

果蝇 *Bam* (bag-of-marbles) 在生殖干细胞分化及配子发生中的作用

王士友 张耀洲*

(浙江理工大学生命科学院生物化学研究所, 杭州 310018)

摘要 Bam (bag-of-marbles) 是果蝇两性配子发生过程中的一个调节因子, 与其他已知的蛋白质没有明显的同源关系。自 1990 年在果蝇中克隆了 *bam* 基因以来, 至今还没有在其他物种中发现此基因。研究发现, Bam 在两性配子发生过程中行使不同的功能。在雌性果蝇中, Bam 不仅调节生殖干细胞到包囊母细胞的分化, 而且还参与包囊母细胞的不完全胞质分裂; 在雄性果蝇中, Bam 参与调节精原细胞从有丝分裂向减数分裂的转换。

关键词 Bam; 生殖干细胞; 分化

在许多生物体中, 生殖干细胞(germline stem cell, GSC)是配子发生的中枢。与其他干细胞相似, GSC 既能够自我更新, 又能产生很多分化的子代细胞。GSC 的自我更新与分化在生物体内保持着平衡, 从而使生殖干细胞和成熟配子数保持稳定。维持这种平衡所需要的信号, 既来自外部的体细胞, 也来自干细胞内部。近年来在果蝇中的研究表明, Bam (bag-of-marbles) 是外界信号与内部信号之间沟通的一个关键调节因子。本文就果蝇 Bam 的研究现状作一简要介绍。

1 *bam* 基因及其在生殖细胞系谱中的表达

1988 年, Cooley 等^[1]建立了果蝇 P-element-insertion lines 的突变体库, 其中包括了 *bam* (*bag-of-marbles*) 基因的突变体。1990 年, McKearin 等^[2]克隆并初步鉴定了 *bam* 基因。2003 年, Chen 等^[3]对 *bam* 基因的启动子进行了分析, 发现其 -86~-61 区域为增强子元件(enhance element, Enh), +27~+44 区域为沉默元件(silencer element, SE)。至今还没有在其他物种中发现与其同源的基因。

bam 基因编码 442 个氨基酸残基, 在其 C 端含有一个 PEST 序列^[2], 提示 Bam 是一个不稳定的蛋白质。蛋白质序列分析表明, 它和其他已知的蛋白质没有明显的相似性^[2,4,5]。Bam 根据其亚细胞定位形式, 分为 BamC 和 BamF, 即胞质中的 BamC 和融合体中的 BamF^[6]。在果蝇的卵巢中, BamC 首先在包囊母细胞(cystoblast, CB)中表达, 随着细胞的有丝分裂而不断累积; 在 8- 细胞包囊期, BamC 含量达到最高, 16- 细胞包囊期又迅速消失; GSC 中没有 BamC 的表

达^[6](图 1, a)。BamF 定位于生殖干细胞的 spectrosomes, 在包囊母细胞以及 2- 细胞 ~16- 细胞包囊期均有表达^[6]。在果蝇的睾丸中, BamC 特异性地出现在 2、4、8- 精原细胞以及 16- 精原细胞的早期^[7], GSC 和精原母细胞(gonialblast, GB)中没有 BamC 的表达(图 1, b)。

2 Bam 在两性配子发生过程中的功能

雄性和雌性果蝇中从 GSC 到配子的分化都需要 Bam^[2,6,8]。但是 Bam 在两性配子发生过程中却行使不同的功能。

2.1 Bam 在卵子发生过程中的调节功能

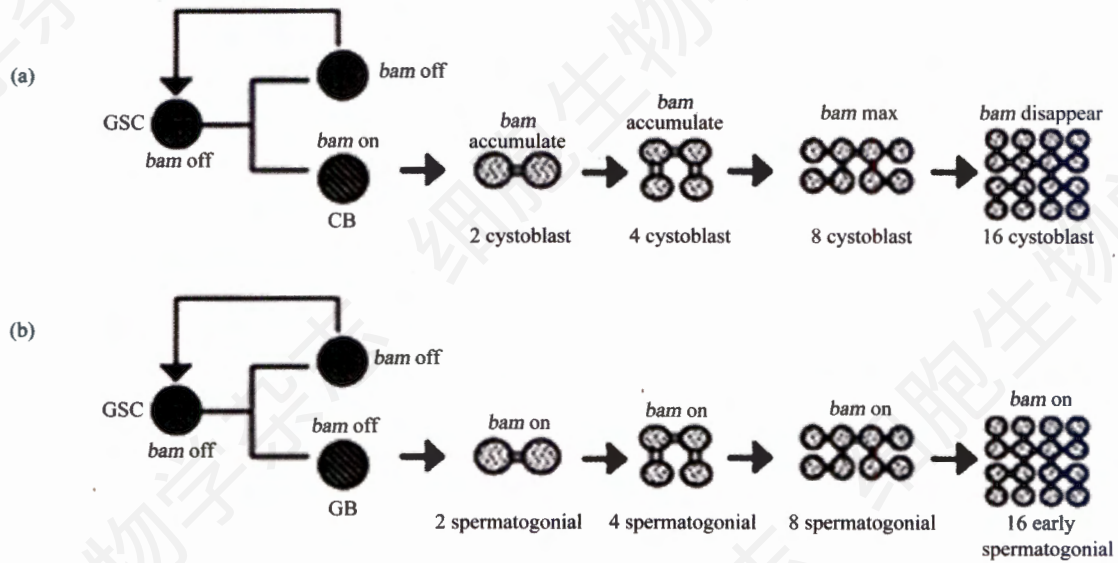
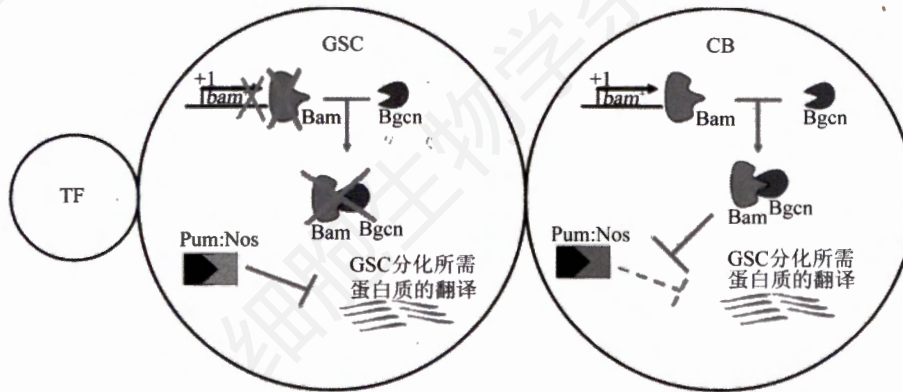
在雌性果蝇的生殖腺中, 每个 GSC 分裂一次产生一个干细胞[仍然和端丝(terminal filament, TF)]相接触)和一个包囊母细胞(离端丝一个细胞的距离)。包囊母细胞经过 4 次不完全胞质分裂, 形成一个 16 细胞的包囊, 其中只有位于包囊后端的一个细胞形成卵母细胞, 其余 15 个细胞则形成滋养细胞。Bam 在这个过程中主要行使两种功能。

2.1.1 从 GSC 到 CB 的分化需要 Bam *bam* 突变的 GSC 不能分化, 而是像干细胞一样超常增殖^[6]; 过表达 *bam* 基因, 可以导致 GSC 的消失^[9]。Pum:Nos 二元复合物作为翻译阻遏物存在于 GSC 中, 抑制 GSC 分化所需蛋白质的翻译。Bam 可以与 Bgcn (benign

收稿日期: 2007-12-06 接受日期: 2008-02-21

国家重点基础研究发展规划(973 计划)(No.2005CB121006)、国家科技支撑计划项目(No.2006BA101B04)、国家自然科学基金(No.30670095)和浙江省自然科学基金重点项目(No.Z204267)资助

* 通讯作者。Tel/Fax: 0571-86843198, E-mail: yaozhou@chinagen.com

图1 BamC的时空表达图^[6,7]图2 GSC再生与分化的调节模型^[9]

gonial cell neoplasm)结合形成 Bam:Bgcn 二元复合物,抑制 Pum:Nos 翻译阻遏物的活性,从而使 GSC 分化为 CB^[9,10]。GSC 分裂产生的两个子代细胞中,其中一个子代细胞因 *bam* 基因的表达而分化为 CB; 另一个子代细胞没有 *bam* 基因的表达,仍然为 GSC(图2)。

2.1.2 BamC 参与 CB 的不完全胞质分裂^[6,11] 包囊中积累的 BamC 指导包囊细胞进行有丝分裂。在 8- 细胞包囊期, BamC 表达量达到最大; 当包囊完成第 4 次有丝分裂, 即 16- 细胞包囊期时, BamC 迅速降解, 包囊细胞停止有丝分裂, 而进入减数分裂过程。

2.2 Bam 在精子发生过程中的调节功能

雄性果蝇的 GSC 位于睾丸的顶端, 与中心细胞(hub cell) 相连, 并被成体干细胞(somatic stem cell, SSC) 所围绕。GSC 分裂一次产生一个干细胞(仍然和中心细胞相连) 和一个精原母细胞(离开中心细胞一个细胞的距离)。精原母细胞经过 4 次不完全胞质分

裂, 产生 16 个精原细胞, 然后停止有丝分裂, 进行减数分裂, 成为精母细胞。

在雄性果蝇的生殖腺中, Bam 的功能主要表现为: 当精原母细胞经过 4 次不完全胞质分裂后, Bam 可以抑制精原细胞的进一步有丝分裂, 或促进精原细胞进入减数分裂时期^[8,11,12]。与雌性果蝇生殖腺不同的是, 从 GSC 到 GB 的分化, 不需要 Bam^[8], 而是依靠表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, Egfr) 的调节^[7,13]。研究发现, 在果蝇睾丸中将 *bam* 突变后, GSC 仍然存在, GB 也可以分化, 但却产生 16 细胞以上的精原细胞^[8,12]。同时, 雄性生殖细胞中 *bgcn* 突变体, 类似于 *bam* 突变体, 也产生 16 细胞以上的精原细胞^[8,11], 但是 *bam* 基因的表达量并不受影响^[8], 所以推测 Bgcn 协助 Bam, 共同调节精原细胞从有丝分裂向减数分裂的转换。

鉴于上述研究, 我们推测 Bam 在精子发生过程中

可能存在这样一个调节模型: 当精原母细胞分裂到16-精原细胞时, Bam 随之累积至阈值, 并与 Bgcn 结合形成 Bam:Bgcn 二元复合物, 作为分子开关, 抑制精原细胞的有丝分裂, 从而促进精原细胞的生长和减数分裂(图 3, a)。而在 *bam* 突变体中, Bam:Bgcn 二元复合物不能形成, 精原细胞继续进行有丝分裂(图 3. b), 产生 32, 64 或更多的精原细胞, 最终细胞走向死亡(图 3)。

3 *bam* 基因的转录调节

3.1 Dpp/Gbb 对 *bam* 的转录抑制

Dpp 信号通过活化其异二聚体受体 Put:Tkv, 磷酸化 Mad 为 pMad^[14,15], Gbb 信号直接或是通过一种未知的机制磷酸化 Mad 为 pMad^[13], pMad 与 Med 结合形成复合物^[14-16], 转移入核, 结合到 *bam* 基因的沉默元件, 抑制 *bam* 基因的转录^[14,15]。

位于果蝇卵巢及睾丸顶端的 GSC, 因为和体细胞相连, 大量的 Dpp 信号活化其异二聚体受体 Put:Tkv, 并和 Gbb 信号磷酸化 Mad 为 pMad, 然后 pMad 与 Med 结合, 转移入核, 结合到 *bam* 基因的 SE 位点, 抑制 *bam* 基因的转录(图 4, a); 包裹母细胞因远离冠细胞(cap cell), Dpp/Gbb 信号减弱, pMad 水平降低, 从而使 pMad:Med 复合物浓度降低到阈值以下, 不足以占据 *bam* 基因的 SE 位点, *bam* 基因开始转录(图 4, b); 雄性果蝇的精原母细胞中含有 Gbb 信号, 因而 pMad:Med 复合物浓度维持在阈值以上, 抑制了 *bam* 基因的转录(图 4, c); 精原细胞中 Dpp/Gbb 信号降低, pMad:Med 复合物浓度降低到阈值以下, *bam* 基因开始转录(图 4, d)。

3.2 其他分子对 *bam* 基因的转录调节

除了 Dpp/Gbb 对 *bam* 基因的转录抑制, 还存在其他一些分子对 *bam* 基因的转录调节。研究表明,

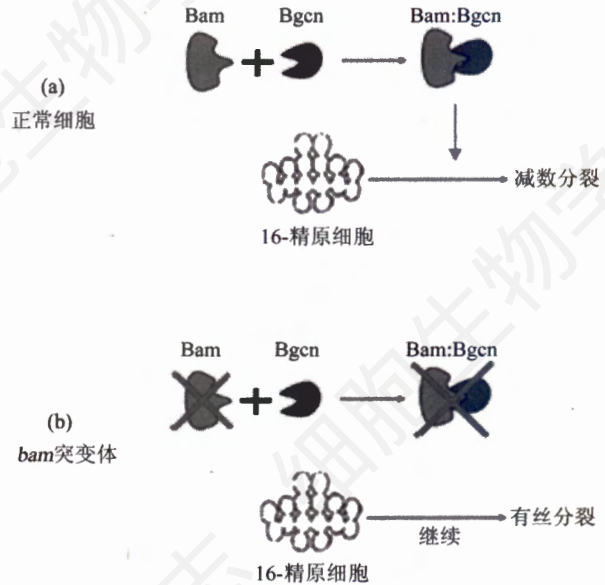


图 3 雄性生殖腺中 Bam 的功能

在正常细胞中(a), 当精原母细胞分裂至 16-精原细胞时, 细胞中累积的 Bam 与 Bgcn 结合形成 Bam:Bgcn 二元复合物, 作为分子开关, 促使 16-精原细胞进入减数分裂阶段; 而在 *bam* 突变体中(b), 当精原母细胞分裂至 16-精原细胞时, 由于细胞中不存在 Bam, Bam:Bgcn 二元复合物不能形成, 因此 16-精原细胞继续进行有丝分裂。

Piwi、Enc、RBP9、Twin 对 *bam* 基因的转录都有调节功能^[9,17-19]。

Piwi 是一个核蛋白, 主要表达于 GSC 中, CB 和有丝分裂的包裹中仅有少量表达^[20]。来源于微环境体细胞中的 Piwi 间接抑制 GSC 中 *bam* 基因的转录^[9,10]。

Enc 是 *bam* 基因的负调节因子, Hawkins 等^[17]在实验中发现, *enc* 突变的卵巢中, *bam* 基因的表达区域扩大到原来的 2 倍。

在体外结合实验中, UUUAUUU 是 RBP9 蛋白结

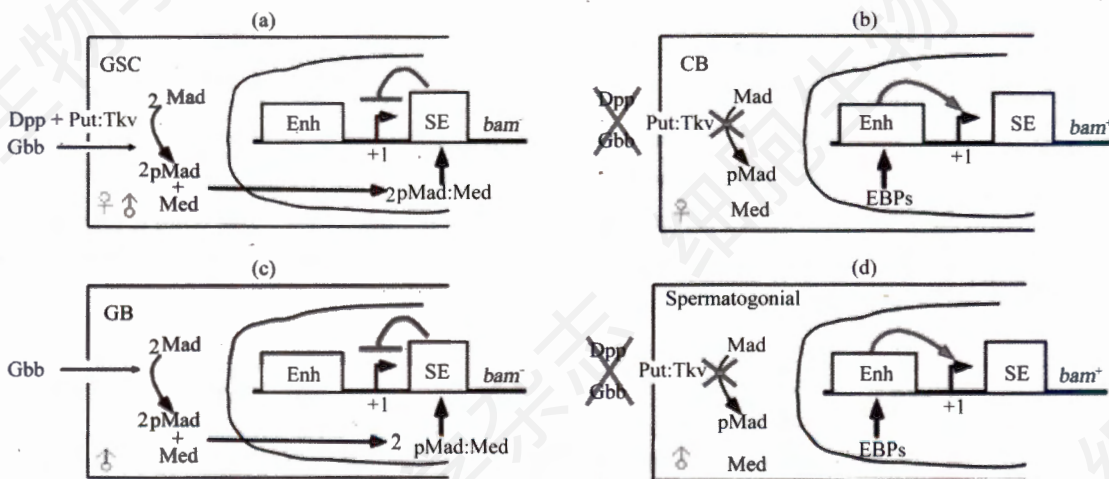


图 4 Dpp/Gbb 对 *bam* 的转录抑制^[14]

合的共有序列。而在 *bam* mRNA 的 3' UTR, 有 3 段这样的共有序列(UUUUAUUU), 分别位于 poly(A) 上游 177 bp、80 bp 和 63 bp 处。Kin-Ha 等^[18]利用紫外交联分析技术, 在体外证实 RBP9 蛋白结合于 *bam* mRNA 的 3' UTR, 负调控 *bam* 基因的表达。RBP9 蛋白可能参与对 *bam* mRNA 的去稳定化或是阻止 *bam* mRNA 的翻译。

Twinn 通过调节若干个靶基因(包括周期蛋白 A) RNA 的 poly(A) 尾的长度, 从而调节生殖系包囊的发生。Bam 是 Twinn 的下游受体。*twinn* 突变, *bam* 基因的表达随之下降; 增加卵巢中 *bam* 基因的表达量, 可以弥补因 *twinn* 突变产生的缺陷。但是 Twinn 对 *bam* 基因的调节很可能是间接的, 因为在 *twinn* 突变的卵巢中, *bam* mRNA 的 poly(A) 尾长度并没有减少^[19]。

4 展望

GSC 的分化及配子发生是一个多途径多基因的调控过程, 中间涉及众多的分化因子, Bam 只是其中之一。近年来, 陆续发现了一些新的因子, 如 Pelota^[21]、Stonewall 1^[22]、Argonaute 1^[23], 但仍有许多分化因子留待发现。从 *bam* 突变的果蝇 GSC 在 *Dpp* 培养基中的成功培养, 到生殖系细胞体外培养系统的建立^[24], 不仅为分化因子调控机制的阐明提供了

基础, 而且果蝇 Bam 的发现将为寻找更多分化因子提供实验模型。对这些分化因子的研究, 将使人们更好地了解物种的生殖发育过程, 并为进一步治疗生殖系统相关疾病提供理论依据。

参考文献(References)

- [1] Cooley L *et al.* *Science*, 1988, **239**: 1121
- [2] McKearin DM *et al.* *Genes Dev*, 1990, **4**: 2242
- [3] Chen D *et al.* *Development*, 2003, **130**: 1159
- [4] Lavoie CA *et al.* *Dev Biol*, 1999, **212**: 405
- [5] Ohlstein B *et al.* *Development*, 1997, **124**: 3651
- [6] McKearin D *et al.* *Development*, 1995, **121**: 2937
- [7] Kiger AA *et al.* *Nature*, 2000, **407**: 750
- [8] Gönczy P *et al.* *Development*, 1997, **124**: 4361
- [9] Chen D *et al.* *Curr Biol*, 2005, **15**: 179
- [10] Szakmary A *et al.* *Curr Biol*, 2005, **15**: 171
- [11] Fuller MT. *Semin Cell Dev Biol*, 1998, **9**: 433
- [12] Shivdasani AA *et al.* *Curr Biol*, 2003, **13**: 2065
- [13] Kawase E *et al.* *Development*, 2004, **131**: 1365
- [14] Chen D *et al.* *Curr Biol*, 2003, **13**: 1786
- [15] Song X *et al.* *Development*, 2004, **131**: 1353
- [16] Gao S *et al.* *J Biol Chem*, 2005, **280**: 36158
- [17] Hawkins NC *et al.* *Development*, 1996, **122**: 281
- [18] Kim-Ha J *et al.* *Mol Cell Biol*, 1999, **19**: 2505
- [19] Morris JZ *et al.* *Development*, 2005, **132**: 1165
- [20] Cox DN *et al.* *Development*, 2000, **127**: 503
- [21] Xi R *et al.* *Development*, 2005, **132**: 5365
- [22] Maines JZ *et al.* *Development*, 2007, **134**: 1471
- [23] Yang L *et al.* *Development*, 2007, **134**: 4265
- [24] Niki Y *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**: 16325

Roles of the Bag-of-marbles of *Drosophila* in the Differentiation of Germline Stem Cell and the Gametogenesis

Shi-You Wang, Yao-Zhou Zhang*

(Institute of Biochemistry, College of Life Science, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract Bag-of-marbles (Bam) is a regulatory factor during gametogenesis in *Drosophila*, which shows no significant homology to other known proteins. The *bam* gene has not been identified in other species since it was cloned from *Drosophila* in 1990. Recent researches show that Bam plays different roles in oogenesis and spermatogenesis. In female *Drosophila*, Bam regulates the differentiation from the germline stem cell to cystoblast, and also promotes incomplete cytokinesis in the cystoblast. However, in male *Drosophila*, Bam is responsible for the transition of spermatogonium from mitosis to meiosis.

Key words Bam; germline stem cell; differentiation

Received: December 6, 2007 Accepted: February 21, 2008

This work was supported by the National Basic Research Program of China (973 Program) (No.2005CB121006), the National Key Technologies R&D Program (No.2006BAI01B04), the National Natural Science Foundation of China (No.30670095), and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No.Z204267)

*Corresponding author. Tel/Fax: 86-571-86843198, E-mail:yaozhou@chinagene.com