

- 7: 857—866.
- [10] Lin, L.-F. H. et al., 1993, *Science*, 260: 1130—1132.
- [11] Henderson, C. F. et al., 1994, *Science*, 266: 1062—1064.
- [12] Gotz, R. et al., 1994, *Nature*, 372: 266—269.
- [13] Kolbeck, R. et al., 1994, *Eur. J. Biochem.*, 225(3): 995—1003.
- [14] Narhi, L. O. et al., 1993, *J. Bio. Chem.*, 268(18): 13306—17.
- [15] Arakawa, Y. et al., 1990, *J. Neurosci.*, 10(11): 3507—3515.
- [16] Saltiel, A. R. and Decker, S. J., 1994, *BioEssays*, 16(6): 405—411.
- [17] Stahl, N. et al., 1994, *Science*, 263: 92—95.
- [18] Philo, J. et al., 1994, *J. Bio. Chem.*, 269: 27840—27846.
- [19] Rabizadeh, S. et al., 1993, *Science*, 261: 345—348.
- [20] Snider, W. D., 1994, *Cell*, 77: 627—638.
- [21] Masu, Y. et al., 1993, *Nature*, 365: 27—32.
- [22] Ilag, L. L. et al., 1994, *J. Bio. Chem.*, 269: 19941—19946.
- [23] Martin-Iverson, M. T. et al., 1994, *J. Neurosci.*, 14(3 pt 1): 1262—1270.
- [24] Kim, H. G. et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 91: 12341—12345.
- [25] Stoop, R. and Poo, M. M., et al., 1995, *Science*, 267: 695—699.
- [26] Buchman, V. L. and Davies, A. M., 1993, *Development*, 118 (3): 989—1001.
- [27] Miranda, R. C. et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90 (14): 6439—6443.
- [28] Leingartner, A. et al., 1994, *J. Bio. Chem.*, 269: 828—830.
- [29] Crawford, C. L., 1995, *TIBS*, 18 (1): 15—16.

## 母型mRNAs及其功能

沈虹 李逸平 左嘉客

(中国科学院上海细胞生物学研究所 200031)

早期的胚胎发育是受母型基因调控 (Maternal regulation) 的, 有关的发育信息按母型 mRNAs 形式被早期胚胎继承下来, 并由这些 mRNAs 衍生的蛋白质调控发育过程, 直至合子型基因被活化, 过渡为合子型调控 (Zygotic regulation, Paternal regulation)<sup>[1]</sup>。所以母型信息的存在形式和功能, 母型 mRNAs 的翻译调控, 此类信息的定位分布, 以及由母型向合子型调控过渡机制等已成为早期胚胎发育研究中的关键问题之一。

母型信息或具调控卵母细胞发生的作用, 或具调控早期胚胎发育的功能, 或二者兼备。运用遗传学的分析方法, 可以判断其特定发育所需的信息是否必须源自母型, 或是否能由合子型基因表达所补偿。据估计, 在果蝇中约需 500—1000 个基因以确保实现卵母细胞发生,

而涉及卵球形成的专一基因不到 100 个<sup>[2]</sup>。这些信息可分成两类, 一类为维持正常代谢过程所需, 另一类参与早期胚胎特定发育事件的调控。

通过不同实验途径所获得的结果表明, 信息是以 mRNAs 或蛋白质形式存在, 但 mRNA 在卵中的丰度和定位与其相应翻译产物并不一定平行。此外, 有些信息只以 mRNA 形式存在于卵母细胞中, 为数不多却非常特殊, 受到人们的高度重视。例如, 海洋无脊椎动物的一些周期蛋白和核苷酸还原酶小亚基母型 mRNAs, 果蝇图式形成有关的 bicoid mRNA 等都属于此类, 它们于减数分裂或受精甚至卵裂后才被翻译。

总之, 在已经研究得较多的诸如线虫、果蝇、蛙以及小鼠等形形色色的动物早期胚胎中,

关键的发育事件总是依赖于这些被称之为“母型 mRNAs”的适时激活、表达、定位及消失。可以毫不夸张地认为,从卵母细胞生长到成熟,从受精之后到早期胚胎合子型基因激活等期间,母型 mRNAs 在发育调控中发挥着核心作用。因此,卵球和早期胚胎长期以来也被认为是研究翻译调控的好材料。

本文将就母型 mRNAs 及其在早期胚胎发育中的功能作一简单概述。

涉及早期胚胎发育的母型 mRNAs 功能的报道多为源自不同实验动物系统的分析结果,所采纳的母型 mRNAs 分析方法也不尽相同。例如,果蝇和线虫是以遗传学分析为主,利用诱变技术获得突变体研究诸如胚胎图式形成有关基因。突变体可区分为两类:一类为编码定位分布的 mRNAs 的基因突变体;另一类为一些对 mRNAs 定位分布起确保作用的基因突变体。然而,采用诱变技术筛选基因难免会造成一些基因被漏检。在两栖类、棘皮动物以及小鼠等动物中,更多的是利用建立在生化基础上的分析方法,诸如包括体外翻译、标记蛋白免疫沉淀法、原位杂交、Northern 分析法、核酸酶保护分析法和 PCR 等等。但是在海胆卵球和爪蟾卵母细胞中,相当量的母型 poly-(A)<sup>+</sup> RNA 是由一些单拷贝序列并间插一些重复序列所组成,它们不属于 mRNA,因此这里不予介绍。

近几年来,通过进化比较发现果蝇和小鼠同源异形基因群(Hox/HOM)的序列,基因组的组构以及表达模式具有显著的相似性。这种相似性不仅表现在不同动物基本图式形成基因的结构和功能方面,还包括一些由其他基因编码的非同源异形框转录因子、染色体蛋白、细胞骨架蛋白、细胞粘着分子、细胞信号以及信号转导系统和细胞周期调控系统中的某些组分。越来越多的证据表明:不论分类上或是形态上全异的动物,其大部分发育分子元件的结构和功能都显示高度保守性。虽然这些基因多属于合子型,但参与早期胚胎图式形成的基本

属于母型<sup>[6]</sup>。

## 一、母型 mRNAs 与胚胎发育图式形成

发育过程中细胞、组织和器官的空间排布机制被称为图式形成<sup>[4]</sup>,因此图式形成是胚胎细胞赖以形成空间上有序排列的分化组织的一种活动。早在胚胎合子型基因组表达之前已开始这方面的活动,无疑它是在母型 mRNAs 指导下进行的。

果蝇胚胎图式形成研究较为深入,已初步揭示了卵子发生及胚胎发生时期系列位置信号建立的机制,且发现有约 30 种基因专一地影响胚胎体轴的决定过程<sup>[5]</sup>,其中包括母型基因和受母型体系调控并领先表达的合子型靶基因,它们的突变均将导致胚胎发育异常。这些母型基因可区分为两类,一类影响胚胎前后图式的形成,另一类影响背腹图式形成。前一类基因按其影响的方位又被划分为前群(bicoid, hunchback, exuperantia, staufer, swallow 等基因),后群(oskar, vasa, nanos, caudal 等基因)和端群(torso, 1(1) polehole 等)基因。前群基因指导头部和胸部体节形成,后群基因决定腹部体节分化;端群基因与胚胎两端不具分节结构的形成有关。后一类基因(dorsal, Toll, easter, snake 等基因)涉及背腹图式形成,即一些细胞的分化,而不是重复体节的形成。尽管上述两类基因采纳了不同的生化机制调控前后图式或背腹图式的形成,但它们仍具备如下相似之处,即首先由某一母型基因产物定位分布,显示空间信号作用;然后经该空间信号作用使另具转录因子活性的母型基因产物按一定浓度梯度作不对称分布,由此限定某一或某些合子型靶基因的表达和分布。

现以 bicoid 基因为例,以揭示母型基因及其产物是如何参与调控果蝇胚胎前部体节形成的过程。早在卵的发生过程中,bicoid mRNA 由卵室的滋养细胞合成,经环管进入卵母细

胞,并作定位分布。待卵长足并产下之后才大量被翻译。于卵和胚胎中,不论是**bicoid mRNA**或是**bicoid**蛋白质,它们均按一定的浓度梯度分布,前极的浓度最高。这种梯度分布的实现得依赖于另外两种前群母型基因**exuperantia**和**swallow**。**bicoid**蛋白既是一种空间信号,又因含有同源异形框,聚集于卵裂后的核内,是一种能与DNA结合的转录因子,具激活合子型靶基因的作用。体节缺口基因**hunchback(hb)**就是其中的一个靶基因,它仅在**bicoid**蛋白浓度高于某特定阈值的区域内才被激活表达。**hb**有两个启动子,其一引导胚胎前部的合子型**hb**基因表达(在**bicoid**突变体中,该启动子就被缺口基因**kruppel**阻遏),另一则引导胚胎某些其他体节中母型和合子型**hb**基因的表达。人们推测,可能还存在其他靶基因,它们的启动子与**bicoid**蛋白亲和力各不相同,依据**bicoid**蛋白的浓度梯度而在一定区域内表达,诸如**btd**,**ems**和**otd**可能就属于此类靶基因<sup>[6]</sup>。

其他动物胚胎发育图式的分子机制所知不多,然而,母型**mRNA**或蛋白质仍决定着这些动物的胚胎发育图式形成。例如爪蟾中,背腹极性发生在第一次卵裂期,中胚层诱导发生在64细胞期等等,它们都发生在胚胎基因组转录启动之前<sup>[6]</sup>。

## 二、细胞粘着分子及细胞外基质

细胞与细胞和细胞与细胞外基质等之间的相互作用为发育过程中细胞聚集、迁移和分化所必需。

细胞粘着分子(**Cell adhesion molecules, CAMs**)是介导细胞与细胞接触并为形态发生所必需的一类质膜糖蛋白。在小鼠卵球中存在少量依赖钙的CAM(称作**E-cadherin**或**Uvomorulin**),这类CAM在卵母细胞发生期间是以母型**mRNA**为模板而合成的。合子型CAMs于2-细胞胚胎晚期开始合成<sup>[7]</sup>。

卵裂球和囊胚细胞之间的维系依赖于钙。

被分散的爪蟾囊胚细胞能在含钙的溶液中重新聚集。由于这种聚集不依赖**RNA**的新合成,但需要蛋白合成,表明它是处在母型**mRNA**调控之下。可是并不像所预期的那样,在爪蟾卵球中无法检测到抗原性与**Uvomorulin**相关的分子。显然,爪蟾囊胚细胞的重新聚集过程涉及一种不同于**Uvomorulin**的**Cadherin**样蛋白。**Uvomorulin**虽在爪蟾卵球中不表达,但于原肠形成期能检测到<sup>[8]</sup>,这也就更证实直到囊胚期之前细胞间粘合是由母型**mRNA**调控的。

纤连蛋白(**fibronectin**)是一种细胞外基质蛋白,在原肠形成期间具促进多种细胞迁移和粘着的作用。在爪蟾和蝶螈的卵球中就可检测到少量纤连蛋白;卵裂期间的合成速率很低;囊胚期开始增加,于囊胚晚期,纤连蛋白呈现聚集现象。囊胚中的纤连蛋白合成并不依赖于转录活动,似乎是利用贮存的母型**mRNAs**。这些母型**mRNAs**的翻译于卵裂期呈不活动状态之中。

此外,在哺乳类的早期胚胎(包括卵球)中,具有一些与细胞迁移和着床等现象相伴随并具改造细胞外基质功能的蛋白酶,如胶原酶,**stromelysin**,以及这些金属蛋白酶的抑制因子(**Tissue Inhibitor of Metalloproteinases, TIMP**)<sup>[9]</sup>。这些蛋白酶越来越受到人们的关注。

## 三、细胞骨架

细胞的形态与运动依赖于细胞骨架。细胞骨架主要包括微丝、微管和中间纤维等,均由蛋白丝组成,如微丝由肌动蛋白组成,微管由微管蛋白组成。

### 1. 微管蛋白(Microtubulin)

由微管蛋白组成的微管是有丝分裂纺锤体的关键结构,同时又决定着细胞的形状。在海胆卵球中早就存在较大的微管蛋白库,含大小不同的多种 $\alpha$ -微管蛋白和三种 $\beta$ -微管蛋白转录本,但大部分的 $\alpha$ -微管蛋白**mRNAs**和所有

$\beta$ -微管蛋白 mRNAs 未被动员到多核糖体上,受精之后才有部分的 mRNAs 开始被调动到多核糖体上。这些  $\alpha$ -微管蛋白的 mRNA 含量较稳定,并一直保持到囊胚期;到了囊胚晚期(出现中胚层间叶的囊胚)大幅度减少<sup>[10,11]</sup>。可是,  $\beta$ 1-微管蛋白基因早期不表达,于原肠形成期开始表达。

爪蟾的微管在图式形式中可能起关键作用,早胚的背腹轴是通过受精后卵细胞质对皮质层作相对旋转运动而被确定的。该旋转运动得依赖微管。迄今尚不清楚母型 mRNAs 的定位分布是否也受此旋转运动的影响。其  $\alpha$ -微管蛋白 mRNAs 于卵发生早期的卵母细胞中被大量表达,在进一步的卵发生进程中表达量突然下降,受精后更是如此。在爪蟾神经系统中发现的一种  $\beta$ -微管蛋白 mRNA,于卵球中未被检测到。

在小鼠卵母细胞和早胚中,微管蛋白的合成量很高。长足卵母细胞内微管蛋白 mRNAs 被大量多聚腺苷酸化,成熟过程中被去腺苷酸化并降解,如同其他母型 mRNAs<sup>[12]</sup>。小鼠母系  $\alpha$ -微管蛋白 mRNAs 如同海胆,也是由多种大小类别不同的转录本组成。

## 2. 肌动蛋白(Actin)

在海胆的胚胎中能检测到一种肌肉肌动蛋白和五种细胞骨架肌动蛋白,但在卵球和早胚中,不存在肌肉肌动蛋白转录本,待到长腕幼虫期才开始出现。在五种细胞骨架肌动蛋白中,只有 Cy I 和 Cy IIIa 转录本在卵球中呈现,含量不高。虽然海胆卵球不具备大量肌动蛋白 mRNAs,却贮藏着源自卵发生期间合成的大量性能稳定的肌动蛋白。在成体组织中 Cy I mRNA 也极丰富,而 Cy IIIa mRNA 的表达只限于早胚发育阶段。谷子型 Cy I 和 Cy IIIa 基因于 64-128 细胞期胚胎的反口区外胚层细胞谱系中活化表达<sup>[13]</sup>。注入卵球中的 Cy IIIa 基因 5' 调控区能按正确的时间和空间调节其所携带的报告基因表达。在中期的卵裂胚中发现多种结合 Cy IIIa DNA 的蛋白质,而另一些

结合 Cy IIIa DNA 的蛋白质于稍晚的胚胎中发现,在卵球中只发现一种结合 Cy IIa DNA 的蛋白质。这些蛋白质可能是一些转录活动的阻遏因子,或是一些活化因子,等待次级修饰或活化辅助因子的合成<sup>[14]</sup>。

爪蟾如同海胆,卵球内贮藏着大量卵发生期间合成的细胞骨架肌动蛋白。体外实验证明,卵母细胞成熟过程中肌动蛋白的合成大部分终止,但可翻译的细胞骨架肌动蛋白 mRNA 并未减少,由此推测涉及一种转录后调控机制<sup>[15]</sup>。在卵母细胞中,两种细胞骨架肌动蛋白转录本的含量均甚微,而于原肠形成之后增加。

在小鼠长足卵母细胞中,细胞骨架  $\beta$ -和  $\alpha$ -肌动蛋白 mRNAs 聚腺苷酸化,并被翻译,成熟期间去腺苷酸化,2-细胞晚期降解。自 4-细胞到 8-细胞期开始,肌动蛋白重新集聚。这些动力学变化非常类似于小鼠其他母型 mRNAs。

## 3. 中间丝蛋白(Intermediate Filament Proteins)

细胞骨架中间丝蛋白是一类相关蛋白,包括细胞角质蛋白(Cytokeratins),波形蛋白(Vimentin),结蛋白(Desmin)和神经丝蛋白(Neurofilament proteins)等。

在爪蟾卵母细胞中,具备确定的抗原性的角质蛋白有三种,其中两种为酸性(I型),一种为碱性(II型)。这些抗原不存在于早期的卵母细胞中,却出现于卵球内。母型 II 型细胞角质蛋白 mRNA 为一种非表皮型细胞角质蛋白,它进一步在神经胚中集聚,且在成体肝脏中表达<sup>[16]</sup>。上述两种母系 I 型细胞角质蛋白之一为 endo-B,是一种脊索专一的非表皮 I 型细胞角质蛋白,其 mRNA 于原肠形成的胚胎中大量集聚,但其母型转录本并未定位<sup>[17]</sup>。不少细胞角质蛋白基因只在或大量地在原肠形成后的爪蟾胚胎中表达。在卵成熟期间,细胞角质蛋白断裂。这种断裂不同于核膜破裂,它得依赖于 MPF 处理后的母型 mRNA 翻译活动。

Vimentin 是否存在于爪蟾卵母细胞和卵球

中尚有争议。至少有两种 Vimentin 样基因的 mRNAs 只在早期神经胚中出现。Desmin 一般存在于生肌细胞中,其蛋白和 mRNA 只在神经胚期的胚胎中被表达。最近自爪蟾中克隆到一种神经丝蛋白,不属母型表达产物,于神经形成之后的胚胎中出现<sup>[18]</sup>。

#### 4. 核纤层蛋白(Lamins)

核纤层(Lamina)为衬在核膜内层的蛋白结构,由一种或多种相关蛋白(称作核纤层蛋白)组成,结构上从属细胞质中间丝蛋白大家族。在分裂前期核膜破裂之时,核纤层蛋白高度磷酸化,而在分裂末期核膜重组时,则去磷酸化。

哺乳类动物细胞中有三种核纤层蛋白,中性的 A 型和 C 型核纤层蛋白,以及酸性的 B 型核纤层蛋白。小鼠卵球具表达所有上述三种核纤层蛋白的能力,然它们的命运在受精之后却不同。卵裂细胞中出现 B 型核纤层蛋白的合成活动,并成为囊胚中的主要核纤层蛋白。

爪蟾具五种核纤层蛋白,即四种中性 A/C 型(L<sub>II</sub>, L<sub>III</sub>, L<sub>IV</sub> 和 L<sub>A</sub>),一种酸性 B 型(L<sub>I</sub>)。其中三种于早胚中表达:卵母细胞合成 L<sub>III</sub>,囊胚之后开始合成 L<sub>I</sub> 和 L<sub>II</sub>,L<sub>I</sub> 的出现早于 L<sub>III</sub>。可溶性的母系 L<sub>III</sub> 核纤层蛋白库被用于卵裂期间核膜重组。囊胚期 L<sub>I</sub> 和 L<sub>III</sub> 的合成并不依赖于转录活动,而是依赖于母型转录本的翻译。在卵球中早已存在 L<sub>I</sub> 转录本,但处于沉默状态。L<sub>III</sub> mRNA 于卵发生早期出现,原肠胚期降解<sup>[19,20]</sup>。

### 四、染色体蛋白质及其他核蛋白质

巨大的卵球并未继承过量的核 DNA,但贮存着大量染色体蛋白以及其他核组分。其中被研究得最为透彻的是组蛋白,包括四种核小体组蛋白(H 2 A, H 2 B, H 3 和 H 4),以及可能具有调控基因表达作用的一些 H 1 亚型组蛋白。在海胆胚胎发育期间,发生成套组蛋白基因更替的现象,这种更替现象于爪蟾和

果蝇等生物中并未发现。

在海胆早期胚胎中,由源自母系的组蛋白和组蛋白 mRNAs 支撑染色质的形成。到了 16-细胞期,这些组蛋白停止合成,开始出现一套独特的  $\alpha$ -组蛋白,包括 H 1, H 2 a 和 H 2 b<sup>[21]</sup>。到了囊胚期, $\alpha$ -组蛋白合成率下降,另一些晚期组蛋白 mRNAs 成为主要形式的组蛋白 mRNAs<sup>[22]</sup>。早胚母系组蛋白 mRNAs 似被扣押在原核中,于第一次卵裂、核膜破裂时被释放,随即就被转移到多聚核糖体上。

卵母细胞发生早期的爪蟾卵中已集聚上述所有四种核小体组蛋白。卵球具有表达三种组蛋白 H 1 的能力,但无证据表明在爪蟾胚胎发生早期是否出现类似于海胆中组蛋白亚型的更变现象。尽管整个卵发生期间组蛋白 H 1 的合成速率类似于核小体组蛋白的水平,但其集聚量达不到核小体蛋白水平。在卵成熟过程中,核小体组蛋白的合成速率提高 20 倍,而此时卵总蛋白合成速率只增加 2 倍。值得注意的是,卵球中 H 1 mRNA 的含量近似于核小体组蛋白 mRNA,组蛋白 H 1 的合成速率却远远低于核小体组蛋白,直到晚卵裂期,组蛋白 H 1 的合成率才增加。到了囊胚晚期,组蛋白 H 1 的合成速率与核小体组蛋白的相当。利用雄核发育的单倍体进行分析,发现组蛋白 H 1 合成速率的增加依赖于母系 mRNAs<sup>[23]</sup>,这些转录本的翻译一直被阻遏,直到囊胚期。应指出的是,这些母系 mRNAs 不像海胆早胚母型 mRNAs,它们并未被扣押在核内。

### 五、细胞信号和信号转导系统

多细胞生物的发育依赖信号诱导,通过特定的信号转导系统决定或改变一些细胞的命运。细胞信号常常以可溶性多肽或细胞表面多肽形式存在。近年来发现不少由母型基因编码的多肽(包括一些生长因子和癌基因的编码产物)参与信号和信号转导系统的组成,在胚胎发育中具有重要作用。

在小鼠卵球中存在 PDGF-A 和 TGF- $\alpha$  的

转录本,受精后又出现 TGF- $\beta$  1 转录本<sup>[24]</sup>。如同其他母型 mRNA,这些转录本于 2-细胞期小鼠早胚中被降解,于囊胚期复现并聚集。应指出的是,小鼠卵母细胞和卵球中还含一种 TGF- $\beta$  相关蛋白(称作 Vgr-1)的转录本,在卵成熟过程中被部分降解,受精后进一步降解,着床后又恢复积累,功能尚不清,但在发育中的皮肤内特别丰富<sup>[25,26]</sup>。另一方面,在小鼠早胚中尚未发现有 EGF, bFGF, NGF- $\beta$  和 GCSF 等之类生长因子。

爪蟾长足卵母细胞中存在 TGF- $\beta$  相关蛋白 Vg1 的 mRNA,属极少数被定位分布的 mRNA 中的一种,它定位于植物极的皮质层<sup>[27]</sup>。Vg1 蛋白为糖蛋白,被视作中胚层的天然诱导物,到原肠胚时才开始合成,且仍定位分布于被认为诱导信号发源地的胚胎植物极。FGF mRNA 也存在于爪蟾卵母细胞中,成熟期间降解,早胚中消失,至中囊胚期才复现<sup>[28]</sup>。根据生长因子生物活性和免疫活性的测定,证实爪蟾卵球和早胚中含 bFGF 样蛋白。用生化方法检测,证实囊胚中含 FGF 受体<sup>[29]</sup>。此外,爪蟾卵母细胞、卵球和卵裂球中亦存在 PDGF-A mRNA,囊胚期降解,原肠胚中复现<sup>[30]</sup>。

癌基因往往编码一些同源于信号转导有关的分子或蛋白激酶分子(如 Src, ras, fms, erb-A, erb-B, mos 和 raf),或编码一些同源 DNA 结合蛋白/转录因子的分子(如 myc, fos 和 jun)。不少癌基因早在生殖细胞系中就表达,其中 mos(一种 Ser/Thr 蛋白激酶)的表达似乎仅被限定在生殖细胞中。

mos 转录本于小鼠早期卵母细胞中已开始集聚,成熟过程中部分降解,2-细胞期消失。mos 蛋白并不存在于生长中的卵母细胞内,待长足后才出现,排出后的卵球中仍有保留。在原肠胚前未曾发现 myc(一种 DNA 结合蛋白)家族基因表达产物,在日龄不到 10 天的鼠胚胎中未检测到 ras 家族基因表达产物,但于日龄 9 天的胚胎中却显示 fms(CSF-1 的受体)表达,14 天显示 c-jun(转录因子 AP-1 的

同系物)表达。

爪蟾卵母细胞 mos 基因产物以母型 mRNA 形式贮存着,但未定位,成熟过程中被聚腺苷酸化和翻译,受精后蛋白迅速降解,往后的胚胎发生过程中不再被表达,而 mos mRNAs 于原肠胚期大量降解<sup>[31]</sup>。此外在卵发生期间,卵母细胞富集 c-myc mRNA。已知有两种 c-myc 基因表达:其一的 mRNAs 于囊胚期大量被降解,神经胚形成期重新集聚,中胚层内优先表达;其二仅在卵母细胞中表达,且有翻译产物,富集于卵核<sup>[32]</sup>。对于 c-myc 在发育中的具体作用尚无答案。此外在胰岛素诱导成熟过程中,卵内显示 ras 抗原,且在成熟过程中起作用。ras 导致卵成熟的过程中可能涉及 GPTase 活化蛋白(GAP)的活化<sup>[33]</sup>。

## 六、有丝分裂周期“驱动器”

有丝分裂周期“驱动器”由两部分元件组成,即 p 34 和周期蛋白(Cyclin)。p 34 为催化亚单位,而周期蛋白可视为调节亚单位。在卵成熟过程及受精后的早期系列有丝分裂周期中,p 34 蛋白的含量相对稳定。p 34 激酶活性的周期性变化纯属翻译后修饰的结果,其活化涉及 Thr-14 和 Thr-15 的去磷酸化,以及 Thr-161 的磷酸化。

周期蛋白或是以 mRNA 或是以 mRNA 和蛋白质的形式贮存在卵母细胞中。在蛤蜊的卵母细胞内,周期蛋白 A 是按 mRNA 形式存在<sup>[34]</sup>,而周期蛋白 B 以蛋白质形式储备着<sup>[35]</sup>。在成熟的过程中,周期蛋白 B 的功能发生“去掩盖”,并作为“驱动器”的一个组份促进减数分裂。

爪蟾如同蛤蜊,卵母细胞内也贮存大量蛋白形式的周期蛋白 B2,而周期蛋白 A 和 B1 则以 mRNA 形式存在。一定量周期蛋白 B 的合成并与 p34 结合是“驱动器”活化的必要条件之一,由此导致卵母细胞恢复减数分裂,又当染色体排列在赤道板之后,“驱动器”激活周期蛋白的降解系统,通过泛蛋白介导的蛋白酶系实现

周期蛋白降解, p34 激酶随即失活, 使细胞进入下一轮有丝分裂周期。经由上述“驱动器”周而复始地活化和失活, 实现中囊胚期前由母型调控的系列有丝分裂周期。

除上述的, 还存在一些于早期胚胎发育中担负各式各样功能的其他母型 mRNAs 和蛋白质, 如热休克蛋白等等, 限于篇幅, 这里不作赘述。

### 参 考 文 献

- [1] Telford, N. A. et al., 1990, *Mol. Reprod. Dev.*, 26: 90—100.
- [2] Perrimon, N. et al., 1986, *Genetics*, 113: 695—712.
- [3] McGinnis, W. & Krumlauf, R., 1992, *Cell*, 68: 283—302.
- [4] Jurgens, G. et al., 1991, *Development*, supplement, 1: 27—38.
- [5] Nusslein-Volhard, C., 1991, *Development*, supplement, 1: 1—10.
- [6] Jones, E. A. et al., 1987, *Development*, 101: 557—563.
- [7] Vestweber, D. et al., 1987, *Dev. Biol.*, 86: 303—314.
- [8] Choi, Y-S. & Gumbiner, B., 1989, *J. Cell Biol.*, 108: 2449—2458.
- [9] Brenner, C. A. et al., 1989, *Genes Dev.*, 3: 848—859.
- [10] Alexandraki, D. et al., 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 82: 134—138.
- [11] Alexandraki, D. et al., 1985, *Dev. Biol.*, 109: 436—451.
- [12] Paynton, B. V. et al., 1988, *Dev. Biol.*, 129: 304—314.
- [13] Hickey, R. J. et al., 1987, *Dev. Biol.*, 124: 215—227.
- [14] Calzone, F. J. et al., 1988, *Genes Dev.*, 2: 1074—1088.
- [15] Ballantine, J. E. M. et al., 1979, *J. embryol Exp. Morphol.*, 51: 137—153.
- [16] Franz, J. K. et al., 1986, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 83: 6457—6479.
- [17] LaFlamme, S. E. et al., 1988, *Genes Dev.*, 2: 853—856.
- [18] Sharpe, C. R. 1988, *Dev. Biol.*, 129: 253—264.
- [19] Stick, R. & Hausen, P., 1985, *Cell*, 41: 191—200.
- [20] Stick, R., 1988, *EMBO J.*, 7: 3181—3197.
- [21] Mohun, T. et al., 1985, *Dev. Biol.*, 108: 491—502.
- [22] Davidson, E. H., 1986, In “Gene Activity in Early Development”, New York: Academic Press.
- [23] Woodland, H. R. et al., 1979, *Cell*, 18: 165—171.
- [24] Rappolee, D. A. et al., 1988, *Science*, 241: 1823—1826.
- [25] Lyons, k. et al., 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 86: 4554—4558.
- [26] Lyons, k. et al., 1989, *Genes Dev.*, 3: 1657—1668.
- [27] Weeks, D. L. et al., 1987, *Cell*, 51: 861—867.
- [28] Kimelman, D. et al., 1988, *Science*, 242: 1053—1056.
- [29] Gillespie, L. L. et al., 1989, *Development*, 106: 203—208.
- [30] Mercola, M. et al., 1988, *Science*, 241: 1223—1225.
- [31] Sagata, N. et al., 1989, *Nature*, 342: 512—518.
- [32] Vriza, S. et al., 1989, *EMBO J.*, 8: 4091—4097.
- [33] Baltus, E. et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 85: 502—506.
- [34] Swenson, K. I. et al., 1986, *Cell*, 47: 861—870.
- [35] Westendorf, J. M. et al., 1989, *J. Cell Biol.*, 108: 1431—1444.

### 《细胞生物学杂志》收取送审费和发表费的实施办法

1. 凡投寄本刊的稿件, 每篇收取送审费 50 元, 以支付该稿的审稿费、邮寄费等。无论文章发表与否, 该款不再退还。
2. 根据中科院出版图书情报委员会 (92) 出字 33 号文件精神, 本刊发表费自 1996 年第 2 期起调整为每版面 100 元 (包括随文图表, 参考文献等); 插页铜版纸图版每版 150 元 (包括图版说明)。其他简讯等酌情收费。
3. 发表费通知单在寄作者校样时一并附上。
4. 送审费请连同稿件寄交上海岳阳路 320 号中科院上海细胞所《细胞生物学杂志》编辑部收 (邮政编码 200031)。
5. 发表费请汇至中国科学院上海细胞生物学研究所 (帐号: 2210—08808327, 工商银行徐汇区办事处)。

《细胞生物学杂志》编辑部

1996 年 3 月

### 中国细胞生物学学会第六届学术大会纪要

1995年11月23日至26日,中国细胞生物学学会第六届学术大会在安徽省黄山市花溪饭店召开。来自全国18个省市的161位代表出席了大会。许智宏、翟中和、薛绍白、宋今丹、裴钢、桂建芳、陈建国等七位同志分别就植物发育、细胞骨架、钙调素、内质网、受体、激酶、神经细胞骨架等领域动态在会上作了综述报告,另外大会还安排了14场分组报告会。23日上午大会开幕式由翟中和副理事长主持,黄山市委副书记、副市长讲话,王亚辉教授的报告回顾了学会十五年的历史,徐永华教授向与会代表报告了学会近三年的工作,左嘉客教授向学会第三届青年论文奖获奖者颁奖,李文安教授报告了第六届理事会选举结果。会议期间,召开了六届一次理事会。本届理事会任期四年,共有64位理事,经讨论由姚鑫任理事长,许智宏、翟中和、薛绍白、郝水、贾敬芬、郭礼和任副理事长,徐永华任秘书长,周郑、甘荣兴任副秘书长,周柔丽、丰美福(北京)、陈瑞阳(天津)、宋今丹(辽宁)、白永延、朱治平、黄祥辉、汤雪明(上海)、黄立(江苏)、毛树坚(浙江)、刘兢(安徽)、洪水根(福建)、韩贻仁(山东)、李靖炎(云南,会后由云南学会上报)、杨弘远(湖北)、杨抚华、王忠喜(四川)、张小云、陈尊器(广东)任常务理事,章静波、陈楚楚、庄临之、孙敬三、杨世杰、章扬培、孙方臻、吴旻(北京)、张金忠(天津)、孙大业(河北)、黄百渠(吉林)、叶敏、薛京伦、史臻、傅继梁、何玉科(上海)、徐在宽(江苏)、陈宜峰(江苏,95年12月11日病故)、楼定安(浙江)、黄宗平(福建)、张士耀(山东)、牛富文(河南)、朱作言(湖北)、周青山(湖南)、李宝健(广东)、马庆生(广西)、张义正、李鸿雁、任正隆、余懋群(四川)、李德俊(遵义)、曾瑞光(云南)、袁仕取(陕西)、王子仁(甘肃)、李仁敬(新疆)为理事。会议决定《实验生物学报》、《细胞生物学杂志》主编仍分别由王亚辉、左嘉客续任,王亚辉教授任细胞生物学名词审定委员会主任委员,还确定了各专业委员会新的主任委员。会议确定我协会会员会费收取标准为高级职称的会员每人每年10元,其他会员每人每年5元。会议还就北京申办2000年第七届国际细胞生物学大会的可行性、96年在福州举办海峡两岸细胞生物学会议等事项进行了讨论。1999年我会第七届学术大会已有湖南长沙、广东深圳、山东威海三个城市提出申办,理事会请有关同志准备材料,在下次理事会议上决定。11月26日晚,大会顺利闭幕。(曹振民)

## 研究工作

### 人肺癌基因组 DNA 对 NIH/3T3 细胞的转化作用\*

刘祥麟 马洁羽 孔颂阳 朱家光 李 英

(浙江医科大学肿瘤基因组 杭州 310006)

周筱梅 茅幼霞 钱莲芳 张予廉 顾健人

(上海肿瘤研究所生化与分子生物学室 上海 210032)

应用小鼠成纤维细胞(NIH/3T3)作受体进行DNA转染,用于鉴定某些人体原发性实体瘤中的转化癌基因,已被大家所公认<sup>[1-3]</sup>。来源于上皮的恶性肿瘤,其转化基因多数为ras癌基因家族成员<sup>[4,5]</sup>。现有的研究报告大多限于对传代肺癌细胞株转化基因的探讨<sup>[6-8]</sup>,尚少关于人体肺癌转化基因的报道。

本文从人体非小细胞肺癌(Non small cell lung cancer NSCLC)临床手术标本(均来自嗜烟患者)提取细胞基因组DNA,用以转染NIH/3T3细胞,经两轮转染后接种在裸鼠中形成肿瘤,分离该肿瘤细胞体外培养传代存活。

应用已知人体特有的Alu重复序列DNA和癌基因ras家族DNA探针对两轮转染细胞

和裸鼠肿瘤细胞DNA作分子杂交检测,证实所获得的转化细胞DNA中含有来自人体的Ha-ras癌基因。

## 材 料 和 方 法

### 1. 材料及试剂

NIH/3T3细胞株由上海肿瘤研究所顾健人教授惠赠。人体肺癌(NSCLC)手术标本由浙江省人民医院及浙江医科大学附属二院提供。裸鼠(BALB/c)由上海肿瘤研究所动物室提供。限制性内切酶BamHI及EcoRI购自美国Bio Lab公司。癌基因Ha-ras、Ki-

\* 浙江省自然科学基金、省卫生厅资助项目。

浙江医科大学郭培蓉、王吉娜、陈卫星医师和来茂德教授参加了部分工作,特此致谢。