

细胞生物学的发展历史和现状

王亚辉

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

细胞是生物的形态结构和生命活动的基本单位。从施旺和施莱登(1838-39)提出细胞学说,奠定了细胞学的基础以来,细胞学一直是生物学的基础学科,尤其是对遗传和发育的研究起了巨大的推动作用。

过去三十多年来分子生物学取得的巨大成就,深刻地影响了生物学的各部门,特别是细胞学,使这一门古典的学科面貌一新,从基本上是以描述和实验形态研究为主的学科,发展为从分子水平、亚细胞水平,以及细胞整体水平来探讨细胞生命活动的学科,即细胞生物学。细胞生物学主要是从细胞的不同结构层次来研究细胞生命活动(生长、分裂、分化、遗传变异、运动和兴奋传导等)的基本规律。从生命结构层次看来,细胞生物学位于分子生物学与个体生物学之间,同它们互相衔接,互相渗透。因此,细胞生物学又是一门承上启下的学科,和分子生物学一起是现代生物学的基础。

许多科学家预言未来的世纪是生物学的世纪,也就是说生物学在整个自然科学中将成为起带头作用的学科。从分子水平研究细胞生命活动的细胞生物学,无疑将在其中起很大的作用。为了展望细胞生物学未来的发展,有必要对其发展历史和现状作一个简短的回顾。

一、从古典细胞学到细胞生物学

科学上的重大发现总是和技术上的进步分不开的。十七世纪显微镜的发明,把人眼的分辨能力扩大了几百倍,导致了细胞的发现。胡克(Robert Hook)在1665年用他自己制造的复式显微镜观察软木的薄切片,发现软木是由许

多小室构成的,并把这些小室称为细胞。其实,当时他看到的是植物细胞的细胞壁。在早期显微镜工作者一百多年的观察积累起来的资料的基础上,施莱顿和施旺在1838—1839年间,提出细胞学说,宣称一切生物,从单细胞到高等动、植物都是由细胞组成的;细胞是生物的形态结构和功能活动的基本单位。从单细胞生物到人,形形色色的生物都具有共同的细胞结构,从而论证了生物界的统一性和共同起源。后来的研究还证明遗传性是通过细胞分裂延续的,而生殖细胞是上一代和下一代之间联系的环节。所有的多细胞生物都是通过受精卵的分裂、生长和分化形成的。正由于所有生物或者是一个细胞,或者在其生命史的一个时期曾经是一个细胞。因此,发育和遗传等基本生命现象的奥秘最终都要从细胞中去找寻。于是,细胞学说的建立开辟了近代生物学的一个新时期,促使细胞学发展成为一门科学,并渗透到生物学其他各部门(胚胎学、遗传学、生理学和病理学等),使后者获得巩固的基础。

1. 古典细胞学时期

细胞学的理论主要是在对遗传和发育的研究中发展起来的。1900年孟德尔定律的重新发现是古典细胞学发展中的一个转折点。生殖细胞成熟分裂中,染色体的行为给孟德尔定律提供了合理的解释。随后,性染色体和性连锁遗传等现象的发现为染色体遗传学说奠定了基础。另一方面,对动物发育机制,特别是早期发育中细胞谱系的分析,又促使细胞学和胚胎学结合起来。于是在细胞水平对遗传和发育研究的基础上,从上世纪末到本世纪30年代之间出现了

古典细胞学蓬勃发展的时期。E. B. 威尔逊以《发育和遗传中的细胞》(1896)为题的名著,标志着古典细胞学发展的主流。由于摩尔根的“基因论”对生物学产生的重大影响,细胞核和染色体的研究风靡一时,成了细胞学研究的主要内容。甚至在一段时期内,细胞学几乎成了染色体学,而细胞质的研究差不多完全被忽视了。

2. 实验细胞学时期

从四十年代中期开始,细胞学出现一个新的方向——实验细胞学,对细胞功能活动进行实验研究,才开始扭转了上述偏向。实际上,实验细胞学的起源还可追溯到 R. G. Harrison (1909)对离体培养的神经细胞突轴生长的研究,由此产生了组织培养术和对活细胞的研究。从对体外培养的活细胞的实验研究逐渐扩大到细胞膜透性、营养、生长、运动和行为等各种功能活动方面。这一时期的特点是细胞的实验研究和生物化学的结合以及电子显微镜的应用。细胞化学技术(酶和核酸等在细胞内定位,免疫荧光技术等),细胞器的分离,放射性同位素技术等新技术的应用,特别是电子显微镜的应用为细胞形态结构的研究打开了一个新局面。从五十年代电子显微镜在细胞研究中开始得到广泛应用以来,就好象光学显微镜初发明后的情况一样,人们的视野扩大到亚显微,甚至分子水平,开辟了细胞学发现的新时代,许多悬而未决的问题都逐次迎刃而解。细胞核独占鳌头的倾向被扭转,细胞质的研究也开始成为重要的研究领域。线粒体、内质网、高尔基体和溶酶体等细胞器的精细结构和功能的相继发现,大大加深了对细胞的物质和能量代谢、蛋白质合成、分泌等基本生命现象的认识。尤其重要的,由于各种酶和结构蛋白在细胞内有一定的空间排布(各位于特定细胞器上或基质内),它们催化的各种化学反应——细胞的代谢,因而也是按顺序进行的。细胞内大分子的这种结构体制,使得细胞内各种代谢活动能按一定的时空秩序性,有条不紊地进行,从而呈现出种种复杂的生命现象。

五十年代末期, Brachet 和 Mirsky 主编的五巨册《细胞.生物化学,生理学,形态学》,标明了这一时期的研究主题,并汇集了这一时期的主要成就。对细胞的研究,从早期着重形态描述,进而扩展到对活细胞的观察和实验研究。在形态方面,从显微水平深入到亚显微水平的研究;从单纯的形态描述,进入到形态与功能和生化研究的结合。对细胞结构和功能研究的层次越来越深入,对细胞生命活动研究的范围也越来越广阔。生物学各分支学科——遗传学、胚胎学、生理学以及进化的研究都力求深入到细胞水平和亚细胞水平来解释各种生命现象。细胞学的发展已经超出原来的范围,向细胞生物学转变。然而,现代意义的细胞生物学却是随分子生物学蓬勃发展而兴起的。

二、细胞生物学与分子生物学的关系

过去讲分子生物学对细胞生物学发展所起的影响比较多,而细胞学对分子生物学发展所起的重要作用却较少受人注意。其实,细胞生物学和分子生物学是相互影响,相互渗透,肩并肩地成长起来的。

四十年代遗传学研究表明基因是在染色体上呈直线排列,有一定空间大小的实体,进而提出了基因的化学本质是核酸还是蛋白质,基因如何工作,在发育中如何起作用等问题。四十年代至五十年代初期,细胞学的重要发现深刻地影响了分子生物学思想的发展。Casperson 定量细胞化学的研究阐明在一定物种中细胞核 DNA 含量是恒定的,相当于单组染色体含量的整倍数。J. Brachet 根据对生长旺盛的胚胎细胞的研究结果,提出 RNA 可能与细胞内蛋白质合成有关。从这些发现逐渐导致蛋白质合成的遗传信息传递途径是从 DNA 到 RNA 的设想。Briggs 和 King, 以及 Gurdon 等人的细胞核移植实验,提示体细胞核可能保持全部的发育能力。因此,细胞分化不是由于细胞核内遗传物质发生不可逆的改变,而是由于基因选择激活的结果。这就向分子生物学提出了发育过程中

基因表达的调控,即如何按一定的时空秩序表达的问题。

另一方面,分子生物学,尤其是分子遗传学的成就,对细胞生物学的形成和发展起了决定性作用。分子遗传学最突出的成就之一是在微生物上阐明了蛋白质合成遗传控制的信息传递途径,以及基因作用的操纵子学说。然而,这些在微生物(原核细胞)上取得的成果,并不能完全代表和推广应用于高等生物(真核细胞),解释其遗传和发育现象。真核细胞的遗传物质(染色体)的组成和结构,核质之间、细胞及其环境之间的关系极为复杂,由此调节和控制着基因作用系统,使其按一定时空秩序表达,从而实现细胞的分化和个体的发育,并在成体细胞中表现出种种特殊的功能活动。生物学发展到今天,已不能停顿在以微生物为材料的分子遗传学研究了。这就是为什么从七十年代开始,国际上的注意力转向有复杂结构的真核细胞的原因。一些过去研究噬菌体、大肠杆菌荣获诺贝尔奖金的分子遗传学家,如 Brenner, Benzer 等,纷纷转向研究线虫、蚂蟥和果蝇的发育和遗传问题,代表了这种发展趋势。

三、细胞生物学的主要发展趋势和前沿领域

细胞生物学的范围虽然很广泛,而其核心却可以归结为遗传和发育的关系问题。遗传是在发育过程中实现的,而发育又要以遗传为基础。在分子水平上,这两方面的问题是交织在一起,难以划分的。当前细胞生物学的主要发展趋势就是用分子生物学及物理、化学方法,深入研究真核细胞基因表达的调节和控制,以期从根本上揭示遗传和发育的关系,以及癌变的原因等基本生物学问题,并为遗传工程技术应用于高等生物,改变细胞遗传性提供理论依据。

现仅将当前细胞生物学中最引人瞩目的几个前沿领域简述如下:

1. 真核细胞基因组的结构及其表达的调控

由于 DNA 重组技术和杂交瘤技术在真核细胞上的广泛应用,目前已有可能得到足量的高等生物(包括人)的纯基因和 DNA 片段进行结构分析,并把改变结构的基因导入卵或细胞,或在离体系统内研究基因结构和表达的关系。目前这些方面已取得不少重大发现。真核细胞的结构基因是不连续的,被内含子分隔成许多片段。基因表达过程中,转录的 mRNA 需要经过“剪接”加工,才能成为有功能的分子。基因组的结构不是静止的,而是变动的。发育过程中,基因和基因片段可能局部扩增或移位。果蝇移位因子能有效地把特定性状的基因传递到后代生殖细胞系中,一代一代遗传下去。癌基因的发现提示 DNA 移位重排可能是各类癌变(包括病毒和化学致癌)的共同原因。这一系列发现说明移位因子在遗传变异、发育、进化和细胞癌变中都可能起重要作用。利用包含同一定发育时期有关的细胞质调控因子和纯基因的离体系统,还可以在分子水平进行发生遗传学研究。总之,这些新发现和新方法的应用正推动细胞生物学朝着分子水平揭示发育、遗传和进化的内在联系的方向,十分迅速地发展。

2. 染色体生物学

染色体是真核细胞主要的遗传信息贮存器,结构极其复杂。细胞的生长、分化和功能活动中,基因表达都受到染色体(质)水平的调控,而染色体的结构在不同发育时期也有复杂的变化。基因的激活和转录只能在特定的染色质结构形式,即活性染色质中进行。因此,在不同发育时期或病理状态(肿瘤或遗传病),从染色体结构的不同水平(DNA,核小体和染色体高级结构)来研究染色体的结构与功能(遗传信息的贮存、复制、传递、利用和改造)是细胞生物学和分子生物学共同关心的十分重要的问题。近年来发现左旋 DNA(Z-DNA)并证实其在染色体上存在。这一发现可能对染色体构造和基因表达调控的研究可能有深远的影响。

3. 细胞膜、膜系和受体

细胞膜在细胞识别、通讯、离子通透、兴奋传导和能量转换等方面起重要作用。膜的结构和功能是细胞生物学和分子生物学又一个共同关心的大问题。受体是细胞对激素、神经递质和生长因子等化学信号识别和起反应的关键分子。受体接受信号后如何通过跨膜机制调节细胞生长和其他功能活动是一个正在深入探讨的问题。用单克隆抗体分离细胞膜受体,进而分离相应的基因将会促进对更多受体的分子结构的了解。有关受体的知识是了解许多疾病的原因(如重症肌肉萎缩症是由于抗乙酰胆碱受体的自身抗体将受体封闭,引起功能失常所致)和药物设计的重要理论根据。此外,细胞间连接(间隙连接、紧密连接等)及其在细胞通讯,兴奋传导和胚胎发育中的作用也是一个活跃的前沿领域。

在植物细胞方面细胞膜与植物抗逆性(抗寒、抗旱、抗盐碱等)的关系;叶绿体的光合膜与能量交换;以及特定离子积累(如某些海藻细胞中大量积累碘、铀等)的膜机制等特殊问题也受到注意。

4. 细胞骨架和核基质(Nuclear matrix)

细胞骨架的研究,特别是近来用超高压电镜发现微梁系统,加深了对细胞质结构的认识。细胞骨架(包括微丝、中等纤维和微管)及微梁系统的结构和功能(细胞运动、形态建成和维持、物质的传输和在细胞内局限分布,以及生长调控等),特别是与细胞表面的相互作用更引人注意。核基质,也可以认为是细胞核内的骨架,它和基因转录产物的加工、传送,细胞周期中染色体的包装和行为有密切关系,也受到重视。1981年冷泉港定量生物学术讨论会以细胞骨架为主题,也表明了细胞生物学家和分子生物学家的一部分注意力开始从基因逐渐转向基因产物如何建造成细胞结构的动向。

5. 细胞的生长、分化和癌变

细胞生长、分化和癌变的关系是细胞生物学中长期未解决的难题,直到最近才有了突破

的希望。近年来发现反转病毒的癌基因和正常细胞的生长因子、生长因子受体基因在顺序上存在同源性,由此提出细胞癌基因(或原癌基因)的概念,并认为细胞癌变可能是这些基因突变(插入、重排)或过度表达的结果。原癌基因的结构在进化上有很大的保守性,在无脊椎动物(如果蝇),甚至在低等真核生物(如酵母)也证实其存在。因此,可能对细胞的正常生命活动和胚胎的生长、分化有重要意义。癌基因、原癌基因的发现把生长因子、生长因子受体和细胞生长、分化和恶性转化联系起来。深入探讨其间的关系无疑对了解细胞正常生长、分化和癌变机理都是有重要意义的。

6. 细胞社会学

生物体是由细胞构成的多层次的复杂系统。细胞社会学是从系统论观点出发,研究细胞群中细胞间的相互关系(包括细胞间识别、通讯、相互作用等),以及整体和细胞群对细胞的生长、分化等活动的调节控制。胚胎发育中的许多问题(如图式发生、胚层分化、形态发生运动、组织分化和器官形成、再生等)都可从细胞群的特性、行为和相互作用等方面进行研究。这是一个从细胞生物学过渡到发育生物学的重要边缘领域。

7. 细胞工程

细胞工程是指细胞水平的遗传操作,以及利用离体培养细胞的特性,生产特定的生物产品,快速繁殖或培育新的优良品种。这种遗传操作可以在细胞结构不同层次上进行:细胞整体水平(细胞融合),细胞器水平(核移植、改变染色体倍性或组成),而外源基因导入细胞则属于和基因工程重叠的范围了。

目前细胞工程发展很迅速。植物方面,如花药培养、单倍体育种,花卉、苗木的快速繁殖,动物方面如杂交瘤技术均在生产上得到广泛应用,有的已形成新产业。然而,细胞工程的进一步发展还有待细胞生物学上许多关键性理论和技术问题的解决。植物细胞工程方面有待解决的理论问题,如减数分裂的诱导,染色

体倍性的调节,体细胞的全能性,以及雄性不育机理,远缘杂交的遗传机制等。杂交瘤技术方面还有待方法学上的突破,如人-人B淋巴细胞杂交瘤、致敏淋巴细胞的体外转化为瘤细胞等探索性研究。合成含有特定遗传信息和能分裂的染色体用于高等生物遗传工程是国内外已受到重视的,长期的努力目标。

总之,从胡克发现细胞三百二十年来,细胞学经历了古典细胞学时期、实验细胞学时期演变成细胞生物学后,前进的步伐越来越快了。目前国外细胞生物学的研究非常活跃,发展非常迅速。联合国科教组织曾经选择细胞和大脑这两项课题作为生命科学中要特别注意发展的领域,足以见其重要。我国细胞生物学基础理论研究十分薄弱,研究水平、规模和设备条件和国外先进水平相比,差距都很大。很多重要领域,特别是分子细胞学工作几乎还是空白。

原来较有基础的工作,如卵球的成熟、受精,胚胎诱导和细胞分化,细胞核穿壁和核更新等长期中断后,正在逐渐恢复。不过近年来在细胞核移植,癌细胞培养,胚胎表皮传导,单倍体育种等方面仍取得了一定进展。中国科学院和不少大学建立了专门的研究所、实验室并设置了细胞生物学专业培养专门人才。过去从事遗传学和胚胎学研究的许多人也转到细胞生物学方面来,新培养出来的青年人才也不断参加细胞生物学的行列。只要我们准确地把握着细胞生物学发展的主要趋向,集中力量狠抓关键问题的研究,同时大力开展细胞及细胞器结构与功能以及细胞工程方面的基础性问题的研究,就有可能较快地提高我国细胞生物学水平,加快整个生命科学前进的步伐。

(1985年11月14日)

高等植物细胞突变体

何卓培

(中国科学院上海植物生理研究所)

引言

植物细胞和组织培养研究的是人工控制的、无菌的条件下培养植物的离体部分,它的培养和繁殖,及其有关的生物学问题。利用植物组织培养材料遗传的保守性,有:种质库、无性系快速繁殖(试管苗)和生产有用化合物等方面的研究与应用。利用其遗传的变异性,则有:体细胞无性系变异(somaclonal variation)、体细胞杂交、突变体和基因工程等方面的研究与利用;后三者也属于遗传操作的范畴。突变所涉及的遗传操作对象,可以从基因内的一个突变子到染色体组或细胞质基因组、质体基因

组。用植物组织培养作突变研究的有利之处是:可以用单倍体、二倍体以至多倍体细胞,在比田间试验小得多的空间和较短的时间,于人工控制的环境中操纵大量的基因组,在植株水平回收所发生的遗传修饰(性状)。其不利之处是:在细胞水平上选择出的变异不一定都在再生植株水平上表达;与微生物相比,植物细胞的群体倍增时间(一般约2天)慢得多,和难以得到单细胞(除非是原生质体)的材料。

1959年 Melchers 和 Bergmann 首先报告

本文部分内容曾在植物分子遗传和基因工程研究工作会议(1984年12月上海)上报告。