

- [31] Sokolovsky M. 1993, *Cell Signal.* 5(4): 473—483.
- [32] Chau L. Y. et al., 1993, *J. Neurochem.*, 60(2): 454—460.
- [33] Takagi H et al., 1994, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 35(1): 134—142.
- [34] Luscher T. F. et al., 1992, *J. Hum. Hypertens.*, 6: (suppl 2): S 3—8.
- [35] Ladenheim R. G. et al., 1993, *J. Neurochem.*, 60(1): 260—266.
- [36] Imokawa G. et al., 1993, *J. Biol. Chem.*, 267(34): 24675—24680.
- [37] Mondon F. et al., 1993, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 76(10): 237—244.
- [38] Tseng Y. C. L. et al., 1993, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 76(1): 156—161.
- [39] Roubert P. 1994, *Mol. Pharmacol.*, 45(2): 182—188.
- [40] Takada M. et al., 1994, *Am. J. Pathol.*, 144(3): 473—479.
- [41] Schiff E. et al., 1993, *Clin. Endocrinol. Oxf.*, 38(3): 321—324.
- [42] Sokolovsky M., 1993, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 196(1): 32—38.
- [43] Ohlstein E. H. et al., 1993, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 22 Suppl 8: S 321—324.
- [44] Mihara S. et al., 1993, *Eur. J. Pharmacol.*, 246(1): 33—38.
- [45] Mihara S. et al., 1994, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 268(3): 1122—1128.
- [46] Lodge N. J. et al., 1993, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 22 Suppl 8: S 140—143.
- [47] Warner T. D. et al., 1993, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 22 Suppl 8: S 117—120.
- [48] Clozel M. et al., 1993, *Nature*, 365(6448): 759—761.
- [49] Clozel M. et al., 1993, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 22 Suppl 8: S 377—379.

联合会复合体的研究进展

林亚康

(中国科学院上海细胞生物学研究所 上海 200031)

联合会复合体(synaptonemal complex, SC)是性细胞成熟过程中第一次减数分裂前期——粗线期时,同源染色体之间形成的一种三线状结构。SC首先由Moses等在电镜下发现^[1]。它的亚显微结构包括两个侧成分(LE)和一个中央成分(CE),在LE和CE之间有横纤丝相连。染色质纤维以loop形式排列在SC两侧。由于联合会复合体和同源染色体的配对、重组和第一次减数分裂染色体的凝集和分离有关,因此,联合会复合体一直是细胞生物学和细胞遗传学研究的主题之一。80年代以前,对联合会复合体的研究,主要集中在各种生物的SC组型、SC结构、SC的形成以及SC与同源染色体配对、重组的关系等^[2-11]。这方面,施立明和他的学生也做过不少的工作。近年来,人们试图揭示粗线期染色体的分子结构、同源染色体之间配对和重组的分子机理,对SC的形

成、生化组成以及超微结构作了更深入的研究,本文主要就这些研究的进展作一些简要的介绍。

一、联合会复合体的形成

一般认为联合会复合体的形成分下列三个步骤:1.在细线期时,细长的染色体轴沿每一条染色体形成;2.在偶线期时,通过横纤丝的形成使同源染色体轴平行排列,轴中心便成为SC的LE;3.随着同源染色体的配对,在LE之间的横纤丝上形成CE,此时完整的SC便形成^[9]。对SC的发育过程曾有许多作者用光镜和电镜进行过观察^[3,6,8-12],但比较有说服力的是Dietrich等的工作,他们用羟脲阻断法研究了小鼠精母细胞SC的发育过程,他们的结果表明SC是在用药后第9天当细胞进入早偶线期时渐渐形成的,到第11天进入粗线

时期, SC才得以完全形成^[14]。他们并发现, 在早偶线期时, 在细胞核中可见许多短的呈棒状的SC片断, 并认为这些短的棒状结构可说明在每一个二价体的同源染色体是以多位点开始配对^[14]。

John认为同源染色体的配对导致二价体的形成常分两步, 第一步同源染色体之间进行预排, 相间300nm左右, 第二步同源染色体之间以更精确的排列、相间为100nm, 随后SC便形成^[15]。Moens从蚱蜢的染色体配对时观察到, 在SC形成之前, 有一特定的成分(称作synaptic units)存在, 这种成分很可能与同源配对和SC形成有关。随后, Rasmussen对家蚕精母细胞研究指出, 同源染色体之间配对初步识别受体位于距端粒1—3 μm 的一个短的亚端部位点影响, SC形成是从同源染色体紧密结合的末端附着斑开始, 在一个或两个末端通过这种亚端部结合相配, 然后SC逐渐发育而成。

对SC的起源仍未搞清, Roth等把百合的花粉母细胞培养在含有蛋白合成抑制剂(放线菌素酮)的培养基中, 结果使LE不能形成, 如果把处理过的细胞, 在早偶线期时去掉放线菌素酮, SC则能重新形成, 如果在后偶线期或早粗线期时去掉抑制剂, 也不能形成SC, 使染色体不能联会, 也没有交叉形成^[16]。他们的结果意味着组成SC的某些蛋白是在偶线期合成的。Lu的研究指出, 联会复合体的装配和形成的每一步都是通过蛋白的合成推进^[17]。Heyting等用免疫细胞化学方法, 研究了大鼠SC的发育过程, 他们的结果表明组成LE的主要蛋白是在偶线期合成的。因此他们认为SC的形成是通过新合成的方式, 而不是通过预存于核内物质重排而成^[18]。

对于CE的起源也未搞清, 现有两种观点: 一种观点认为它是在配对过程中LE原位产生的, 作为轴中心的扩伸, 另一种观点认为CE前体是在核仁内合成和装配, 然后转移到发育的SC中间^[15]。最近, Smith等用单抗鉴

定了一种48kDa蛋白位于SC的中心区(Central Region), 这个蛋白是减数分裂过程中合成的一种SC结构蛋白, 很可能参与同源染色体的配对^[18]。

二、SC蛋白组分的免疫定位

De Martino等首先用抗肌动蛋白和抗肌球蛋白抗体对大鼠的SC进行免疫细胞化学标记, 认为肌动蛋白和肌球蛋白是SC的蛋白组分^[19]。Heyting等的研究结果肯定了SC端部确实存在有肌动蛋白, 但他们没有证实肌球蛋白是SC的组成成分^[20]。Moens等发现在SC中有拓扑异构酶II(Topoisomerase II)^[21]。

Heyting等对分离纯化的大鼠精母细胞SC成分进行SDS电泳分析表明, SC主要由分子量为67, 60, 57, 55kDa的蛋白组成, 此外还有少量90, 35, 33, 28和26kDa蛋白以及某些组蛋白, 并发现67到60kDa蛋白的电泳迁移率与大鼠肝细胞的核孔复合体的核纤层蛋白和核纤层相同, 因此他们提出SC和核孔复合体及核纤层之间有一定的关系^[22]。

Heyting等用提纯的大鼠SC蛋白免疫小鼠制备抗SC的单抗, 其中一个单抗II 52F10能与提纯的SC两个主要成分30和33kDa多肽反应, 用这个抗体, 在光镜和电镜下对SC组分进行免疫定位, 结果显示这个抗体能与配对或未配对的偶线期、粗线期、双线期的SC反应, 在光镜样品中能与晚粗线期和双线期的SC及附着斑发生较强的反应。免疫金标的电镜结果显示这个单抗主要与配对或未配对的LE发生反应, 在晚粗线期和双线期SC的末端膨大部分也能与之反应, 因此他们得出结论30和33kDa多肽是大鼠SC中LE的成分^[23]。

Moens等用两个抗SC单抗(II 52F10, III 15B8)对大鼠SC进行免疫金标分析, 发现II 52F10抗体在常染色体和性染色体的轴上均有金颗粒标记, 在减数分裂前期的染色体配对

阶段(偶线期)标记的金颗粒较少,而当配对完成后,LE成平行排列时(即粗线期)金颗粒有较多的标记(55 grains/ μm SC),在双线期时,染色体轴中心开始分离,这些抗原在整个轴上仍能检出,而且在延长的末端有重的标记。但在重组节中没有被标记。抗体 III 15B8 能标记 LE 之间的蛋白,主要分布在 LE 的配对面,这个抗原只有在同源染色体配对时,在轴的配对处才存在,从分布和时间上看被 III 15B8 所识别的抗原其功能可能与减数分裂前期的染色体配对有关。他们的结果并表明这两个抗体能标记大鼠和小鼠的 SC,但不能标记兔子和狗的 SC,而用人 CREST(硬皮病)抗着丝粒血清作对照,抗着丝粒血清对大鼠、小鼠、兔子、狗的 SC 着丝粒都能标记。因此他们得出结论,被 II 52F10 和 III 15B8 识别的抗原不是广泛存在的。他们并用这两个抗体对体细胞进行检测,结果这两个抗体与体细胞的细胞质和核组分均无反应^[24]。Heyting 等用 II 52F10 单抗继续对大鼠各种组织和细胞的核蛋白进行免疫印迹分析和免疫细胞化学定位,结果发现各种细胞类型包括精原细胞和精子细胞核蛋白在免疫印迹分析中与抗体 II 52F10 均无反应,只有精母细胞核的 30 和 33 kDa 蛋白与抗体发生反应。在肝、脑、肌和肠细胞的冰冻切片中,也未发现与 II 52F10 抗体反应的任何抗原蛋白存在。在精巢中,只有 SC 或 SC 片断能与抗体反应。因此他们得出结论,SC 的 LE 不是由预存于核中组分重新排列所装配而成,而是新合成的。至少有两种主要成分是新合成的,推测这两种蛋白是在偶线期合成的。他们并认为 LE 的这两个主要蛋白不参与减数分裂早期的染色体凝集过程^[18]。Heyting 等用单抗进一步研究了 SC 蛋白,并根据抗体识别的多肽,把抗体分为四类:1) 能识别 190kDa 多肽;2) 能识别 30, 33kDa 多肽;3) 能识别 120kDa 左右的两个多肽;4) 能识别 66—55 kDa 多肽。用免疫细胞化学定位,66—55kDa 多肽不位于 SC 中,而是出现在染色体的染色

质祥上,而 190,130 和 33kDa 多肽则位于配对和未配对的 SC 的 LE 中,120kDa 多肽位于 LE 的内边,特别是在配对的 SC 部位。用冰冻切片免疫荧光分析了 190,120, 30 和 33kDa 多肽在精巢中的分布,结果表明所有这些多肽是在偶线期到双线期的精母细胞核中所特有,只有某些早期的精细胞也能检出 190, 30 和 33kDa 多肽,推测这些是 SC 的残留。因此他们进一步推论 SC 的 LE 不是由预存在核中的组分重排而成,它们的主要成分是在减数分裂前期新合成的^[25]。

最近,Smith 等用单抗 SC14F10 鉴定了 SC 中的一种新蛋白,定名为 SC48,其分子量为 48kDa,在双向电泳中 pI 为 6.9。用免疫金标电镜分析,这个蛋白位于 SC 的中心区,在细胞分级分离(cell fractionation)实验中,他们发现这个 SC48 蛋白与粗线期精母细胞核基质中的 SC 残基结合在一起。他们的结果认为 SC48 是减数分裂所特有的 SC 结构蛋白成分,参与同源染色体的配对^[18]。

三、SC 蛋白基因筛选和特性分析

Menwissen 和 Moens 等用抗 SC 的单抗筛选到了一种编码 SC 主要蛋白的 cDNA,根据这个 cDNA 的核苷酸序列,这个蛋白由 946 个氨基酸组成,分子量为 111kDa,取名为 SCP1。这个蛋白专一位于减数分裂前期同源染色体的联会部位,它具有某些核纤层蛋白和某些核基质蛋白的特性,这个 SCP1 的主要部分,能伸长形成亲水脂分子的 α 螺旋,这个区域氨基酸序列类似于肌球蛋白重链的螺旋区。这个区包含有一个亮氨酸 zipper, C-末端有两个小的碱性区和几个 S/T-P-x-x motifs。SCP1 基因只有在偶线期到双线期的精母细胞中才转录。用单抗 IX5B2 和多抗血清分别对大鼠的 SC 进行免疫电镜分析,SCP1 的 C 末端朝向 LE,这个蛋白的其他区域伸向 LE 之间的中心区。因此他们推论 SCP1 是 SC 横纤丝的主要成分,并推测它是由核基质蛋白特化而来^[26]。

Chen 和 Moens 等用抗大鼠 SC 蛋白多抗从大鼠精巢 cDNA 文库中筛选到了一个编码 65 kDa SC 蛋白的基因, 这个基因编码的蛋白位于精母细胞同源染色体轴的配对面。这个蛋白的氨基酸序列在 C 末端有一个酸性区, 它为潜在的糖基化位点, 至少是一个可能的磷酸化位点^[27]。

四、重组节

SC 参与同源染色体配对, 并为染色体重组提供了结构基础。现认为重组和交叉形成实际上与位于 SC 中心区的重组节有关^[15]。重组节首先由 Westergaard 等^[28]和 Gillies^[29]描述为深染、直径为 100nm 的球体, 位于 LE 之间。Carpenter 把它命名为重组节^[30]。后来在许多生物中都发现了重组节存在^[12]。在不同生物的 SC 中重组节的分布和数量与交叉的频率以及与减数分裂的时期有关, 重组节的形状和大小, 不同生物之间以及不同时期变化也较大^[15]。Carpenter 把 ³H 标记的脱氧胸苷渗入果蝇卵母细胞中, 发现在重组节附近有 DNA 合成^[31]。Carpenter 并认为重组节含有多种酶, 负责非姐妹染色单体 DNA 之间的交换^[32]。对于重组节中是否存在 DNA 问题没有足够的证据, 直到最近, Gerardo 等用免疫细胞化学方法, 证实了在重组节中有 DNA 的存在。他们用抗 DNA 抗体对小鼠和大鼠的精母细胞、鸡的卵母细胞粗线期染色体进行 DNA 亚显微定位, 发现在染色质袢和 LE 上有大量的金粒标记外, 在重组节中也有较多的金粒标记, 他们并发现在重组节和 LE 之间有 DNA 纤维相连接。这个发现支持了 Carpenter 早期提出的重组节参与交叉形成的观点^[33]。然而, 目前对于重组节详细的结构和功能, 以及调节重组节在 SC 中的分布等有关机理尚不清楚。

五、SC 中心区的三维结构

SC 的主要结构特征在动植物细胞中基本

相同, 两侧的 LE 和中间的 CE 通过横纤丝相连, 而且 SC 的宽度也很接近。两侧 LE 之间的距离约在 100nm 左右。尽管基本结构大致相同, 但各种生物之间, SC 的显微结构也有较大的差异, 尤其是 CE 的结构, 在脊椎动物中被认为是无定形的, 而在昆虫中它为高度有序的梯子样结构。最近, Schmekel 等用电镜 x 射线断层术, 研究了瓢虫的 SC 结构, 他们清楚地揭示了瓢虫的 SC 中心区三维结构。瓢虫的 CE 由两个平行的纵向成分和许多规则的横向成分组成象梯子一样的结构, 横纤丝穿过 CE 与两侧的 LE 相连, 每一个横向 CE 成分仅与一条横纤丝相连。CE 是一个多层结构, 每一层由两个短的柱子和一些横向与纵向成分组成, 经向邻近的柱子通过许多小的纤维桥相互连接, 同一层的两个柱子通过横向成分相连。他们把一个横纤丝和它连接的两个柱子, 称作为中心区的一个结构单位, 并提出了一个结构模型^[34]。继而他们对大鼠、果蝇和瓢虫的中心区结构进行了进一步的比较研究, 他们发现这三种生物的中心区结构都含有相同的基本结构单位, 一根横纤丝连接两个平行短的柱子, 相邻的不同结构单位之间通过许多纤维桥相连, 这种纵横向纤维与柱子相连就构成了 CE 的三维结构。他们并认为在大鼠、果蝇和瓢虫中, 虽然中心区含有相同的基本结构单位, 这种单位的有序性和密度在这三种生物中有差异。瓢虫中密度和有序性最高, 果蝇次之, 大鼠最低, 因此他们得出结论含有这种结构单位的密度越高, 其 CE 结构的有序性也越高^[35]。

总之, SC 仍然是当今细胞生物学、细胞遗传学研究的热点之一。虽然对它的起源、它的蛋白组分、分子结构以及它在同源染色体的配对、遗传重组、染色体凝集和分离中的确切作用还未完全搞清, 但对它的研究正朝着分子水平深入, 可以相信随着越来越多的 SC 蛋白被鉴定和编码这些蛋白的基因被发现, 对它的分子结构和功能可望有更多的了解。

摘 要

联会复合体(SC)是性细胞减数分裂前期 I 所特有的结构。其功能主要与同源染色体的配对、重组有关。已清楚, SC是由 DNA 和蛋白质组成的复合体, 它的形成始于细线期, 完成于粗线期, 它的装配和形成的每一步都是由蛋白质的合成推进。在 SC 中已鉴定的蛋白组分有肌动蛋白、拓扑异构酶 II 和一些分子量为 26—190kDa 的多肽。利用单抗已筛选到了某些编码 SC 蛋白的基因。并在重组节中证明有 DNA 存在。在昆虫中 SC 的中心区为高度有序的梯子样结构, 并提出了它的三维结构模型。

参 考 文 献

- [1] Moses, M. J. 1956. *J. Biophysical and Biochemical Cytology* 2: 215—217.
- [2] Gillies, C. B. 1975. *Annu. Rev. Genet.* 9: 91—109.
- [3] Moses, M. J. 1977. *Chromosoma*, 60: 99—125.
- [4] Moses, M. J. 1977. *Chromosoma*, 60: 127—137.
- [5] Moses, M. J. et al., 1977 *Chromosoma*, 60: 345—375.
- [6] Dresser, M. E. et al., 1980, *Chromosoma*, 76: 1—22.
- [7] Jones, G. H. et al., 1980 *Chromosoma*, 78: 187—201.
- [8] Counce, S. J. et al., 1973 *Chromosoma*, 44: 231—253.
- [9] Pathak, S. et al., 1979, *Chromosoma*, 73: 53—60.
- [10] Jhanwar, S. C. et al., 1980, *Hum. Genet.*, 54: 405—408.
- [11] Dresser, M. E. et al., 1979, *Exp. Cell. Res.*, 121: 416—419.
- [12] Von Wettstein, et al., 1984, *Ann. Rev. Genet.*, 18: 331—413.
- [13] Heyting, C. et al., 1988, *Chromosoma*, 96: 325—332.
- [14] Dietrich, A. J. J et al., 1981, *Chromosoma*, 83: 409—418.
- [15] John, B. 1990, *Meiosis* (Cambridge Univ. press) pp. 113—201
- [16] Roth, T. F. et al., 1971, *Chromosoma*, 35: 9—27.
- [17] Lu, B. C. 1984, *J. Cell Science*, 67: 25—43.
- [18] Smith, A. et al., 1992, *Exp. Cell. Res.*, 198: 291—297.
- [19] De Martino, C. et al., 1980. *Cell Tissue Res.*, 213: 159—178.
- [20] Heyting, C. et al., 1984, *Chromosomes Today*, 8: 316.
- [21] Moens, P. B. et al., 1989, *Chromosoma*, 98: 317—322.
- [22] Heyting, C. et al., 1985, *Eur. J. Cell Bio.*, 36: 307—314.
- [23] Heyting, C. et al., 1987, *Eur. J. Cell Bio.*, 43: 148—154.
- [24] Moens, P. B. et al., 1987, *J. Cell Bio.*, 105: 93—103.
- [25] Heyting, C. et al., 1989, *Genome*, 31: 81—87.
- [26] Menwissen, R. L. J. et al., 1992, *EMBO, J.* 11: 5091—5100.
- [27] Chen, Q. F. et al., 1992, *Biochem. Cell Biol.* 70: 1030—1038.
- [28] Westergaard, M. et al., 1972, *Annu. Rev. Genet.*, 6: 71—110.
- [29] Gillies, C. B. 1972, *Chromosoma*, 36: 119—130.
- [30] Carpenter, A. T. C. 1975, *P. N. A. S.*, 72: 3186—3189.
- [31] Carpenter, A. T. C. 1981, *Chromosoma*, 83: 59—80.
- [32] Carpenter, A. T. C. 1984, *Symposia of the Society of Exp. Biol.* 38: 333—243.
- [33] Gerardo, H. et al., 1993, *Chromosoma*, 102: 457—463.
- [34] Schmekel, K. et al., 1993, *Chromosoma*, 102: 669—681.
- [35] Schmekel, K. et al., 1993, *Chromosoma*, 102: 682—692.

欢迎订阅本刊(邮发代号 4—296), 欢迎来稿,
欢迎多提宝贵意见!