

把握科学发展趋势, 加强 发育生物学研究

马 诚

(发育生物学研究所)

【摘要】 现代发育生物学是在胚胎学、细胞生物学、分子生物学、遗传学、生物化学等研究成果的基础上发展起来的, 目前已成为国际生命科学领域中最活跃的分支学科。它的研究目标是探讨发育—分化—调控的机理。在美国, 发育生物学研究倍受重视, 这方面的研究已发展到包括 20 多个分支领域。我国开展发育生物学研究已有几十年历史, 原中国科学院副院长童第周先生对我国发育生物学的发展作出了很大贡献。总的说, 我国已有了一定的基础和研究力量。但是与先进国家比较, 显然重视程度和支持强度都还很不够。当前国际上正掀起发育生物学研究高潮, 我们应不失时机地大力加强和发展我国的发育生物学研究。

一、引言

发育生物学是研究生物体从精子、卵子的产生、受精、发育、生长至衰老、死亡过程中变化机理的科学, 即研究生物体整个生命周期发展变化的科学。

对生物体发育的研究虽已有很长的历史, 但形成发育生物学却是从本世纪 50 年代开始的, 是在胚胎学、细胞生物学、遗传学、生物化学和分子生物学等发展的基础上建立起来的一门新兴学科, 是这些学科交叉渗透的结果, 其中尤以胚胎学和细胞生物学的贡献为最大。

可以认为, 发育生物学的发展标志着生命科学研究的新的里程碑。发育生物学的发展经历了由形态描述深入到机理的探讨, 从器官、组织和细胞水平发展到分子水平的长期过程。到今天, 发育生物学已成为现代生物学最活跃的分支学科之一。

二、国内发育生物学的基础和成就

我国的发育生物学研究是从原生物学部主任、中国科学院副院长童第周教授开始的。他是我国实验胚胎学的主要开创人。在他的带领下, 我国在发育生物学研究的某些方面已居于国际先进行列。

在两栖类(蟾蜍和黑斑蛙)胚胎发育的研究工作中, 童第周和他的同事着重探讨了胚胎发育的极性或轴性。发现纤毛运动方向的决定时间是在原肠期和神经板初期, 并证明外胚层纤毛运动的方向决定于中胚层, 除中胚层有这种感应力外, 内胚层也具有相同的能力, 而且这种感应能力在个体发育中是自颈部向尾部逐渐分化而来的, 清楚地指出了胚胎发育的极性现象; 以

后又进而证明这种感应能力代表了一种未知的物质,它通过渗透作用,诱导和决定纤毛运动的方向。

文昌鱼在生物进化中占有重要的地位。关于文昌鱼胚胎的正常发育,经过美国著名胚胎学家 Conklin 数十年的研究,才有了比较全面和正确的认识。但以往利用实验方法进行研究在国际上寥寥无几,只能采用简单的摇动方法分离卵的分裂球。童第周等利用显微解剖技术,在文昌鱼的胚胎发育机理研究方面作出了重要贡献,主要有:(1)发现文昌鱼卵子的调整能力比海鞘卵子大,但发育的类型基本上与海鞘卵子相似。分裂球的调整能力一方面依靠器官形成的物质基础,另一方面还要根据细胞间的相互作用,而正常的发育是二者精密配合的结果。据此证明文昌鱼的卵子发育不是过去学者所认为的嵌合类型,而是具有一定的调节能力。(2)在上述基础上,他又探讨了文昌鱼卵子的预定器官形成物质的分布区域,制出了 8 细胞和 92 细胞时期器官预定形成物质的分布图谱,为早期胚胎的器官分化提供了实验依据。还进一步指出文昌鱼的动物性半球决定个体的极性和器官形成,但这要受到来自植物性半球的物质的诱导和制约。(3)通过外胚层细胞与内胚层细胞的移植实验,证明外胚层细胞的可塑性比内胚层细胞大,它容易受内胚层细胞影响转化为内胚层细胞。内胚层细胞也能改变性质转化为类似外胚层的细胞,但需要有适当的环境,这方面的工作支持了关于核质关系研究的论据,即细胞质在个体发育中有改变细胞遗传表达的能力。

在鱼类的胚胎发育能力和细胞遗传方面,我国科学家也作出了卓越的贡献。实验结果证明在金鱼的卵子中,赤道线以下植物性半球的一边,卵子含有一种有关原肠形成或个体形成的物质,它在发育过程中由植物性极逐步流向动物性极,是形成完整胚胎不可缺少的物质基础。

细胞核和细胞质的关系,是发育生物学界一个最感兴趣的问题。童第周和我国发育生物学家、细胞生物学家围绕这一问题作了大量研究。实验结果使他们确信在个体发育过程中,细胞核和细胞质的关系,不是细胞核决定细胞质发育的方向,而是细胞质来决定细胞核的命运。同时,核与质之间有着非常密切的关系,在构造上可以互相沟通,在功能上也可以互相激发和抑制。在这一理论概念的指导下,他们首次在鱼类中采用细胞核移植的方法,以进一步探讨核质关系,证明细胞核和细胞质对于鱼类发育的模式和某些遗传特性的表达均有影响,中科院发育所和中科院水生所以及长江水产研究所、广西水产研究所等单位共同进行硬骨鱼类细胞核移植的研究,培育出用有性杂交方法很难获得的有食用价值的远缘核质杂种鱼,并具有繁殖后代的能力。其中由鲤鱼细胞核和鲫鱼细胞质配合而形成的核质杂种鱼,目前已繁殖到第四代。它们的某些形态和生化性质显示出来自鲤鱼和鲫鱼双方的影响。童第周等还探讨了鱼类杂交细胞与纯异种细胞在发育功能上的差异。指出杂交核来自父本和母本各一半,它与细胞质的矛盾小,不同种间的移植核为双倍体的异种核,与细胞质的矛盾大,所以前者的发育比后者好。性状的出现不是完全由细胞核控制,细胞质也有它的作用。关键在于核质间相互的关系。细胞核在异种的细胞质内,经过多次分裂和复制后,在生理或性质上,有发生变化的可能。此外,他们还结合胚胎分割和胚胎移植技术,获得了小鼠和家兔的嵌合体动物以及家兔的一卵多胎动物。关于植物细胞和原生质体的分裂分化,我国科学家已在几十种植物中,用原生质体培养完成了整个植物再生发育过程的研究。

在受精和胚胎发育方面,上海细胞生物学研究所前所长朱洗教授潜心研究了近 40 年,做出了许多新贡献。他根据动物卵球成熟、受精和单性生殖的研究,提出受精可分为激动、修整、

二性结合三个阶段和卵裂节奏的“时空秩序”概念, 发展了卵球成熟、受精的研究理论; 创建了激素诱发蟾蜍和黑斑蛙卵球体的排卵和成熟的实验系统, 证实体外排出的成熟卵球具有完善的发育能力; 发现低温休眠是中华大蟾蜍卵球成熟的决定因素; 研究成功了世界上第一批没有外祖父的“癞蛤蟆”; 系统分析了鲤科鱼类和两栖类不同成熟程度卵球受精与胚胎发育的关系, 证明唯有适当成熟时期的卵球受精后方能正常发育。他还结合生产实际, 解决了蓖麻蚕引种、驯化、推广, 以及家鱼的亲鱼培育、人工催产和孵化等关键问题, 促进了蚕丝业和淡水养殖事业的发展。

在胚胎诱导和分化的研究方面, 上海细胞生物研究所名誉所长庄孝僊教授证明神经系统的区域性变化是由于中胚层诱导物质和神经诱导物质的相对比值逐步变化而引起的, 并观察到反应组织的年龄、诱导物质作用的时间与浓度都影响所产生的组织种类。在研究蝾螈的表皮传导中, 他在国际上首次用无神经幼虫联接的模型, 发现了有尾类胚胎表皮的传导现象。后来, 又观察到胚胎表皮细胞的兴奋性可在中胚层因素影响下产生或消失, 并且指出了兴奋传导与细胞间隙连结的功能活动有关。最近, 在庄孝僊指导下, 研究工作又有了新的进展: (1) 证明了表皮细胞的兴奋性与其它可兴奋细胞不同, 它的兴奋性既依赖于钠离子, 也依赖于钙离子, 两者都不可缺。(2) 胚胎表皮细胞的兴奋性是表皮细胞的自主功能分化, 发育到一定阶段即出现, 经过一段时间又会自行消失, 但它的兴奋性在一定程度上受到周围环境的影响。(3) 确定了 R-B 细胞在神经胚中位于神经脊及神经板的边缘部分, 纠正了过去认为仅位于神经褶中的见解。当 R-B 细胞被切除干净后, 刺激表皮不能引起胚体反应, 表明细胞中的兴奋性是通过 R-B 细胞传导到神经系统的, 因而提出了 R-B 细胞是原始感觉细胞的新见解。这些研究成果在国际上均属首次报道。

在从事性别决定与分化的研究中, 前生物学部副主任、动物研究所张致一教授曾首次通过性激素使南非蟾蜍由雄性完全转变为雌性, 并能产生单性后代。同时, 又通过生殖腺移植使雌性转变为雄性取得成功。这项研究说明了在性别分化中性遗传基因与性别分化的关系。

从上述不难看出, 我国的发育生物学研究已经有了相当的发展, 并形成了一支研究力量。

三、当前国际发育生物学研究的简况 和研究中的几个主要问题

(一) 重要进展: 近些年来, 由于遗传学和分子生物学研究的进展和技术的不断进步, 发育生物学的研究已由基本结构和功能的描述发展到了决定发育的调控基因的发现和对选定的基因的表达进行详细分析的阶段, 借以揭示发育活动的本质。在这方面, 国际上的研究已取得了以下的重要进展:

1. 发育进程并不是在受精时就已确定了它的全部内容, 相反, 发育的进程是伴随着发育活动通过一系列的相互反应而逐渐展开的。例如, 指导早期形态建成的基因和指导性分化的基因就是在不同的发育阶段表达而逐渐展开发育程序的。

2. 每种生物的遗传程序不仅携带有细胞种类如何分化的指令, 而且还携带有这些类型细胞在何处定位的指令, 随着发育的进程这些遗传程序逐渐展现和完成。并已知道基因表达显著受组织、时间和部位的调节。如, 科学家在果蝇中发现了一类同源异形基因, 并发现这类基

因能确定果蝇每一体节的特性。在这类因子的指导下,各体节分别发育分化为头、胸和腹部。如果发生了突变,触角生成基因没有在头部表达,由于不适当的表达,有可能导致在头部发育出腿而不是触角。

最近的研究还得出结论,在卵子中尽管有一些预先存在的信息,如 RNAS,但这种信息是简单的,仅限于卵子前后轴的位置信息(如在蛙和蝇中)。由于细胞分裂,使胚胎变得复杂,实验证明,是细胞间的相互作用使胚胎变得复杂化的。而且发现了在胚胎发育中起作用的信息分子,它可为组织形态的建成提供位置信息。如,在脊椎动物中视网膜酸就被看作为一种形态建成因子,视网膜酸在高浓度下诱导神经细胞分化,在低浓度时可诱导畸形肿瘤细胞分化为心肌细胞。

3. 细胞运动和细胞粘连作用密切相关。所有的细胞运动都有扩展、粘附和细胞前沿的收缩等连续变化周期。现已初步阐明了细胞运动和细胞粘连的控制机制,正是这些机制决定着细胞在有机体中的位置和形成组织的形态发生过程。细胞在形态发生过程中的准确运动能力,部分地受控于它们彼此之间以及它们与细胞外环境之间有选择地粘连的能力。最近的研究表明,有生物大分子物质调控细胞运动过程中的变化,并已分离纯化出了称之为粘附分子的一类物质,这类物质被鉴定为细胞表面糖蛋白,它们中大多数是镶嵌蛋白,包括膜外的、跨膜的和在细胞质部分的。这些分子除能调节控制细胞运动外,还与细胞之间的识别、通讯等发育过程有关。

4. 不同物种不仅在细胞类型上有不同,而且各种细胞类型的排列模式也不同。在发育过程中,模式构成的作用确保了细胞、组织和器官准确的空间布局。

5. 发育过程并不终止于一个成熟有机体的形成。它还调节成熟有机体和其中个别细胞的寿命以及不同组织的细胞数量。对成熟有机体中细胞相互作用的研究,将使我们能更好地了解和控制这些过程。

上述有关发育的诸方面的进展,都使发育生物学的研究在原来基础上更上了一层楼。

(二) 主要研究问题:已有的成果表明,控制基因代代相传的规律已经清楚了,但是控制基因在发育过程中表达的规律,目前还是模糊的。许多实验室都假定,随着对不同胚胎发生时期或各种特定细胞境况下的基因及其产物的更多信息的积累,本身就会导致新原理的产生。但是科学中已有许多先例表明,仅仅寄托于大量积累资料是不够的。发育生物学的突破性进展将依赖于概念化或理论性框架的提出,这个理论性框架不仅能解释已有的资料,而且能对基因展现发育程序的战略提出有力的、可检验的预测。人们都知道,理论和实验的相互作用,曾给分子生物学带来早期发展的成就,当研究发育生物学时,这一研究战略也应得到发扬。

1. 由于基因能影响或控制成年个体的表型,故科学家们清楚地意识到,发育的正常过程必然取决于基因。他们也知道,基因突变能彻底打乱正常发育而产生异常或古怪的表型。这本来是一个发育生物学问题,但是许多科学家只偏重于分子生物学方面的考虑,而忽视了把分子生物学同发育过程的研究紧密结合起来,因而延缓了研究进程。这里所指的发育过程是连结从生殖细胞基因的信息传递到最后发育完善的成体的特殊表型特征之间的漫长的一连串事件。

2. 近年来真核生物基因结构的研究发展迅速,基因的克隆和从 mRNA 反转录得到 cDNA 导致了在这些基因中外显子(编码序列)和内含子(非编码序列)的发现。发现内含子,可以说是现代研究技术值得炫耀的一个例子,但是至今对外显子——内含子结构的了解并没有为人

们深入了解染色体的组织结构或者基因表达的调控提供多少帮助, 而且还得为解释内含子的存在苦费心机。也许内含子是一些偶然插入到染色体基因中的“自私” DNA (Selfish DNA); 也许它们在基因进化上是重要的, 可以使不同的蛋白质区 (protein domains) 组合进一个多肽; 也许它们为未来蛋白质的进化提供机制; 再或者, 也许内含子具有目前还全然不知的功能。也有人提问, 它们到底是了解基因间相互作用的钥匙呢, 还是堆积于高等生物基因组中的无用 DNA 的一部分?

尽管这些可能性都被提出来了, 但对内含子的重要性的研究还远远不够。因此, 我们认为, 先进技术的使用在这里只导致了对基因结构的描述, 而对基因表达和分化发育等基本的生物学问题至今几乎没有提出什么见解。

3. 在高等有机体中, 基因有两项主要功能, 首先, 担负代与代之间的信息传递。其次, 展现个体发育的遗传程序 (genetic programme)。遗传学家们在揭示基因的第一项功能方面已取得很大成功, 但对于第二项功能却所知有限, 更谈不上揭示其规律了。可以认为, 发育生物学过去所取得的进展和基因的研究关系不大。这与其说是发育生物学苦于缺乏理论, 倒不如说是由于在发育过程中基因作用理论的匮乏。已提出的一些理论性概念, 如位置信息 (positional information), 它能支配在三维空间中细胞如何构成组织, 这已经通过实验检验证实。但是, 位置信息和贮存于基因中的发育遗传程序还很难联系起来。由此可见, 尽管有关发育的某些重要理论已在基因水平上用于阐述发育控制的程序, 但离彻底解决问题还差得很远很远。

现在许多发育生物学家把目标集中于用分子生物学的新技术将基因表达的调控和产物同整个生物个体的发育联结起来, 其战略部署为: 探测在特定发育阶段表达的基因, 查看转录产物在胚胎或组织中的分布; 分离或序列测定这些基因; 将基因产物的氨基酸顺序同其它已知的蛋白质比较, 找到基因的启动子区域并且寻找可能和这区域相互作用的反式作用蛋白质因子; 将克隆到的有兴趣的基因建成转基因动物或植物 (transgenic animal, plants), 然后检测它们的表达以及对表型的影响, 鉴定能影响细胞行为的扩散性形态建成因子 (morphogens) 或生长因子及它们的受体。这些内容都在研究中。

从分子水平考虑发育问题, 用果蝇为材料进行研究有显著的优越性。因为不仅有巧妙的传统的遗传工程技术, 而且还能使用现代化的新技术。在果蝇研究工作中, 已得到大量影响发育的有趣的突变体, 其中同源异形突变体和母性影响突变体尤其有意义。果蝇的早期研究进展很快, 但至今还没有阐明复杂发育过程的一般性原理。另一种对将来进行发育分子生物学研究有极大潜力的有机体是线虫 (*C. elegans*)。现已搞清, 线虫从卵到成体的完整细胞谱系, 许多影响发育或特异细胞类型的突变体也已找到。和对果蝇的研究相似, 在细胞和组织水平的研究上取得了很大成功, 然而, 并未能从分子水平的研究上揭开发育过程中导致特定细胞谱系行为的机制。

怎样从分子水平上揭示发育过程中的作用机制问题, 这里试图用果蝇研究中的一个例子来具体说明, 果蝇的幼虫含有一系列的成虫盘 (imaginal discs), 已经证明每个成虫盘都具有特定的程序, 即都已被决定将产生出成虫的某一特定部分, 并且这种决定的特异性是可遗传的。这种体细胞的可遗传性机制尚不清楚。但是, 可以假定它是依赖于 DNA 和蛋白质的相互作用。因为 DNA 在所有的成虫盘中必然是相同的, 成虫盘之间的差异必然在于特异的蛋白质, 它们以某种方式控制可遗传性。如果是这样, 那么就提出了一个全新的遗传学概念, 也就是说, 存在某种蛋白质或染色质的遗传。更进一步, 转决定 (transdetermination) 的过程已

被充分证实了,在此过程中,特定的成虫盘组织有时能自发地转变成另一种特异性的组织,而且后者也是可遗传的。那么,是不是一种蛋白质和 DNA 相互作用的模式(pattern)能够“突变”成某种新的可遗传的模式呢?

遗传学和分子生物学以前的所有概念都是以 DNA 结构为基础来说明信息的转移途径和遗传机制,如果上面的说法能成立,那么,是否需要一个完全不同的机理来解释体细胞遗传呢?这里从发育的分子生物学角度提出了一个全新的研究课题。

4. 目前,分子生物学的各种技术正被用于研究重要的人类遗传疾病。通过定位一些有关的基因,然后克隆和进行序列分析,接着推导出基因产物的氨基酸顺序,以及这种产物是否显示出同其它具有已知功能的蛋白质有同源性。一个支配重要遗传疾病基因的发现,往往会引起极大的关注,因为其正常基因的功能不久也将被搞清楚,其缺陷基因或者它的效应就有可能得到纠正。但是,对基因及其产物的定位和鉴定本身并不能解释为什么有缺陷的表型发生。事实上,目前在包括发育在内的许多重要生命过程中,常有新的蛋白质被发现,但对这些新蛋白质的真正细胞功能或者异常功能都还全然不知。这部分地是因为对复杂有机体中许多基本的生物学过程还没有彻底揭开和认识。

5. 对癌基因和生长因子的研究也引出了一些基本生物学问题。比如,生长因子先同细胞膜相互作用,通过一连串细胞内事件能触发 DNA 合成。这样,细胞的表型明显地因一种外界物质——生长因子而发生改变。这种改变的表型在何种意义上是可遗传的?细胞之外的信息能够从什么途径影响遗传系统?通过多方实验,许多科学家认为,是通过细胞之间可扩散性物质的通讯为稳定的细胞分化,或者为转化细胞的正常表型的丢失提供了基础。如果外界信号能改变基因表达的模式,并且转变细胞的表型,这似乎暗示了存在着不同于中心法则(认为信息是从核酸流向蛋白质,而不是相反)的另外一条遗传发育途径。

上面提到的几个问题,我以为涉及到了当前发育生物学研究中的中心问题。同时,也是分子生物学家、遗传学家和细胞生物学家的课题。围绕着这些问题,汇集各兄弟学科的理论和技术成果,必将形成发育生物学研究的热潮。

四、国际发育生物学研究的目标和趋势

1989 年 8 月 20 日至 25 日国际发育生物学家协会在荷兰召开了第 11 届国际会议,会议的名称为“从 DNA 分子到生物个体的发育计划(From DNA to body plan)”,副标题为“人类、动物和植物发育领域的研究进展(Advances in the field of human, animal and plant development)”。会上代表们就当前发育生物学的各个方面进行了广泛的讨论和交流,回顾了自 1911 年荷兰教授 A. W. W. Hubrecht 首次倡导召开国际胚胎发育学会议以来发育生物学研究的发展状况和取得的成就。

这次会议的中心议题是贮存在 DNA 上的遗传信息如何编码生物个体程序,内容包括:形态建成的遗传控制和模式;早期发育中的核质关系;体外受精和胚胎移植;生长因子及受体与胚胎诱导;外源基因导入干细胞及早期胚胎;细胞谱系的分化;植物的分子发育及植物中基因的调节;生殖细胞的分化;胚胎瘤及去分化;早期胚胎发生中细胞的连接;核组织和基因表达;信号转导和转录调节等等。交流的内容十分广泛,每个方面都有新的发展。

通过这次大会, 可以看出国际发育生物学的研究动向和目标是: 在宏观上集中于研究生物群与环境关系中的发育生物学问题, 在微观上研究个体发生、器官发生、细胞和组织发生、细胞器发生乃至大分子、分子和粒子发生的生物学规律。

发育与分化是密不可分的, 是同一个生物学问题的不同方面。而分化问题除个别情况外, 基本上是调控问题。因此, 发育-分化-调控是现代发育生物学研究的主旋律, 并在环境-机体水平、细胞水平、核质关系水平、染色质水平、DNA 和基因水平进行着深入的研究。把这里所说的同上面提到的国际发育生物学研究中的几个主要问题综合起来看, 便可明瞭国际上发育生物学的研究方向和趋势。

五、抓住时机, 加强发育生物学研究

分子生物学和生物技术, 已受到了国家的高度重视, 过去的“七五”和现在的“八五”规划都作了部署。神经科学和脑科学, 在国际上, 特别是美国, 是最活跃的研究领域之一, 我国也很重视, 我院已经成立了专家委员会来指导、咨询这方面的研究, 并制定出了发展战略纲要。这些工作都是适时的和重要的。与上述学科相比较, 发育生物学没有得到应有的重视, 甚至可以说还没被放到议事日程上。值得注意的是, 分子生物学发展到了今天, 要更上一层楼, 必须要有兄弟学科的配合。各种生物分子在生命过程中的变化(即发育程序的展现过程)与生命有机体固有的发展规律是协调一致的。了解这一点至关重要, 分子生物学如不与其它学科加强协作和交融, 生物大分子结构与功能的关系、基因表达与调控等问题, 就不大可能有大的研究突破。首先应该考虑的是发育生物学。必须先认识正常发育、生长、分化过程中生物分子的变化及调控规律, 才有可能认识异常情形下的变化规律, 进而采取各种可能的手段和办法去利用规律, 获得想要得到的结果。因此, 发育生物学是分子生物学和其它有关学科发展过程中的亲密伙伴。应当充分认识发育生物学的重要位置, 发展生物科学内的横向联合和交叉, 这样才有可能在研究中有新的突破。过去对发育生物学重视不够的状况, 是不利于生物科学发展的。

国际上发育生物学研究发展极快, 这门学科的重要性受到了越来越高的重视。在美国, 从事发育生物学研究的科研机构 and 大学不断增多, 并投入相当可观的人力和物力, 已形成了在不同层次、不同方面开展协作和研究的众多发育生物学分支。与此相适应, 多种发育生物学刊物也相继问世, 发表论文的数量和水平在生物学领域中都占有相当的地位。相比之下, 我们投入的人力、物力都很不够, 研究机构也少, 中国科学院发育所是目前我国唯一以发育生物学命名的研究单位。国内还没有一本正式出版发行的发育生物学刊物。研究论文只能在别的一些有关刊物中发表, 这种状况极需改变。

发育生物学是一门综合性很强的学科, 重视和加强发展发育生物研究, 既有助于解决生命活动奥秘的重大基础理论问题, 又在农牧业、医学等方面蕴含着极大的应用前景。各有关领导部门应该抓住时机, 在研究机构建设和研究队伍建设、经费支持上都要给予合理的布局 and 安排。建议我院要着力办好发育生物学研究所, 力争把它发展成中国发育生物学研究的中心, 要加强和支持上海细胞生物研究所、动物所、昆明动物所等单位内有关发育生物学研究的工作, 并在近期创办发育生物学刊物, 使我国的发育生物学能够得到更快的发展, 为祖国社会主义建设作出更大的贡献。