

病中可能起重要作用。

参 考 文 献

- [1] Brown KD. et al., 1989, *J Immunol*, 142: 679—687.
- [2] Mackenzie ANJ. et al., 1993, *Proc Natl Acad Sci USA*, 90: 3735—3739.
- [3] Minty A. et al., 1993, *Nature*, 362: 248—250.
- [4] Zurawski G. et al., 1994, *Immunology Today*, 15: 19—26.
- [5] Mackenzie ANJ. et al., 1993, *J Immunol*, 150: 5436—5444.
- [6] Zurawski SM. et al., 1993, *EMBO J.*, 12: 2663—2670.
- [7] Malefyt RdW. et al., 1993, *J Immunol.*, 151: 6370—6381.
- [8] Montaner LJ. et al., 1993, *J Exp Med.*, 178: 743—747.
- [9] Punnonen J. et al., 1993, *Proc Natl Acad Sci USA*, 90: 3730—3734.
- [10] Cocks BG. et al., 1993, *Int Immunol.*, 5: 657—663.
- [11] Punnonen J. et al., 1994, *J Immunol.* 152: 1094—1102.

同源异型框基因与动物早期发育

毛炳宇 张红卫

(山东大学生物系 济南 250100)

一、同源异型框与同源异型框基因

在生物个体发育过程中,存在一类突变,表现为身体的某一部分结构转变为相似或相关的另一部分结构,这种现象称为同源异型现象(homeosis),产生这种情况的突变称作同源异型突变(homeotic mutation)。同源异型突变在许多动物、植物中都存在。果蝇由于其在遗传学研究中的许多有利因素而成为研究同源异型现象的最典型的材料。果蝇的多种基因突变均可造成同源异型现象。例如: Antp 基因的突变可使果蝇原来形成触角的部位产生一对多余的前肢。这说明 Antp 基因的突变改变了果蝇胚胎中原来预定发育成为触角的细胞群的发育途径。这些可导致同源异型突变的基因称为同源异型基因(homeotic gene)。果蝇的同源异型基因构成两个相邻的基因簇,即触角足基因群(Antp-C)和双胸基因群(Bx-C),两者统称为同源异型基因复合体(Homeotic Complex,

HOM-C)。1984年,瑞士巴塞尔大学的 W. J. Gehring 和美国科罗拉多大学的 M. P. Scott 的实验室几乎同时发现,果蝇的同源异型基因 Antp 和 Ubx 都含有一个 180 个碱基对的十分相似的基因片段。此后,又发现许多同源异型基因和其他发育调节基因都含有这一片段。由于它最初发现于同源异型基因中,故被称为同源异型框(homeobox)。含有同源异型框的基因被统称为同源异型框基因(homeobox gene)^[1]。同源异型框基因除包括同源异型基因外,还包括一些不产生同源异型现象的基因。在果蝇中,同源异型框基因除了包括 HOM-C 基因,还包括部分母性基因(maternal gene, 如 bicoid)、分节基因(segmentation gene, 如ftz)以及其他一些发育调节基因(如 Dll)^[2]。

目前已发现同源异型框广泛存在于真核生物调节基因中。许多动物(脊椎动物、无脊椎动物、头索动物)、植物甚至真菌中都已发现了同源异型框基因^[3-6]。同源异型框在进化上是十分保守的,如非洲爪蟾的 XlHbox 2 和小鼠

的 HoxB 2(Hox-2.3)基因与果蝇 Antp 基因中同源异型框的编码产物只有一个氨基酸残基的差异^[7]。如此广泛的分布及其高度保守性表明其生物学意义是极其重要的。同源异型框编码一段 60 个氨基酸残基的蛋白质结构域,称为同源异型结构域(homeodomain)。核磁共振及晶体学的研究表明,同源异型结构域可形成螺旋-转折-螺旋结构,它可与 DNA 特异性结合。同源异型框基因编码一类转录调节蛋白。同源异型结构域蛋白(homeodomain protein)可能通过与靶基因调控序列相结合、与转录因子相互作用而影响靶基因的转录。有些同源异型结构域蛋白之间具有协同作用,其不同组合方式可影响其活性^[8]。

根据同源异型框基因的同源性大小,可将其分为不同的家族,如 Antp 族、POU 族、Pax 族等。POU 族基因和 Pax 族基因除了含有同源异型框之外,还分别含有一个保守的 POU 框(POU box)和 paired 框(paired box)结构(Pax-1 基因例外,它没有同源异型框)^[1]。目前研究得最清楚的是 Antp 族基因,这一族基因与果蝇 Antp 基因所编码的同源异型结构域之间有 60% 以上的同源性。本文仅简要介绍一下对 Antp 族基因的研究进展。

果蝇的 Antp 族基因都位于 HOM-C 中,定位于 3 号染色体的右臂,包括 8 个基因: lab、pb、Dfd、Scr、Antp、Ubx、abd-A 和 Abd-B(图 1)。果蝇的同源异型框基因 bicoid、Zen、ftz 都位于 HOM-C 区域,但 bicoid、Zen 是母性基因,ftz 是分节基因,都不是同源异型基因,因此不作为 HOM-C 基因看待。此外,一些无关基因(如 amalgam)也定位于这一区域。脊椎动物的 Antp 族基因的精细结构、组织状况及表达模式的分析表明,这些基因与果蝇的 HOM-C 基因是同源的,称为 Hox 基因。人和小鼠各具有至少 38 个 Hox 基因,形成四个互不连锁的基因簇,统称为 Hox 复合体(Hox-C)。小鼠的四个 Hox 基因簇分别位于第 6、11、5、2 号染色体上。通过对基因

所编码的同源异型结构域序列的比较,可在 Hox 基因中找到果蝇 lab、pb、Dfd 和 Abd-B 基因的同源基因。不同 Hox 基因簇中的相应同源基因构成一个平行组(paralogous group)。Hox 基因包括 13 个平行组,分别含有 2-4 个基因,由 3' 至 5' 依次用数字 1-13 表示。对于果蝇的 Scr、Antp、Ubx 和 abd-A 基因,由于它们所编码的同源异型结构域彼此相近并与 Hox-C 中的多个基因相似,所以难以确定其同源基因。Hox-C 中的第 9 组基因在 HOM-C 中没有相应的同源基因。这一组基因可能是脊椎动物所特有的,或者果蝇中的相应基因在进化中已丢失。这组基因与果蝇的同源异型基因 pb 和母性基因 Zen 的同源性相近,为方便起见有时将其与 Zen 基因并列^[6]。关于 Hox 基因的命名,根据新的命名规则^[9],四个 Hox 基因簇分别用 A、B、C、D 四个字母表示,每个基因根据它所属的基因簇和平行组取相应的一个字母加一个数字表示。如 HoxA 1 表示 A 簇第 1 平行组的基因,依次类推(图 1)。若该位置的基因不存在则不用。

二、同源异型框基因的表达模式及其调控

同源异型框基因在动物早期胚胎发育过程中的表达具有很强的时空和组织特异性,例如,母性基因 bicoid(bcd)是一种前端决定子。在卵细胞发生过程中,bcd 基因在营养细胞中转录,bcd mRNA 被转运至卵细胞中,分布于预定前极。受精后,定位于前极的 bcd mRNA 迅速翻译,使 bcd 蛋白在前端快速积累并向后端扩散,形成一种稳定的浓度梯度,与其他母性基因产物共同决定胚胎的前后轴^[9]。分节基因 ftz 在胚胎发育早期体节形成前即开始表达。起始时这个基因在胚胎的大部分区域均表达,而在核的第 14 次分裂过程中,其表达区域则逐渐变为 7 条很窄的环胚胎带。这是一个普遍性激活而后特异性抑制的调节过程^[10]。Antp 族基

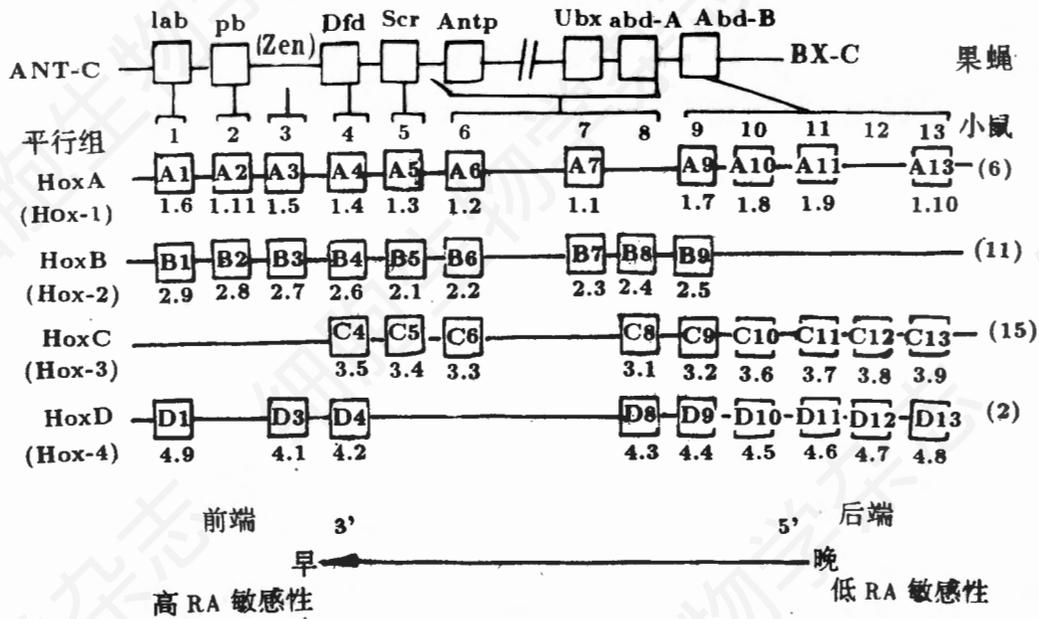


图 1 果蝇 *HOM-C* 与小鼠 *Hox-C* 的比较^[1,3,5]

图中 Zen 基因并不是真正的同源异型基因,说明见正文。每一方格下方的数字表示旧的 HOX 基因命名,右侧括号内数字为染色体编号。图下箭头表示 Hox 基因的某些性质与基因排列次序的线性关系,如表达区域的相对位置、表达的时间次序及对 RA(维甲酸)的敏感性,详见正文。

因在表面外胚层、中枢神经系统的表达区域沿前后轴具有明显的体节特征,一般具有明确的前端界线(anterior limit)。这些表达区域常相互叠压,除了个别基因,其排列状况与相应基因在染色体上的排列呈现一种线性关系,越靠近 3'端的基因其表达区域越靠前端,而 5'端基因的表达区域则靠后端(图 1, 2)。这是 *Antp* 族基因的一个重要特征^[6]。在 *Hox* 基因中,3'端平行组基因(第 1 组例外)的表达区域沿前后轴多相同或相似,但在同一部位不同基因的表达强度有所不同,同一基因在不同部位的表达强度也有所变化。5'端平行组基因的表达模式则相差较大。沿背腹轴,不同簇 *Hox* 基因的表达模式也是不同的^[11]。*Antp* 族基因的表达模式在确立时间上与相应基因在染色体上的排列次序同样具有线性关系:一般越靠前端(3'端)的基因其表达模式确立越早。这种时间上的线性关系对于动物早期发育中的模式建成可能具有重要意义。果蝇的 *HOM-C* 基因在囊

胚阶段被活化后在以后的大部分胚胎发育阶段中一直持续表达。这种持续表达可以使表达这个基因的细胞产生稳定的分化命运,这对于其进一步分化是十分重要的。*Antp* 族基因在外胚层、中胚层衍生物中均有强烈表达,而在内胚层中则较少表达^[6]。

同源异型框基因表达模式的建立和维持有着复杂的调控机制。在果蝇的最早期发育中,由母性基因、分节基因和同源异型基因构成了一个多层次的复杂的基因调控网络^[12]。同源异型框基因在这个网络中具有重要地位。母性基因、分节基因对 *HOM-C* 基因表达模式的建立具有重要调节作用。多种分节基因产物的共同作用对于 *HOM-C* 基因的限制性活化是必需的。例如,母性基因 *bcd* 可调节多种分节基因的表达。基因 *hunchback(hb)* 是其靶基因之一,而且只有当 *bcd* 蛋白的浓度达到一定临界值时 *hb* 基因才作出反应。*hb* 蛋白是一种锌指蛋白,它可调节多种 *HOM-C* 基因(*Antp*、*Ubx*、*abd-*

A等)的表达^[9]。分节基因 *ftz* 可调节 *Antp*、*Ubx* 等基因的表达。*HOM-C* 基因表达模式的维持似乎与其最初的启动无关,因为母性基因、分节基因的表达是短暂的。这种维持机制包括三个方面的因素:(1)自我调节:部分 *HOM-C* 基因的产物可调节其自身的转录,如 *Dfd*、*Ubx* 基因。这些基因的调控区中都包含有结合其自身产物的序列。(2)交互调节:*HOM-C* 基因的表达区域多相互重叠,这些基因之间存在交互调节作用。一般表达区域靠后的基因可全部或部分抑制表达区域靠前的基因。如 *Ubx* 蛋白可抑制 *Antp* 基因的表达,*abd-A* 蛋白在其表达区域可部分抑制 *Ubx* 基因的表达^[13]。(3)正向和负向调控系统:包括 *Polycomb* (*Pc*)族蛋白和 *trithorax*(*trx*)族蛋白,这些蛋白可以稳定 *HOM-C* 基因的表达模式。*Pc* 族基因至少包括 11 个基因,编码一组反式负调节因子,通过在适当区域抑制基因的表达而维持其表达界线。*trx* 基因编码正调节因子,*trx* 蛋白可形成锌指样结构与 DNA 结合。它对不同 *HOM-C* 基因的调节效应相当复杂,具有组织、伴体节(*parasegment*,前一体节后部与后一体节前部的合称)、启动子特异性。当然,这种调节可能需要其它因子的作用^[5,14,15]。哺乳动物 *Hox* 基因的调控非常复杂,这方面的研究还远没有果蝇 *HOM* 基因那样清楚。这里仅介绍一下维甲酸(*retinoic acid*,*RA*)对 *HOX* 基因表达的影响。外源 *RA* 可使脊椎动物胚胎发育畸形并改变 *Hox* 基因的表达模式。在人胚胎癌细胞中,*Hox* 基因对 *RA* 的敏感性与基因排列次序成线性关系:低浓度的 *RA* 可激活 3'端(前端)的基因,而激活 5'端(后端)的基因则需要高浓度的 *RA*。在体内条件下,3'端基因(1-8组)可被 *RA* 诱导而异位表达。*RA* 对 5'端基因的调节效应较为复杂,有些基因可被高浓度的 *RA* 所抑制,在有些例子中则表现出正调节效应。*RA* 的作用还具有一定的时间限制性。*RA* 受体及细胞结合蛋白在脊椎动物胚胎发育中的表达有着复杂的时空模式。*RA*

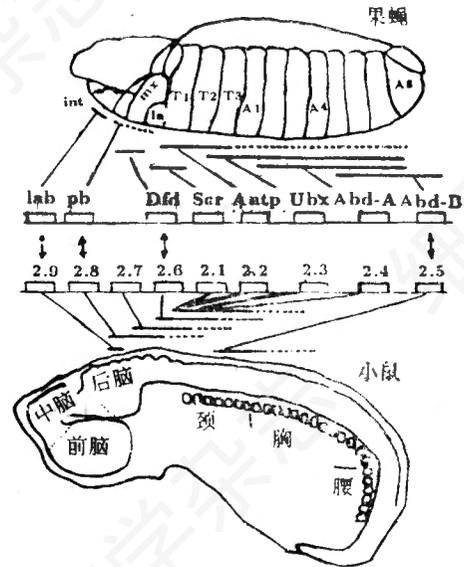


图2 *HOM-C* 与 *Hox-2* 基因的表达模式

上图为果蝇 10 小时胚胎中 *HOM-C* 基因在表皮中的表达模式, *int*、*mx*、*la* 为头部体节, *T*₁—*T*₃ 为胸部体节, *A*₁—*A*₈ 为腹部体节。下图为小鼠 *Hox-2* 基因在 12 天胚胎中中枢神经系统中的表达模式。*Hox-2.1*、*2.2*、*2.3*、*2.4* 的表达区域相差不大, 图中用一条线表示。(自 McGinnis, 1992)

对 *Hox* 基因表达的调控是否为直接效应尚不明确^[16-18]。

三、同源异型框基因的功能

同源异型框基因在动物早期发育中起着关键作用。在果蝇中, 同源异型框基因几乎参与了最早期发育中的一切事件, 如胚轴的确立、体节的产生及分化等。母性基因 *bcd* 在决定胚胎的前后轴中具有重要作用, *Zen* 基因则与背腹轴的确立有关。分节基因 *ftz* 等参与控制体节的数目及模式。*ftz* 的突变会导致胚胎部分体节的消失或融合。脊椎动物的同源异型框基因 *goosecoid*(*gsc*)与其原肠作用密切相关。这个基因编码的蛋白质与果蝇 *bcd* 蛋白具有相似的识别特异性。向爪蟾原肠早期胚胎腹侧(正常时不表达 *gsc* 基因)注射 *gsc* mRNA 可以诱导次级胚胎的形成。Niehrs 等发现, *gsc* 基

因可以控制细胞群的迁移^[19,20]。果蝇的 HOM 基因与脊椎动物的 Hox 基因控制着胚胎不同体节部位的进一步分化。关于其作用机制,有人认为,由于 HOM (Hox) 基因表达区域的相互重叠以及表达强度的变化等,使胚胎不同部位表达不同种类的同源异型框基因组合,产生不同的 HOM (Hox) 密码,形成特异性的位置信息,从而使不同部位的细胞产生不同的分化命运。在哺乳类,由于细胞分化的高度复杂性,所以需要四个 Hox 基因簇以产生足够种类的 Hox 基因组合^[11,21]。但是,同源异型框基因的功能在多大程度上依赖于这种组合尚有疑问。至少在果蝇表皮中,有些 HOM-C 基因表现出相当高的自主性。果蝇表皮某一区域的特征主要是由在这一区域高水平、持续表达的基因所决定的,而那些次级表达区域与之重叠的基因的作用是次要的。Hox 基因的表达水平一般在靠近其前端表达边界处达到最高,这些区域可能是其主要功能区。认为各个 Hox 基因在功能上是独立的、Hox 密码只是这些基因在功能上的组合似乎也是合理的^[5]。

HOM-C 基因的功能主要是通过突变体来研究的。大部分 HOM-C 基因的突变可导致胚胎部分结构的同源异型转化。例如, Ubx 基因的突变会使第 5、6 伴体节上皮转化为第 4 伴体节上皮。有些 HOM-C 基因 (lab、Dfd) 的突变则伴有部分结构的丢失而不发生可见的转化现象。HOM-C 基因的异位表达也可引起同源异型转化现象^[5]。哺乳类 Hox 基因的功能主要是采用人为改变基因的表达来研究的。主要的方法可分为两类:一是“获得功能”(gain of function)的方法,即在所研究的基因前部加上一个很强的外源启动子来进行基因的超表达。另一种是“失去功能”(loss of function)的方法,即通过基因同源重组技术来抑制某一基因的表达。使用这两种方法都获得了一些有意义的结果^[11]。

但是,突变实验等最多只能说明一个基因对某一过程是必需的,要真正弄清同源异型框

基因的确切功能则依赖于对其靶基因的研究。同源异型框基因的靶基因可能具有重要的效应或识别功能,如参与细胞间通讯、细胞连接的形成,细胞运动、细胞分裂的调控等。同源异型框基因可以直接控制结构基因的表达,产生一定表型,也可通过下一级的调节基因逐步确定细胞的分化命运。一个同源异型框基因可以同时调节多个靶基因的表达,也可由多个同源异型框基因共同调控一个靶基因。目前研究较多的是果蝇 HOM-C 基因的靶基因。HOM-C 基因的靶基因包括其本身及其他同源异型框基因,如其自我调控和交互调节。果蝇的同源异型框基因 Distal-less (Dll) 对成体附肢、触角等远端区 (distal region) 的发育具有重要作用,幼虫的一些结构 (包括上颌的一部分刚毛) 的发育也需要 Dll 基因的作用。这个基因共有 7 个不同的增强子成分。在幼虫的肢原基中,分节基因 Wingless 的产物可间接通过 Dll 上游的一个增强子指导其表达,从而调节肢的发育;在腹部体节中, Bx-C 蛋白则可与这个增强子中的少数特异性位点结合而抑制其表达,在一定程度上抑制了肢的发生。在幼虫腹侧区上颌上皮中, Dfd 蛋白则通过 Dll 基因 3' 端的一个增强子调节其表达,从而调节刚毛的发育,但这可能需要辅助因子的作用^[22,23]。另一个研究清楚的 HOM-C 靶基因是 dpp 基因。在脏壁中胚层中, Ubx、abd-A 基因可特异性地控制其表达。dpp 基因编码一种分泌性的 TGF- β 样蛋白,这种蛋白在邻近的肠上皮中可诱导 HOM-C 基因 lab 的表达^[5]。 β_3 微管蛋白基因与果蝇中胚层的分化密切相关。Ubx 基因的突变会改变这个基因的表达模式,而 Ubx 的异位表达则可活化其增强子在整个脏壁中胚层中的表达,这表明 β_3 微管蛋白基因可能是 Ubx 基因直接或间接的靶基因之一^[24]。Gould 等利用染色质免疫纯化 (chromatin immunoprecipitation) 的方法分离出 HOM-C 基因的一个靶基因——connectin 基因。这个基因直接受到 HOM-C 基因的调控,它编码一种含有富含亮

氨酸的重复单位(leucine-rich repeat)的细胞表面分子,在神经-肌肉连接的形成中具有重要作用^[25]。在小鼠中,神经细胞粘连分子(N-CAM)基因可能受到 Hox 基因产物的调控^[26]。

以上主要介绍了 Antp 族同源异型框基因的一些研究进展,其他类型的同源异型框基因在动物早期发育中同样具有重要作用,这里不再介绍。同源异型框基因的发现使发育生物学在分子水平上前进了一大步,为我们最终揭示胚胎发育的基因调控机制提供了线索。同时,由于同源异型框在进化中的高度保守性,也为研究基因的进化和生物进化提供了很好的材料。这方面的研究对个体发育的遗传控制以及进化机理的研究将具有广泛而深远的影响。

摘 要

同源异型框基因广泛存在于真核生物中,编码一类转录调节蛋白。同源异型框基因在动物早期发育的基因调控中起着非常重要的作用。在动物胚胎发育过程中,同源异型框基因的表达具有复杂的时空模式和调控系统。Antp 族基因对于早期胚胎发育中的模式建成,器官分化等具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 薛志刚, 1993, 武汉大学学报, 6: 105—109.
- [2] Gehring, W. J., 1987, *Science*, 236: 1245—1252.
- [3] Scott, M. P., 1992, *Cell*, 71: 550—553.
- [4] Akam, M., 1989, *Cell*, 57: 347—349.
- [5] McGinnis, M. and Krumlauf, R., 1992, *Cell*, 68: 283—302.
- [6] Holland, P. W. H. et al., 1992, *Development*, 116: 653—661.
- [7] 孙乃恩等编著, 1990, 分子遗传学, 南京大学出版社, pp. 393.
- [8] Hayashi S. and Scott, M. P., 1990, *Cell*, 63: 883—894.
- [9] Struhl, G. et al., 1989, *Cell*, 57: 1259—1273.
- [10] Weir, M. P. and Kornberg, T., 1985, *Nature*, 318: 433—439.
- [11] Hunt, P. et al., 1991, *Development*, Suppl. 2: 63—77.
- [12] Nüsslein-Volhard, C., 1991, *Development*, Suppl. 1: 1—10.
- [13] Struhl, G. and White, R. A. H., 1985, *Cell*, 43: 507—519.
- [14] Moazed, D. and O'Farrel, D. H., 1992, *Development*, 116: 805—810.
- [15] Breen, T. R. and Harte, P. J., 1993, *Development*, 117: 119—134.
- [16] Simeon, A. et al., 1990, *Nature*, 346: 763—766.
- [17] Kessel, M., 1992, *Development*, 115: 487—501.
- [18] Colon, R. and Rossant, J., 1992, *Development*, 116: 357—368.
- [19] Cho, K. W. Y. et al., 1991, *Cell*, 67: 1111—1120.
- [20] Niehrs, C. et al., 1993, *Cell*, 72: 491—503.
- [21] Kessel, M. and Gruss, P., 1990, *Science*, 249: 374—379.
- [22] Vachon, G. et al., 1992, *Cell*, 71: 437—450.
- [23] O'Hara, E. et al., 1993, *Development*, 117: 847—856.
- [24] Hinz, U. et al., 1992, *Development*, 116: 543—554.
- [25] Gould, A. P. and White, R. A. H., 1992, *Development*, 116: 1163—1174.
- [26] Jones, F. S. et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89: 2086—2090.

简讯 西安申立超声粉碎机可变电能为高频振动,使物质粉碎,适用于生物学、医药学等部门作生物材料、细菌、药物颗粒等少量材料的粉碎和多种液体的乳化。特别适合实验室使用。

该机器经过西安唐都医院传染病实验室和西北大学化学系等单位两年多的使用,效果一直稳定,细菌破壁率可达80%。蛋白体活性可达1千多万个/ml。

需要者可与西安申立超声服务部联系(提供免费试用服务)。地址:西安市陕西师范大学招待所东北24楼210号,邮编:710062。联系人:丁四年。电话:(029)5243043。