细胞分化研究趋向

——个体发育的基因表现问题

王亚辉
（上海实验生物研究所）

细胞学理论主要是在对遗传和发育的研究中发展起来的．受精卵以何种物质结构形式蕴藏着未来个体的全部遗传性和发育能力，又如何通过生长、分化等过程发育为成体的无比复杂的构造？遗传如何控制个体发育过程按照一定的时、空秩序性有条不紊地进行？自从 Roux 和 Weismann 在上世纪末提出这些问题以来，它们一直受到生物学界极大的注意．为了试图建立一个遗传和发育的统一理论，Weismann 曾经假定全部发育过程是受细胞核控制的，卵裂过程中核内遗传物质的不等质的分配是胚胎分化的原因．这一理论在其原有的形式上虽早已被实验胚胎学早期研究的大量事实所否定，然而它所包含的主要思想却吸引了几代生物学家从各方面来探讨遗传和发育的关系问题．

近十多年来，生物学，特别是分子生物学的重大进展，推动许多生物学家在新的基础上又回到这一个老大难的问题．分子遗传学在微生物上阐明了蛋白质合成遗传控制的信息传递途径——DNA 大分子荷载的遗传信息，通过 m-RNA 的转抄，到达核糖核蛋白体上作为蛋白质合成的样板；并且初步阐明了基因功能表现的调节、控制机制．高等动物的构造和发育，虽然比细菌无比复杂，其发育过程的基本环节仍然可以归结于细胞的生长和分化．在这样的意义上，可以把细胞分化看作是遗传在发育中实现的单位过程．胚胎化学过去的研究已经证明细胞分化是基础于蛋白质大分子专一的合成，下一步待解决的主要是这种合成活动的遗传控制，或者说细胞分化中的基因表现问题．古典生物学对基因表现的研究主要通过性状发育的分析，研究方法也限于杂交、无核卵块发育等手段．从分子生物学的观点看来，细胞分化和性状发育，追溯到分子水平都依赖于专一蛋白质的合成，因而归根结蒂依赖于基因的功能活动．反之，基因表现也就可以用相应的 m-RNA 的转抄和专一蛋白质的合成来表示．另一方面，核酸分子结构和功能的研究方法日臻完善，各种核酸分子的分析鉴定，分子杂化，m-RNA 的分离，甚至在电子显微镜下对基因功能活动的直接观察，提供了种种前所未有的研究基因表现的新方法．借助这些新概念和新方法研究细胞分化得出的也许最重要的概念是：分化细胞的基因组只有一小部分表现功能活动，大部分处于抑制状态；细胞分化是基因选择性激活的结果[1]．于是，遗传如何控制发育这个古典的问题，用现代分子生物学的概念可以简单地表述为：卵子发生过程中，发育信息如何“编码”，而在发育过程中又如何“解码”？更具体地说，卵子发生和成熟过程中，发育信息如何储存于卵的结构中；经过受精而引起发育的卵细胞，又如何通过核质之间、分裂球之间，以及胚胎不同部位之间的相互作用，使基因按一定时、空秩序，选择地激活（或改变），从而控制专一蛋白质的合成，达成细胞的分化和个体的发育．愈来愈多

的细胞生物学家和发育生物学家，从这一中心思想出发，就个体发育的不同时期来研究细胞分化中的基因表现问题，取得了丰硕的成果.

现将其中几个方面的研究概况，分述如下：

一、卵子发生和成熟——发育信息的储存

卵子发生不只是积蓄营养物，更重要的是储存发育信息. 有人曾经直接测定爪蟾卵母细胞内的信息含量，以非重复排列 RNA 量表示，发现卵母细胞含有 20×10^6 对非重复排列的核苷酸，大约相当于大肠杆菌染色体遗传信息的 4.5 倍. 这些信息分子是在卵子发生过程中合成的. 整个卵子发生过程中都有各种类型的 RNA 合成. 在灯刷染色体期，基因功能活动尤为显著，在电子显微镜下可直接观察到侧环区，基因转抄的过程，据 Mairy和 Denis(1971) 报告，卵黄发生前期卵母细胞(50—150μ)主要合成 d-RNA 和小分子量的 RNA(t-RNA 和 5S RNA). 卵黄发生期的卵母细胞 (375—1,100μ) 合成的大部分是核糖核蛋白体的 r-RNA (28S 和 18S) 和 d-RNA (24S 和 40S). 这些 RNA 可能储存在成熟的卵内，供将来发育的需要. 目前已证明，成熟卵球的卵质中，还有大量的 DNA 储存. 这些 DNA 绝大部分存在于线粒体上. 其他细胞质颗粒上有没有 DNA 存在，以及能否将核内基因信息携带到卵质中去，还是未解决的问题. 除此以外，卵母细胞的成熟，还需要其他营养细胞供应其合成产物，包括 RNA.

在成熟的卵内，90% 以上的 RNA 是 r-RNA. 这样大量的 r-RNA 的合成是由于专一的基因放大 (Gene amplification) 的结果. 美国 Carnagie 研究所 Brown 等，用核酸分子杂化的方法证明，爪蟾卵母细胞核(胚泡)内，核糖核蛋白体 RNA 的基因 (r-DNA) 含量约为单组核的 r-DNA 量的 1,000—4,000倍. 这些过剩的 r-DNA 复本存在于 1,000个以上的核仁上，负责 r-RNA(28S 和 18S) 的大量合成. 在成熟分裂开始后，这些过剩的 r-DNA 虽然还存在于细胞质内，但 r-RNA 的合成却停止了. 一直要到原肠期，新的核仁出现后，r-RNA 合成才又重新开始. 因此，细胞中可能存在 r-RNA 基因的开关. 这点将在以后再谈. 这里需要指出的是 r-RNA 基因放大现象的意义可能是产生大量 r-RNA，储存起来供给原肠期以前发育初期的需要. 顺便提一下，一个去核的成熟蛙卵是测定外源的 m-RNA 及其在活细胞内翻译 (Translation) 的非常灵敏的测试系统，例如将极微量的家兔网织红血球的 9S RNA(<1ng)注射到卵内，就能合成血红蛋白[2]. 最有兴趣的，从能合成免疫球蛋白 (IgG) 的骨髓瘤细胞提取出的 m-RNA 注射内卵内，不但能合成重链和轻链，而且还能装配成完整的免疫球蛋白分子[3]. 已知免疫球蛋白分子的装配有赖于内质网系膜的结构完整性. 因此，卵内也应含有和膜结合的多聚核糖体或某些能起这种作用的膜层结构. 这表明一个成熟蛙卵的蛋白合成机构已经准备就绪，可能只是缺少有活力的样板 m-RNA 了.

两栖类卵球成熟方面，实验生物研究所已故的朱洗教授做过许多有价值的工作. 他除证明垂体激素能使离体的蟾蜍卵巢成熟、排卵外，还发现单独改变环境的渗透压，反复几次，就可引起卵球人为成熟. 他建立的离体排卵的方法为分析成熟问题提供了方便[4]. Dettlaff 利用这一方法分析了胚泡在蟾蜍卵球成熟中的作用. 在核膜破裂以前，去除胚泡的卵母细胞，即使在垂体激素的影响下也不能成熟，将体细胞核移植到这样的卵内也不能分裂. 反之，如果在核膜破裂后，把流出的核液和细胞质的混合物注射到另一个未成熟的卵中，既使没有激素的影响也能引起卵的成熟[5]. 她还利用蛋白质合成不同环节的专一抑止剂分析激素的作用机制，认为垂体促性腺激素的作用可能是通过影响卵和滤泡细胞的核内合成对于卵的成熟和排卵所需的专

一的 m-RNA. 另一实验室，经实际测量得出爪蟾的一个卵母细胞在排卵过程中，能合成约1—6 毫微克的 d-RNA，大约相当于卵 RNA 总量的 0.02—0.1%. 最近，还发现成熟的爪蟾卵的细胞质匀浆，注射到卵母细胞内，只能引起"假成熟"，即胚泡破裂，而染色体不浓缩，核仁也不完全消失. 如果在做匀浆前，先去除卵的细胞膜，就能引起真正的成熟. 因此，除卵质内存在"促进成熟的因子"外，细胞膜内似乎还存在抑止成熟的物质. 总之，激素对卵球成熟的作用机制，以及核内物质对卵质成熟的影响是值得深入研究的问题.

遗传学家和分子生物学家谈到卵的发育信息时，一般都限于细胞核内的核酸分子. 然而，胚胎学方面却有大量事实证明卵质，尤其是卵细胞表面的一薄层皮质对于胚胎体型的建造(极性，轴性和对称性)及器官发育有极其密切的关系. 这不但在镶嵌型卵极其显著，而且在调整型卵，也有相当程度的表现，如移植爪蟾未来背唇区的一薄层皮质到腹面，就可以诱导出次级胚胎. 卵质内这些形态发生物质的来源，可追溯到卵子发生和成熟过程中基因的产物，而皮质的结构甚至可以溯源到母体内，包围卵的滤泡细胞的基因活动. Raven 根据对一种软体动物，椎实螺(*Limnaea stagnalis*)的镶嵌型卵的研究结果，认为皮质下形态发生物质的分布图式是靠皮质来维系的. 卵质的这种可见的分化反映了皮质内不可见的分子结构图式，而后者又是和生长中的卵母细胞周围的滤泡细胞的分布图式相符合的. 因此，假定皮质的结构图式是由母体内，卵子周围的构造"印"在卵表面上的，它荷载着未来胚胎形体建造的"蓝图". 对于发育过程来说，最重要的不是注意个别物质合成的基因信息传递途径，而是这些过程彼此之间的联系、配合，亦即基因选择性激活的时、空秩序性(发育程序). 由于这种秩序性，发育的结果才不是一堆杂乱无章的细胞，而是一个结构和功能上均无比和谐完美的有机体. 这种秩序性，只能从整个卵的结构秩序性中，找到其物质的基础，而卵的结构又是卵子发生的有序过程的结果. 因此，他提出受精卵内的发育信息可能储存在细胞核、细胞质和皮质内，按此并可区分为基因信息、细胞质信息和皮质信息. 发育过程的时、空秩序性就是由于这三种信息的相互作用和相互制约而维持的[6]. 鉴于近来发现哺乳类淋巴球细胞膜内有特殊的 DNA 存在[7]，卵子发生和成熟过程中，皮质场区内有无信息分子储存，是有待深入研究的问题.

二、受精，蛋白质合成系统的激活

卵的受精是个体发育的开端. 如前所述，成熟而未受精的卵内，虽有 m-RNA 储存，蛋白质合成机构的各种"部件"(r-RNA, s-RNA, 激酶)也都齐全，但是整个机构却不能发动起来. 受精或人工激动后，卵的最显著变化就是蛋白质合成机构立即发动起来了，表现在氨基酸参入量迅速增高. 受精时，卵的蛋白质合成系统激活的原因，或者说，受精或人工激动引起个体发育的始动机制是什么呢？对于受精的分子生物学分析，使我们逐渐接近这个问题的答案. 这些工作主要是美国 Woods Hole 海洋生物实验室(Gross)，加利福尼亚大学(Tyler)，瑞典的实验室(Hultin)在海胆上做的. 他们将人工合成的样板 Poly U，或 Poly UC 加入到海胆未受精卵的核糖核蛋白体系统中，就能刺激合成相对应的多肽，即多聚苯丙氨酸，或多聚亮氨酸. 这说明未受精卵之蛋白质合成系统不活动的原因，不是由于核糖核蛋白体出了障碍，而是由于缺少有活力的 m-RNA. 受精后，卵内确实有新的 m-RNA 合成，也就是说在发育极早时期核内基因已经表现出转抄功能. 然而，无核卵块发育(Merogony)，以及用放线菌素 D 抑制新的 m-RNA 合成后，受精和卵裂照旧能够进行. 表明这些在受精后新合成的 m-RNA 和蛋白质合成系统的发动没有关系. 对于这些似乎矛盾的事实，唯一合理的解释是，未受精卵之蛋白合成

系统不活动的原因是卵内储存的 m-RNA 处于“掩盖”状态. 受精或人工激动的作用就是解除这种“掩盖”状态，m-RNA 释放出来，从而发动了蛋白质合成系统的运转，个体发育因而开始. 至于那些受精后新合成的 m-RNA，同样地可能暂时处于“掩盖”状态，留待将来的发育时期再起作用. 有人认为这种“掩盖”的 m-RNA 可能存在于所谓的“信息体 (Informosome)”内[8]. “掩盖” m-RNA 释放的机制，目前还不大清楚. 有人认为可能和受精时蛋白分解酶活力的突然升高有关系；而这种酶活力的变化，有人猜测和受精时的皮质反应或由此引起的卵内局部离子浓度的变化有关系. 这样一来，受精或人工激动引起个体发育的始动机制又应追溯到卵膜的理化结构的变化上去了.

总之，受精提供了一个在“翻译”水平控制蛋白质合成的例子. 卵子发生过程中，由于基因转抄活动产生为将来受精时蛋白质合成所需的 m-RNA，它们暂时以“掩盖”形式贮存在卵质内，待到卵受了精子或单性发育的刺激后，才释放出来，而发动蛋白质的合成. 同样，也可以假定在“翻译”水平利用这些 m-RNA 的“程序”，也预先储存在卵质内. 因此，受精或人工激动以后不再需要卵核的作用，仍然能够按照这个预定的“程序”进行. 有理由设想在不久的将来，遗传如何控制发育过程的时、空秩序性问题，也可能成为实验研究的对象.

三、核质在细胞分化中的相互作用，细胞质对基因活动的控制

从五十年代初期开始的在两栖类上的细胞核移植实验，对于了解细胞核在发育过程中功能的变化，取得了显著的成果. 美国印地安那大学的 Briggs 和 King 首先证明，豹蛙囊胚期细胞核的功能是相同的. 把它们移植到去核的卵子内，它们都有使卵子正常发育的能力. 从原肠期起，内胚层细胞核开始发生变化. 随着胚胎年龄的增长，它们的发育能力，逐渐显示局限性，到尾芽期就失去发育的全能，不能再使卵发育成正常的蝌蚪了[9]. 但是，牛津大学的 Fishberg 和 Gurdon 在非洲爪蟾上的工作却证明晚期胚胎，甚至自由游泳蝌蚪的肠上皮细胞的细胞核，仍然保持全部的发育能力，当移植到去核的卵内，可以使卵发育成有正常生育能力的成年动物. 再者，爪蟾的成体组织，如皮肤和肾等，以及三倍体的肾脏肿瘤[10]，也都含有多潜能的细胞核，能使去核卵发育到游泳的蝌蚪. 中国科学院动物研究所和海洋研究所童第周教授领导的工作组，证明了中华蟾蜍胚胎发育中内胚层细胞核功能的变化，从时期上来说，它的进度比豹蛙来得慢，可能和爪蟾类似，或介乎两者之间[11]. 虽然，不同物种，细胞核功能变化的进度可能有所不同，但是从爪蟾的情形看来，已分化的肠上皮中至少有部分细胞核仍然保持全部发育能力. 有人认为，这表明细胞分化可能不依赖于基因的分离，或不可逆地改变或抑制.

细胞核移植实验的另一个重要的成果是证明了细胞质对基因活动的控制. 如前述，卵子发生过程中 r-RNA 合成非常旺盛，成熟分裂开始后卵质内虽然仍有 r-RNA 基因存在，但它的转抄功能却停止了. 一直要到原肠期，新的核仁出现后，才又开始新的 r-RNA 的合成. 如果把能够活跃地合成 r-RNA 的神经胚内胚层或自由游泳蝌蚪的肠上皮的细胞核，移植到去核的卵内，这些移植的细胞核受到寄主卵细胞质的影响，在卵裂期就会失去已有过的合成 r-RNA 的能力，和正常胚胎一样，要等到原肠期开始后，才能重新合成 r-RNA. 这清楚地证明卵质内必定存在着控制 r-RNA 合成的开关. 近来有证据表明在成熟的卵母细胞的细胞质内存在一个蛋白质因素，能专一地抑制 r-RNA 基因的转抄. 另一方面，将已经停止分裂的细胞，如蛙成体的脑细胞核，移植到去核的受精卵内，这些细胞核就能重新获得合成 DNA 和分裂的能力. 进一步的分析表明，细胞质内这种促进 DNA 合成的因素在胚泡破裂后几小时内出现，并能维持

到受精后一个小时以上. 此外,也有人报告,从成熟到卵裂期间,都有蛋白质进入并浓聚在细胞核内,并推测可能影响核的功能表现. 细胞质内影响基因活动的因素的来源、化学性质和对细胞核作用的机制,还是一个很不清楚、尚待研究的问题.

童第周等对鱼类不同亚科间细胞核移植实验,进一步说明细胞质可能影响细胞核. 他们把金鱼(*Carassius auratus*)囊胚细胞核移至鳑鲏鱼(*Rhodeus sinensis*)去核卵内,发育到囊胚期,再回移到金鱼的去核卵,这样得到的部分胚胎表现出杂交胚胎的性状. 这提示了金鱼细胞核在异种细胞质内居留期间,经过多次分裂和复制后,在性质上或功能上可能发生变化[12]. 最近,童第周教授和美籍中国生物学家牛满江合作研究这一极有理论意义的问题. 他们从鲫鱼成熟卵母细胞提取出的 m-RNA,注入金鱼受精卵内,发育成的幼鱼有一部分是单尾鳍,表现出鲫鱼的性状. 这说明注入的 m-RNA 可能改变性状的发育,由金鱼性状的双尾鳍变为鲫鱼性状的单尾鳍[13].

细胞质影响细胞核最著名的例子,是在蛔虫和某些双翅目昆虫体细胞内的染色体减削现象(Boveri, 1887). 卵质各区域的差别能影响染色体减削现象是否发生,同时还负责生殖细胞的决定. 最近,Tobler 等用分子生物学方法,重新研究了这一古典的问题. 作者们用分子杂化方法分析的结果证明,减削的 DNA 所含有的重复排列 DNA,和体细胞内保留下来的重复排列 DNA 在性质上是不同的[14].

一般说来,虽然目前许多学者认为高等动物细胞可能含有同样一套遗传信息,细胞的分化不是由于基因分离,不可逆地改变或抑止. 但是,也有例外,如两栖类卵母细胞中,基因放大现象导至 r-DNA 量的增加,蛔虫染色体减削现象则导致预定生殖细胞和体细胞的重复排列 DNA 在质上的不同. 这些特殊的例子对于细胞分化有多大的普遍意义还是需要进一步研究阐明的问题,但无论如何,细胞质能影响核内基因的功能活动,甚至引起改变,则是肯定无疑的.

核质在细胞分化中的相互作用,以及细胞质对基因活动的控制的全部实验说明,性状的表现不是完全受细胞核控制的,细胞质也有它的作用. 关键在于核质的相互作用. 实际上,如前述卵子发生和成熟过程中所见的,核内基因信息控制着卵质内的物质合成,或者通过基因放大或"掩盖的" m-RNA 而把核内信息转移内细胞质中. 上一发育时期的核内信息可以转化为细胞质内的信息. 后者又可反过来控制以后的发育时期中核内信息(基因)的表现. 正是受精卵内,这种核质之间的矛盾,相互作用和相互制约,推动着发育过程,按照在长期进化过程中获得的,并储存于卵的全部结构中的遗传性所规定的时、空秩序性,有条不紊地进行.

以上的工作都是在低等脊椎动物和无脊椎动物上做的. 近来,用病毒引起细胞融合形成杂交细胞和异核体(Heterokaryon)的方法,研究哺乳类细胞的核质关系,同样证实了细胞质因素在控制基因活动和表现上的重要性[15]. 然而,由于这些杂交细胞任何性状的表现都是两种核和两种细胞质交互作用的结果,往往难于分析. 最近,有人报告用一种真菌的代谢产物 Cytochalasin B 可去除哺乳类细胞的细胞核. 将一个化学方法去核的细胞和另一种有核细胞融合,这样交换细胞核后,细胞表面的特性就会发生变化. 如果能将此方法进一步改进,把一个分离的细胞核,引入无核细胞,就可能在哺乳类细胞真正做到细胞核的移植. 此外,哺乳类精子用溶血磷脂处理后和体细胞融合的现象也是很有理论兴趣的. 鉴于细胞杂交对人类正常的体细胞和癌细胞进行遗传分析,以及在植物育种等方面的重大理论意义和潜在的重大实践意义,这是现代细胞学中应当引起特别重视和发展的新领域.

四、诱导、决定和分化的表现

从五十年代初期以来，两栖类胚胎初级诱导作用的研究仍然侧重于异源诱导物质的化学分析．这方面的主要成果是证明了中胚层诱导物质（M）是蛋白质性质的（鸡胚M分子量约为25,000—30,000），而神经诱导物质（N）是核糖核酸蛋白质(起作用的是蛋白质部分)．这些诱导物质主要存在于细胞质颗粒上．中枢神经系统的区域分化是由于这两种诱导物质量的相对比值（M:N）的逐步变化，以及接受这两种诱导刺激后向不同方向转化的两类细胞之间相互作用的结果[16—18]．后来，Tiedemann 又从鸡胚上清液中发现一种高分子量的抑制因素，能抑制中胚层诱导物质的作用，并由此推想胚胎诱导作用是去抑制（Derepression），亦即把细胞内"掩盖"的诱导物质释放出来[19]．原肠胚背唇和外胚层细胞内，内源诱导物质的存在状态是了解"组织者"作用和初级诱导的关键．可是，从 Yamada(1961）初步报告蝾螈神经胚的微粒体部分具有一定的诱导能力以来，这方面还没有多大进展．Deuchar 报告从爪蟾背唇分离出的含有核糖核酸蛋白体和线粒体的部分具有相当强的中胚层和神经诱导能力．另一方面，Tiedemann等(1961)报道原肠胚外胚层经酚处理后表现出弱的中胚层和神经诱导能力．原肠胚外胚层匀浆的上清液，未经任何处理，也有一定的诱导能力．因此，原肠胚外胚层本身就很可能含有少量的两种诱导物质，不过可能是以某种"掩盖"的不活动形式存在于细胞质内，经过"激发"才释放出来．

关于 RNA 的诱导能力问题，存在不同的看法．这可能主要是由于过去信使核糖核酸的提取方法不够完善，实验条件不易掌握所致．牛满江（1953）曾发现蝾螈外胚层细胞培养在养过"组织者"的旧培液中，便能分化成神经细胞；旧培液中的有效成分是 RNA．近二十年来，他沿着 RNA 专一地控制细胞分化的路线，在胚胎和肿瘤细胞上进行了一系列的工作．他认为 RNA 的诱导能力甚至是器官专一的，例如从脑、脊索和心提取的 RNA 能使鸡胚的囊胚层分化出脑、脊索、和心肌[20]．正常肝脏 RNA 能抑制小鼠 Nelson 腹水癌细胞的生长，并能使癌细胞正常化，合成血清白蛋白和肝脏专一的酶[21]．虽然，关于 RNA 控制细胞分化的机制还不太清楚，这些工作无论如何指出了，研究诱导和正常分化对了解病理分化——癌变及其控制问题，可能是有重要意义的．

专一诱导物质的发现给予研究细胞分化一个有力的工具．然而，胚胎分化归根结蒂是依赖于反应细胞的遗传性；诱导物质所起的不过是专一的"激发"或调节作用．因此，更应当注意的是反应细胞内，蛋白质合成的调节和控制问题．近年来，这方面开始有一些工作．但由于初级诱导系统过于复杂，难于分析．这方面还没有取得什么大的进展．

离体培养的晚期发育系统（如后肾、胰腺、唾腺等器官原基）对于研究分化调节机制有其独到的方便之处．这些原基上皮细胞的分化需要相应的间叶细胞的诱导作用．如胰腺上皮和间叶细胞之间的接触少于 30 小时，分化不能发生；接触 30 小时，一些培养里有很低程度的分化；接触 48 小时以上，所有培养物都能自主地分化．它们之间接触 30 至 48 小时，这时，胰上皮细胞的亚显微结构和化学分化的特征都还没有出现，然而一部分细胞的发育命运却已经"决定"了，换句话说，不再需要诱导刺激就能自主地分化了．从接受诱导刺激到"决定"过程中，反应细胞内的变化是细胞分化的核心问题．这代表着细胞向新的合成方向转变的预备过程，可能包括诱导物质进入细胞，特定的结构基因的"激活"或"去抑制"，m-RNA 的产生和到达细胞质内蛋白质合成地点等过程．有人用放线菌素 D 抑制基因转抄功能，研究 m-RNA 的产生和胰

原基分化(以淀粉酶原合成作指标)的关系. 在胰原基决定以前(培养 72 小时),用放线菌素D处理,分化受到抑制;决定以后,再处理,就不再有影响.因此,可以认为至少从培养 72 小时起,酶原合成所需的 m-RNA 已经传递到细胞质的核糖核蛋白体上了[22]. Rutter (1968) 进一步细致地分析了胰腺细胞分化中专一蛋白质合成的调节,并将分化过程区分为三个调节转变阶段:(1)初级转变(与器官决定有关),胰原基上皮细胞受到间叶组织的诱导,从"前分化状态"转变到"原分化状态". 这时细胞内出现各种专一蛋白质,但量很低微. 这种诱导作用依赖于中胚层内的一种蛋白质,其作用可能是促进胰上皮细胞的增生;(2)次级转变,特点是上皮细胞停止分裂,细胞内已出现的各种专一蛋白质的量迅速增高,同时出现典型的组织分化. 次级转变的调节可能和末次细胞分裂的完成有关系;(3)三级转变,已完成分化的细胞之专一蛋白合成,还受营养、激素状态等的影响,在合成速度上可能发生变动[23].

其他发育系统,如晶体和血球的分化,更为明显地表现出成体终末分化 (Terminal differentiation) 的基因表现调节机制的许多特点. 在尚能迅速分裂的晶体上皮细胞内,样板 m-RNA 的更新很快,半衰期短,并且专一蛋白质 (α,β 晶体蛋白)的合成依赖于新的 RNA 合成. 随着晶体的终末分化的进行,样板 m-RNA 的稳定性增加,半衰期延长,专一蛋白质 (γ 晶体蛋白)的合成不再依赖新的 RNA 的合成.另一方面,细胞停止分裂,核、核仁和内质网系的形态和功能也发生显著变化(核功能减退,核糖体分解,多聚核糖体数目减少,结果内质网系由粗糙型转变为光滑型),也表明 DNA 和 r-RNA 的合成的调节也发生改变.对 r-RNA 和核糖体的装配的研究还发现,在分裂停顿的上皮细胞和晶体纤维中,r-RNA 基因的转抄活动仍能进行,45S 和30S 的 r-RNA 前身物仍能合成,但是这些前身物不能转化为有功能的 28S 和 18S RNA,而在中途被破坏了. 反之,能分裂的晶体上皮细胞,则能转化为 28S 和18S RNA,并装配成有功能的核糖体. 因此,在晶体末端分化中,从 r-RNA 前体物的转抄到核糖体的装配之间的过程中,可能还存在一个调节机制. 鸟类成红血细胞的终末分化中,除表现类似上述特点外,还发现在染色体水平转抄产生的 m-RNA 的种类比实际在多聚核糖体上合成的专一蛋白质所需的种类要多许多,也就是说基因组比较广泛地被激活,但是这些基因转抄的产物中,相当大的部分不能到达细胞质内的蛋白合成机构,而在中途被代谢分解了. 最近发现,核内新合成的 d-RNA,在细胞核内传递过程中,位于信息传递蛋白 (Informofer) 的表面,易于受到各种核酸酶的处理,一些非信息的 d-RNA 排列被破坏. 这一现象也支持上述看法. 总之,终末分化基因表现的调节不只是发生在转抄水平,而且可能发生在翻译水平,或者转抄到翻译之间的中间过程.

分化细胞的基因表现在翻译水平的调节,可能通过专一的起始因子 (Initiation factor). 蛋白质合成的发动,要求一种起始因子把 m-RNA 和核糖体连接起来,形成一个起始复合物. 对于每一种 m-RNA,存在相应的专一的起始因子. 未分化的卵母细胞,注入各种外源 m-RNA 后,都能合成相应的蛋白质,因此卵可能含有适合早期发育中产生的多种多样的 m-RNA 的许多起始因子. 而在分化的细胞可能只保留着和它的专一功能有关的起始因子,并失去其余无关的因子. 从各种分化组织,如肌肉、网织红血球等的核糖体上分离的起始因子,各自能识别同一组织来源的 m-RNA,和它专一地结合,并相应地合成肌球蛋白或血红蛋白. 因此,分化细胞的细胞质内的起始因子,可能对 m-RNA 起一种选择作用. 除此之外,还可能存在其他的调节机制. 核内新合成的 d-RNA 和细胞质内的 m-RNA,都含有 PolyA. 近来发现,HeLa 细胞的 m-RNA,到达细胞质后,其分子上附带的 PolyA 链的长度,逐渐变短. 成红血细胞之血红朊

m-RNA 也可能发生类似的变化. 这种变化对蛋白合成调节的功能意义还不清楚.

成体蝾螈摘除水晶体后，能从虹彩背缘再生出水晶体. 这一现象是成体细胞转变分化方向的最清楚的例子. 虹彩细胞转变分化方向最先的迹象是核内 RNA 合成增加. 随着 RNA 向细胞质的转移，细胞质内水晶体专一蛋白质合成迅速增加，水晶体专一抗原逐渐出现，表现出水晶体的形态分化. 胚胎细胞分化和成体细胞的转化都需要反映基因活动的核内 RNA 合成. 但是，当分化细胞的蛋白质合成系统已经建立后，是否还需要连续的基因活动，来维持细胞的功能活动呢？单层培养的结缔组织细胞（ARE-20），当 m-RNA 合成被抑制后，酸性粘多糖（AMPS）合成逐渐下降，并可持续 18 小时. 这证明分化细胞的功能仍然依赖于基因的活动，不过产生的 m-RNA 是相当稳定的，并且半衰期比较长. 其它的细胞，如哺乳类网织红血球，失去细胞核后几天内，血红朊还继续合成，并且不受放线菌素 D 抑制. m-RNA 半衰期长可能是高等动物分化细胞的一个相当普遍的特点.

最后，还要谈到担任特殊免疫功能的细胞——淋巴球的基因表现问题. 由于免疫反应的专一性，免疫球蛋白的分子结构和遗传变异也有相当深入的研究，因此淋巴球是研究细胞分化和基因表现的好材料. 目前已知，免疫球蛋白合成的遗传控制非常复杂，并具有许多特点. 组成免疫球蛋白分子的每一条肽链（重链和轻链）都是由两个不同的结构基因（V,C）共同决定的. 显然，“一个基因一条肽链”的假说，在这里是不适用的，应改作“两个基因一条肽链”. 其次，一个抗体形成细胞，当受到两种以上的抗原刺激时，一般只产生一种专一性的抗体，并且也只合成一种类型的轻链（κ 或 λ），或重链（γ，α 或 μ 等）. 因此，只有一种 VC 基因被选择地激活. 对于一个杂合子动物，一个免疫球蛋白分子中，两条轻链和两条重链，各自具有相同的同族异型决定簇，而不会出现“杂种”分子，这表明一个细胞中，重链或轻链之基因座的许多等位基因中，只有一个被选择地激活. 这种等位基因互斥现象（Allelic exclusion）是抗体合成的基因表现的又一特点. 其他基因，如组织相合性抗原之 H-2 基因座，没有这种现象，在同一个淋巴球上可出现两种组织相合性抗原. 再其次，细胞中轻链和重链的合成是分别在不同的多聚核糖体上进行的. 正常抗体形成细胞中，两种肽链的合成速度是协调一致的，而在骨髓瘤细胞中，这种协调机制被破坏，结果血和尿中出现大量过剩的游离轻链，即所谓 Bence-Jones 蛋白. 重链和轻链合成的协调依赖于有关基因被激活的数量，以及转抄和翻译的速度. 这就提出了一个在分子装配中，与各亚基有关的基因转抄的协调机制的问题. 这些现象都说明淋巴球的基因表现，在分子装配水平，还存在着复杂的调节机制.

肿瘤免疫、过敏性疾病等医学实践，都希望产生有利的，而避免不利的抗体和免疫反应，也就是希望能够定向地控制免疫反应和抗体产生的问题. 从根本上讲，各种类型的免疫反应都是依赖于淋巴球结构基因的选择性表现. 因此，也就可以归结于淋巴球基因表现的调节控制问题. 目前认为抗体形成细胞的基因表现经过三个时期：（1）造血干细胞受到法氏囊因子（或相当的因子）或胸腺因子的诱导，分化为 B 细胞（体液免疫）或 T 细胞（细胞免疫）. B 细胞的 Cμ 基因被激活，以相当低的速度合成 IgM，位于细胞表面，作为抗原的接受部位.（2）B 细胞通过抗原接受部位和抗原专一地结合后，进一步分化，IgM 抗体的产量增加并分泌到体液中；同时，其他的 Cγ，Cα 等基因也有轻度的表现，结果细胞表面出现其他几类的免疫球蛋白接受部位.（3）进一步在 T 细胞的辅助下，B 细胞内，Cγ，Cα 或 Cμ 等基因中只有一种选择地加强表现，产生相应的 IgG，IgA 或 IgM 抗体，结果转变为只分泌某一类抗体的浆细胞[24]. 这种基因表现系列的调节机制，抗原和细胞表面接受部位相互作用的本质，膜上信号如何传回核内使基因选

择地激活，以及抗体易变区多样性的基因控制等问题都还不清楚．这些问题的研究，不但对一般细胞分化和基因表现等基本理论问题有重要的理论意义，而且在医学上也有重要的实际意义．

*　　*　　*

从上述可见，个体发育不同时期，细胞分化中基因作用系统的调节控制可能在不同水平上进行．从受精到卵裂，所需的发育信息是在卵子发生过程中，以“掩盖” m-RNA 形式储存在卵质内的．受精时，“掩盖” m-RNA 激活，而开动蛋白合成系统．这说明发育系统中蛋白质合成的调节，除了基因转抄水平的调节外，还可能存在“翻译”水平的调节．受精就是后者的一个例子．从受精到囊胚期，甚至原肠期以前，无论“调整卵”或“镶嵌卵”，蛋白质合成的调节都主要是在“翻译”水平进行的；从囊胚或原肠胚以后，“转抄”水平的控制才变得重要起来．器官、组织的分化过程中，如上述红血球发生，胰腺上皮细胞的分化等都可能是先合成“掩盖” m-RNA，然后这些样板再转入活动状态，合成专一的蛋白质分子，然后装配成形态和功能单位，表现出细胞学上的分化．高等动物细胞分化中，基因“转抄”及其“翻译”之间常常相距相当长的时间；这种“转抄”产生的“掩盖” m-RNA 常在发育状态的转变关头提早合成，并且保持相当长一段时间的稳定，到下一发育时期才表现其作用．所谓细胞的“决定”就是基础于有关的“掩盖” m-RNA 的合成，而细胞分化的表现是基础于专一蛋白质分子的合成及其装配为形态和功能的单位．和细胞分化有关的基因的“激活”是发生在“决定”的阶段，而不是在分化表现的阶段．

胚胎的“决定”是在发育过程中，由广到狭地逐步进行的．这是发育的胚胎中，细胞内核质之间，细胞和细胞之间的相互作用以及一种组织对另一种组织作用(即诱导)的结果．镶嵌卵，由于卵质内器官形成物质在早期卵裂中提早分离，各分裂球的发育命运也很早决定了．各分裂球所含的特殊的细胞质，如某些软体动物卵的极叶物质，如何影响基因的表现，对于了解一般基因表现的调节控制也可能是很有意义的，正受到重视．不同的发育系统中，诱导物质是不同的，它们可能是大分子的蛋白质或核酸，也可能是小分子，如色素细胞分化的诱导物质是苯丙氨酸，鸡胚脊髓诱导体节形成软骨的诱导物质可能是胞嘧啶核苷酸等小分子物质．这些不同的诱导物质对于反应细胞的基因作用系统，在什么水平上起调节、控制作用，还是不清楚的问题．这在很大程度上又是由于我们对高等动物细胞的染色体的结构和功能，基因功能的调节控制的知识太贫乏的缘故．个体发育的时空秩序性问题，虽已有人开始用信息论和控制论等数学方法进行研究，但还处于萌芽阶段．总之，细胞分化中基因表现的调节控制可能是今后若干年内，细胞生物学和发育生物学最关心的问题之一．在分子细胞学水平建立一个遗传和发育的统一理论，是现代生物学面临的巨大理论任务．同时，这方面的任何重大进展也将促进我们对于病理分化——癌变及其控制问题的了解．

参　考　文　献

[1] Davidson, E. H., *Gene Activity in Early Development*, 1968, Academic Press.
[2] Gurdon, J. B., et al., *Nature*, **233** (1971), 177.
[3] Stevens, R. H. & Williamsons, A. R., *Nature*, **239** (1972), 143.
[4] 朱洗、王幽兰，实验生物学报，**6** (1958)，129.
[5] Dettlaff, T. A., et al., *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **12** (1964), 851; **16** (1966), 183.
[6] Raven, C. P., *Oogenesis*, 1961, Pergamon Press.
[7] Lerner, R. A., in *Contemporary Topics in Immunochemistry*, 1972, 111, Plenum Press.

[8] Spirin, A. S., in *Current Topics in Developmental Biol.*, **1** (1966), 1.
[9] Briggs, R. & King, T. J., in *The Cell*, **1** (1959), 537, Academic Press.
[10] Gurdon, J. B. & Laskey, R. A., *J. Embryol. Exp. Morph.*, **24** (1970), 227.
[11] 童第周等，实验生物学报，**9** (1964)，217.
[12] 童第周等，动物学报，**19** (1973)，201.
[13] Tung, T. C. (童第周) & Niu, M. C. (牛满江), *Scientia Sinica*, **XVI** (1973), 3, 377; 中国科学，1973，4，389.
[14] Tobler, H., et al., *Develop. Biol.*, **27** (1972), 190.
[15] Harris, H., *Cell Fusion*, 1970.
[16] Yamada, T., *J. Cell. Comp. Physiol.*, 60, Suppl. **1** (1962), 49.
[17] Tiedemann, H., in *Current Topics in Developmental Biol.*, **1** (1966).
[18] 庄孝德，科学通报，1963，12，22.
[19] Tiedemann, H., *J. Cell Physiol.*, 72, Suppl. **1** (1968), 129.
[20] Niu, M. C. & Mulkerkar, L., *J. Emboyol. Exp. Morphol.*, **24** (1970), 33.
[21] Niu, M. C., et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.*, **47** (1961), 1689; **48** (1961), 1964.
[22] Grobstein, C., *Science*, **143** (1964), 643.
[23] Rutter, W. J., et al., *J. Cell Physiol.*, 72 (1968), Suppl. **1**, 1—18.
[24] Warner, N. L. & Harris, A. W., in *The Biochemistry of Gene Expression in Higher Organisms*, 1973, 612.