

果蝇发育中细胞决定和分化与基因表达环境*

赵 德 标

(中科院上海细胞生物学研究所、上海生命科学联合开放研究实验室 200031)

一个受精卵发育为一个成体,是通过细胞分裂和细胞分化实现的。通过细胞分裂增加细胞数目,通过细胞分化增加细胞种类。任何个体都是由许许多多形态和功能上不同的细胞组成的。它们分别构成组织,器官乃至系统。这些具有不同形态和功能的细胞就是在发育过程中通过分化过程形成的。

对大多数生物来说,通过有丝分裂,来自受精卵的每个体细胞都具有全套基因组染色体。核移植等实验都已证实这一观点。为什么在发育过程中各种细胞各自又具有不同的性状呢?性状是由基因决定的。而基因的表达取决于细胞质的环境。将某些细胞的核移入不同的细胞质内,就可能表达不同的基因。因而,使细胞核处于特定基因表达状态的细胞质又可看成特定的基因表达环境。在胚胎发育过程中,细胞内基因表达环境将逐步发生改变,不断调控基因表达,使特定的基因相继被激活或抑制,所以能相继出现不同的细胞,各自具有新的性状。

现代分子生物学的一系列重大发现,使生物学家着手在分子水平上研究基因如何决定性状,个体发育过程中决定细胞分化的基因如何表达调控,和胚胎发育中细胞分化的程序如何控制等问题。本文将以果蝇发育遗传学研究新进展,着重从细胞核、细胞质在细胞决定和分化过程中的不同作用,探讨细胞的决定和分化与基因表达环境之间的关系。

一、果蝇生殖质 与生殖细胞的决定

大量的胚胎学实验都已说明大多数生物体的细胞核都具有全能性,胚胎细胞的分化可

看作为胞质的分化。动物的卵裂球具有相同的遗传基础,其中某些卵裂球之所以获得决定并向不同的细胞方向分化,就是因为,在受精卵分裂时,区域性定位的不同胞质被分配到不同的卵裂球内。卵细胞质内决定因子的这种区域化现象在动物界相当普遍。最常见的是卵细胞质内含有的一种特殊物质(生殖质)。它们含有核酸和蛋白,分布在卵或胚胎的一定部位,决定卵裂核将分化为生殖细胞。

当果蝇受精卵核经9次分裂后,向合胞体囊胚周缘迁移时,任何20—30个卵裂核进入囊胚后区与极小囊(生殖质)结合,将形成极细胞。其它卵裂核由于没有获得极小囊,都成为体细胞(图1)。这些极细胞到原肠运动开始时才开始内陷,以后成为生殖细胞^[1]。通过卵后区的胞质移植实验也已证实,这些含有极小囊的胞质可使合胞体囊胚任何区域的核向着极细胞方向分化。

在利用遗传诱变筛选与生殖细胞有关的基因中,人们已发现了10多个母体效应基因,它们参与了生殖细胞的形成。这些基因中的任何一个基因突变时,其雌果蝇所产卵的后区胞浆内将没有极小囊。结果这些卵受精后将不能产生生殖细胞的前体,即极细胞。由于这些突变雌体产生了不育的子代,因而这种表型称为“无孙”突变,这些基因也称为“无孙”基因。

分子水平的研究已表明,生殖质是在卵细胞发生过程中,通过不同“无孙”基因的相互作用,按顺序逐步装配而成^[2]。最终产生的,有功能的生殖质中含有 *staufer*, *vasa*, *oskar* 和 *gcl* 的蛋白和 *oskar*, *nos*, *pum*, *cyclin B* 的 RNA。由于上述“无孙”基因产物是按特定的顺

* 对庄孝德教授在本文写作过程中给予的启发、鼓励和建议深表谢意。

序,逐步在极小囊内定位,提示了最后一个在极小囊内定位的“无孙”基因产物(生殖细胞决定因子?)应足以决定生殖细胞的形成。但目前这一基因产物还不清楚。因而也可能,生殖细胞的形成需要生殖质中的多个成分,或生殖细胞决定因子的定位需要极小囊中上述的几个成分。但无论那种方式,只有获得了含有整套“无孙基因”产物的独特胞质-极小囊,果蝇胚胎后区的极细胞才具有与其它体细胞所不同的基因表达环境。极细胞中的细胞核在这种环境下,建立其特有的基因表达状态,通过表达 *agi* 等基因^[3],使极细胞决定,并向着生殖细胞方向分化。

二、遗传物质对果蝇发育程序的控制

早在 50 年代, Poulson 等人就开始果蝇正常发育的研究,并作了详细的描述^[4]。胚胎发育至合胞体囊胚时,周缘的细胞核各自处在胚胎前后轴和背腹轴的不同位置上。这种位置的不同,导致不同基因的表达(见下面的讨论),将决定每个细胞的发育命运。前后位置不同的细胞此时已决定将发育成为胚胎的重复性体节,而背腹位置不同的细胞将发育成为一系列不同的组织。

在胚胎发育过程中,一方面胞质的分化决定了胚胎细胞的分化。另外一方面,发育程序的展开又受到遗传物质的结构和功能的控制。70 年代初, Nusslein-Volhard 等人通过观察致死突变胚胎的表皮等组织结构图式,系统地研究遗传物质的突变如何影响果蝇早期胚胎发育的程序^[5-7]。结果发现参与调控胚胎发育程序的基因远超过 100 个。根据它们突变时对胚胎极性,体节和背腹组织的影响,这些基因可粗略分为两大组。

第一组基因参与胚胎极性和体节图式的正常发生,称前后图式基因,约 70 个^[8]。根据它们突变时影响胚胎发育程序的时间先后和对

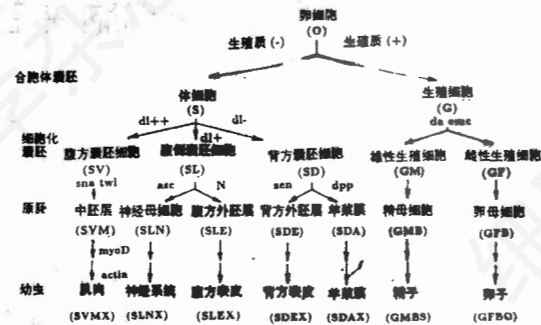


图 1 果蝇背腹组织决定中, 基因表达环境与细胞分化的关系

括号内不同的符号表示不同的基因表达环境。处于不同基因表达环境下的细胞由于不同基因的表达,各自向着不同的方向分化。例如,在肌肉细胞分化的过程中,未获得生殖质的囊胚细胞首先建立起一种基因表达环境 S,相应地,囊胚细胞将朝着体细胞的方向分化。这些囊胚细胞如获得大量的核内 *dl* 蛋白,再建立起基因表达环境 SV。由于 *twi* 和 *sna* 等合子基因的表达,基因表达环境又从 SV 变为 SVM,这样囊胚细胞也将向着中层方向分化。在 SVM 基因表达环境下, *MyD* 和 *actin* 等成肌基因相继表达,这些细胞最终分化为肌肉。其它类推。

胚胎图式影响方式(见图版),它们又可分为五类: 1)母体前后效应基因,突变时引起头胸,腹部或头尾缺失。2)体节缺口基因,突变时导致部分体节区域的缺失。3)体节成对基因,突变时减少单数或双数体节。4)体节极性基因,突变时影响每个体节的极性,导致半个体节缺失和另半个体节的反转重复。5)同源异型基因,突变时不减少体节,但使体节发生转化。

第二组基因参与了卵和胚胎背腹极性和组织的发生,称为背腹图式基因^[9]。根据它们的表达和对胚胎发育程序的影响(图 2)背腹图式基因可分为三类: 1)影响卵和胚胎背腹轴极性的母体致死基因,至少有 6 个。可分为两种。一种如 *K10*,突变时产生背方化的卵,其腹方较平,卵孔围绕卵的头部形成一个环。有些卵受精后可发育成背方化胚胎,缺少中胚层。另一种如 *top* 和 *grk*,突变时产生腹方化卵,背方出现弯曲,卵孔消失,由此产生的胚胎缺少背方上皮,而中枢神经相应扩展。2)导致胚胎背方化或腹方化的母体效应基因,共

有12个,其中11个基因突变时引起胚胎背方化,即位于腹方的囊胚细胞也发育为背方上皮。突变胚胎在原肠期不能形成腹方沟,继而失去中胚层衍生物。只有一个基因 *cac* 突变时产生腹方化的胚胎,即背方组织缺失,而中胚层向背方扩展。3)改变组织分类类型的合子基因。它们可分为两种,一种为腹方组织分化所需,例如 *twi*, 突变胚胎无腹方沟,继而失去中胚层衍生物,而位于腹方的囊胚细胞转为背方组织。在 *sna* 基因突变的胚胎上,甚至连腹方上皮也消失。另一种为背方组织分化需要的合子背腹图式基因,它们突变时相反引起腹方化。例如 *zen* 和 *twg* 基因为背方羊浆膜分化所必需,而 *dpp* 和 *sew* 为羊浆膜和背方上皮所需。它们的突变胚胎失去羊浆膜和背方上皮,而腹方上皮和神经系统相应地向背方扩增。

在卵子形成过程中和胚胎发育过程中,卵和胚胎极性的逐步建立,体节和不同组织按胚胎发育程序逐渐形成都需要上述基因在特定时间和空间成群地表达以及相互作用(见下面讨论)。可见核内遗传物质对胚胎发育程序的展开,起绝对的控制作用。

三、核质相互作用和细胞分化

与果蝇卵背腹极性和胚胎背腹组织图式有关的基因大多已经克隆出来了。遗传学,分子生物学和实验胚胎学的研究结果提示,这些背腹图式基因在功能上密切相关,协同决定背腹不同组织的形成(图2)^[10-11]。图2A显示了在背腹致死基因和其它母体效应基因的共同努力下,d1蛋白进入腹方卵裂核内,并呈现向背方的浓度梯度。正是来自胞质内的d1蛋白

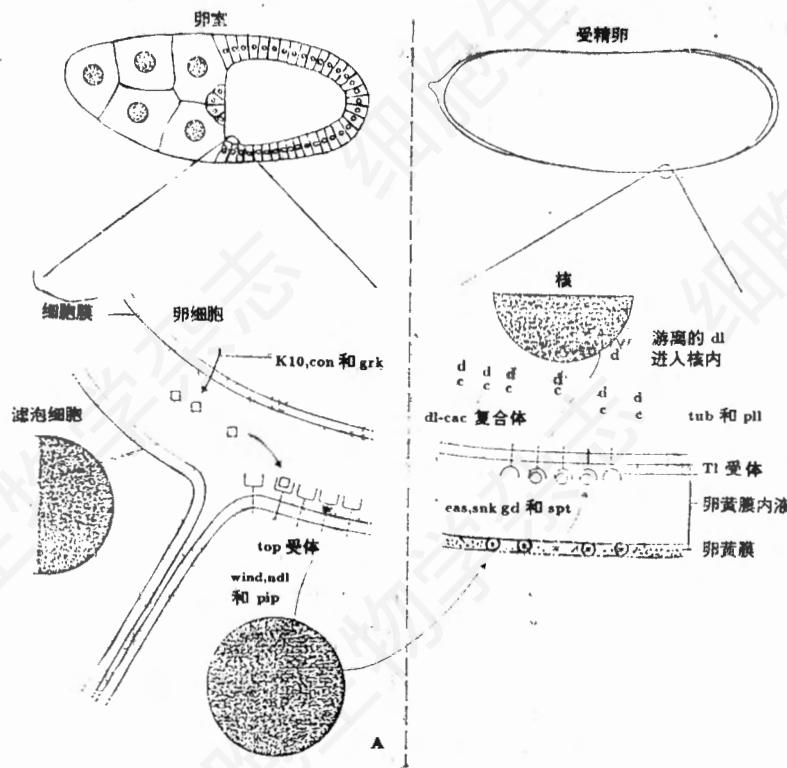
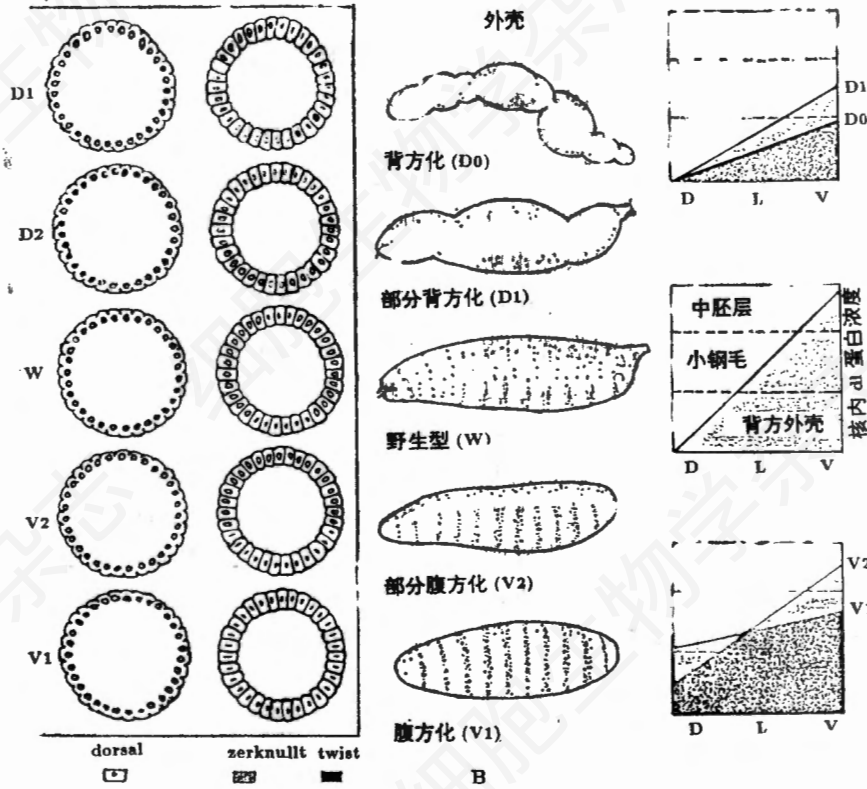


图2 背腹形态发生原的形成和作用机理

A. 背腹形态发生原的形成

虚线左侧表示卵细胞发生中,卵细胞产生的信号传向腹侧滤泡细胞。右侧表示在早期胚胎发生中,滤泡细胞产生的信号传向合胞体囊胚细胞膜,导致d1蛋白进入核内。图引自文献[19]。



B. dl 蛋白的作用机理

dl 基因上游的不同基因突变改变了合胞体囊胚细胞核内 dl 蛋白的分布, 后者通过调节 zen 和 twi 等下游基因的表达, 而决定这些基因产物的分布, 从而影响了幼虫外壳的图式。从部分腹方化(V2)到腹方化(V1)突变胚胎中, dl 进入核内的细胞数增加, 浓度升高, 结果表达 twi 基因的细胞数也增加, 而表达 zen 基因的细胞数减少。从部分背方化(D2)到背方化(D1)突变胚胎中, dl 进入核内的细胞数减少, 浓度降低, 结果表达 twi 基因的细胞数也减少, 而表达 zen 基因的细胞数却增加。

左侧图示 dl 与 zen 和 twi 基因表达之间的关系, 中间图示正常和突变幼虫的外壳, 右侧表示核内相对位置的 dl 蛋白局部浓度值, 可决定细胞的命运。左, 中和右侧图的中间行都表示野生型。右侧图中虚线部分各表示相应的中胚层。(大部分 dl 蛋白在核内)小刚毛和背方外壳(核内 dl 蛋白最少或无)的细胞位置。V1, V2, D1 和 D2 分别表示不同突变胚胎中, 核内 dl 蛋白的分布。右侧图中的 D, L 和 V 分别表示合胞体囊胚的背方, 侧方和腹方。图引自文献[19]。

在胚胎腹方卵裂核内, 改变了基因的表达状态, 通过激活某些合子基因和抑制另一些合子基因的表达, 才使得腹方囊胚细胞有可能向着中胚层组织方向分化。而其它囊胚细胞则向着其它组织细胞方向分化(图 2 B)。

在卵细胞发生中, 致死性背腹基因(K10 和 grk) 最早在卵细胞内表达(图 2), 所产生的信号被滤泡细胞膜上 top 等受体接受后, 使营养细胞和滤泡细胞分别在适当位置围绕卵细胞。位于卵细胞腹方的滤泡细胞膜上的 top 受体一旦被配体激活, 就通过信号传递系统中的一系

列反应^[12], 改变了这些细胞内的基因表达环境, 使得 d1 组内的三个母性效应基因(pip, ndl 和 wind)在滤泡细胞中表达, 参与上述腹方信息从体细胞返回生殖细胞的过程。到胚胎发生时, 在滤泡细胞产生的腹方信号作用下, 另外四个 d1 组基因(snk, eas, gd 和 spt)产物相互作用后, 激活腹侧的 T1 膜蛋白。snk, eas 和 gd 三个基因的产物已知与补体固定和凝血反应中的分泌型丝氨酸蛋白酶同源。这些基因产物在胚胎内合成后, 被分泌到胚胎外, 处于胚胎腹方和卵黄膜之间。然后可能通过类似补

体固定和凝血反应中的蛋白酶瀑布反应,将 *spt* 基因产物降解。当 *spt* 降解物与胚胎腹方膜蛋白受体 T1 结合时,就可导致腹侧 T1 膜蛋白的激活。然而 T1 膜蛋白的不对称活化再通过合胞体囊胚内 *p11* 和 *tub* 基因产物的激活,导致 dl 蛋白从 *dl-cac* 复合体中解离,游离的 dl 蛋白然后就可进入囊胚细胞核内,形成腹方向背方的浓度梯度。继而,不同浓度的核内 dl 蛋白使细胞核处于不同的基因表达环境中,通过调节卵裂核内不同合子基因表达(图 2 B, 左侧),使囊胚细胞朝着相应的组织分化(图 1)^[13]。在腹侧,高浓度的核内 dl 蛋白通过抑制 *zen* 等基因和激活 *twi* 等基因的表达,使腹侧囊胚细胞分化为中胚层。而在背方区基本上无核内 dl 蛋白时,*zen* 和 *dpp* 等基因的表达使背方囊胚细胞朝着背方外胚层细胞分化。只有当腹部侧部低浓度的核内 dl 蛋白抑制了 *zen* 等基因的表达,又不能激活 *twi* 等基因的表达时,才保证腹侧细胞向神经外胚层细胞分化。继而在胚胎背腹轴不同水平上表达的合子基因产物再相互调节,确定各自在不同囊胚细胞内精细的表达图式,并进一步调控组织分化基因(如 *MyoD*, *actin* 等),从而使背腹水平上的囊胚细胞向着特定类型的组织分化(图 1)。

除了上述背腹组织分化外,已决定的组织在胚胎前后不同区域内还具有不同功能的分化。如果蝇中枢神经组织,在前区的神经母细胞分化为大脑,而胸体节到腹部的神经母细胞则分化为10个不同的神经节。另外,位于合胞体囊胚前后轴不同位置上的预定外胚层细胞则分化为幼虫的前后不同体节。这种分化主要是在前后图式基因控制下进行的,就像图版所示的体节形成过程那样(详细介绍可参考综述^[14-15])。因而胚胎发育过程中,每个囊胚细胞至少将受到背腹和前后二组图式基因的控制。并通过核质之间不断的相互作用,而逐步决定,不断分化。

遗传学,胚胎学和分子生物学实验表明前

后图式基因之间不仅存在着上下不同作用层次,而且它们的表达还存在着复杂的相互调节。许多与果蝇胚胎体节发生有关的基因也已被克隆。大部分都编码了与基因转录调控有关的蛋白。RNA 原位杂交和胚胎抗体标记结果显示,这些基因在体节形成过程中,成群地,按严格的先后顺序表达,形成了像梯级瀑布一样的反应链(见图版)。这些基因表达的时间顺序与它们之间相互作用的关系相一致。

前后图式基因之间的相互作用是个极其复杂的过程(见图版)。粗略的说,卵内存在的三个形态发生原分别由母体效应基因 *bcd*, *nos* 和 *tor* 编码,它们在卵内前后不同位置上以浓度梯度分布,使不同位置的卵裂核处于不同的基因表达环境中,结果使位于胚胎前后轴上不同位置的囊胚细胞表达不同的体节缺口基因,从而建立体节预图式和确定胚胎前后轴极性。在这三个形态发生原分别作用下,体节缺口基因 *hb*, *kr* 和 *kni* 只能沿前后轴,在已确定的某些囊胚区内的卵裂核中表达,参与协调体节图式的亚分区,并确定同源异型基因表达的早期区域。不同体节缺口基因产物一旦进入胞质内,又分别建立新的基因表达环境,除了参与自身和同层次基因间相互调节外,又在各自限定的区域内激活或抑制卵裂核内的体节成对基因群(*hpl*, *ren*, *eve*, *ftz* 等)的表达,以决定重复体节图式。等体节成对基因产物进入胞质内后,各自所处着的细胞内基因表达环境又发生改变。然后,它们通过相互协调,再调节同一囊胚细胞核内体节极性基因群(*en*, *ptc*, *wg* 等)的表达,以决定体节的极性。最后,体节基因产物与同源异型基因相互作用而确定每个体节的性质。外胚层细胞就是这样,随着前后图式基因群的表达,不断改变其胞质内环境,从而保证这些基因群能按层次有序表达,使前后轴水平上不同位置的预定外胚层细胞向着不同的体节细胞分化(见图版)^[14-15]。

可见在果蝇胚胎发育过程中,上述不同层次的前后和背腹图式基因,按顺序在特定的时

间内和空间上相继表达,保证了发育程序的正常展开(见图版)。在细胞水平上,不同的细胞质为核内基因表达提供了不同的环境。一旦新的基因表达产物进入胞质,又改变了胞质内原来的基因表达环境,从而改变了基因表达状态。正是通过核质之间不断进行的这种相互作用,从而使上述几大类基因群能按层次逐个地激活。在分子水平上,形态发生,图式形成,以及组织和细胞的决定和分化,正是通过细胞内基因表达环境的不断改变,不同层次的基因群在不同的时间和空间的表达,以及它们之间的相互调控才能进行。相应地体节发育区也越分越细,每个细胞也逐渐获得其独特的性状,最后分化为特定的细胞类型,具有特定的功能。

四、细胞决定和分化 与基因表达环境

在胚胎发育中,具有相同遗传信息的细胞能分化为不同的细胞,是由于不同的基因表达的结果。其基本过程可简化如下:在卵细胞发生中产生的不同形态决定因子不均匀地分布在卵细胞的胞质内。受精卵分裂后产生的不同卵裂球内所含的形态决定因子通过激活或抑制卵裂核内不同合子基因(群)的表达,胚胎细胞开始了分化^[17]。合子基因表达产物进入胞质后,卵裂核又处在一个新的胞质环境内,合子基因(群)的表达再次受到调整,继而胞质环境又发生改变。在胚胎发生过程中,通过细胞核和质的不断相互作用,核内基因表达状态不断调整,继而胞质成分相应变化,使得胚胎细胞逐步决定,不断分化,最终形成各种类型的细胞。

由于不同的组织或细胞类型取决于不同的基因表达,而细胞分化过程中,不断改变胞质成分的意义在于胞质通过与基因组(核)的作用,建立独特的基因表达状态,使不同的基因表达和其产物的成熟成为可能。整个胚胎发育过程中,细胞分化的过程就可理解为像图1所

示的那样。在卵内形态因子作用下,卵裂球首先建立起两种基因表达环境,一种是生殖细胞特有(G),由生殖质决定。另一种为体细胞特有(S)。生殖细胞内,在生殖质作用下,染色体X/A之比通过性别决定基因da和emc等基因表达,基因表达环境由G转为GM或GF,从而决定生殖细胞为雄性还是雌性。与此同时,其它卵裂核在形态决定因子(dl)作用下,卵裂球内基因表达环境由S转变为SV,SL和SD,各自表达合子基因,如twi,N,和zen等。在这些基因产物作用下,不同卵裂球内基因表达环境又从SV,SL和SD各自转变成SVM,SLN或SLE,SDE或SDA,新的基因又表达。这样在细胞分化过程中,由于新的基因产物不断产生并加入原来的胞质成分中去,因而胚胎细胞的基因表达环境将不断发生改变。相应地,核内基因表达状态也将调整,使得胚胎细胞逐步决定,不断分化^[17]成为可能。在整个个体发育中,由于核质之间的这种相互作用不断进行,不同细胞内的基因按层次有序地逐个表达或关闭,直至不同的终末分化基因的表达,从而使组成个体的所有细胞具有不同的性状和功能。

任何一个基因的表达状态都是由细胞核所处的特定胞质环境所决定。而基因表达状态包括特定的染色质结构状态和不同的转录调控因子等,所以当基因表达环境SL在转变为一个新的基因表达环境SLN的过程中,但还未完全固定下来时候,一旦胞质环境改变就可以使SLN基因表达环境又转变为另一个基因表达环境如SLE。但在正常情况下,SLN不能逆转回S,除非核移植或恶性生长。这样就很容易解释发育过程中出现的细胞决定,分化和逆分化,诱导作用,细胞潜能的逐步缩小等发育生物学现象。

摘 要

胚胎发育是个程序化的,复杂而有趣的生命现象。在胚胎发育中,不同细胞的分化和其

功能由基因决定,受到核内遗传物质的控制。而细胞的决定和分化则是在不同的细胞质对细胞核的不断作用下,才能逐步进行。核质之间的相互作用先建立特定的基因表达状态,从而选择性表达发育调控基因或分化基因。发育调控基因产物一旦进入胞质,就可改变原来的基因表达环境,使细胞核进入新的基因表达状态,选择表达新的发育调控基因。如果新的发育调控基因的产物再影响细胞核,改变原来的基因表达状态,其它的发育调控基因的表达就可使胚胎细胞进一步分化。在发育过程中,细胞质和细胞核的这个相互作用不断进行,使控制发育程序的不同基因群在特定的时空中表达,受精卵分裂产生的子细胞才能不断决定和逐步分化,最后形成组成个体所必须的各种细胞类型。

参 考 文 献

- [1] Illmensee, K. and Mahowald A. P., 1974, *RNAS*. 71: 1016—1020.
- [2] Lehmann R., 1992, *Current Opinion in Genetics and Dev.*, 2: 543—549.
- [3] Lee E. et al., 1982, *Dev.*, 91: 163—170.
- [4] Poulson, D. Histogenesis, organogenesis and differentiation in *Drosophila melanogaster*, in *Biology of Drosophila* ed. by Demerec, M., Wiley, New York, 1950, pp. 168—274.
- [5] Nüsslein-Volhard C. et al. 1984, *Roux Arch. Dev. Biol.*, 193: 267—282.
- [6] Jurgens G. et al., 1984, *Roux Arch. Dev. Biol.*, 193: 283—295.
- [7] Wieschaus E. et al., 1984, *Dev. Biol.*, 104: 172—186.
- [8] Nüsslein-Volhard C. and Wieschaus E., 1980, *Natur.* 287: 795—801.
- [9] Anderson, K. V., 1987, *Trends in Genetics.*, 3: 91—97.
- [10] Anderson K. V. *Genes and Embryos* (Edited by Glover D. M. and Hames B. D.) 1989, pp. 1—38.
- [11] Zhao, D. B., 1993, *Chinese J. of Cell Biol.*, 15(1): 15—22.
- [12] Price, J. V. et al., 1989, *Cell*. 56: 1085—1092.
- [13] Roth, S. et al., 1989, *Cell*, 59: 1189—1202.
- [14] Ingham P. W., 1988, *Nature*, 335: 25—33.
- [15] Zhao, D. B., 1991, *Chinese J. of Cell Biol.*, 13(1): 12—20., 13(2): 57—64.
- [16] Doe, C. Q. and Scott, M., 1988, *Trends in Neurosci*, 11: 101—106.
- [17] St. Johnston, D. and Nüsslein-Volhard, C. 1992, *Cell*, 68: 201—229.
- [18] Zhuang, X. H., 1990, *Chinese J. of Cell Biology*, 12(1): 1—5.
- [19] Lawrence P. A., 1992, *The Making of a Fly: The Genetics of Animal Design*. By Blackwell Scientific Publications.

高等真核细胞蛋白质磷酸化与细胞周期 G₁ 向 S 期过渡的调控

王瑞虹 薛绍白

(北京师范大学生物系 北京 100875)

真核生物细胞周期运行涉及三个时期过渡(Phase transitions)的调控:1. G₀ 向 G₁ 期过渡, 2. G₁ 向 S 期过渡, 3. G₂ 向 M 期过渡等的调控^[1]。近年来, 对调控 G₁ 向 S 期过渡的生化事件的研究结果表明, 转录和转录后水平上的

调控机制在其中起重要作用。通过磷酸化与去磷酸化而参与 G₁ 向 S 期过渡调节的蛋白主要有: pRB(retinoblastoma gene product, 视网膜母细胞瘤基因蛋白), p107(pRB related protein, pRB 相关蛋白), p53, RPA(replicati-