

人类染色体罗伯逊易位及其与疾病相关性*

朱必才 高 煥 明庆磊 高建国 张子峰 张 永 高俊芳
(徐州师范大学生物系 徐州 221116)

罗伯逊易位(Robertsonian translocation)于1916年由美国昆虫遗传学家Robertson提出^[1],并以其名命名。最初是指两个亚端或端着丝粒染色体在着丝粒处融合成一个亚中或中着丝粒染色体,后来又有了新的发展,一个亚中或中着丝粒染色体在着丝粒处断裂成两条端着丝粒染色体,也被称为罗伯逊易位^[2].但在人类罗伯逊易位研究中仍然沿用最初的定义,罗伯逊易位就是指罗伯逊融合(Robertsonian fusion)。罗伯逊易位作为人类核型中常见的染色体变异类型,在人类的疾病研究中占有重要的地位,对于指导优生优育,提高人类后代素质,以及在研究人类核型进化方面都具有一定的价值。

一、人类核型中的罗伯逊易位类型

人类罗伯逊易位只发生在端部和亚端部着丝粒染色体之间,可以把它看作相互易位的一种特殊形式。人类核型中除Y染色体外,有5对亚端着丝粒染色体——13、14、15号染色体属于D组,21、22号染色体属于G组。13、14、15与21或22号染色体之间发生罗伯逊易位,统称为D/G组易位;同时在D组或G组内部也可以发生罗伯逊易位。据统计,在这些染色体之间发生罗伯逊易位的概率并非相等,在13与14、15与21、21与22之间发生融合的概率更大些。Therman等对此进行了详细的研究,表明不同染色体之间融合的概率确实存在着差别,结构同源性会导致某些相互易位的优先,在着丝粒区之间有较高的交换率^[3]。有时,两个同源的亚端着丝粒染色体之间也可发生罗伯逊融合,如13与13^[4]、15与15^[5]、22与22^[6]之间等,即同源罗伯逊易位现象。Y染色体作为人类核型中的唯一一条端着丝粒染色体,与D、G组的亚端着丝粒染色体也有可能发生罗伯逊易位^[7],但这方面的例子很少,国内的研究中还未见报道过。

除了这些亚端着丝粒染色体的长臂融合外,短臂也可融合,只是两短臂融合后的染色体多是由异染色质组成,没有显著的生物学效应。

二、罗伯逊易位个体表型

1. 罗伯逊易位对rRNA基因效应的影响

人类18S-28S rRNA基因位于5对亚端着丝粒染色体(13、14、15、21、22)短臂的核仁组织区(NOR区),而这5对染色体任何两者之间发生罗伯逊融合后,必然造成NOR区的改变,而且在绝大多数罗伯逊易位的核型中往往缺少相应的两条短臂融合后的染色体,即它们丢失了,这也意味着相应的rRNA基因也随之丢失。Bross等很早就用DNA-RNA杂交的研究方法来估计过rRNA基因的平均数,发现rRNA基因平均数在着丝粒融合的平衡携带者中比正常人群要低^[8]。

平衡罗伯逊易位携带者在表型上与正常核型的人并没有明显差异,因为他们子女患有某种疾病,反过来才知道他们是罗伯逊易位的携带者。这说明rRNA基因的缺失并没有对机体造成多大的影响,因为存在着基因的补偿效应。这可以通过NORs区的银染带来证实:因为NOR银染是随rRNA基因的转录而发生的,而且银染物质是位于NOR周围的、与rRNA基因转录活性有关的酸性蛋白质,因此只有功能上有活性的NOR才能被银染着色,据此彭惠民等直接用硝酸银染色法对14例染色体罗伯逊易位携带者的核仁组织者进行了研究,表明罗伯逊易位携带者的Ag+NOR/细胞的频率与正常核型无显著差异,这提示近端着丝粒染色体上丢失的rRNA基因可以通过其他近端着丝粒染色体上的rRNA基因增加转录活性来得到补偿^[9]。因此丢失近端着丝粒染色体短臂的平衡罗伯逊易位个体仍然有正常表型。

2. 罗伯逊易位与病征

罗伯逊易位携带者的个体因为没有明显的遗传物质丢失或增加,因而一般不产生异常的表型,也有人报道一个t(13;14)平衡易位携带者家系中的患者伴有多种严重先天畸形^[10],这样的例子很少,其机理有待研究。真正引起多种病征的原因在于罗伯逊易位个体在减数分裂中染色体的不平衡分配,导致了不平衡配子的产生,以带有14号与21号染色体发生罗伯逊易位的个体形成配子的情况来说明(见图1)。

*国家自然科学基金资助项目(39970405)。

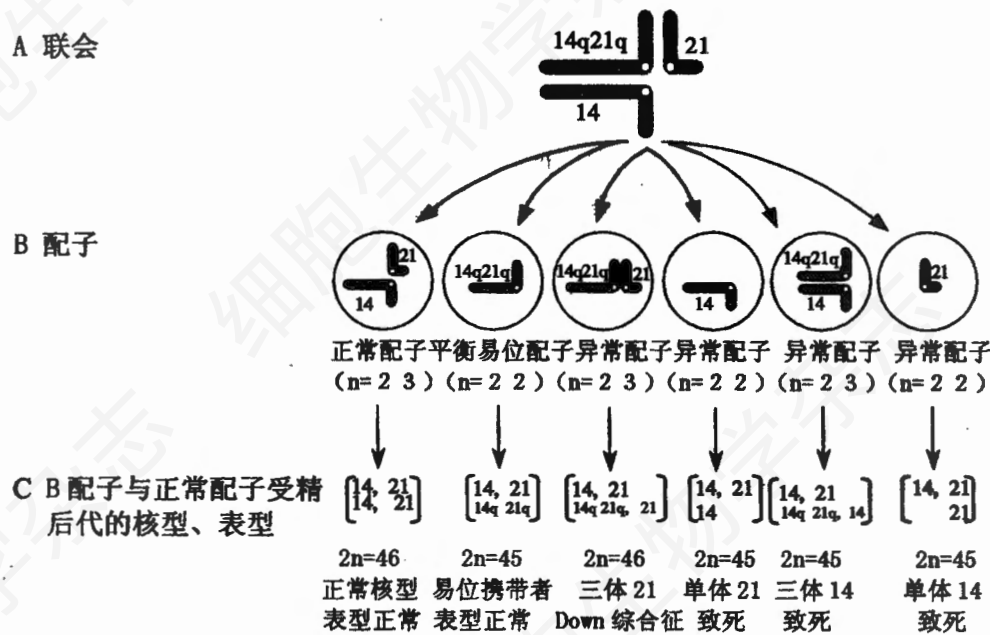


图 1 罗伯逊易位(14q21q)杂合体减数分裂配子发生及后代的核型、表型

最早报道的罗伯逊易位病例是 Down 综合征, 它是由于 21 号染色体长臂与 13、14、15 染色体或与 21、22 染色体中的一条染色体发生罗伯逊易位的结果。而与 21 号染色体有关的罗伯逊易位个体在患 Down 氏综合征的个体中约占 5%^[11]。罗伯逊易位与白血病的发生也有一定的关系, Ma 等人通过对患有白血病的细胞的研究发现了一个 der(14;21) 罗伯逊类型^[12], 涉及到 15 号染色体罗伯逊易位携带者单亲两体性(uniparental disomy, UPD)的风险增高^[5,13]。据不完全统计, 由罗伯逊易位直接或间接引起的病征有十几种, 如 Angelman 综合征^[14]、Prader-willi 综合征^[15]、CFC 综合征 (cardio-facio-cutaneous)^[16]等。其中, Angelman 综合征和 Prader-Willi 综合征都是由于 15q11-13 节段缺失引起的。Angelman 综合征由母源的 15 号染色体缺失引起, Prader-Willi 综合征由父源的 15 号染色体缺失引起, 因此两者症状明显不同: Angelman 综合征的病人表现为严重的智力低下, 有特征性面容(嘴大, 流口水, 凸额, 伸舌), 具有共济失调行为, 还经常莫名其妙的大笑, 因此也常被称为快乐的木偶综合征; Prader-Willi 综合征在儿童的早期表现为严重的肥胖与多食, 促性腺激素低下, 手、脚小, 智力低下等症状。上述现象不能用经典的孟德尔定律解释, 遗传学家把它称为基因组印记(genomic imprinting)或遗传印记。

综上所述, 罗伯逊易位导致病征主要有两个原因: 一是发生罗伯逊易位后, 造成了染色体的失衡, 或者是罗伯逊易位染色体在减数分裂过程中分离不正常; 二是在罗伯逊易位的融合点上, 涉及到某些对机体功能有重要影响的基因的失活或突变, 导致它们失去了对其他基因及其产物的调控作用, 因而出现了病症。

三、罗伯逊易位中的断裂点及着丝粒问题

罗伯逊易位中断裂点的位置, 以及相应的着丝粒的去向和活性问题是与易位携带者个体的表型有关的一个重要问题, 对于阐明致病机理, 研究染色体的行为具有重要的价值, 国内还未见报道, 主要见于国外的一些文献中。对于罗伯逊易位中的着丝粒可以通过相应的探针来研究, Daynna 等采用 5 个生物素探针(3 个 α -卫星 DNA 探针, 1 个为所有近端染色体 β -卫星片段的探针和一个 rDNA 探针), 通过荧光原位杂交(FISH)技术发现了 30 例罗伯逊易位, 其中包括 3 个 t(13;13)、1 个 t(15;15)、4 个 t(21;21)、3 个 t(13;14)、2 个 t(14;22)和 2 个 t(21;22), 只有一个 t(13;13)染色体是双着丝粒。他的结论是大多数同源罗伯逊易位呈单着丝粒, 而大多数异源罗伯逊易位是双着丝粒的^[17]。Han 等则对罗伯逊易位中断裂点的位置进行了研究^[18]。他们运用

FISH技术,使用了6种探针分别和5个近端着丝粒染色体的着丝粒重复序列和短臂区域杂交,阐明了17rob(13q14q)罗伯逊易位。他们的结果是,D21Z1/D13Z1和D14Z1/D22Z1着丝粒 α -卫星DNA探针显示所有的rob(13q14q)染色体都有两个着丝粒,在所有的病例中,14号和22号特异染色体探针PTRS-47卫星III DNA在断裂点都有杂交信号,但PTRS-63卫星III DNA探针(为14号染色体特异性探针)在易位病例中并不显示任何信号,而用13号染色体特异的PTRL-6卫星I DNA探针却有很强的杂交信号,作者进一步推断,rob(13q14q)中断裂点应分别在14号染色体的P11区的PTRS-47和PTRS-63序列之间,和13号染色体的P11区的PTRL-6和rDNA序列区之间。

双着丝粒往往导致染色体不稳定,但它在罗伯逊易位的染色体中又普遍存在,并表现稳定,那么其原因何在?由于着丝粒蛋白C(CENP-C)在着丝粒结构稳定性方面起着重要的作用,并且在无活性的着丝粒中缺失,因此把CEPC-C作为检测着丝粒功能的标记,这样可以用抗体免疫荧光的方法来检测。1998年,Page和Shaffer把抗体免疫荧光(immunofluorescence)和FISH技术相结合,检查了15例结构性双着丝粒罗伯逊易位rob(13q14q)的着丝粒。在他们所研究的15例易位细胞系中,发现一小部分细胞系中,CEPC-C仅存在于易位染色体双着丝粒中的一个上,这意味着双着丝粒中的另一个是没有活性的,然而大部分(12/15)易位的两个着丝粒处都显示了CEPC-C抗体免疫荧光信号,表明大部分的双着丝粒中的每一个都是有活性的。因此,罗伯逊易位双着丝粒染色体中,两者的活性可能相当,故都能稳定地存在^[19]。

四、问题与展望

罗伯逊易位是人类核型中常见的染色体结构变异之一,对人类的影响复杂而深远,可作为产前诊断(prenatal diagnosis)和种植前诊断(preimplantation genetic diagnosis, PGD)中的一项重要检测内容。随着研究技术和方法不断的进步,由最初的带型分析到现在的分子生物学技术,其中最引人注目的是FISH技术的广泛应用,由单色、双色一直发展到多色FISH和24条染色体涂染分析,使检测结果也越来越准确和迅速。与此同时,与罗伯逊易位相关问题的研究也越来越多。

发生罗伯逊易位染色体的断裂和融合的位置及

其机理一直是一个热点问题。人类染色体罗伯逊易位中,为什么Rob(14q21q)和Rob(13q14q)发生的频率最高(85%)^[20]?对于13、14和21号染色体来讲,断裂点的位置是在它们短臂的特定区域,Bandyopadhyay等人对此进行了分析。他们认为断裂点的DNA序列赋予了该染色体发生重排的一种易感性(Susceptibility),它们的重排是通过一种特定的机制而发生的^[20]。那么,其他类型的罗伯逊易位的机理是否与此相同呢?

罗伯逊易位在自然界中是广泛存在的,它是一个与核型进化有关的问题,那么它在人类核型演化过程中又起着什么样的作用?对此,已经有不少科学家进行了研究,Bigoni等用人的全部染色体的特异DNA探针(染色体涂染探针)与银叶猴(*Presbytis cristata*)的染色体进行原位杂交,以探测人的核型与银叶猴核型(2n=44)间的同源性。其结果表明银叶猴核型中与人14、15、21、22同源的染色体间发生了罗伯逊融合^[21]。值得一提的是,至今人类核型中发现的罗伯逊易位类型都是融合型的,还未见关于断裂型的报道。

摘 要

人类罗伯逊易位是指罗伯逊融合,主要有D/D、D/G、G/G三种类型的易位。易位涉及到着丝粒、rRNA基因、断裂点位置及相关基因的活性等的变化,因此对机体的影响也是多方面的,其中减数分裂时配子的不平衡分配是导致后代各种多发病的原因。同时,罗伯逊易位在人类核型的演化过程中也可能起着一定的作用。

参 考 文 献

- [1] Robertson WRB, 1916, *J Morphol*, 27:179-181.
- [2] John B and Hewitt GM, 1966, *Chromosoma (Berl)*, 20:155-172.
- [3] Therman E et al., 1989, *Ann Hum Genet*, 53:49-65.
- [4] Robinson WP et al., 1996, *Am J Med Genet*, 61(2):158-163.
- [5] Abrams DJ et al., 2001, *Prenat Diagn*, 21(8):676-679.
- [6] 张淑玲等, 2000, 中国优生与遗传杂志, 8(3):59-60.
- [7] Penna Videau S. et al., 2001, *Arch Androl*, 46(3):205-210.
- [8] Bross K et al., 1973, *Hum Genet*, 20:223-229.
- [9] 彭惠民等, 2000, 中国优生与遗传杂志, 8(2):40-41.
- [10] 许平海等, 1996, 中国优生与遗传杂志, 4(2):86.
- [11] Berend SA et al., 1998, *Am J Med Genet*, 80(3):252-259.
- [12] Ma SK et al., 1997, *Br J Haematol*, 98(1):213-215.

- [13] Robinson WP et al., 1996, *Prenat Diagn*, 16(9):837-844.
- [14] Tonk V et al., 1996, *Am J Med Genet*, 66(4):426-428.
- [15] Smith A et al., 1993, *Clin Genet*, 43(1):5-8.
- [16] Fryns JP, 1992, *Ann Genet*, 35(3):186-188.
- [17] Dayna J et al., 1992, *Am J Human Genet*, 50:174.
- [18] Han JY et al., 1994, *J Hum Genet*, 55(5): 960-967.
- [19] Page SL and Shaffer LG, 1998, *Chromosome Res*, 6(2): 115-122.
- [20] Bandyopadhyay R et al., 2001, *Chromosome Res*, 9(3): 235-242.
- [21] Bigoni F et al., 1997, *Am J Phys Anthropol*, 102(3):315-327.

线粒体氧化磷酸化的异常与人类疾病

迟万好* 明镇寰* 潘建伟* 曹明富** 朱睦元*,***

(*浙江大学生命科学院 杭州 310012 **杭州师范学院生命科学院 杭州 310036)

线粒体的氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS)在机体中发挥重要的作用。OXPHOS的异常经常会导致各种线粒体疾病。目前关于线粒体在一些退行性疾病及衰老的研究非常活跃,本文综述近年来国内外对线粒体 OXPHOS 异常与各种疾病的相关报道。

一、线粒体的 OXPHOS 及其作用

1. OXPHOS

线粒体通过 OXPHOS 产生 ATP,供给机体能量。参与 OXPHOS 的酶位于线粒体的内膜上,主要包括由氧化还原酶复合体组成的电子传递链、ATP 合成酶(复合体 V)以及腺苷转运体(adenine nucleotide translocator, ANT)。电子传递链是由 70 多种多肽组成,分别被称为酶复合体 I、II、III 和 IV。由三羧酸循环或脂肪酸- β 氧化产生的 NADH 和 FADH₂ 等以还原态进行电子传递链,来自 NADH 的电子先进入酶复合体 I (NADH 脱氢酶),然后传递给辅酶 Q(CoQ);来自 FADH₂ 的电子先进入酶复合体 II (琥珀酸脱氢酶),然后传递给 CoQ,电子 CoQ 依次经过酶复合体 III (细胞色素 C 还原酶)、酶复合体 IV (细胞色素 C 氧化酶),最后传递给氧形成水。在电子传递的过程中有能量释放出来,这些能量在 ATP 合成酶(酶复合体 V)的作用下就转换成 ATP。线粒体内的 ATP 随后在 ANT 的作用下与胞质 ADP 交换,进入到细胞质中为细胞提供能量。

2. OXPHOS 的作用

当 OXPHOS 中电子传递链被阻断时,电子就聚集在酶复合体 I 及 CoQ,此时电子若传递给氧就形成了超氧阴离子(O₂^{·-})。线粒体中的 Mn 超氧歧化酶(MnSOD)可将 O₂^{·-} 歧化成 H₂O₂。谷胱甘肽过氧化酶(GPx)又可将后者转变成水。当有还原态

的过渡金属存在时, H₂O₂ 就会转变成·OH。活性氧(reactive oxygen species, ROS)突然的增多使电子传递链中酶复合体 I、II、III 中心的 Fe-S 以及三羧酸循环中顺乌头酸酶失活,最终导致线粒体能量产生下降;若 ROS 是缓慢积累则会造成线粒体的氧化损伤。线粒体氧化损伤可能使线粒体内膜通道-PTP(permeability transition pore)开放,由此释放了原来存在于线粒体内膜空间里的细胞色素 C(cyt C)和 AIF(apoptosis-inducing factor)等促凋亡因子以及许多 caspases,导致细胞凋亡的发生^[1]。

因此,线粒体 OXPHOS 主要参与能量的产生、ROS(O₂^{·-}、·OH 及 H₂O₂)的形成及凋亡的调控。由于这三个过程在人体中发挥重要的作用,所以 OXPHOS 的异常会导致各种疾病的发生。人类中许多退行性疾病都是与线粒体 OXPHOS 异常有关。

二、线粒体 OXPHOS 异常引发疾病

1. mtDNA 突变引发的 OXPHOS 异常

mtDNA 编码 13 种参与 OXPHOS 的蛋白质,分别是酶复合体 I 的 7 个亚单位、酶复合体 III 中的细胞色素 b、酶复合体 IV 中的细胞色素 C 氧化酶(cytochrome C oxidase, COX) I、II、III 三个亚单位、酶复合体 V 的 6 和 8 两个亚单位。人类的许多疾病是由于内源的 DNA 发生突变。而 mtDNA 因没有 DNA 修复系统,也没有组蛋白的保护,而且经常暴露于 ROS 中,所以较核基因更易发生突变,大约是核基因组的 10-20 倍。因此由 mtDNA 突变造成的 OXPHOS 异常也很普遍。

(1) 与 OXPHOS 中酶复合体 I 有关的突变

基金项目:国家自然科学基金(39770420, 30100115)和浙江省自然科学基金(300255)资助项目。

*** 通讯作者。