去了组蛋白的核内 DNA。这些完整的 DNA 包裹在 RNA 和蛋白质(主要是细胞骨架蛋白)形成的囊内,称为类核体(Nucleoids)。将这些类核体铺展开来,用电子显微镜观察便可以看到完整的 DNA 纤维存在着精美的、螺旋状的超螺旋结构。如果事先用 γ 射线照射细胞,或用解旋酶处理, DNA 纤维断裂,电镜图象就完全改观,只能看见散乱的 DNA 纤维,螺旋状结构便消失了。

细胞核内 DNA 的高级结构,以及如何包装成染色体,也是未完全解决的问题。帝国肿瘤基金会肿瘤研究所的 L. M. Franks 博士正用超高压电子显微镜来观察完整的细胞核内染色质的高级结构,试图为解决这一难题开辟门径。

4. 染色体分带和基因定位

从六十年代末期出现的染色体分带和细胞杂交技术基础上发展起来的体细胞遗传学是目前高等动物和人类细胞遗传研究的主流。

染色体分带技术应用于正常和病理细胞的核型分析,在英国和瑞典两国,从专业研究单位到临床医院都已相当普遍。瑞典 Karolinska 医学研究院医学细胞遗传学系的 T. Caspersson 教授是定量细胞化学,同时也是染色体分带(Q带)技术的开创人。他已年逾古稀,按照瑞典法律从他原来工作多年的地方退休后,转到 Karolinska 医院肿瘤病理研究所继续研究工作。目前他正应用自己建立起来的各种定量细胞化学技术于肿瘤细胞的病理诊断,尤其是癌前期细胞、恶性程度分级和生长状态等方面的鉴别。Caspersson 退休后,医学细胞遗传学系有关染色体形态学研究由 L. Zech 博士继任领导。她主要用染色体分带技术从事肿瘤细胞(淋巴肿瘤和白血病)的核型分析,以及各种环境因子诱发的染色体畸变等方面工作。在访问这一单位时,她带领我们参观 Caspersson 教授研制的

各种显微分光光度计、干涉显微镜和显微荧光光度计,从四十年代最早的样机到装有计算机控制的自动扫描定量测定记录装置、以及调节染色体分带图象反差度的现代化仪器,新旧并陈,琳琅满目,象一座定量细胞化学历史博物馆,给人留下深刻的印象。

利用异种细胞融合后染色体的丢失,结合分带技术和基因产物(通常是酶)的生化分析,便能进行高等动物和人的基因在染色体上定位的工作。目前在染色体上已定位的人基因已有两百多个。英国牛津大学 Sir William Dunn 病理学院 Harris 实验室和瑞典医学细胞遗传系 Ringertz 实验室都是这一领域的先驱。Harris 实验室的 S. J. Goss 博士用 X 射线照射杂交细胞,引起染色体断裂。他根据对断裂频率和基因产物的相关性的复杂的统计处理,便能确定某基因在染色体上的位置。Karolinska 肿瘤生物学系的一位科学家比较研究几种人细胞株,发现凡是 β -2-微球蛋白含量不正常的细胞株,总伴有 15 号染色体长臂 q^{14} - q^{21} 段的缺失,从而把 β -2-微球蛋白基因定位在 15 号染色体的这一段上。

核酸分子原位杂交技术是基因定位的另一个重要方法,最初应用在 18S, 28S rRNA 基因, 5S RNA 基因在染色体上的定位。爱丁堡动物遗传研究所 K. W. Jones 博士把这技术扩大到性染色体的进化、细胞分化(分化细胞中 mRNA 的定位)和病毒基因定位等广阔范围。他用珠蛋白 cDNA 作原位分子杂交,发现前红血球母细胞(Proerythroblast)在早期细胞质内只有很少珠蛋白 mRNA,而晚期,或从前红血球母细胞转化为嗜硷性红血球母细胞时,就出现大量珠蛋白 mRNA。肌肉分化过程中,单核成肌细胞内测不出肌球蛋白重链 mRNA,而在融合的肌管中就大量出现。他们目前正在纯系扩增肌球蛋白重链基因,研究肌肉萎缩病中基因表达的障碍。

二、个体发育和细胞分化

个体发育中,细胞的生长和分化是细胞生物学研究的一个重要方面。由于分子遗传学的进步,蛋白质合成遗传控制中心法则的发现揭示了发育和遗传在分子水平的内在联系。另一方面,分子生物学技术的进步,核酸分子杂交、基因分离、分析和重组技术等也提供了在分子水平研究发育和遗传关系的有效手段。因此,发育过程中基因表现的调控已成为这方面研究的主要趋势。在英国尤其注意哺乳动物方面的研究,特别是 X 染色体在胚胎发育中的功能。许多研究还结

合畸胎瘤进行。伦敦大学 MRC 哺乳类发育研究组在这些方面的工作很出色。他们建立起来的胚胎冷冻保存技术,对畜牧业和医学都有重要实用价值。低等脊椎动物胚胎发育,主要研究两栖类卵母细胞核糖体基因和 5S RNA 基因表现的调控,以及器官终末分化和转变分化中基因的调控。剑桥分子生物学研究室,爱丁堡大学动物遗传研究所在这些方面都有突出的贡献。

1. 两栖类早期发育的分子生物学

MRC 剑桥分子生物学研究室 G. B. Gurdon 博士对两栖类早期发育过程中,核质关系问题作过许多出色的工作。早在六十年代,他就在爪蟾证明分化的细胞核(如蝌蚪肠上皮、肾和表皮的细胞核)移植到卵母细胞内仍保持全部发育能力,并证明细胞质能控制核内基因的表现。他还用卵母细胞,建立起一个研究真核基因表达,把转录和翻译偶联起来的非常灵敏的测试系统。

近来,他又深入到纯化的单个基因调控的研究。把纯化的基因(如 SV40 基因, 5S RNA 基因等)注射到卵母细胞核内,证明能正确地转录;进一步还试图把与注入的 DNA 结合的基因调控蛋白分离出来。目前已经得到初步纯化的基因调控蛋白。他还与其他实验室合作,把纯系扩增的 rRNA 基因和质粒重组后,注射到爪蟾卵母细胞核内。然后用电子显微镜直接观察 rRNA 基因的转录活动,对基因构造和功能提供了许多细节。

注射到卵母细胞核内的重组 DNA 分子呈环形,并装配成染色质,呈现串珠状的核小体构造。在转录区域 rDNA 几乎完全伸展,其上有 RNA 聚合酶密集排列,而 DNA 丝两侧新产生的 rRNP 纤维逐步加长,呈羽毛状,和卵母细胞核内源 rRNA 基因的转录图象十分相似。这说明卵母细胞核内注射技术是研究纯化基因的结构和功能的一个很好的系统。我们去实验室参观时, Gurdon 博士正在做把 5S RNA 基因注射到核内的实验,并特地为我们作了解说和示范。据他讲,进一步计划把纯化的基因用内切酶分割成小段,重组后注射到卵母细胞核内,以确定含有基因的 DNA 片段各段落的结构和功能。这一类工作对于了解真核基因结构及其功能调控无疑是十分重要的。除此以外,爱丁堡大学分子生物学系 P. J. Ford 博士对爪蟾卵球发生和成熟过程中,信息的储存和变化,以及 rRNA 基因, 5S RNA 基因结构也取得不少的出色成果。

这里顺便还应提到 Karolinska 医学细胞遗传系

B. Daneholt 博士关于摇蚊 (*Chironomus tentans*) 位于Ⅳ号唾腺染色体之 Balbiani 环 (BR1 和 BR2) 上面控制蚕丝蛋白合成的基因的转录活动图象的研究。这些基因的活动受半乳糖浓度调节, 基因转录产物 (75S RNA) 控制蚕丝蛋白的合成。在铺展的染色质标本上电子显微镜观察到的转录活跃单位呈“羽毛状”, 和前述卵母细胞 rRNA 基因的转录图象很相似。除家蚕的蚕丝蛋白基因外, 这是直接观察到转录活动的第二个结构基因。特别有兴趣的, 根据和铺展标本的比较, 还可以在超薄切片上追踪 Balbiani 环转录活跃单位的活动情况。转录不活跃的染色质上有成串的核小体规则地分布, 而转录活跃区域 DNA 丝伸展呈袢状, 其两侧有小球形的 RNP 颗粒通过短柄和 DNA 丝相连。它提示这些小球 (直径最后达 500 Å) 可能是转录过程中逐渐加长的 RNP 卷曲形成的, 在铺展的标本上伸展开来便呈现“羽毛状”。以上这些结果似乎说明, 染色质伸展形成袢也许是基因转录的一个条件, 并在基因表现的调控中起重要作用。

2. 晶体分化

爱丁堡大学动物遗传研究所 R. M. Clayton 博士很有系统地研究了鸟类晶体分化的遗传控制。晶体纤维细胞分化过程中, 晶体蛋白的组成逐次变化, 先出现 δ -晶体蛋白, 然后出现 β -和 α -晶体蛋白。有关的 mRNA 种类和丰度也相应地变化, 并且在分化晚期 mRNA 的稳定性显著提高。这提示可能存在转录后的调控。

在一定培养条件下, 神经视网膜、色素上皮或虹彩都可能分化成水晶体, 这一现象称为转变分化 (Transdifferentiation)。利用核酸分子杂交的方法 (用以晶体蛋白 mRNA 经逆转录酶作用制备的 cDNA 作探测分子), 她发现晶体细胞的总 mRNA 中主要为晶体蛋白 mRNA, 只含有极少量能与神经视网膜或色素上皮的 RNA 杂交的成分。另一方面, 色素上皮或视网膜等可能转化成晶体的组织内, 正常情形下就存着极微量的晶体蛋白 mRNA。反之, 不能转化的组织 (如肌肉) 则完全没有。在前一类组织的转变分化过程中, 晶体蛋白 mRNA 迅速增加到 1000 倍以上。转变分化初期, 晶体蛋白 mRNA 被优先翻译; 随晶体蛋白 mRNA 量的增加, 翻译速度又自行减慢下来, 似乎存在着一个反馈调节机制。这些事实说明分化细胞表型的专一性是由于细胞内存在的有限几种基因产物 (mRNA) 被选择地大量翻译的结果, 并不是由于只产生该类细胞特有的一种专一的 mRNA。视

网膜等组织中存在极微量的晶体蛋白 mRNA, 可能是它们转化为晶体纤维细胞的必要条件, 或许可以作为代表它们的发育潜能的标志。目前这个实验室正利用 DNA 重组技术, 增殖晶体蛋白基因, 以便深入地研究这些问题。

鸡胚视网膜细胞转化为晶体细胞的反应能力依赖于胚胎的年龄。Clayton 发现视网膜细胞内晶体蛋白 mRNA 含量在正常发育过程中逐渐减小, 最后消失。这种变化趋势和对转变分化刺激的反应能力是平行的。胚胎发育时期, 晶体蛋白 mRNA 水平与视网膜细胞转变分化能力之间的这种关系为细胞对诱导刺激的反应能力的分子基础提供了一些线索。

另一方面, Clayton 实验室还利用晶体发育有遗传缺陷的突变品系 (Hy-1 和 Hy-2) 分析晶体分化的遗传控制问题。她们发现突变基因可能影响晶体蛋白 mRNA 的转录、翻译或稳定性, 从而改变晶体纤维细胞内晶体蛋白的组成和细胞膜的表面特性, 造成晶体发育的异常。除去上述基础理论研究外, 她们还注意研究白内障、离体培养的晶体上皮细胞的癌变等有关医学实际问题。

3. 哺乳类发育的研究

英国研究动物发育的一个特点是很重视哺乳动物方面的研究。这可能是因为哺乳类 (尤其是小鼠) 有许多遗传背景清楚的纯系和细胞株, 非常有利于发育和遗传关系的研究。过去对发育进行实验研究的障碍, 随着体外受精、胚胎培养、移植和冷冻保存的成功, 已得到逐步克服。“嵌合体”形成, 细胞融合等技术也提供了新的实验分析手段。其次, 这方面的研究在医学上的意义也可能是一个重要的原因。法国国家科研中心的 Monod 教授倡导法国全国有关发育和遗传的研究, 统一使用小鼠作材料, 尤其重视畸胎瘤研究, 也可能是出于同一考虑。

(1) 小鼠卵的单性发育

哺乳类卵可受各种理化因子的刺激引起单性发育。伦敦大学 MRC 哺乳类发育研究组 D. Whittingham 博士研究钙离子和卵激动的关系, 发现缺钙或用钙离子载体 A23187 处理小鼠卵都能引起单性发育, 提示卵内束缚的钙离子的释放可能对卵的激动起重要作用。

(2) 哺乳类胚胎的低温保存

Whittingham 1972 年最先在低温保存哺乳类胚胎方面获得成功。小鼠、牛、羊、家兔的卵和胚胎 (桑椹期) 在液氮中可保存长达五年的时间而保持发育

能力。冷藏的卵经加热融化后,体外受精,再移植到“假母”子宫内后,也能够正常地发育。

胚胎冷冻保存成功对哺乳类遗传和早期发育的实验研究提供了便利条件。目前供遗传学研究的小鼠突变系和遗传重组品系的数目愈来愈多,任何实验室在人力和物力上都愈来愈难以全部收集保存。通过建立小鼠胚胎库就有可能经济地保存所收集到的全部珍贵的品系。利用胚胎冷冻保存还可以研究高等动物许多世代内基因的漂移情况。胚胎冷冻保存的优点在于能保存来自双亲的全套基因组。因此,这一技术结合胚胎移植,对未来畜牧业的发展很可能产生比精子冷藏和人工授精更大的变革影响。

(3) “嵌合体”

将具有不同遗传组成的胚胎合并成“嵌合体”,对于研究生长控制、性细胞分化,以及癌细胞的发育潜能等问题都有很多用途。爱丁堡大学遗传系 Falconer 教授利用身材大小悬殊的两个品系的小鼠卵,形成“嵌合体”,分析组成各器官的来自两品系的细胞的比例与器官和整体生长的关连,借以了解生长的遗传控制。伦敦大学 MRC 哺乳动物发育研究组 McLaren 实验室利用遗传组成不同的卵形成的“嵌合体”,造成生殖腺和生殖细胞的性染色体组成不同的情况,研究生殖腺内性细胞的分化。

牛津大学病理系 R. L. Gardener 和 V. E. Papaioannou 实验室将带有遗传标记的恶性畸胎瘤细胞注射到小鼠胚泡内,能参加正常胚胎发育,分化为正常组织,结果形成一个“嵌合体”。注入细胞的发育潜能可以根据遗传标记(同功酶型)在嵌合体内的分布而追溯出来。这一实验结果说明胚胎癌细胞在正常发育环境中,可以正常化。他们计划进一步把癌细胞直接注射到胚泡的内细胞团里面,以便更细致地观察癌细胞和胚胎细胞的相互作用,以及能否参加生殖细胞的形成,产生有功能的生殖细胞。总之,这一方法应用潜力很大。可以选择离体诱变得到的各种突变细胞株,注射到胚泡内,建立各种人类遗传病实验模型,或者注射带有突变等位基因的细胞来研究发育问题。

附带在这里提到,剑桥 ARC 动物生理研究所 Moore 博士把小鼠四细胞时期的裂球分离开来。每一个裂球包上一层明胶,然后再移植到母体内,使它们发育成四个同卵孪生小鼠。利用这些遗传上相同的动物,分析先天和后天因素对行为的影响。

4. 性染色体和胚胎分化

哺乳动物雌性的性染色体是 XX 型,而雄性是

XY 型。由于补偿基因剂量平衡的需要,雌性动物早期发育过程中,两条 X 染色体中任一条(来自母方或父方的)随机地失活。这种失活是不可逆的,因此成年雌性动物的细胞组成,就含有来自母方或父方 X 染色体的细胞而论,是镶嵌性的。胚胎发育中, X 染色体何时开始失活以及这种失活在卵子发生和胚胎发育中起什么作用?这些都是未解决的问题。

伦敦大学 McLaren 实验室利用和 X 染色体连锁的 HPGT 酶作指标,对单个小鼠胚胎的测定证明在卵裂期两条 X 染色体都是活跃的,而从囊胚期开始有一条染色体失活。进一步研究还发现 X 染色体与胚胎分化有密切关系。胚泡期 X 染色体失活只发生在滋养外胚层,而内细胞团两条 X 染色体都仍然活动。原肠形成时,初级内胚层有一条 X 染色体失活,而上叶(Epiblast)两条 X 染色体仍活动。总之,随着每一个胚层的分化,一条 X 染色体失活;而未分化的干细胞内两条 X 染色体仍保持活动。X 染色体失活与胚胎分化的这种关联提示整条 X 染色体功能活动的“开闭”机制与细胞分化中常染色体区域选择地“开闭”有某些相似,可能存在类似的基本调节机制。

爱丁堡大学动物遗传研究所 K. W. Jones 研究了蛇类性染色体(W)的进化和在卵子发生中的作用。他发现印度毒蛇 W 性染色体上的卫星 DNA 在进化上是保守的,在整个蛇亚目都存在。他先把卫星 DNA 经 RNA 多聚酶转录成 c-RNA,再用 c-RNA 作为探测分子做原位杂交,证明卫星 DNA 普遍分布在此亚目各种的雌蛇的 W 染色体上,而原始的无毒蛇鳞科则不存在。这提示 W 性染色体上卫星 DNA 顺序的出现是蛇类 W 和 Z 性染色体分化的初步标志。他认为由于这一段高度重复顺序的出现,使 Z 和 W 染色体复制的时间不同步,从而减少了它们之间的交换频率。这可能是性染色体分化的前提。非常有兴趣的,毒蛇 W 染色体卫星 DNA 能与果蝇、人的 X 染色体的高度重复顺序杂交。由此可见性染色体高度重复顺序在进化上是非常保守的。

另一方面,他还研究了 W 染色体在卵子发生中的作用。W 性染色体的卫星 DNA 和常染色体的主卫星 DNA 在体细胞和生殖细胞的间期核内是浓缩的。然而,用核酸分子原位杂交发现在卵子发生的一定时期,W 性染色体的异染色质完全分散,而常染色体的异染色质区域仍保持在浓缩状态。往后时期,W 性染色体重又浓缩,而常染色体的异染色质区域则分散。总之,W 性染色体的分散与卵子发生存在一定的关