

动物细胞周期*

阚旬嘉

(吉林师范大学生物系)

细胞周期 (Cell cycle) 作为一个生物学的独立概念创始于 1953 年。这一概念几乎从根本上刷新了十九世纪前半期所提出的细胞分裂的陈旧理论。

1953 年霍华德 (Howard) 和帕尔斯 (Pelc), 用 ^{32}P 等标记化合物以及放射自显影的方法, 研究蚕豆根端细胞脱氧核糖核酸 (DNA) 合成受辐射影响时, 发现根端细胞静止期中只有一部

分时间合成 DNA。他们特把合成 DNA 那段时间叫作 S 期 (DNA 合成期)。在 S 期前后的静止期称为间隙期 (gap), 有丝分裂后到 S 期之前的间隙期称 G_1 期 (DNA 合成前期), S 期后有丝分裂前称 G_2 期 (DNA 合成后期)。当时霍华德将分裂期叫作 D 期, 后人改称为 M 期。翌

* 本文承北京师范大学生物系王永潮同志审阅, 特此致谢。

年,拉扎 (Lajtha) 成功地在哺乳动物方面得到相同的结果。五年后,夸斯特尔 (Quastier) 和谢尔曼 (Sherman)¹⁾利用 $^3\text{H-TdR}$ (胸腺嘧啶脱氧核苷,即 $^3\text{H-Thmidine}$) 标记小白鼠小肠隐窝上皮,首次测量了细胞周期的各时相,出色地解决了一个细胞周期所需要的时间以及各期的长度,为细胞周期动态分析开拓了广阔的前景。

一、细胞周期概述

为了便于了解细胞周期的动态变化,我们对夸斯特尔的模型作了些修改(图1)。

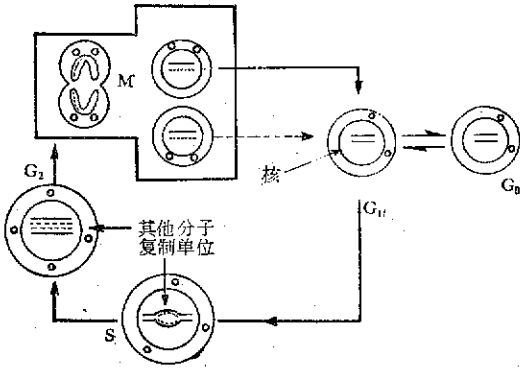


图1 细胞周期模式图

增殖细胞经过 M 期 1 分为 2, 子代细胞中一部分进入 G_1 期,并按一定的程序和时间通过 G_1 、S、 G_2 、M 在周期回路中运行。另一部分子代细胞进入 G_0 期。 G_0 期细胞对药物不敏感,是癌症化疗中的难点之一,也是“愈后”复发的一个重要因素。细胞中的生物高分子和其他分子,在回路中进行有序的变化。如 DNA 在 G_1 阶段是二倍体含量 ($2C$),在 S 阶段的 DNA 处于复制状态,在 G_2 期 DNA 已是四倍体含量 ($4C$) (图 2)。DNA 复制是由复制单位,从原点到终点完成的。由第一次分裂结束到第二次分

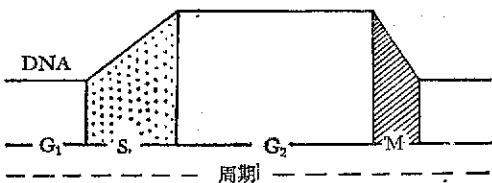


图2 DNA 含量和周期

裂末称为细细周期。一个细胞周期所需要的时间叫作细胞周期时间 (T_C)。各期所经历的时间分别以 T_{G_1} 、 T_S 、 T_{G_2} 、 T_M 等符号代表。每类细胞的各期时间是相对恒定的。如赫拉 (Hela) 细胞(表 1)。

表 1 各种细胞周期时相

细胞类别	T_C	T_{G_1}	T_S	T_{G_2}	T_M
Hela 细胞	23.6	12	7	4	0.64
小鼠小肠隐窝细胞	10.5	2	6.5	1	1
人皮肤细胞	21.7	11.2	5.4	3.9	1.2
L5178Y	10.8	1.8	7.3	1.2	1.55
狗骨髓	12.5	3	4	4.5	1

从表 1 可以看出细胞周期时相因细胞种类不同而有相当大的差别。

周期时相不仅有“种”的差别,也会因温度、pH、激素、血清浓度、细胞年龄、营养和癌变等等而波动。以小鼠白血病 L5178Y 为例,比较 37°C 和 31°C 条件下各时相的波动情况(表 2)。从表 2 可见 T_C 相差 2.43 倍。

表 2 L5178Y 的周期与温度

温度	T_C	T_G		T_S		T_{G_2}		T_M	
		%	小时	%	小时	%	小时	%	小时
37°C	10.8	21.8	1.8	66.3	7.3	8.3	1.2	3.6	0.55
34°C	18.9	22.1	3.2	68.7	13.3	7.0	1.8	2.0	0.59
31°C	26.2	24.6	5.0	67.4	18.8	5.8	2.1	1.7	0.63

同一系统的细胞周期因所在部位不同而不同。如小鼠上皮细胞,在食道部位, $T_C = 115$ 小时,在十二指肠, $T_C = 15$ 小时。前者 $T_{G_1} = 103$ 小时,后者 $T_{G_1} = 6$ 小时。小肠隐窝细胞位于隐窝底部的 $T_C = 14$ 小时,接近上方绒毛的 $T_C = 10$ 小时,前者 $T_{G_1} = 3.5$ 小时,后者的 $T_{G_1} = 1.5$ 小时。中国仓鼠 (CHO) 颊囊正常上皮细胞 $T_C = 142$ 小时,而癌变上皮细胞 $T_C = 17.6$ 小时,前者的 $T_{G_1} = 128$ 小时,后者的 $T_{G_1} = 8.6$ 小时。综上所述, G_1 期在细胞周期回路中起着调控的重要作用。

1) Quastler, H. & F. G. Sherman, 1959. *EXP. Cell. RES.* 17: 420—438.

二、细胞周期的动态分析

解析由M期→G₁期→S期→G₂期,再由G₂回到M期的运行全过程,是周期分析的主要内容之一。它以DNA→信使核糖核酸(mRNA)→蛋白质这一中心法则为依据,探讨各期各种生物物质的变化。

(一)由M期向G₁期运行情况 1962年岗田(Okada)等人用过量胸腺嘧啶核苷(ex-TdR)和秋水仙胺(colcemid)处理L5187Y细胞,得到M期同步化细胞集团。然后,加³H-亮氨酸(³H-leucine),³H-尿嘧啶(³H-uridine)和³H-胸腺嘧啶核苷。在实验组分别加入RNA合成抑制剂,放线菌素D(actinomycin D)和蛋白合成抑制剂嘌呤霉素(puromycin)。随后追踪非标记M期细胞摄取³H-化合物的动态。

实验结果显示,尽管有放线菌素D和嘌呤霉素存在的前题下,M期细胞仍然象正常细胞一样分裂成2个子代细胞,并进入G₁期。这说明由M期向G₁期运行不需要新的RNA和新的蛋白质合成(图3)。

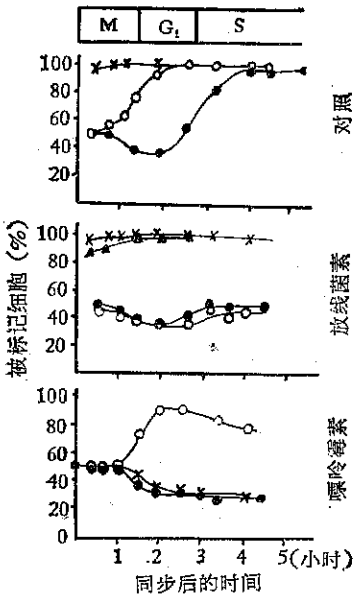


图3 ³H-化合物摄取情况

- ×-× ³H-亮氨酸;
- ³H-尿(嘧啶核)苷;
- ³H-胸(腺嘧啶脱氧核)苷。

(二)由G₁期向S期运行情况 G₁期细胞的初期细胞通膜的透性和摄取营养的能力同时加强。癌变3T3细胞摄取氨基酸的能力增加了3倍¹⁾。但由G₁到S期必须合成新的mRNA和新的蛋白质,否则不能进入S期。问题的关键是在G₁期那一阶段形成新的mRNA和新的蛋白质?

向同步细胞加mRNA合成抑制剂放线菌素D,则G₁初期细胞不能进入S期,只有G₁中期细胞可以流入S期。这一事实说明了G₁→S过程必须有新的mRNA合成。这些新的mRNA是在G₁期早期完成的。Okada等人认为新的mRNA是在G₁期最初1/3时间内完成的。如果向同步化细胞加入嘌呤霉素,那时G₁中期以前的细胞不能进入S期,而G₁中期以后的细胞可以顺利过度到S期。因此,进入S期所必须的蛋白质是在G₁中期完成的。Okada等人认为新的蛋白质合成时间是在G₁期2/3处。然而

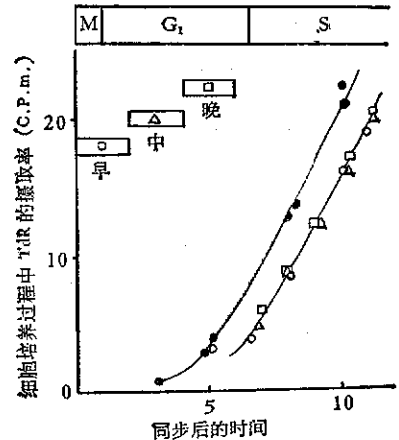


图4 嘌呤霉素对G₁的影响

特拉西马(Terasima)等在L₅细胞的早、中、晚三期中,投加嘌呤霉素2小时,发现蛋白质形成与投药时间无关(图4)。所以他们主张与DNA有关的蛋白质合成应贯穿G₁期全过程。

(三)由S期向G₂期运行情况 DNA合成是S期主要特征之一,其具体情况可以通过³H-TdR标记和电镜定位观察了解。DNA分子长约3米,缠绕在4—6微米的细胞核内。DNA

1) 浦义彰 1977 动物细胞の增殖开始机 医学のあゆみ 101(3): 147-151.

复制是由大量复制单位 (replication Unite) 完成的。每个细胞大约有 3×10^4 个复制单位同时进行复制。从复制开始到结束需要 6—10 小时, 复制速率是 0.45 微克分子(μM)/分。

DNA 复制是从复制原点 (origin) 向终点进行的。由于原点和终点数目以及复制方向不同, 可将复制过程分为三类: 第一类由原点至终点、方向一致; 第二类 2 个原点, 1 个终点, 复制方向相反; 第三类 1 个原点, 2 个终点(图5)。

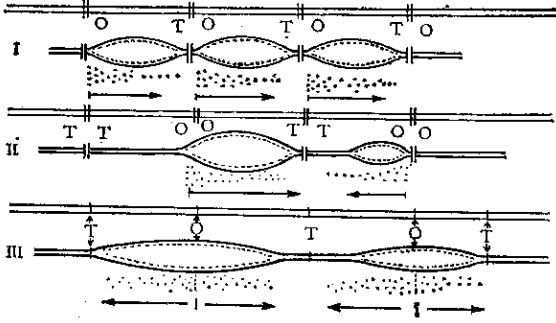


图 5 DNA 复制单位与类别
O 为起点 T 为终点

(四) 由 G_2 期向 M 期运行情况 RNA 合成抑制剂, 能抑制 G_2 早期细胞进入 M 期, 对早期以后的细胞并无这种抑制作用。可见 G_2 进入 M 期所必须的 RNA 是在 G_2 早期完成的。托比 (Tobey) 等人证明大约在 G_2/M 交界前 1.87 小时完成 RNA 合成。Okada 等人在 L5178Y 细胞上的研究表明, 是在 G_2/M 交界前 1.2 小时结束必须的 RNA 合成(表 3)。

表 3 移入 M 期的必要 mRNA 合成结束时间

细胞	处理	G_2 (时)	G_2/M 交界前(时)	作者
中国仓鼠	actinomycinD	3.3	1.87	Tobey
人羊膜细胞	(低浓)	2.2	1~4	Donnelly
KB	(高浓)	2.2	0.5~0.65	
兔肾	(高浓)	3.0	3.0	Taylor
L5178Y	(高浓)	4.0~	~4.0	Kishimoto
中国仓鼠	(低浓)	1.2	>1.2	
	(高浓)	1.2	0.2	
	(高浓)	3~4	无阻 G_2 期延长	Epitanova

许多学者用嘌呤霉素作用于 G_2 期, 发现这种蛋白质合成抑制剂能阻止 G_2 中期以前的细胞进入 M 期, 而对 G_2 中期以后的细胞进入 M 期并

无影响。所以 $G_2 \rightarrow M$ 所必须的蛋白质合成应该结束于 G_2 中期。Tobey 等人用放线菌酮 (cycloheximide) 发现在 G_2/M 交界前 0.6 小时, 中国仓鼠结束其必要的蛋白合成。泰勒 (Taylor) 等人指出 KB 细胞在 G_2/M 交界 0.5 小时结束必要蛋白合成(表 4)。

表 4 移入 M 期的必要蛋白合成结束时间

细胞	处理	G_2 (时)	G_2/M 交界前(时)	作者
中国仓鼠	Cycloheximide	3.3	0.6	Tobey
人羊膜	Puromycin	2.2	0.5~0.5	Donnelly
KB	Puromycin	3.0	M 直前	Taylor
兔肾	Puromycin	4.0~	0.6	Kishimoto
L5178Y	Puromycin	1.2	1~1.5(低浓)	Okada
中国仓鼠	Cycloheximide	1.0	1.5~2(低浓)	Baechett

三、细胞周期调控机构

约翰逊 (Johnson)¹⁾ 等人使不同时相的 Hela 细胞在仙台病毒作用下融合在一起, 形成“杂交”细胞。如 G_1 期细胞与 S 期细胞融合形成 G_1/S 杂交的双核细胞等。这里我们重点讨论实验中的 3 个例子。

首先 G_1 期细胞和 S 期细胞融合形成的双核细胞, 其中 S 期的细胞照常进行 DNA 合成, 然而 G_1 期核却因 S 期核的影响, 提前开始了 DNA 合成。这一事实说明了, S 期细胞内含有一种 DNA 合成诱导因子, 处在 DNA 合成前期的 G_1 核, 受到这种因子激动后加快了向 S 期运行的速度, 使 DNA 合成提前。用 G_1/G_2 和 G_1/S 二组融合细胞比较, 前者的 G_1 核要经历 12 小时开始 DNA 合成, 后者因 S 核存在只用了 2 小时, 差异十分明显。相反 S 期核没有任何变化, 表明 G_1 核并不存在 DNA 合成抑制因子。

其次是 G_2 细胞同 S 期细胞杂交, G_2 核并不影响 S 核继续进行 DNA 合成, 反之 S 核也不能使四倍体含量的 G_2 核再重新合成额外的 DNA。所以 G_2 不存在 DNA 合成抑制因子, 同时 S 期细胞中的 DNA 合成诱导物质对 G_2 不起作用。最后是 M 期和 G_1 以及 G_2 期细胞融合。由于 M 期核的作用 G_1 和 G_2 核开始染色质凝集

1) Rao, P. N. & R. T. Johnson 1970 Nature 225: 159

表 5 周期运行中异相细胞间的作用

细胞	二核细胞		多核细胞	
	向 S 期运行	向 M 期运行	向 S 期运行	向 M 期运行
G_1/S	G_1 核 DNA 合成提前 S 核未受影响 G_1/G_2 12 小时 G_1/S 2 小时	G_1 因 S 早到 M, 但不比 S/S 早到	S 核多时对 $G_1 \rightarrow S$ 有促进作用 $G_1/2S$ 1.5 小时 G_1/S 1.75 小时 $2G_1/S$ 3 小时	
S/G_2	G_2 不重新形成 DNA, S 核未被抑制	S/ G_1 和 S/S 同时达到 M	G_2 核数对 S 的 DNA 合成无影响	G_2 核多时促进 S \rightarrow M 4S 14.0 小时 G_2/S 13.3 小时 $3G_2/S$ 10.7 小时 4 G_2 8.5 小时
G_1/G_2	G_2 对 G_1 无影响, G_2 不再重新合成 DNA	G_2 因 G_2 受阻碍 G_1/G_2 , G_2/G_2 同时达到 M		G_2 核多时对 $G_1 \rightarrow M$ 有促进作用

进而形成染色体。Johnson 称此为染色质早熟凝集 (chromatin premature condensation, 简称 PCC)。由此产生的染色体叫 PC 染色体。因为在 M 期中有染色质凝集因子, 可能是早熟凝集诱导蛋白。

Johnson 等人的实验还指出, 细胞中存在分裂诱导因子。它在细胞融合之后具有平均分配的趋势。正因为这种趋势才有可能使不同期杂交的细胞以同一速率到达 M 期。分裂诱导物质在 G_2 期末尾终于达到临界浓度从而引起分裂。(表 5)。

近年来又发现许多有关细胞周期特异性药剂 (CCSA)。这类药物都在周期回路特定地点起着明显的抑制作用。它们多数在小分子水平上发挥作用, 或者抑制 mRNA 合成, 或者抑制蛋白合成等等。另外也发现细胞周期非特异性药剂 (CCNSA), 如放线菌素 D。它们对各时相可能均有作用, 但也有特定的作用点。非特异性药物多数在分子水平上直接破坏 DNA 或与其形成复合物, 从而影响 RNA 的转录以及蛋白质合成。

综合文献资料, 根据细胞重要分子在周期中活动规律, 如启动, 经路和关闭以及各种药物的作用点绘成图(图 6)¹⁾。

从图中可以看到秋水仙胺的作用点是在 M 初期或 G_2/M 交界的地方。所以在增殖细胞群中加入秋水仙胺, 经过一定时间细胞被堵截在

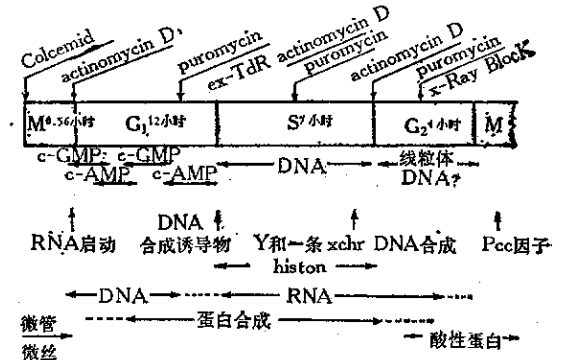


图 6 HeLa 细胞周期及作用特点

M 期而同步化。洗掉秋水仙胺可再同步地进入周期回路。

放线菌素 D 是非特异性药物, 它在 G_1 和 G_2 等期均有作用点。它的作用点位于嘌呤霉素的前面。如 G_1 期, 放线菌素 D 作用点在 G_1 的前期, 而嘌呤霉素作用点却位于 G_1 的中或后期。又如 G_2 期, 放线菌素 D 的作用点在 S/ G_2 的交界位置, 而嘌呤霉素却位于 G_2 中期附近。

Terasima 等人的研究表明了 X 射线对 HeLa 细胞的敏感时相是 M 期和 G_2 期, 而 S 期对 X 射线的耐受性较大。X 射线作用点在 G_2 的中期, 浦特科 (Puck) 等人称此现象为 G_2 -Block (G_2 阻断)。此外, 过量胸腺嘧啶核苷作用在 S 期, 适当的应用双过量 TdR, 可使增殖细胞同步于

1) 岡田重文 1977 细胞周期の生化学 医学のあゆみ 101(1): 36-42.

G₁ 期末或 G₁/S 交界处。

动物细胞周期及其调控等重要生物学问题，是一门新兴而又年青的学科。许多周期运行问题至今尚无一致地解释。本文所介绍的一些细胞周期知识，虽然显示了美好前景，但正经

历着实践的考验。它的基础理论工作正向精微定量和分子水平发展，高速多参数自动分析，流式细胞光度术为细胞周期提供了锐利的武器。对细胞周期调控机理的深入阐明，将会把临床肿瘤化疗和放疗的疗效，提高到一个新的水平。