

七十年的细胞重建研究

贝时璋*

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

20 世纪 30 年代一个偶然的机会开始的细胞重建研究, 至今算来已逾七十个年头。

1 丰年虫中间性与细胞重建现象

1932 年春天, 我带领技术员到杭州一处叫“松木场”的地方采集实验用的动物, 在稻田里, 看到了一种体长 1~2 厘米, 像鱼, 更像小虾, 腹部朝上仰游的美丽小动物。据说, 这种小动物在稻田、水塘大量出现, 也和瑞雪一样, 是丰年之兆, 所以人们称它作丰年虫。丰年虫有几种, 我们看到的这种是南京丰年虫 (*Chirocephalus nankinensis*), 它是半稳定动物, 属甲壳纲、叶足类、丰年虫科。丰年虫常见, 但中间性不常见。除松木场的稻田外, 当时在杭州的洪春桥附近及庆春门、艮山门之间的水塘里也曾发现过中间性丰年虫。我们并不是来采集丰年虫的, 也没有过要用丰年虫作研究材料的设想。然而, 我仔细观察发现, 其中有些丰年虫具有异常形态, 雄性个体的头形像雌性的, 而雌性个体的头形又像雄性的。这种异常及其异常的原因生物学界还没有作过研究与报道。因此, 决定采集这些小动物, 带回实验室进行深入研究。

中间性丰年虫到后来就很难找到了。由于当时我在浙江大学生物系的实验室里曾观察到, 丰年虫卵处于低温或干燥情况下可保存很久, 而放入水中又可孵化出虫, 这使我们就有可能利用保存下来的中间性丰年虫干卵进行孵化, 在实验室培养、繁殖中间性丰年虫, 从而为后来以及多年之后继续进行中间性丰年虫的研究提供了条件。

在这些南京丰年虫中, 我发现头形异常的个体, 它们非雌非雄、亦雌亦雄, 是一种中间性 (intersex), 并进行了详细的研究。所谓中间性是指个体在发育过程中的一定阶段同时呈现雌雄性征, 为雌雄同体, 这些中间性丰年虫的染色体组成, 有的和雌性一样, 有的则和雄性一样。根据呈

现的性征偏于雌性或雄性的程度不同, 中间性丰年虫分为两大类, 即雌中间性和雄中间性。又依据各种副性征的不同, 雌中间性分为三种类型, 雄中间性分为两种类型。也就是说中间性丰年虫总共分为五种类型。我又观察到, 中间性丰年虫在生活周期的某一时期会进行性的转变: 雌中间性向雄的方向转变, 雄中间性向雌的方向转变。在发生这种性转变时, 生殖细胞也同时发生性的转变。在转变过程中, 我还观察到, 生殖细胞转变的全部过程包括细胞的解体 (细胞解形, cell deformation) 和细胞的重新形成 (细胞重建, cell reformation)。1934 年, 在浙江大学生物系的一次讨论会上, 我报告了这些现象和我的看法, 提出了细胞重建的假说。但论文《南京丰年虫二倍体中间性》^[1]、《卵黄粒与细胞之重建》^[2] 和《关于丰年虫中间性生殖细胞的转变》^[3] 的发表却已经是 1942 年和 1943 年的事情了。迟迟未予发表, 是因为抗日战争时期浙江大学屡次迁校, 动荡不安。另外, 没有一个合适的可以投稿的期刊也是一个原因。到 1942 年, 《Science Record》创刊, 这项工作才得以投稿并正式发表。这些是客观的事实, 而主观上我多少也曾有所犹豫。我在这三篇论文里, 分析了全部五种类型中间性丰年虫性转变过程中生殖细胞的解形和重建的情况, 叙述了从卵黄颗粒 (卵黄粒) 转变为完整的细胞的现象, 探讨了它的机制。我之所以称它是细胞的重建, 因为重建是复兴, 表现在卵黄颗粒具备组成细胞的一切原料。细胞解形产生了卵黄颗粒, 卵黄颗粒反过来提供了重建细胞的材料。这说明, 当组成细胞的物质基础存在以及环境合适的时候, 可以不通过细胞分裂的方式形成细胞。而生物学界认为一切细胞来自细胞, 认为细胞分裂是细胞繁殖增生的唯一途径。如果说可以通过细胞分裂以外的细胞重建的方式繁殖增生细胞, 势将被看作是对生

* 感谢王谷岩同志整理成文。

物学的褻瀆, 是可笑的愚昧和狂妄. 这样的疑虑当然不足取. 好在我终究将论文发表了.

2 细胞重建是不同于分裂的细胞繁殖过程

细胞重建是不同于细胞分裂的另一种细胞繁殖过程, 二者有着明显的不同. 一般说来, 细胞分裂由母细胞一分为二产生两个子细胞, 分裂后子细胞形成、分开独立, 母细胞也就不存在了. 而细胞重建没有这样的母细胞与子细胞的关系, 细胞重建是在组成细胞的物质基础和条件具备下, 从没有细胞结构到有细胞结构一步一步地从头开始、从无到有重新组织起来的过程. 重建的据点或以生物体内某种细胞的细胞质为基地, 或以细胞内某种成形的物体 (如卵黄颗粒) 为基础, 或在细胞之间 (细胞间隙内), 或在离体培养下的某种无细胞制备中, 所有这些场合, 只要有组成细胞的物质基础和条件的存在, 都有可能重建核和重建细胞. 一般先形成核, 成为裸核状态, 再由裸核逐渐包以细胞质、细胞膜, 形成一个完整重建细胞; 常常会出现多核体, 子细胞核和母细胞核可以同时并存, 也可以在一个母细胞里同时形成多个子细胞.

论文发表了, 而且并未受到责难. 但是可能有人认为细胞重建即使存在, 也不是那么容易见到和经常见到的现象, 而自德国病理学家微耳和 1871 年提出“细胞以分裂产生细胞”、“细胞分裂为产生细胞之唯一方法”的传统观点以来, 生物学界无不将其奉为金科玉律, 它的压力毕竟是巨大而又深远的. 因此, 我的工作显得似乎只是一个“孤证”, 不足以说明规律性的问题. 既无响应, 也便无法展开讨论, 当时又有许多事情等着去做, 我只得把这项工作放了下来.

这一放, 竟放过了二十多个年头.

细胞重建的研究涉及到的是细胞学中带根本性的问题, 对未来生物学的发展会产生很大影响. 可以想见, 在地球的发展过程中, 总会有那么一个时期, 生命由比较原始的非细胞形态进化为细胞形态, 绝不会是一有生命就出现细胞那样复杂的形态, 细胞不可能没有历史. 生命在大自然中的这一段发展历史, 人们称它为“细胞起源”. 细胞重建可能是以前地球上细胞起源过程的缩影. 这样的提法是否恰当, 尚待商讨. 但是, 如果认为细胞分裂

是细胞繁殖增生的唯一途径, 我们就不能了解细胞在地球上是如何起源和进化的. 相反, 通过对细胞重建的深入研究, 弄清细胞一步一步地自组织的过程, 我们就能对地球上细胞怎样起源、怎样发展等问题有所理解, 进而对它进行模拟. 因此, 我深感有责任把细胞重建的研究继续下去, 以便把“细胞重建的现象究竟存在不存在”和“是否是普遍规律”这些问题加以澄清.

八年抗战终于以日本帝国主义的投降而告结束, 浙江大学也要告别贵州重返浙江了. 来时艰难, 回去也不容易. 回到杭州后, 既要教课, 又要安顿家小, 依旧忙忙碌碌. 杭州解放后更忙. 先是出任浙江大学理学院院长, 后来, 又调任中国科学院上海实验生物研究所所长. 1958 年, 在北京创建中国科学院生物物理研究所, 任所长; 创建中国科学技术大学生物物理系, 任系主任. 在中国科学院, 还有大量的科学组织和制订科学规划工作, 参与许多社会工作, 参加或率领科学代表团先后访问了苏联、英国、法国、加拿大、美国等 13 个国家. 虽然在研究单位工作, 但我还暂时抽不出时间来从事课题的研究, 也不得不暂时放弃感兴趣、时时牵挂着的细胞重建的研究. 后来, 又是“文化大革命”, 更不能安定下来从事研究工作.

就这样, 转眼过去了二十多个年头. 但我一直没有忘记想要最终澄清的问题. 虽然当时还不能做, 可我坚信终有一天我会去做的.

3 细胞重建研究的重新开展

在各种条件的促成下, 一直到 1970 年, 细胞重建的研究才又在中国科学院生物物理研究所重新开展起来. 和 30 年代相比, 已经处在一个新的时代, 我们的工作也换了新的面貌. 原先基本上是我一个人干, 现在有了一个研究组. 原先的研究材料只有南京丰年虫一种, 现在除丰年虫外, 我们还研究鸡胚、小鼠骨髓以及沙眼衣原体、大豆根瘤菌等. 原来的研究方法只是光学显微镜观察, 现在我们应用了包括电子显微镜、显微缩时电影、相差定位观察、放射自显影、荧光偏振、双荧光标记能量转移、荧光漂白恢复、拉曼光谱等以及生化方面的各种新技术和新方法.

时代变了, 但传统观点的压力依然存在. 当时

我想,研究细胞重建不一定局限于生殖细胞.体细胞中的干细胞,例如造血系统中的干细胞,发育再生能力也是很强的,也可能有细胞重建现象.我准备了一篇开题报告,题目是《造血系统中细胞起源和细胞转化以及其他一些有关问题》,我详详细细说明了这个课题的意义、研究目的和计划等,在会上讲了近两个小时.然而,却没什么反应,既没有人反对,也没有人赞成.我作为中国科学院学部委员、研究所所长,居然做不成自己想做的研究,我是非常想不通的.可见想要做点创新的工作有多难哪!既然对细胞重建存在不同的看法,为了避免不必要的争论,经多方面考虑,开始时我们把研究组称为“细胞生物学组”,把研究课题的名称定为《造血系统中或创伤愈合中各种非细胞形态转变为细胞的研究》.1971年制订“四五”规划时,以及1972年在中国科学院生物学会研究工作会议上,我们的课题都被列为重点研究项目.但还是有人反对.1973年,还有人写信给我,要我不要再研究这样的问题.也有人说研究细胞起源是“共产主义的任务”,意思是说研究细胞起源超越了时代,脱离了现实,不可能完成.幸好,当时传出毛泽东主席曾经说过“细胞起源的问题要研究一下”,调查结果是确实有一份毛主席谈话笔记,因而情况有所好转.这样,细胞起源的研究仍留在计划内,并说清楚研究重点在于以丰年虫为材料,探讨非细胞形态转变为细胞的过程.

到了1974年,在丰年虫性转变的研究方面我们已经做出了许多重要的工作,细胞重建现象得到了充分的验证.

非细胞形态转变为细胞形态的论述,四十多年来,多次受到讽刺和打击,能不能顶住,要看做的工作是不是站得住脚.如果观察和实验正确无误,经得起考验,就该昂首阔步,一往无前.

1975年11月,考虑到只用丰年虫作材料研究生殖细胞的起源,说服力还不强,不如联系实际再做体细胞的起源.当时研究所里要调查研究河南林县食道癌的医疗问题,我结合这个问题提出了在正常状态和病理状态下血细胞形成与转化的调节控制问题.血细胞在有机体内组成一个游离性的细胞系统,是机体自我更新的后勤组织.循环系统配合神经系统控制着全身,对机体的调节起着重要的作

用.我认为,研究各种造血器官及其基质中的生命活动、各种血细胞的形成和相互转化及其与非细胞形态的关系,对阐明机体内细胞的基本活动,特别是对于解决实际问题,例如对于解决肿瘤问题,具有重要意义.研究工作可从鸡的胚盘及原条的形成入手,研究胚胎时期的卵黄囊,鸡胚的肝脏和骨髓,小鸡的胸腺、胰脏、骨髓、淋巴腺等.从血细胞的形成和转化的调节控制着眼,找出血细胞和血相变化时,对食管细胞增生和食道癌细胞的形成和转化的关系.但我提交的这个书面计划报告没有下文.

1976年,“文化大革命”最终结束了,有了正常的工作秩序.这对于我们的研究组是个好机会.这一年的7月,研究组进行了改组,改称“细胞重建研究组”,组里工作人员也增加了,前前后后参加到这一集体中来工作的有李公岫、蓝碧霞、陈楚楚、曹懋孙、郑若玄、李玉安、张碧辉、张锦珠等40余人.工作也有了新部署.除丰年虫外还开展了鸡胚早期发育中的体细胞重建的研究.在原先工作的基础上,我们获得了新的发现、新的知识.例如,不仅观察到鸡胚发育中普遍存在细胞重建现象,还发现卵黄颗粒内有DNA、组蛋白和染色质.卵黄颗粒的染色质和细胞核的染色质有同样的结构和行为,DNA分子的形状也与核DNA很相似.染色质一直被认为是细胞核所特有的.卵黄颗粒内有染色质,这是生物学发展史上的第一次发现.

至此,我们的研究结果已经说明,细胞重建不仅仅是生殖细胞的一种繁殖方式,对胚胎时期的体细胞来说,还是大量繁殖的手段.结果也表明,重建的细胞不仅结构完整,功能也正常,在适当情况下重建的细胞能够分裂.由此可知,细胞重建和细胞分裂一样也是正常的繁殖方式.鸡是比较高等的脊椎动物,它的胚胎时期有细胞重建现象,这就可以推论各种生物在发育、变态、造血、创伤再生、肿瘤形成等过程中都可能有细胞重建.

此后,又开始了丰年虫和鸡胚的离体培养研究细胞重建的工作,1977年上半年观察到了许多前所未见的现象.1977年8月,我们制订了到1980年、1985年、2000年的3年、8年和23年的工作目标.1979年,我们又证实,在小鼠成体的骨髓造血系统中也存在着细胞重建现象.

4 细胞重建理论

工作一直干了9年, 研究论文也陆续在写, 但一直没有公开发表. 当进入第10个年头时, 我们对细胞重建这一繁殖现象已经有了一些比较系统的认识, 可以概括为:

1) 细胞重建是一个自组织 (self-organization) 的过程, 只要具备着组成细胞的物质基础和合适的环境, 在生物体内, 或在离体培养的不存在细胞的制备中, 都有可能发生细胞重建或核重建.

2) 细胞重建在自然界内广泛存在. 不仅真核细胞能重建, 原核细胞也能重建. 不仅生殖细胞能重建, 胚胎的或成长个体的体细胞也能重建.

3) 在鸡胚卵黄颗粒内有DNA、组蛋白和染色质, 在合适的环境下能重建细胞. 染色质不是细胞核独有的物质. 卵黄颗粒也不是没有生命的细胞内含物.

4) 细胞和细胞核可以从细胞质重建, 说明细胞质、细胞核之间本来就没有森严的壁垒.

5) 细胞重建很可能是地球上细胞起源在今日生命世界的反映, 是简单的生命形态发展为细胞的漫长过程的一个缩影. 细胞重建的研究, 有助于生命进化的阐释.

6) 细胞分裂是“闭锁性”的繁殖, 细胞在分裂过程中和它的环境是以细胞膜隔离的. 细胞重建是“开放性”的繁殖, 在重建过程中细胞组分始终和周围环境打成一片. 把细胞分裂和细胞重建结合起来研究, 把模拟和诱导自组织结合起来研究, 对改变细胞的结构和性质, 对改造细胞的性状, 选优汰劣, 控制定向生产, 也就是说对促进和发展细胞工艺和细胞工程, 将提供新的手段和途径.

我们的这些认识已经形成了一个完整的细胞重建理论. 因而, 可以来一个全面总结, 应该把细胞重建研究的结果公诸于世, 看看世人的反应, 听听生物学界的见解了. 我们论述细胞重建研究的历史过程、主要内容、今后发展方向以及理论和实践意义的总结报告《细胞重建的研究》^[4]和研究论文《丰年虫中间性生殖细胞的转变和重建》^[5]分别于1980年4月和7月由中国科学院生物物理研究所正式出版. 后来在1982年第9~12期《中国科学》(B辑)正式发表的5篇论文^[6~10], 也先后寄出.

1980年12月, 中国科学院生物物理研究所主持召开了“细胞重建学术讨论会”. 除中国科学院的科学家外, 还邀请了其他单位的生物学家, 包括张作人、汪德耀, 以及我原先在浙江大学的学生、助手和同事, 如生理学家朱壬葆、动物学家江希明、生物化学家杨福愉、遗传学家陈士怡、盛祖嘉和刘祖桐、微生物学家王祖农、生物物理学家林克椿等, 参加了讨论会. 会上, 研究组的同志系统地做了30多个学术报告, 放映了记录细胞重建过程的相差定位观察显微缩时电影, 还展出了实物、图片, 做了现场示范并进行了讨论, 广泛听取了与会者的见解. 我参加了会议的全过程, 并做了3个专题报告和系统的解答. 与会者对细胞重建在自然界是否存在依然存在着两种截然不同的观点, 相当一部分人持有不同的见解, 这些见解表现的形式多种多样, 有直露的, 有含蓄的, 有激烈的, 有温和的. 对于这些, 我有充分的思想准备, 而且有勇气去迎接种种困难. 我深知并告诫研究组的同志们, “科学上新的重大理论要被人们普遍接受, 必须经过长期的探索和实践”. 正因如此, 我多年来甘于寂寞, 默默地工作再工作, 努力用更多的科学事实去构建细胞重建理论. 然而, 对于那些没有经过充分理解就简单否定细胞重建研究工作的做法, 我也会以科学家坚持真理的精神去据理力争, 以全身心地来维护经过多年实验研究和深思熟虑而提倡的理论.

在这里, 我还想旧事重提, 来说一说做细胞重建研究工作的不易. 我们的5篇论文在《中国科学》(B辑)上的发表, 阻力重重. 为此, 1982年6月14日我给《中国科学》编辑部写了一封一万多字的长信. 信的开头和结尾如下:

“我写这份材料, 目的是希望编辑部予以分析, 为《中国科学》审查稿件服务了30年的一个年近八旬的科学工作者, 对自己向本刊的第一次投稿, 岂能不负责任, 竟把‘资料整理不够仔细、认真’, ‘证据’、‘说服力’不强的文稿送进来? 同时, 附上这份材料的复制本一件, 请编辑部转给这位审稿人, 希望他有所觉悟, 写这样一份审稿意见, 对我们的科研工作极大的侮辱. 我是不肯轻易动笔的, 这次之所以这样做, 是为了具有50年历史的这项科研工作, 竟遭到这样无理的对待, 感

到无比气愤!

“实验是检验真理的标准。对待科学问题,审稿人不能含糊其词、只说空话,更不能发表错误言论,你必须到我们组来重复实验,明辨是非,做到水落石出。你如果不会做实验,请人来代做也行。

“若干年以前,就有人曾两次写信警告我,希望我不要研究细胞重建的问题,还说这是‘爱护我’、‘爱护我的声望’。写这两封信的用意如何?动机怎样?我都不清楚。但根据来信的内容,可以说是软硬兼施,企图扼杀这项研究。为了维护科学真理,为了对人民负责,我将不惜任何牺牲,准备斗争到底。”

由此可以看出,1982年5篇论文得以发表是我斗争的结果。

1980年以后,我们又以沙眼衣原体和大豆根瘤菌为材料,证明不仅真核细胞能重建,原核细胞也能重建。

1981年,上海科学教育电影制片厂提议为细胞重建拍摄一部科教影片,我让他们等一等,等更多的研究论文发表以后再说。两年以后,由生物物理研究所王谷岩编剧、上海科教电影厂王增月导演,影片投入拍摄。1984年底,科教影片《细胞重建》摄制完成、上映。1985年,影片获第五届中国电影金鸡奖最佳科教片奖和文化部优秀科教影片奖。接着在第23届国际科技进步电影节上获奖,1989年又获意大利巴马国际医学科学电影节金奖。

1988年12月,《细胞重建》论文集第一集^[1]由科学出版社出版,收入我们的24篇研究论文,报道了上述研究结果。我们的工作引起国外同行的兴趣和关注,有美国、英国、德国、瑞士、加拿大、意大利、西班牙等30多个国家约120人索取论文单印本。我们的一些研究结果还被编入高等教育专业教科书中。

我还要着重提一下的是我们与美国芝加哥大学细胞生物学、分子遗传学教授江昆生和台湾中央研究院植物研究所戴华教授的合作,1996年后他们夫妇俩每年秋天都来北京与我们讨论工作,进行学术交流。他们研究的是植物细胞线粒体的解体 and 重建。我们认识上比较一致,但定义上有讲法的不同,我经常谈我的观点,他们有他们的观点,但这并不影响我们的合作。旧的去和新思想的

建立是要一个漫长过程的。虽然对细胞重建研究认识的人还不多,对它的检验也没有进行,但也有不少人是支持的。例如,早在浙江大学时的竺可桢校长,美国研究生命起源的科学家、迈阿密大学的福克斯教授,伊利诺斯大学的麦休斯教授都是很支持的。我总感到遗憾的是,我希望对细胞重建开展广泛的检验一直没有进行。

5 细胞重建的模拟与诱导

从1985年开始,我们的工作进一步集中到四个方面开展研究:

1) 细胞重建是一个自组织过程,而自组织要一步一步地进行。因此,我们对鸡蛋卵黄颗粒自组织为核和细胞进行了分析和模拟,主要是对卵黄颗粒的DNA和组蛋白自组织为染色质进行分析和模拟,并对卵黄颗粒染色质的相变,即染色质的纤维发生超螺旋进而形成中期染色体结构作了模拟研究。

2) 为探讨细胞重建的机理,我们还对卵黄颗粒在离体培养条件下进行了人工诱导核重建和细胞重建的实验,并对诱导因子作了分析。

3) 原核细胞的重建,我们是先在沙眼衣原体发现,接着以大豆根瘤菌为材料开展研究,证明过滤性根瘤菌小体和碎片也能通过自组织重建或再生为成菌。

4) 对鸡胚卵黄球中重建核和重建细胞进行了三维显示,目的是为研究细胞重建过程中各种组分的时间和空间关系打下基础。

细胞重建的诱导,研究的是细胞重建的控制和调节:在怎样的条件和环境下进行细胞重建,在怎样的条件和环境下抑制细胞重建。细胞重建的模拟,研究的是细胞在怎样的条件和环境下,从没有细胞一步一步重建成完整的细胞。新陈代谢是生命的主要特征,存在于生命系统的各个层次,而最主要的是细胞这一层次。细胞的新陈代谢包括细胞内分子的新陈代谢(中间代谢或称基础代谢)和细胞自身的新陈代谢,即老细胞的凋亡与解体和新细胞的形成。细胞的凋亡和解体与细胞重建有着密切关系。伴随着正常细胞的新陈代谢而出现的老细胞死亡、新细胞产生过程,实质上是老细胞解体和新细胞重建的过程。细胞解体产生的细胞物质,提供

了重建细胞的材料, 为新细胞的形成提供了物质基础, 在条件合适的时候通过重建过程又形成新的细胞. 并且, 我们在小鼠骨髓细胞、大豆根瘤菌和沙眼衣原体的研究中, 都观察到通过诱导和模拟而重建出的新细胞都可以分化. 从而证实, 细胞自身的新陈代谢与繁殖增生包含了“解体-重建-分化”的过程. “解体-重建-分化”过程的存在意义重大, 构成了一个完整的细胞新陈代谢过程. 由此使我们更为深刻地认识到, 如果以为细胞的繁殖增生只有细胞分裂一种方式, 就难于理解在没有细胞的原始地球上怎么能够产生出最初的原始细胞? 而且, 细胞老是分裂下去, 细胞不会死亡, 细胞的新陈代谢怎么能够存在?

细胞解体与细胞重建必须维持平衡, 解体过甚, 重建跟不上, 就会发生肿瘤. 肿瘤是细胞解体的堆积物, 可以成块或成团, 可以发生在体内某一部位或多处, 成团、成块或分散, 称为“转移”. 动物和人体肿瘤的发生与否, 与细胞活动密切相关.

细胞重建的过程可以通过诱导而进行, 其诱导因素可多种多样, 可以是体内的, 即自身诱导, 也可以用各种环境因素人工进行诱导. 我们进行了以某些物理因素和化学因素对细胞重建的诱导作用的研究. 关于环境对细胞重建的影响, 在电场、磁场和重力场诸多物理因素当中, 我们尤其重视重力场对细胞重建的影响. 失重或微重力对细胞的生长、繁殖、分化的影响是很显著的. 重力影响细胞贴壁, 影响细胞间相互作用和细胞间粘连, 以及细胞与任何背景的粘贴, 而粘连和粘贴与核重建和细胞重建均有关系. 这些问题在理论上和实践上都有重要的意义. 在实验中我们观察到, 在离体培养下比在整体原位上进行的细胞重建既快又多, 其原因一是二者的离子浓度和离子强度不一样, 二是二者的氧化还原作用也不完全一样. 因为细胞的新陈代谢无论在离体培养下或整体原位上, 主要靠离子的浓度和强度以及氧化还原的作用. 离子强度偏高或离子浓度增加, 对氧化比较有利, 对还原有一定的抑制. 细胞分裂需要在氧化作用较强的条件下 (一般在组织的表层) 进行, 而细胞重建则要在还原作用较强的条件下 (一般在组织的深层) 进行.

双翅目昆虫摇蚊的幼虫, 其唾腺细胞很大, 有

巨大的染色体, 是多线染色体, 有多链 DNA. 在我们进行的离子浓度和离子强度对鸡红血细胞染色体和 DNA 影响的研究中看到, 鸡红血细胞是有细胞核的大细胞, 染色体也是多线的, DNA 是多链的. 由此可知, 染色体的大小、粗细和 DNA 的链数与细胞的大小密切相关. 另外, 哺乳动物成熟的红细胞是没有核的细胞, 可以在体内存活较长时间, 并承担着重要生理功能, 此种情况值得深思.

细胞重建包括了细胞的自我合成, 这是一种生物合成过程, 可以在人工条件下模拟细胞的重建和自我合成. 对于细胞来说, 最重要的是细胞核. 对于细胞核来说, 最重要的是染色质和核膜. 关于染色质, 我们对卵黄颗粒的 DNA 和组蛋白组合成为染色质、染色质相变成为染色体及其可逆性, 作了分析和模拟; 又在人工条件下系统地模拟了染色质的自我合成及其在细胞周期中的变化, 以及在离体培养情况下的染色质自我合成. 通过创造人工的条件, 可以实现 DNA 从染色体中分离出来、DNA 和组蛋白组合成染色质、染色质又在离体情况下或在细胞里凝聚成为染色体, 反过来, 染色体还可以解聚变成为染色质. 进行这样的模拟是很容易做到的, 可以依靠一价和二价金属离子浓度的改变创造人工条件而实现, 只是需要控制离子的强度不要太大, 如若使用汞、砷等离子就会因其强度太大而导致细胞死亡. 关于核膜, 我们认为它在分裂过程中的消失 (细胞分裂中期) 和重新形成 (末期) 也与微环境的变化有关. 我们用人工建立的微环境模拟了核膜的消失和重建过程. 进行细胞重建的模拟研究, 可以为人工合成细胞或生物合成细胞打下基础.

染色质和染色体都是凝胶体, 由于染色体的凝胶强度高于染色质, 所以二者的相不同. 染色质凝聚成染色体和染色体解聚成为染色质形态上的变化, 实质上是二者凝胶体的相变. 所谓细胞周期中的前期、中期、后期和末期, 也是染色体和染色质凝胶体相的变化: 前期是染色质, 中期和后期是染色体, 到了末期又是染色质. 核膜的存在和消失与染色质和染色体相对应. 在生物体中, 组织和结构也会发生溶胶状态与凝胶状态间的相互转变. 根据我们的经验, 染色质结块或结团表明细胞开始凋亡.

生命的关键特征是“活”，只有直接研究活体状态才能了解真实的生命活动规律。即使在某些情况下难于全部研究活体状态，也要设法把研究致死的和活体的状态二者结合起来进行。此外，生命是一种开放系统，重要特征是其活动依存于内外环境，生命与环境构成不可分割的统一整体。因此，研究生命科学的问题必须考察生命活动与环境的关系，只注意内因的作用，而不去考察环境的外因作用以及外因通过内因所起的作用，往往会得出不正确的结论。在研究工作中，我们密切注意了生命的这两个方面的问题。我们所进行的细胞整体原位观察和离体培养，都是研究的活体状态，从而揭示了细胞重建的动态过程。同时，通过改变环境条件进行细胞重建的模拟与诱导研究，也了解了活细胞的细胞重建与环境的密切关系。

我们也注意到，生物是含水系统，被称为是一种散射介质；任何辐射，包括带电的辐射和不带电的光辐射，进入生物体内，都将被散射，成为散射电子、散射光子和其他高能量的散射粒子；所以具有强磁场性质；细胞内分子的新陈代谢和细胞自身的新陈代谢，都与生物水有密切关系。

在实验中我们还观察到很多现象，从而可以区分出细胞重建的两种不同类型，单个细胞的重建和多个细胞的重建或称克隆式重建，卵黄球就是克隆式重建。

2003年8月出版的《细胞重建》论文集的第二集^[12]，收入论文18篇，集中报道了细胞重建的诱导和模拟及其相关问题的上述研究结果。

我们的细胞重建研究工作形成的论文尚未全部发表，还有一些已经写就或在整理之中，待适当的时候再行结集或在学术刊物上陆续发表。

科学研究是求真理的过程，随着时间的推移和研究工作的深入，对真理的认识会越来越深刻。要求真理就要实事求是、持客观的态度，随时准备放弃或修正自己的看法，也要敢于坚持通过自己的实验得到的认识；要创新，首先要敢于创新，不能一味地强调“与国际接轨”，而在已有的理论面前止步不前。这便是我们在细胞重建研究工作中的指导思想。

参 考 文 献

1. Pai S. Diploide Intersexen bei *Chirocephalus nankinensis* Shen. Sci Rec, 1942, 1 (1): 187 ~ 197
2. 贝时璋. 卵黄粒与细胞之重建. 科学, 1943, 26 (1): 38 ~ 49
3. Pai S. Ueber die Transformation der Genitalzellen bei den *Chirocephalus*-Intersexen. Sci Rec, 1943, 2: 573 ~ 583
4. 贝时璋, 等. 细胞重建的研究. 北京: 中国科学院生物物理研究所, 1980
5. 曹懋孙, 陈楚楚, 苏雅娴, 等. 丰年虫中间性生殖细胞的转变和重建. 北京: 中国科学院生物物理研究所, 1980
6. 曹懋孙, 陈楚楚, 苏雅娴, 等. 南京丰年虫卵黄颗粒在离体培养下重建为细胞的显微缩时电影和相差定位观察. 中国科学 (B 辑), 1982, (9): 798 ~ 801
7. 陈楚楚, 曹懋孙, 蓝碧霞, 等. 南京丰年虫卵黄颗粒在离体培养下重建细胞的电子显微镜观察. 中国科学 (B 辑), 1982, (10): 888 ~ 891
8. 李玉安, 李 莱, 潘宗耀, 等. 鸡胚细胞核和胚下卵黄颗粒染色质的电子显微镜观察. 中国科学 (B 辑), 1982, (11): 1007 ~ 1010
9. 李玉安, 李 莱, 潘宗耀, 等. 鸡胚细胞核和胚下卵黄颗粒 DNA 分子的电子显微镜观察. 中国科学 (B 辑), 1982, (12): 1089 ~ 1091
10. 李玉安, 李 莱, 潘宗耀, 等. 未受精鸡蛋表层卵黄颗粒的染色质和 DNA. 中国科学 (B 辑), 1982, (12): 1092 ~ 1094
11. 贝时璋主编. 细胞重建. 第一集. 北京: 科学出版社, 1988
12. 贝时璋主编. 细胞重建. 第二集. 北京: 科学出版社, 2003

《七十年的细胞重建研究》图版

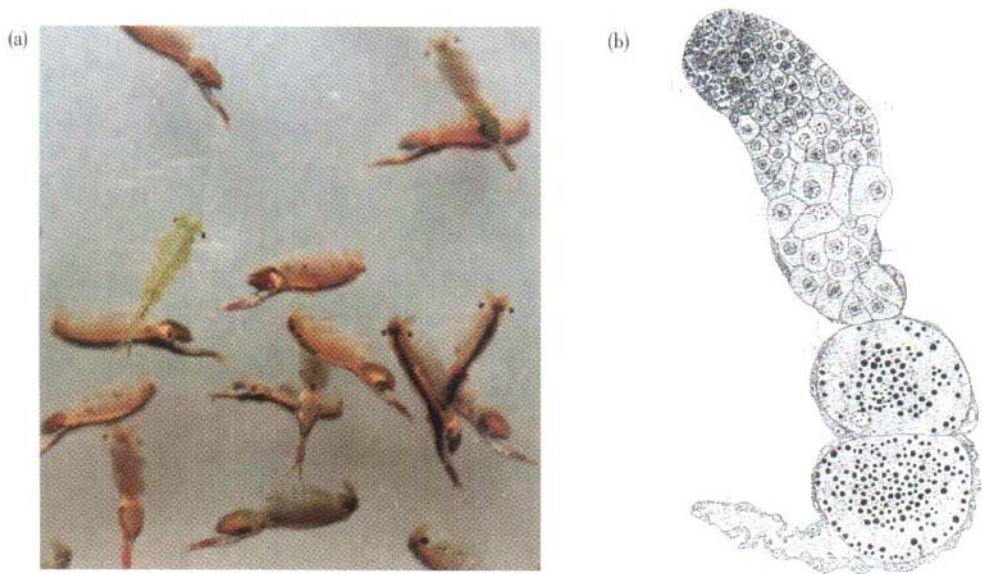


图1 南京丰年虫

(a) 南京丰年虫成体; (b) 正常雌性丰年虫卵巢横切面 (贝时璋先生手绘)。

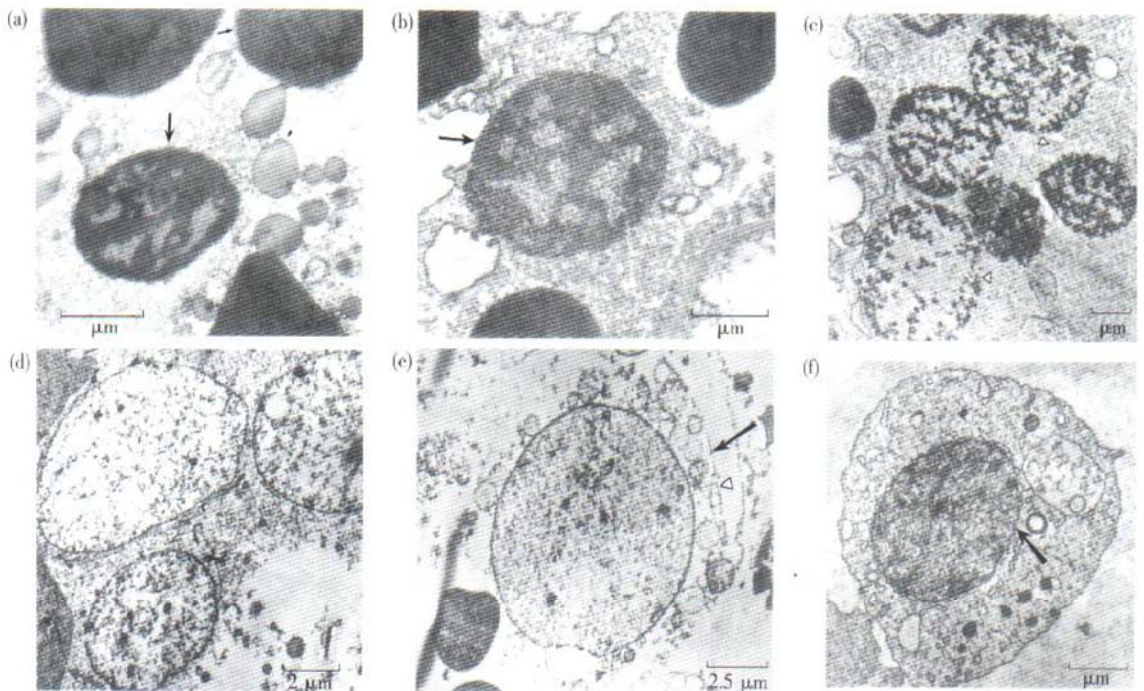


图2 南京丰年虫中间性以卵黄颗粒为基础重建细胞的过程

(a) 卵母细胞中的卵黄颗粒 (小箭所指) 和重建过程开始、正在发生结构变化的卵黄颗粒 (大箭所指); (b) 卵黄颗粒的结构进一步变化 (大箭所指); (c) 卵黄颗粒向核状结构发展 (白三角所示); (d) 已发展成三个重建的裸核, 核膜清楚, 核质松散呈网状, 具有大小不同的细粒; (e) 一个重建核的核外, 正在形成细胞质和部分质膜 (大箭所指), 有大量的内质网泡在胞质中形成, 有的与质膜有联系 (白三角所示); (f) 一个发育较为完整的重建细胞, 质膜已经形成, 有明显的双层核膜 (大箭所指), 但整个细胞形态结构尚比较幼稚, 只有较原始的细胞器。

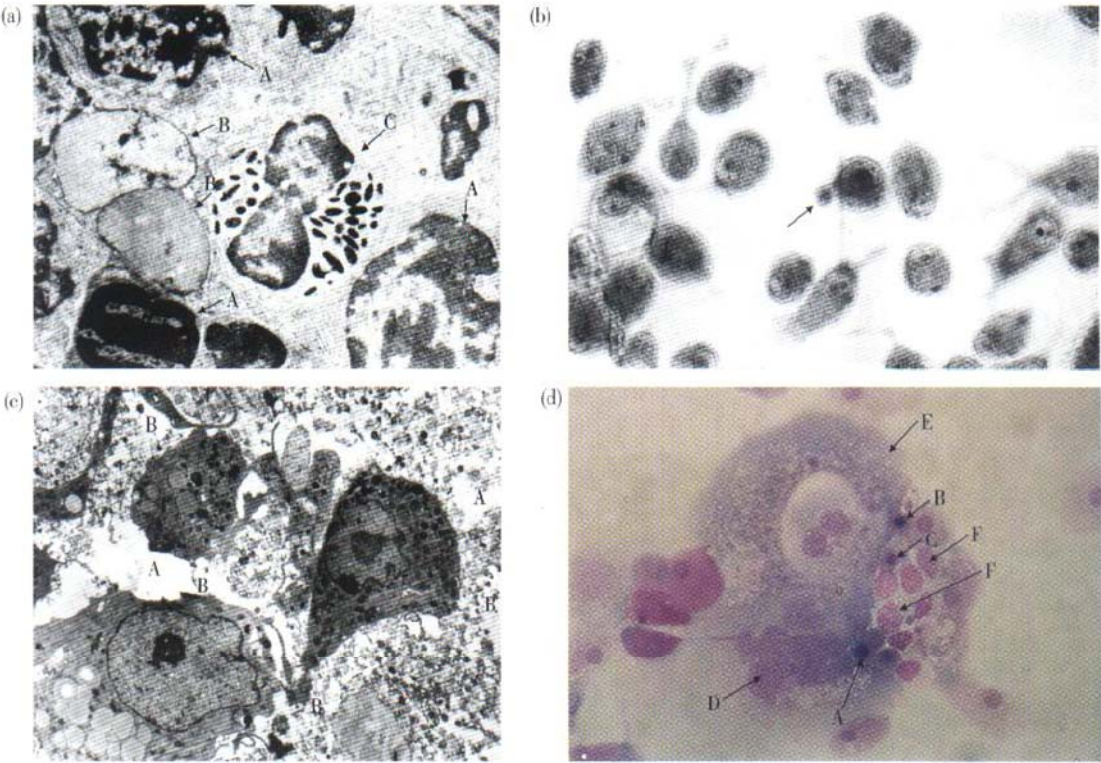


图3 小鼠骨髓细胞的重建

(a) 小鼠骨髓原位超薄切片的电子显微镜图片，示不同发育阶段的红血球母细胞（箭头 A），重建出的两个细胞核（箭头 B）及嗜酸性晚幼粒细胞（箭头 C）；(b) 小鼠骨髓细胞液体培养单培 5 周，贴壁活细胞的相差显微镜定位观察图片，示母细胞正在释放重建的小细胞（箭头所指）；(c) 小鼠骨髓细胞单培 41 周长成群落的电子显微镜图片，示在贴壁细胞层解体重建后，在此基础上又重建出的不同发育阶段的粒系细胞（箭头 A），其周围有正在解体的细胞（箭头 B）；(d) 小鼠骨髓体外液体培养 55 周重建出的贴壁细胞层，在此微环境的诱导下，又重建成造血干细胞，其中有网状细胞（箭头 E）、巨核细胞（箭头 D）、幼稚的髓母细胞（箭头 F）和不同阶段的红母细胞（箭头 A, B, C）。

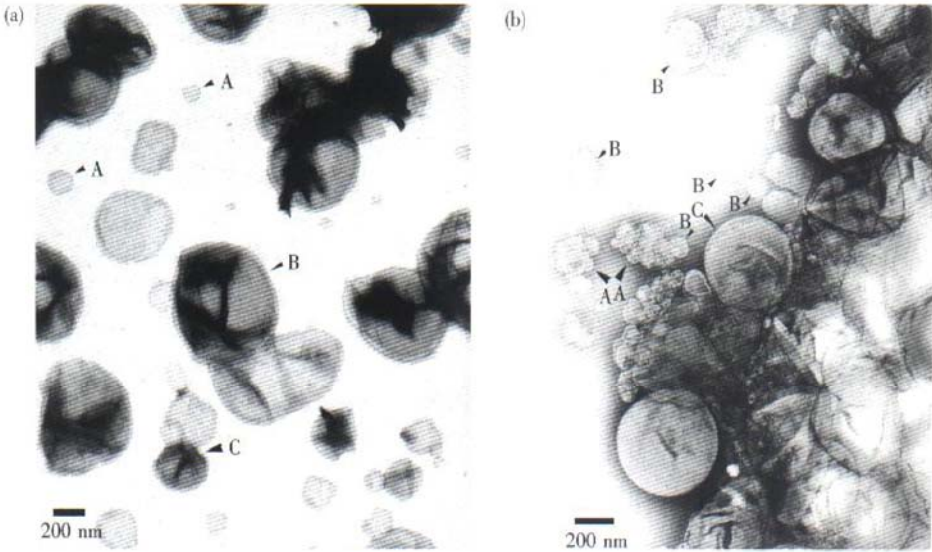


图4 原核细胞沙眼衣原体的细胞重建

(a) 沙眼衣原体重建的电子显微镜图片，示许多大小不等、处于不同发育时期的重建的原体和它们的前体，箭头 A 指发育中的幼小个体，箭头 B 指结晶蛋白层，箭头 C 指衣原体的皱褶；(b) 提取的衣原体在 PBS 中于 2~4℃ 放置 16 天后的电子显微镜图片，在解体的衣原体外流物质基础上新生原体成群地重建，箭头 A 指重建的幼小个体群，箭头 B 指发育中的重建的幼小个体，箭头 C 指正在解体的始体。

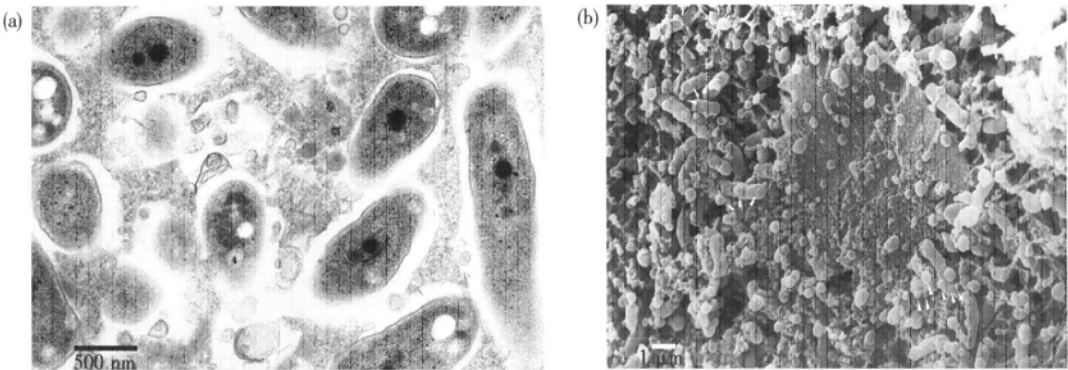


图5 原核细胞大豆根瘤菌的细胞重建

(a) 早期根瘤中心区根瘤菌重建的电子显微镜图片。示中心区许多新生的小类菌体正在重建形成，同时有的类菌体正在解体；(b) 成熟根瘤冰冻断裂样品的扫描电子显微镜图片。示根瘤细胞内有许多由重建形成的小类菌体，有的仍贴附在其他菌上（箭头所示）。

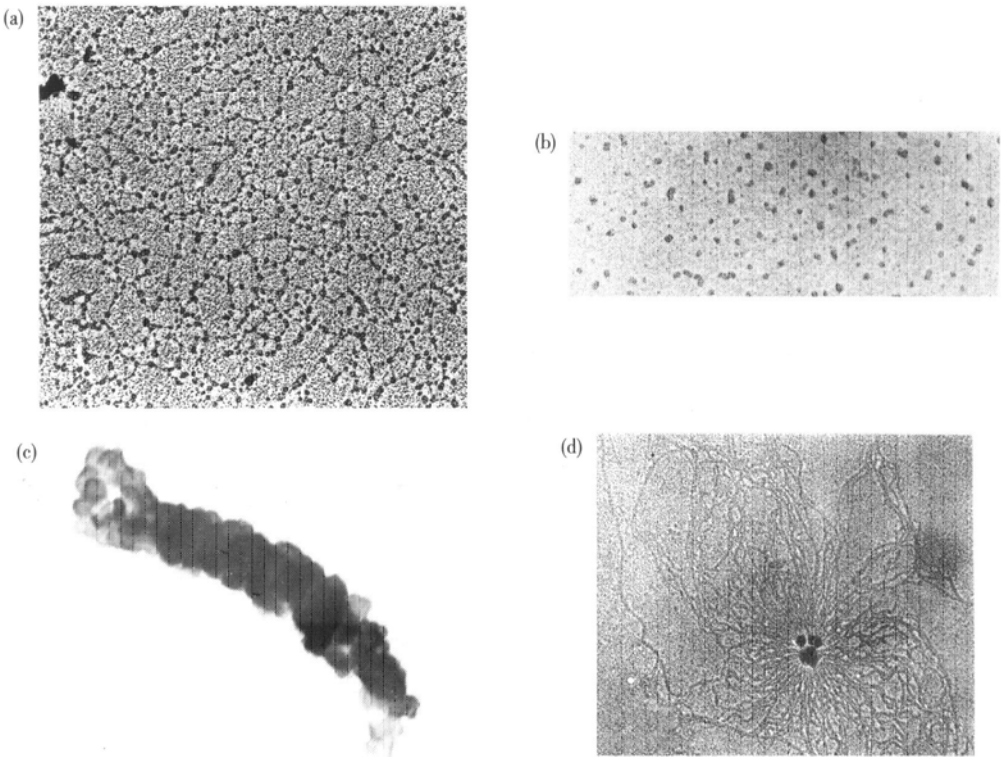


图6 卵黄颗粒中的染色质与细胞核中的染色质有相同的结构和行为

(a) 未受精鸡蛋卵黄颗粒中的染色质纤维，具有典型的串珠状结构；(b) 未受精鸡蛋卵黄颗粒中的染色质经 DNase 消化后的核小体；(c) 未受精鸡蛋卵黄颗粒中的染色质在 2 mmol/L CaCl_2 溶液中凝聚成染色体状结构；(d) 鸡红血细胞染色质在 2 mol/L NaCl 溶液中呈现为大量裸露的 DNA 链，这些 DNA 链有的两条，有的多条交织在一起，呈现不同粗细、不同形态结构的 DNA 分子。