

## 体细胞杂交的诞生：Boris Ephrussi 和染色体移植

Doris T. Zallen, Richard M. Burian

1966年11月在《遗传学》杂志上发表的两篇论文代表了 Boris Ephrussi (1901—1979) 实验室在十年间的主要研究成就，这些研究改变了整个哺乳类遗传学，特别是人类遗传学。与当时为 Cleveland 的 Western Reserve 大学 Ephrussi 实验室研究生的 Mary Weiss 合作的一些文章，首次详细报道关于两个不同种（小鼠、大鼠）体细胞活的稳定杂种细胞形成（原始报道在 Ephrussi 和 Weiss 1965; Ephrussi 1966）。这些杂种细胞对体细胞遗传学的发展具有重要的贡献，以后又成为获取人类染色体遗传结构详细信息的重要工具。

虽然论文中所述的技术在发展人类形式遗传学方面起了重要作用，但距离 Ephrussi 自己的科学目标还很远。他当初对构建这些“动物学怪物”的兴趣在于弄清：在发育过程中的决定、分化和调控以及它们与肿瘤发生的关系。下面我们可以看到：种间杂种的工作自始至终贯穿在 Ephrussi 的事业中，最终导致 Weiss 和 Ephrussi 发表的成果，为研究基本发育过程提供了方法。

我们将特别强调 Ephrussi 研究各种移植问题时对方法的策略性应用。对大量机体进行研究后，他不断发现外植、内植、以及将器官、组织、细胞和核移植到外源机体环境中的方法，这一系列技术他称之为“遗传学工具”。他利用移植物在新环境中的行为来验证移植物的调控，保留宿主的相互作用以及宿主如何影响它的假设。在这方面，他对体细胞杂种的工作最好理解为将染色体、染色体臂、或一段基因移植到一个在遗传学上及细胞学上不同的环境中。虽然离开单基因的移植还有很大差距，但这毕竟是 Ephrussi 方

法的当然延伸，还能使他充分了解发育的复杂性（也为他人了解提供了方法），发育复杂性的问题是他从二十年代在巴黎作为一个年轻科研人员研究组织培养和海胆发育时，一直困扰着他的一个问题。

投身于移植研究：自从 1920 年 Ephrussi 作为一个俄国移民在法国开始他的科学训练，他就研究细胞内外因子对胚胎过程的启动和调控。他早期的大量工作是关于温度对海胆受精卵发育的影响。在这项工作中，他使用了较新的仪器——显微操作仪。美国生物学家 Robert Chambers 发明了一种精密的操作仪，能将少量物质注入（或吸出）单个细胞而改变这细胞的性质。1925 年 4 月，Chambers 在巴黎亲自指导 Louis Rapkine 使用这仪器。Rapkine 是 Ephrussi 的学生和亲密朋友，Rapkine 对细胞内的化学过程感兴趣，他在发育变化时细胞生理学的一系列研究中使用了显微操作仪探讨单个细胞内的化学状态。他和 Ephrussi 在法国大学和 Roscoff 海洋生物站先后研究海胆发育过程中的化学变化。Ephrussi 开始熟悉对该仪器的操作，并藉此探测和改变内外细胞环境而追踪发育的变化。

Ephrussi 的第二篇学位论文（法国当时的标准是二篇）是关于组织培养的课题。虽然早期的组织培养技术无法满足研究工作的需要，但 Ephrussi 还是从这一工作和两项短尾小鼠移植研究得出结论，认为内源因子（即基因）在发育中起重要作用。

投身遗传学研究：Ephrussi 事业的第二阶段在关注胚胎学的同时，坚信为了解释胚胎学过程，必须研究基因的作用。在洛克菲

勒基金会的资助下, Ephrussi 于 1934-1935 年到加州理工学院在权威 T. H. Morgan 门下学习遗传学。在那儿, Ephrussi 被安排与 George Beadle 合作, 后 Beadle 于 1935 年秋去巴黎与他共事。由于 Beadle 在遗传学方面的贡献, 和 Ephrussi 在胚胎学方面的洞察力的技术, 他们的目的是要对发育进行遗传学分析。他们的策略是对单一物种同时进行遗传学和胚胎学研究。因为象海胆和蛙这些传统的胚胎学模式生物不太适合标准的遗传学分析, Ephrussi 和 Beadle 决定将实验胚胎学技术运用到典型的遗传学生物——黑腹果蝇上。他们得到了 Sturtevant 的鼓励, 提供他们朱砂色突变果蝇嵌合体工作的经验。这一工作认为野生型中存在一种可扩散的物质, 它能补偿朱砂色基因缺乏的野生型产物。

但能用果蝇做实验胚胎学吗? 果蝇幼虫似乎太小了, 从而不能用标准的胚胎学技术——移植部分发育胚胎以确定位置和相邻组织对发育的影响。而确定成虫圆盘的难度又使问题进一步复杂。但 Ephrussi 知道 Caspari, Kuhn 和 Plagge 在 *Ephestia* 上所做的移植实验完全建立在使用显微操作仪的基础上, 他相信这仪器可以成为将成虫盘移植到果蝇幼虫的工具。正如 Ephrussi 和 Beadle 将他们发展的方法描述如下:

这技术的主体部分……是应用微量吸管注射某一组织的实际操作。我们已用这技术移植性腺及各种成虫盘……我们使用的装置是标准的小室显微注射器。

将各种基因型的不能形成眼的成虫盘移植到遗传上不同的幼虫以后, 得到了惊人的结果。Ephrussi 和 Beadle 证明在朱砂色和朱砂色眼座位上具有野生型等位基因的果蝇所产生的物质, 是果蝇中常见的褐眼色素形成所必须的。通过移植成虫盘和器官, 注射血淋巴所得的结果, 能使人们深入了解基因可以控制扩散物质的产生来影响表型的途径。Beadle 和 Tatum 从这个基础出发, 利用红色面包

霉和更规范的遗传学方法, 能将基因功能与特定酶的产生联系起来, 并提出他们的“一基因: 一种酶”的假说。

酵母(及细胞质)遗传学: 二次大战中, Ephrussi 作为一个难民, 他大部分时间都是在约翰·霍普金斯大学度过的。大战后, 他又回到法国, 重新开始了旨在研究核和细胞质对发育的各种影响。这时, Ephrussi 避开了在生物之间移植细胞和组织的实验, 而他给他的学生 Piotr Slonimski 布置的课题是移植海胆核, 但没有成功。他在解释他选择一种新的实验生物时这样说:

所需的是体细胞的直接遗传学分析, 可以认为不可逆分化的体细胞具有相同的功能, 这些话虽然有道理, 但仅仅是假说。在这些细胞之间进行杂交是不可能的, 只有将核从个体细胞移植到另一个体细胞, 或移植部分细胞质, 才能提供所需信息; 但这些实验有待于技术的发展。同时, 我们认为对这一问题最好的解决是进行低等生物的研究, 因为它们可以通过营养繁殖的方式增殖并且没有独立的种系。

他选择了酿酒酵母作为模式系统, 他真正感兴趣的是高等生物中具有不同功能的各种细胞类型的发育, 而酵母仅作为代用品而已。他幸运地发现吡啶黄能诱导酵母产生细胞质遗传的呼吸缺陷。这种称为“小菌落”的突变是因为它的菌落很小, 它成为研究的热点, 在线粒体遗传学中起了很重要的作用。Ephrussi 就可以设法模仿移植的效果, 并让野生型与呼吸缺陷的小菌落杂交。这样就把不同的核基因放到遗传上不同的细胞质中。采用一整套遗传学和生物化学技术来进行细胞部件的重排后, Ephrussi 和他的小组先后在生物物理化学研究所(巴黎 Rothschild 研究所)和 Gif-sur-Yvette 的 CNRS 研究了细胞质对细胞表型的作用, 以及探索细胞核和细胞质为产生一个完整的、有功能的(虽然是单细胞)生物体的相互作用。特别是他们证明

细胞质颗粒上存在遗传信息的必要性，最终确定为线粒体，它产生呼吸链上的各种酶。

移植的想法对于酵母和果蝇实验来说都是基础，虽然看上去不太明显。在酵母中，移植不是通过不同类型组织的外科融合来实现的，而是设计将不受核控制的各种细胞质的酵母进行有性杂交。不用显微注射照样达到交配和出芽，将有特定成分的核带入有不同生理和生化属性的细胞质环境。但显微操作仪也在一些酵母实验中应用，它被用来分离用吡啶染料诱导出的小菌落表型酵母细胞个体中继生的芽。对这些芽的分析实验表明染料是通过增加小菌落表型突变的频率来起作用的，而不是通过改变选择。

体细胞遗传学：Ephrussi 的探索建立在能呼吸与不能呼吸细胞质之间“移植”酵母细胞核的技术，但他仍然不能知道他所关心的发育问题的实质。正如他经常指出的，在胚胎学概念“在分化过程中发育潜能的限制”与遗传学概念“后生动物所有细胞的基

因型实际上是相同的”之间有明显的矛盾。他希望了解不同细胞系中细胞决定的区别如何产生、调节、和保持，以及明显的分化如何调节和保持。1971年他这样写道：

……如果 Hershey (1970) 所说的“不成文”法则是正确的（即“所有三维结构都由核苷酸顺序编码的推论”），在发育过程中不同后生型[决定的细胞谱系的有限潜能性]的建立一定由核 DNA 编码……（但）总的信息的功能限制是来自不同细胞谱系的不同后生型，是由于染色体本身的改变……或仅是细胞中任何变化的反映（如细胞膜），这是一个值得特别关注而未解决的问题……实际上，这是我无法回答的一个基本问题。

所以，在五十年代，随着酵母工作的进展，Ephrussi 找到一种新的系统用来研究体细胞分化。他终于在 1959-1960 年在 Renato Dulbecco 的实验室学习组织培养的新方法。这是一个明智的选择，因为后来他就用组织培养的手段研究体细胞的特性。（待续）

（上接第 18 页）

由于 HTO 的剂量率和吸收剂量较低，小肠隐窝分裂细胞指数变化不大。

### 参考文献

1. Yokoro K, et al. Acute and chronic effects of tritiated water in mice with special reference to its carcinogenicity, an interim report. *Radiat Protection Dosimetry* 1986; 16 (1~2): 165~168.
2. 周顺元, 等. 氚水在小鼠体内的代谢. *中华放射医学与防护杂志* 1985; 5 (1): 22-26.
3. Ueno AM, et al. Induction of cell killing, micronuclei and

mutation to 6-thioguanine resistance after exposure to low dose rate  $\gamma$  rays and tritiated water in cultured mammalian cell (L<sub>5178</sub>Y). *Radiation Res* 1982; 91: 447~456.

4. Ijiri K. Cell death (apoptosis) in mouse intestine after continuous irradiation with  $\gamma$  rays and with  $\beta$  rays from tritiated water. *Radiation Res* 1989; 118: 180~191.
5. Prosser Js, et al. The induction of chromosome aberration in human lymphocytes by exposure to tritiated water in vitro. *Radiat Protection Dosimetry* 1983; 4 (1): 21~26.
6. Little JB. Induction of neoplastic transformation by low-dose-rate exposure to tritiated water. *Radiation Res* 1986; 107: 225~233.

（上接第 41 页）

7. Schmid W, et al. The micronucleus test. *Mutat Res* 1975; 31 (1): 9.
8. Ranki A, et al. Nonspecific esterase activity in human lymphocytes histochemical characterization and distribution

among major lymphocyte subclasses. *Clin Immunol Immunopathol* 1978; 10: 47.

9. 陈崇株, 等. 用酸性  $\alpha$ -乙酸萘酯酶法测定小鼠淋巴细胞中 T、B 淋巴细胞的组成. *上海免疫学杂志* 1983; 3 (3): 138.