

# nanos 基因的研究进展

张春冬 潘敏慧\* 李娜 孙志亚 谈娟 鲁成

(西南大学蚕学与系统生物学研究所, 重庆 400716)

**摘要** *nanos* 基因在时空上的表达调控对于个体发育起着重要作用。母源 *nanos* mRNA 在卵子中的定位及翻译调控受到严格的控制。果蝇 Nanos 通过抑制后极 *hunchback* mRNA 的翻译建立胚胎后极信号中心, 从而建立前后体轴; 同时它对果蝇原始生殖细胞的决定及迁移有重要作用; Nanos 对于胚后发育中生殖细胞的维持也是必须的。现对 *nanos* 基因的 mRNA 的定位、翻译调控及 Nanos 结构和功能的研究进展进行了综述。

**关键词** *nanos*; 原始生殖细胞; 早期胚胎发育

*nanos* 基因的功能最初是在果蝇胚胎发育的体轴建立中发现的<sup>[1]</sup>。进一步的研究表明, 作为生殖质重要组成部分之一的果蝇 *nanos* 基因对于原始生殖细胞的决定及迁移起着关键作用, 合子表达的 Nanos 对于幼虫维持生殖细胞的正常发育是必不可少的<sup>[2,3]</sup>。目前, 除果蝇外, 已在线虫、水蛭、家蚕、爪蟾、斑马鱼、小鼠和人类等多个物种中都发现有果蝇 *nanos* 基因同源物存在; 通过对目前已经完成基因组测序的昆虫和哺乳动物中的人类的全基因数据进行分析, 结果表明每个物种至少存在一个果蝇 *nanos* 基因同源物, 不同物种间 *nanos* 同源物的数目差异较大, 且同一目的不同物种间 *nanos* 基因的数目也有明显变化。*nanos* 基因在基因组中的含量总体表现为高等动物较低等动物多<sup>[5-11]</sup>。

## 1 *nanos* mRNA 定位及翻译调控

果蝇卵子发生时 *nanos* 基因首先在滋养细胞中转录形成 mRNA, 并在卵子发生的后期被转运到卵母细胞中积累<sup>[12]</sup>。虽然母源 *nanos* mRNA 分布于整个胚胎, 但只有定位于后极的转录产物才会被翻译激活<sup>[13,14]</sup>。*nanos* mRNA 的定位可能只是一个特异序列锚定的过程而不涉及激活定位。果蝇母源 *nanos* mRNA 的定位依赖于 *oskar* (生殖质的组装必须)、*vasa* (ATP 依赖的 RNA 螺旋酶) 和 *pumilio* 等基因<sup>[15-17]</sup> (图 1)。果蝇 *nanos* mRNA 研究发现, 其 3' UTR 元件对于 *nanos* mRNA 的定位是必须的。位于 3' UTR 区的 547 bp 片段在整个卵母细胞发育过程中对 *nanos* mRNA 的定位有直接作用。同时, 这一区域也包含了 TCE 元件 (translational control element) 和微小元件 (minimal element, ME)。TCE 区域的突变已证明 TCE 与 *nanos*

mRNA 的定位和翻译调控两个过程并不相关, 表明它对于 *nanos* mRNA 的定位不是必须的<sup>[18]</sup>。ME 是在 3' UTR 区域内 TCE 的下游一段在黑果蝇和黑腹果蝇间高度保守的 41 bp 的序列, 它对 *nanos* mRNA 的定位和翻译抑制都起作用。一个 ME 结合的 75 kDa 蛋白 (p75) 可与 ME 结合, 当 p75 的结合序列被破坏时, 会影响 *nanos* mRNA 定位, 推测 p75 并不会引起 *nanos* mRNA 翻译抑制, 因为它不结合 TCE 区域<sup>[19]</sup>。

胚胎发育时定位于极质外的 *nanos* mRNA 翻译受到了抑制, 从而限制 Nanos 仅存在于胚胎的后极。调控因子对 *nanos* mRNA 的翻译调控作用依赖于 3' UTR 的 TCE, 这一区域具有非后极定位 *nanos* mRNA 的翻译抑制和极质依赖的翻译激活作用。其中位于 3' UTR 的 6-96 nt 区域能够介导强的翻译抑制, 即为 TCE。TCE 通过计算机模型进行分析能预测到两个茎环结构 (II 和 III), 这一区域发生突变将会丧失翻译抑制功能<sup>[20]</sup>。茎环 II 是 Smaug 对 *nanos* mRNA 进行翻译抑制的结合位点, Smaug 能识别位于茎环 II 内的 SRE1 (Smaug recognition element), 另一个 SER (SER2) 定位在 97-185 nt 区域内; 对 SRE 进行突变后会产生异位的 Nanos 的活性。但对 Smaug 克隆分析后表明它缺乏任何已知的 RNA 结合结构模体, 而存在一个 SAM (sterile alpha mating) 模体, 暗示它能与蛋白质结合。但是已有研究表明 Smaug 具有在体外结

收稿日期: 2008-06-11 接受日期: 2008-10-06

国家重点基础研究发展规划 (973 计划) (No. 2005CB121000)、国家自然科学基金 (No. 30771630) 和重庆市自然科学基金计划 (No. CSTC2007BB1337) 资助项目

\* 通讯作者。Tel: 023-68250793, Fax: 023-68251128, E-mail: pmh047@126.com

合 *nanos* mRNA, 而在体内抑制 *nanos* mRNA 翻译的作用, 而且 *Smaug* 对于非正常定位的 *nanos* mRNA 能起到翻译抑制作用。茎环 III 的突变会丧失 TCE 介导的翻译抑制作用, 但不会影响 *Smaug* 结合茎环 II, 因此茎环 III 可能是其他一些翻译调节因子的结合位点, 这表明 *nanos* 的翻译受到多个调控因子的影响<sup>[21-23]</sup>。

## 2 Nanos 结构

已报道的各物种 *Nanos* 同源物序列差异较大, 介于 120~900 氨基酸之间。由靠近 C 端的序列编码了两个连续的 (Cys-Cys-His-Cys)<sub>2</sub> 特异锌指结构域, 这一结构域在各物种间均非常保守。通过吸收光谱法和核磁共振技术研究表明, CCHC 模体是一种潜在的金属锌离子结合模体, 每个 CCHC 模体能够高亲和性的结合一个锌离子。在体内 *Nanos* 的连续两个 CCHC 模体处缺失突变, 将使 *Nanos* 失去功能。全长或是仅有 C 端结构的 *Nanos* 特异性结合靶 RNA 的能力很小; 同时通过 *hunchback* mRNA 序列突变实验表明, 在体内 *Nanos* 的锌指结构并不直接识别 *hunchback* mRNA 上的特异序列并与其结合<sup>[24]</sup>。推测 *Nanos* 的翻译调控功能可能是通过与 *Pumilio* 相互作用而形成一种大的核糖核蛋白复合体来起作用。而 *Nanos*、*Pumilio* 及靶 mRNA 之间的作用还有待进一步的研究, *Nanos* 和 *Pumilio* 可能是直接起作用, 或是有其他未知因子的参与<sup>[25]</sup>。但不论 *Nanos*、*Numilio* 是以何种

方式形成复合体, 识别并结合靶 mRNA 都依赖于靶 mRNA 3' UTR 区的 NRE (Nanos response elements) 序列<sup>[26]</sup> (图 2)。同时脊椎动物间 *Nanos* 在 N 端区域存在一段由 10 个氨基酸组成的保守序列, 但目前对于其可能的功能未见报道。

## 3 功能

### 3.1 *Nanos* 在胚胎发育中对于体轴建立的作用

因果蝇 *nanos* mRNA 只有定位在后极才能被翻译激活, 使得 *Nanos* 在前后极轴之间形成浓度梯度, 通过与 *Bicoid* 作用调控下游基因的表达建立胚胎前后极轴<sup>[27,28]</sup>。后极高浓度的 *Nanos* 与位于前极的 *Bicoid* 分别抑制和激活母源 *hunchback* mRNA 的翻译, 转录调控因子 *Hunchback* 进一步调节其下游基因的表达, 从而建立果蝇胚胎的前后极轴。*nanos* 基因缺失突变后果蝇将不能形成腹部, 并且异位的 *Nanos* 活性将在正常发育过程中形成头和胸的部位产生一个错误的腹部<sup>[1,28]</sup>。而与果蝇胚胎发育不同的是, 在线虫胚胎发育的过程中, 线虫 *nanos* 族基因对于胚胎前后极的建立是不需要的, *nanos* 族基因的缺失胚胎能够正常发育。推测 *nanos* 基因最原始的功能在于其对于生殖系方面的作用; 而果蝇 *nanos* 基因对于胚胎发育中体轴建立及线虫 *nos3* 基因对于精子 / 卵子发生转换起调节作用, 这些功能都是在漫长的进化过程中逐步演变产生的<sup>[5,29,30]</sup>。

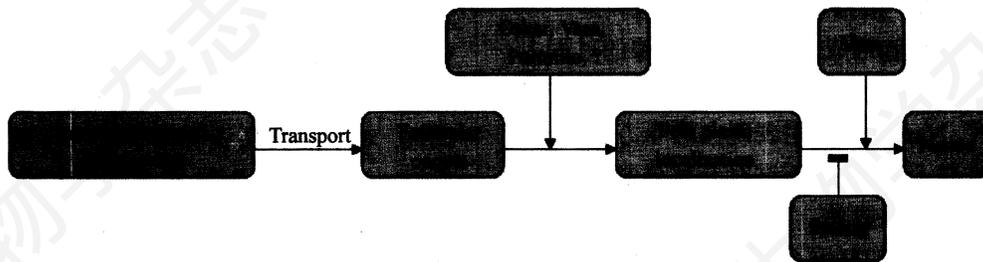


Fig.1 Transcription, localization and translation regulation of *nanos* mRNA in *Drosophila melanogaster* <sup>[12,15-17,21]</sup>

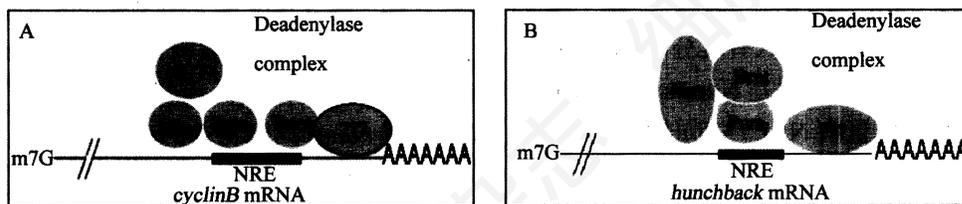


Fig.2 Models of Nos-Pum complex function

A: a Nos-Pum-NOT deadenylase complex regulate *cyclinB* mRNA translation <sup>[2,25,26]</sup>; B: a Nos-Pum-Brat deadenylase complex control *hunchback* mRNA translation <sup>[26]</sup>.

### 3.2 Nanos 对于原始生殖细胞的决定、迁移及维持作用

后生动物对于原始生殖细胞的决定有两种机制：一类为果蝇、线虫、蛙等动物，其原始生殖细胞的形成依赖于卵子发生过程中的母源产物；另一类为鸡、小鼠、人类等动物，其原始生殖细胞的形成并不由母源物质决定，而是随着受精卵的分裂，部分细胞基于周围环境的影响表达了一族生殖系特异基因，从而决定原始生殖细胞的形成。由于原始生殖细胞并不是在性腺中形成，原始生殖细胞需要经历一个迁移过程从而到达由体细胞构成的性腺。虽然在后生动物中原始生殖细胞的形成及迁移过程并不完全相同，但不论是母性决定或是环境决定模式原始生殖细胞的形成和迁移都需要 *nanos*、*vasa* 等基因的表达<sup>[31,32]</sup>。

在果蝇的原始生殖细胞的形成过程中 *nanos* 起着重要作用。原始生殖细胞在合胞体胚盘期形成<sup>[33]</sup>和在缺乏母性 Nanos 的胚胎中，由于 Nanos 活性的缺乏将异位表达性别决定基因 *Sex-lethal* (*Sxl*)、对控基因(*even-skipped*)及 *ftz* 基因，表明这些基因在转录水平上受到影响。目前已知 Nanos 是一种翻译调控因子，因此 Nanos 可能并不直接参与调节这些基因的转录<sup>[3,34]</sup>，这些基因转录水平表达的差异可能来自受 Nanos 调控的下游转录因子。与果蝇不同的是线虫 *nanos* 族基因对于原始生殖细胞的形成不起作用。在 *nos1* 和 *nos2* 的突变体中，与原始生殖细胞形成相关的基因都正常表达(*glh-2*、*mes-2*、*gld-1*、*cdc-25*、*glp-1*)，原始生殖细胞可以正常形成<sup>[5]</sup>。

在原始生殖细胞形成随后迁移到性腺的过程中，Nanos 起着非常重要的作用。在果蝇的原始生殖细胞发生迁移时，Nanos 的作用表现在两个方面：一方面是使细胞停滞于 G<sub>2</sub> 期而不进行有丝分裂，从而避免了生殖细胞的过早成熟。这是由于生殖细胞中母源 *cyclinB* mRNA 3' UTR 区含有 NRE 序列，Nanos 能抑制 *cyclinB* mRNA 的翻译，而使得细胞停留在 G<sub>2</sub> 期。在 *nanos* 突变体中，因缺乏 Nanos 活性导致原始生殖细胞内母源 *cyclinB* 的翻译抑制解除，生殖细胞将会在向性腺迁移过程中提前进入有丝分裂，导致原始生殖细胞的分化<sup>[2]</sup>。另一方面是 Nanos 对生殖细胞中 *hid* mRNA (3' UTR 区有 NRE 序列)的翻译抑制(生殖细胞中 Hid 活性将会使得细胞进入凋亡)，阻止了生殖细胞凋亡的发生，使得原始生殖细胞可以正常迁移到性腺。在 *nanos* 突变体中生殖细胞将会以依赖于 *hid/skl* 的途径凋亡，而在 *nos-H99* 突变系(*nanos*

和 *hid* 的缺失突变体)中，生殖细胞在迁移过程中虽然能成功到达性腺且不会发生凋亡，但最终不能正常发育产生配子<sup>[3,4]</sup>。线虫有 3 个果蝇 *nanos* 同源物，分别为 *nos1*、*nos2* 和 *nos3*，3 个基因功能并不完全相同。线虫发育过程中当 *nos1* 和 *nos2* 基因同时缺失时会导致其不孕，这是由于胚胎发育时部分原始生殖细胞不能正常到达性腺，而到达性腺的生殖细胞随着幼虫的发育到 L3 期时最终全部凋亡，致使线虫个体发育成熟后因缺乏配子而不孕。而当仅有 *nos1* 缺失的个体中生殖细胞能够正常发育，*nos2* 缺失的个体也只有部分个体发育成熟后为不孕。这可能是原于 *nos1* 和 *nos2* 在线虫生殖细胞维持方面功能上存在部分重叠<sup>[5]</sup>。*nos3* 对于雌雄同体线虫精子/卵子发生的转换点起着重要的调节作用，而对于生殖细胞的维持并不起作用。Nos3 通过与 FBF 形成复合体后对 *fem-3* mRNA 进行翻译抑制(在雌雄同体线虫幼虫发育过程中特定时间 *fem-3* mRNA 的翻译抑制，对于生殖腺中生成精子/卵子发生转换的调节起关键作用)，酵母双杂交实验也证明了在线虫中 FBF 可能是与 Nos3 相互作用来执行这一功能的<sup>[25]</sup>。

## 4 展望

*nanos* 基因在胚胎发育中对于前后体轴建立的作用，在果蝇这一经典的模式生物中已有较多相关研究；但 *nanos* 基因在生殖系发育过程中执行功能时受其调控的靶 mRNA 及 *nanos* 基因自身的上游调控因子都不清楚。对果蝇和线虫生殖系及胚胎发育过程研究时发现 Nanos 与 Pumillio 功能存在着部分重叠，但又不能相互替代；而在体轴建立时 *nanos* 受 *pumilio* 的调控，对于其意义还有待于进一步研究<sup>[30]</sup>。小鼠的果蝇 *nanos* 同源有 3 个，最新研究表明 *nanos2*、*nanos3* 与其他存在多个 *nanos* 基因的物种相似功能存在部分重叠，跟生殖细胞的发育相关；且 *nanos2* 在胚胎发育过程中能够启动雄性生殖细胞的分化，同时抑制抑制雌性生殖细胞发育过程，这展示了 *nanos* 基因在性别调控过程中也起到了重要作用<sup>[35,36]</sup>。但小鼠 *nanos1* 也在神经细胞中表达，表明 *nanos* 基因除对于胚胎发育及生殖系的作用之外还有其他功能<sup>[37]</sup>。最近对家蚕中果蝇 *nanos* 同源物 *Bm nos* 研究结果也支持这一观点，*Bm nos* 广泛存在于生殖系、脂肪体、血液等组织<sup>[7]</sup>。目前 *nanos* 基因在果蝇和线虫中已得到较为系统的研究，且发现 *nanos* 基因对于胚胎体轴的建立及原始生殖细胞决定在这两种模式生物中存在较

大差异;而在其他物种中 *nanos* 基因对于胚胎体轴的建立、原始生殖细胞决定、迁移及胚后发育中生殖细胞的维持是否也有类似果蝇或线虫中的功能,对于 *nanos* 基因在个体发育中可能还具有的多重功能尚不清楚,将会随着 *nanos* 基因研究的深入而逐步揭开。

### 参考文献(References)

- [1] Lehmann R, Nüsslein-Volhard C. The maternal gene *nanos* has a central role in posterior pattern formation of the *Drosophila* embryo, *Development*, 1991, 112(3): 679-691
- [2] Kadyrova LY, Habara Y, Lee TH, et al. Translational control of maternal *Cyclin B* mRNA by Nanos in the *Drosophila* germline, *Development*, 2007, 134(8): 1519-1527
- [3] Hayashi Y, Hayashi M, Kobayashi S, et al. Nanos suppresses somatic cell fate in *Drosophila* germ line, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(28): 10338-10342
- [4] Sato K, Hayashi Y, Ninomiya Y, et al. Maternal Nanos represses hid/skl-dependent apoptosis to maintain the germ line in *Drosophila* embryos, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(18): 7455-7460
- [5] Subramaniam K, Seydoux G. *nos-1* and *nos-2*, two genes related to *Drosophila nanos*, regulate primordial germ cell development and survival in *Caenorhabditis elegans*, *Development*, 1999, 126(21): 4861-4871
- [6] Kang D, Pilon M, Weisblat DA. Maternal and zygotic expression of a *nanos*-class gene in the leech *Helobdella robusta*: primordial germ cells arise from segmental mesoderm, *Dev Biol*, 2002, 245(1): 28-41
- [7] Zhao G, Chen K, Yao Q, et al. The *nanos* gene of *Bombyx mori* and its expression patterns in developmental embryos and larvae tissues, *Gene Expression Patterns*, 2008, 8(4): 254-260
- [8] Mosquera L, Forristall C, Zhou Y, et al. A mRNA localized to the vegetal cortex of *Xenopus* oocytes encodes a protein with a *nanos*-like zinc finger domain, *Development*, 1993, 117(1): 377-386
- [9] Kprunner M, Thisse C, Thisse B, et al. A zebrafish *nanos*-related gene is essential for the development of primordial germ cells, *Genes Dev*, 2001, 15(21): 2877-2885
- [10] Jaruzelska J, Kotecki M, Kusz K, et al. Conserved role of *nanos* proteins in germ cell development, *Science*, 2003, 301(5637): 1239-1241
- [11] Jaruzelska J, Kotecki M, Kusz K, et al. Conservation of a Pumilio-Nanos complex from *Drosophila* germ plasm to human germ cells, *Dev Genes Evol*, 2003, 213(3): 120-126
- [12] Lasko P. RNA sorting in *Drosophila* oocytes and embryos, *FASEB J*, 1999, 13(3): 421-433
- [13] Wang C, Dickinson LK, Lehmann R. Genetics of *nanos* localization in *Drosophila*, *Dev Dyn*, 1994, 199(2): 103-115
- [14] Gavis ER, Lehmann R. Translational regulation of *nanos* by RNA localization, *Nature*, 1994, 369 (6478): 315-318
- [15] Ephrussi A, Dickinson LK, Lehmann R. Oskar organizes the germ plasm and directs localization of the posterior determinant *nanos*, *Cell*, 1991, 66(1): 37-50
- [16] Hay B, Jan LY, Jan YN. Localization of *vasa*, a component of *Drosophila* polar granules, in maternal-effect mutants that alter embryonic anteroposterior polarity, *Development*, 1990, 109(2): 425-433
- [17] Barker DD, Wang C, Moore J, et al. Pumilio is essential for function but not for distribution of the *Drosophila* abdominal determinant Nanos, *Genes Dev*, 1992, 6(12A): 2312-2326
- [18] Gavis ER, Curtis D, Lehmann R. Identification of *cis*-acting sequences that control *nanos* RNA localization, *Dev Biol*, 1996, 176(1): 36-50
- [19] Bergsten SE, Huang T, Chatterjee S, et al. Recognition and long-range interactions of a minimal *nanos* RNA localization signal element, *Development*, 2001, 128(3): 427-435
- [20] Gavis ER, Lunsford L, Bergsten SE, et al. A conserved 90 nucleotide element mediates translational repression of *nanos* RNA, *Development*, 1996, 122(9): 2791-2800
- [21] Smibert CA, Wilson JE, Kerr K, et al. Smaug protein represses translation of unlocalized *nanos* mRNA in the *Drosophila* embryo, *Genes Dev*, 1996 10(20): 2600-2609
- [22] Forrest KM, Clark IE, Jain RA, et al. Temporal complexity within a translational control element in the *nanos* mRNA, *Development*, 2004, 131(23): 5849-5857
- [23] Smibert CA, Lie YS, Shillinglaw W, et al. Smaug, a novel and conserved protein, contributes to repression of *nanos* mRNA translation *in vitro*, *RNA*, 1999, 5(12): 1535-1547
- [24] Curtis D, Treiber DK, Tao F, et al. A CCHC metal-binding domain in Nanos is essential for translational regulation, *EMBO J*, 1997, 16(4): 834-843
- [25] Kraemer B, Crittenden S, Gallegos M, et al. NANOS-3 and FBF proteins physically interact to control the sperm-oocyte switch in *Caenorhabditis elegans*, *Curr Biol*, 1999, 9(18): 1009-1018
- [26] Vardy L, Orr-Weave TL. Regulating translation of maternal messages: multiple repression mechanisms, *Trends Cell Biol*, 2007, 17(11): 547-554
- [27] Gavis ER, Lehmann R. Localization of *nanos* RNA controls embryonic polarity, *Cell*, 1992, 71(2):301-313
- [28] Driever W, Nüsslein-Volhard C. The bicoid protein determines position in the *Drosophila* embryo in a concentration-dependent manner, *Cell*, 1988, 54(1): 95-104
- [29] Forbes A, Lehmann R. Nanos and Pumilio have critical roles in the development and function of *Drosophila* germline stem cells, *Development*, 1998, 125(4): 679-690
- [30] Parisi M, Lin H. Translational repression: a duet of Nanos and Pumilio, *Curr Biol*, 2000, 10(2): R81-83
- [31] Wylie C. Germ cells, *Curr Opin Genet Dev*, 2000, 10(4): 410-413
- [32] Twyman RM. *Instant Notes in Developmental Biology*, London: Bios Scientific Publishers Ltd, 2001, 125
- [33] Swanson MM, Poodry CA. Pole cell formation in *Drosophila melanogaster*, *Dev Biol*, 1980, 75(2): 419-430
- [34] Deshpande G, Calhoun G, Yanowitz JL, et al. Novel functions of *nanos* in downregulating mitosis and transcription during the development of the *Drosophila* germline, *Cell*, 1999, 99(3): 271-281
- [35] Lolicato F, Marino R, Paronetto MP, et al. Potential role of Nanos3 in maintaining the undifferentiated spermatogonia population, *Dev Biol*, 2008, 313(2): 725-738
- [36] Suzuki A, Saga Y. Nanos2 suppresses meiosis and promotes male germ cell differentiation, *Genes Dev*, 2008, 22(4): 430-435

[37] Haraguchi S, Tsudab M, Kitajimad S, *et al.* *nanos1*: a mouse *nanos* gene expressed in the central nervous system is dispensable

for normal development, *Mech Dev*, 2003, 120(6): 721-731

## Progress in *nanos* Gene

Chun-Dong Zhang, Min-Hui Pan\*, Na Li, Zhi-Ya Sun, Juan Tan, Cheng Lu

(Institute of Sericulture and Systems Biology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

**Abstract** In many organisms, the regulations of the gene expression play important roles in the embryogenesis and postembryogenesis. *nanos* mRNA encodes a regulatory factor of translation, so the location and translation of maternal *nanos* mRNA in eggs are rigorous. In *Drosophila melanogaster*, maternal Nanos protein represses the translation of maternal *hunchback* mRNA in the posterior of the embryo to direct abdomen formation. The maternal Nanos protein is essential for the determination and migration of primordial germ cells and it is also required during the postembryogenesis. Here we review the *nanos* gene, including its localization of mRNA, control of translation, structure and function.

**Key words** *nanos*; primordial germ cell; early embryonic development

---

Received: June 11, 2008 Accepted: October 6, 2008

This work was supported by the National Basic Research Programs (973 Program) (No.2005CB121000), the National Natural Science Foundation of China (No.30771630) and the Natural Science Foundation Project of Chongqing (No.CSTC2007BB1337)

\* Corresponding author. Tel: 86-23-68250793, Fax: 86-23-68251128, E-mail: pmh047@126.com