

细胞不对称分裂

潘正军 陈忠科*

(山东大学生命科学院发育生物学研究所, 济南 250100)

摘要 细胞不对称分裂是多细胞生物发育的基础。细胞不对称分裂的重要特征是细胞命运决定子在细胞分裂期间的不对称分离。细胞不对称分裂一般要经历4个步骤: 在细胞中建立一个极性轴; 沿此轴定向并形成纺锤体; 细胞命运决定子沿极性轴作极性分布; 细胞分裂后, 不同的细胞命运决定子指导决定细胞的不同命运。

关键词 细胞不对称分裂; 极性轴; 细胞命运决定子

1 细胞不对称分裂是多细胞有机体发育的基础

每个多细胞有机体都起始于单细胞, 发育过程中该单细胞的子代分化成多种多样的细胞类型, 以形成机体不同的组织、器官、系统。产生细胞命运差异的机制有两种^[1]: (1)开始产生相同的细胞, 后来由于相邻细胞的相互作用或所处微环境可溶性因子的影响, 细胞命运发生分化; (2)在有丝分裂期间细胞命运决定子只进入两个子细胞中的一个, 使这两个细胞走上不同的发育途径。这种分裂方式叫细胞不对称分裂(asymmetric cell division)。细胞不对称分裂的概念早已建立, 但从分子水平上理解这个概念并分离鉴定第一个细胞命运决定子(cell fate determinants)则是20世纪90年代的事了^[2]。目前, 细胞不对称分裂是多细胞生物发育的基础已得到人们广泛的认同, 而干细胞的不对称分裂更为人们所熟知。近年来在秀丽线虫(*Caenorhabditis elegans*)和果蝇(*Drosophila melanogaster*)中取得的研究成果使人们对细胞不对称分裂已经有了比较清晰的认识, 本文就此做一综述。

2 细胞不对称分裂的过程

一般认为, 细胞不对称分裂要经历4个步骤^[3]: (1)在细胞中建立一个极性轴(axis of polarity); (2)沿着这个轴定向并形成有丝分裂纺锤体; (3)细胞命运决定子沿极性轴作极性分布, 确保分裂后只有一个子细胞得到某些细胞命运决定子; (4)不同的细胞命运决定子指导决定细胞的不同命运。

2.1 细胞极性轴的建立

具有极性或空间上不对称是许多真核细胞的基本特征。例如, 上皮细胞的顶基极性是维持上皮细胞层排成面和腔的整体性所必需的。细胞定向迁移、膜的局部定向生长、膜泡运输、细胞不对称分裂和定向分化都依赖于细胞极性。对细胞极性建立的阐明使人们对细胞有了全面的认识, 包括定义细胞膜结构域、理解细胞骨架的极性以及由跨膜蛋白和细胞质蛋白装配成特殊的皮层脚手架(cortical scaffold)。皮层脚手架为信号转导和细胞成分(整个细胞器或某些蛋白质)的不对称定位提供支持^[4]。细胞极性的建立发生于有丝分裂之前, 一个极性轴对细胞不对称分裂具有指导作用。

在对秀丽线虫突变体的筛选中鉴定出一组叫做partitioning-defective的基因(*PAR*), 共有7个成员: *PAR-1~PAR-6*和*PKC-3*, 第7个成员编码一种非典型蛋白质激酶C(aPKC)。在*PAR*突变体中, 秀丽线虫的合子分裂产生的两个子细胞在大小、命运方面的差异不再表现, 极端情况下两个细胞是等同的。除了*PAR-2*, 所有*PAR*在进化中是保守的。它们的同源物调节果蝇和脊椎动物的上皮极性, 并与细胞迁移和果蝇前后体轴的建立有关^[5]。根据*PAR*在秀丽线虫合子中的定位, 可以分成三组: *PAR-3*、*PAR-6*和aPKC定位在细胞皮层的前方, *PAR-1*、*PAR-2*定位于后方皮层, 而*PAR-4*、*PAR-5*均一分布于细胞皮层。*PAR-3*、*PAR-6*和aPKC彼此结合成*PAR-3/PAR-6*复合体, 这个复合体的不对称定位反映了极性轴的建立, 并且对于有丝分裂期

收稿日期: 2005-04-11 接受日期: 2005-06-16

* 通讯作者。Tel: 0531-8364935, Fax: 0531-8565610, E-mail:

zhongkechen@sdu.edu.cn

间纺锤体定向和蛋白质不对称定位是必需的。秀丽线虫精子入卵点(将来发育成为身体后部)限定了PAR将要聚集之处,受精后细胞皮层区位于精子衍生的中心体处 PAR-3/ PAR-6 耗尽,这样允许后部积累 PAR-2。中心体与细胞皮层相互作用产生一个定向的、肌动蛋白-肌球蛋白依赖的皮层胞质流,引起 PAR 的重新分布, PAR3/PAR-6 在前方皮层富集,而 PAR-1、PAR-2 定位于后方皮层。这也反映了 PAR 和皮层肌动蛋白骨架间的相互作用。当皮层胞质流停止后,由于 PAR-3/PAR-6 和 PAR-2 的相互排斥,及在一种小 GTP 酶 cdc42(PAR-6 的一种结合蛋白)参与下,前后轴的极性得以维持。

果蝇中枢神经系统成神经细胞(neuroblast)在神经外胚层上皮中特化时建立极性。当成神经细胞从上皮分离时,以一个柄状结构伸进上皮层, PAR-3/ PAR-6 在这个柄中被富集,与上层分离后, PAR-3/PAR-6 复合体占据细胞的顶部皮层^[6]。这时一个叫 Inscuteable 的接头蛋白开始表达并结合到 PAR-3/ PAR-6 复合体,也定位到成神经细胞的顶部皮层。Inscuteable 在此募集另一个接头蛋白 Pins 和异三聚体 G 蛋白 α 亚单位 $G_{\alpha i}$ 进入复合体。以后,这些成分在细胞中的定位就彼此依赖了。缺少其中一个成员,其他成员在不同程度上去定位。最近的一个研究表明^[7], Inscuteable mRNA 定位是肌球蛋白依赖的定向运输,这种运输是蛋白质局部翻译和定位所必需的。Inscuteable 在调节成神经细胞的顶基极性和纺锤体形成及长度方面都起作用。在 G 蛋白的共同作用下,细胞极性得到维持。至于 G 蛋白信号如何能维持细胞极性还不清楚。果蝇周围神经系统 SOP(sensory organ precursor)细胞的极性轴与成神经细胞不同,虽然 SOP 细胞也在上皮中特化,但它们沿着上皮平面建立极性轴。该极性轴的建立同样需要 PAR-3/PAR-6 和 Pins/ $G_{\alpha i}$,但由于 Inscuteable 在 SOP 细胞中不表达, PAR-3/PAR-6 定位于细胞后方的皮层,而 Pins/ $G_{\alpha i}$ 却位于细胞前方皮层。Pins 诱导一个膜相关鸟苷酸激酶 Dlg(discs large)于前方定位。Pins 和 Dlg 对维持细胞极性是必需的^[8]。由此看来,细胞极性轴一般要经历建立和维持两个阶段。

2.2 有丝分裂纺锤体的定向

有丝分裂纺锤体的定向和移位对于不对称分裂的发生很重要。在线虫中进行的实验表明,纺锤体的定向和不对称依赖于微管,这些微管来自于纺锤体极并与细胞皮层相接触。PAR 调节微管和皮层的

相互作用,以使不同的拉力作用于有丝分裂的两个中心体。这种相互作用,在线虫中导致纺锤体朝向后端移位;在果蝇 SOP 细胞导致后方的中心体被推离皮层;在成神经细胞,导致纺锤体偏向于基侧一极^[9]。在上述情形中,包含 PAR-3/PAR-6 的半个细胞产生的子细胞将大于它的姐妹细胞。

令人惊奇的是异三聚体 G 蛋白在纺锤体定向和移位中起重要作用。G 蛋白在转导细胞外信号中的作用众所周知,但几个实验结果都表明细胞不对称分裂期间 G 蛋白的作用与细胞外信号无关,而细胞内包含叫做 GoLoco 结构域的蛋白质似乎介导了 G 蛋白的激活。GoLoco 结构域能结合 G 蛋白的 α 亚单位并触发 β/γ 亚单位的解离,而不需要受体激活或 GDP/GTP 交换^[10]。果蝇中,GoLoco 结构域蛋白 Pins 在成神经细胞中与 $G_{\alpha i}$ 共定位于顶端皮层。线虫中两个 GoLoco 结构域蛋白叫 GPR-1 和 GPR-2,它们集中于合子的后端一极,在此增强 G 蛋白活性并极化纺锤体。G 蛋白如何与纺锤体发生作用?推测有两种可能:(1)G 蛋白参与微管与皮层的连接,或能激活拉动这些微管的分子马达(molecular motor)。因为发现在果蝇的 Pins 与动力蛋白(dynein)之间、线虫的 PAR-3/PAR-6 与驱动蛋白(kinesin)之间存在相互作用,最近也发现哺乳动物 PAR-3 能结合驱动蛋白;(2)G 蛋白可能直接作用于微管。因为发现哺乳动物 $G_{\alpha i}$ 可结合微管蛋白并能调节微管蛋白的多聚化行为^[9]。另外,有研究证实,如果 inscuteable 发生突变,不仅纺锤体不能按先前确立的极性轴定向,而且所形成的纺锤体长度也短得多^[7]。总之,多方的参与(PAR, Pins, Inscuteable, $G_{\alpha i}$ 和微管蛋白)使纺锤体沿着细胞极性轴定向并产生一定的移位,在皮层和纺锤体的相互作用中,使纺锤体两极产生的拉力不等。

2.3 细胞命运决定子的定位

任何细胞不对称分裂的本质特征都是细胞命运决定子只分离进两个子细胞中的一个,这通过有丝分裂期间极化这些决定子亚细胞定位来完成。细胞命运决定子是指细胞命运决定蛋白或转录物,通常是一些转录调节因子或细胞信号转导途径中的重要成分。虽然决定子的不对称定位在果蝇和线虫中都受到 PAR-3/PAR-6 复合体的指导,但决定子本身在这两个体系中并不保守,果蝇中它们通常定位在细胞皮层,线虫中却定位于细胞质。与此相一致的是,似乎有不同的定位机制在这两个体系中运作。

在线虫中，锌指结构域蛋白 MEX-1、MEX-5、MEX-6、PIE-1、POS-1 与细胞质中的核糖核蛋白复合体一样，叫 P 颗粒。由于激酶 PAR-1 的作用，MEX-5 和 MEX-6 被后方细胞质排斥出来，MEX-5 和 MEX-6 激活 DYRK 家族激酶 MBK-2，该酶排斥前方细胞质中的 MEX-1、PIE-1、POS-1 等 P 颗粒；同时 PAR 和 MEX-5、MEX-6 诱导一个后方的中央细胞质流动，指导 P 颗粒定位。细胞分裂后，残余的 MEX-1、PIE-1、POS-1 通过 MEX-5、MEX-6 和 MBK-2 依赖的、泛素介导的蛋白质降解途径从前方的子细胞中清除^[11]。这样，细胞质流动和蛋白质降解负责线虫的细胞命运决定子定位。

果蝇成神经细胞中，顶部 PAR-3/PAR-6 复合体指导细胞命运决定子到相反的基部皮层，PAR-3/PAR-6 的关键靶位是叫做 LGL(lethal giant larvae) 的细胞骨架蛋白。在 LGL 突变体中，PAR-3/PAR-6 定位正常，但细胞命运决定子不能定位到基部皮层。同样，在 SOP 细胞中决定子被定位到 PAR-3/PAR-6 相反的一侧，也依赖于 PAR-3/PAR-6 和 LGL。LGL 与质膜和细胞骨架相联系，从酵母到人类该蛋白质是保守的，在细胞成分极性分布中的功能也是保守的。它能直接结合 PAR-6，在体内是 aPKC(存在于 PAR-3/PAR-6 复合体)的底物，磷酸化以后 LGL 失活，阻止其与肌动蛋白细胞骨架和膜发生联系。而与 PAR-3/PAR-6 相反一侧皮层中的 LGL 处于活性的非磷酸化状态，能进行细胞命运决定子的募集^[12]。LGL 募集细胞命运决定子可能是通过肌球蛋白和囊泡的定向运输起作用，因为发现 LGL 能结合到肌球蛋白 II 的重链，并协助囊泡停泊在质膜上。但是 LGL 如何调节肌球蛋白，是否形成细胞质流动，是否决定子都通过囊泡转运及决定子如何进入囊泡都还不清楚^[13]。

总之，线虫和果蝇中细胞命运决定子的不对称分离受 PAR 的调节，通过一定的方式使细胞命运决定子不对称定位到细胞极性轴的一极。

2.4 细胞命运的决定

细胞不对称分裂后，两个子细胞获得不同数量的细胞命运决定子。虽然这些决定子的联合作用使人们难以把细胞命运决定归之于个别蛋白质的作用，但是转录和翻译调节作为细胞命运调节的总机制已经确立。

线虫最初的细胞分裂产生 6 个卵裂球，这些卵裂球每一个所产生的克隆都具有不同的细胞命运。

P 颗粒只存在于生殖细胞的祖细胞 P₄ 细胞，其中 PIE-1 仅存在于生殖干细胞中，对于维持生殖干细胞的干细胞属性有重要功能。除生殖系细胞外，PIE-1 的转录都受到抑制。母源性基因 *GLP-1* 的 mRNA 翻译受到 POS-1 的控制，而 GLP-1 对于进一步建立细胞的不对称性起作用^[14]。

在果蝇成神经细胞分裂时，一种决定子 Miranda 进入基部的神经节母细胞，它作为一个接头结合和运输另两种重要的决定子 Prospero 和 Staufen。Prospero 是一个核转录因子，可以诱导和抑制不同细胞类型特异性靶基因。Staufen 是一个 RNA 结合蛋白，结合 Prospero 的转录物并使之定位于神经节母细胞中^[15]。所以，成神经细胞的命运基本上由差别转录调节来决定。在 SOP 细胞中关键的决定子是 Numb 和 E₃ 泛素连接酶 Neuralized，两种蛋白质都通过跨膜受体 Notch 调节信号转导。虽然 Notch 和它的配体 Delta 在 SOP 的两个子细胞 PIIa 和 PIIb 中都存在，但它们的信号活性通过 Numb 和 Neuralized 有所偏差。在 SOP 细胞分裂期间，决定子 Numb、 α -Adaptin 和 Neuralized 不对称分离进 PIIb 细胞，在此，Numb、 α -Adaptin 都结合到 Notch 和一个 4 次跨膜蛋白 Sanpodo 形成胞吞作用，同时 Neuralized 泛素化 Delta 使之降解，PIIb 细胞的 Notch 信号受到抑制。但 PIIb 细胞中 Neuralized 泛素化 Delta 使 PIIa 细胞膜上的 Notch(与 PIIb 的 Delta 结合)容易断裂为胞外域和胞内域，从而激活 PIIa 细胞膜上的 Notch 通道。胞外域可通过转胞吞作用进入 PIIb 细胞，而胞内域释放后进入 PIIa 细胞的细胞核，实现了 Notch 信号通路的转导。从而 PIIa 和 PIIb 走上不同的发育道路^[16]。

近年来对小鼠和人受精卵卵裂的研究改变了人们以前对哺乳动物胚胎早期发育的认识，即 8 细胞以前的卵裂并非均等分裂，早期的卵裂球已经具有不同的发育命运。第一次卵裂极性轴方向由第二极体和精子入卵点确立，卵裂经过第二极体和精子入卵点所在平面，产生两个几乎相等但不同的裂球。第二次卵裂是不同步的，第一个卵裂球是经裂，主要分裂形成胚泡的内细胞团；第二个卵裂球是纬裂，分裂形成胚外结构。4 细胞胚胎分裂形成 8 细胞胚，此时的卵裂球外表看起来相同，每一个卵裂球虽然仍具全能性，但它们并不相同，这时的胚胎已具有原始的胚极 - 对胚极轴^[17]。与无脊椎动物细胞不对称分裂有关的蛋白质如 G 蛋白、Pins、PAR、LGL、Numb 在哺乳动物中是保守的。Numb 在小

鼠、大鼠和鸡神经祖细胞中不对称定位, 也发现小鼠卵母细胞中 PAR-6 不对称定位^[18]。似乎脊椎动物细胞不对称分裂也与细胞命运决定子的不对称分离有关, 并经历与无脊椎动物相似的过程, 确切的结论还有待于进一步研究。

取得的成果虽然令人欣喜, 但有待解决的问题也不少: 细胞命运决定子如何集中于一个子细胞? PAR 如何锚定于细胞皮层并完成它们的不对称分布? G 蛋白如何作用于微管并且这个过程怎样受到 PAR 的调节? 都需要进一步探讨。

参考文献 (References)

- [1] Horvitz HR *et al. Cell*, 1992, **68**: 237
- [2] Rhyu MS *et al. Cell*, 1994, **76**: 477
- [3] Betschinger J *et al. Curr Biol*, 2004, **14**: R674
- [4] Schaefer M *et al. Exp Cell Res*, 2001, **271**: 66
- [5] Macara IG. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, **5**: 220
- [6] Petronczki M *et al. Nat Cell Biol*, 2001, **3**: 43
- [7] Hughes JR *et al. Curr Biol*, 2004, **14**: 1950
- [8] Cai Y *et al. Cell*, 2003, **112**: 51
- [9] Gonczy P. *Trend Cell Biol*, 2002, **12**: 332
- [10] Kimple RJ *et al. Mol Interv*, 2002, **2**: 88
- [11] DeRenzo C *et al. Nature*, 2003, **424**: 685
- [12] Betschinger J *et al. Nature*, 2003, **422**: 326
- [13] Petritsch C *et al. Dev Cell*, 2003, **4**: 273
- [14] Ogura K *et al. Development*, 2003, **130**: 2495
- [15] Broadus J *et al. Nature*, 1998, **391**: 792
- [16] Le Borgne R *et al. Dev Cell*, 2003, **5**: 139
- [17] Zernicka-Goetz M. *Semin Cell Dev Biol*, 2004, **15**: 563
- [18] Petersen PH *et al. Nat Neurosci*, 2004, **7**: 803

Asymmetric Cell Division

Zheng-Jun Pan, Zhong-Ke Chen*

(Institute of Developmental Biology, School of Life Science, Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract Asymmetric cell division is the foundation of multicellular organism development. The characteristics of asymmetric cell division are asymmetric segregation of cell fate determinants into one of the two daughter cells. Asymmetric cell division proceeds through four steps: first, an axis of polarity is established. Second, the mitotic spindle is set up and oriented along this axis of polarity. Third, cell fate determinants are distributed in a polarized fashion along this axis. Fourth, different concentrations of these determinants in the two daughter cells lead to the establishment of distinct cell fates after cell division.

Key words asymmetric cell division; axis of polarity; cell fate determinant

Received: April 11, 2005 Accepted: June 16, 2005

*Corresponding author. Tel: 86-531-8364935, Fax: 86-531-8565610, E-mail: zhongkechen@sdu.edu.cn