

果蝇生殖细胞的性别决定

俞 慧 赵德标

(中国科学院上海细胞生物学研究所 200031)

体细胞将随着个体生命的结束而消亡,生殖细胞却随着物种的繁衍而永生,所以,了解生殖细胞的性别决定有着更深刻的意义。但目前对果蝇生殖细胞性别决定机制的认识还远不如体细胞的那么清晰,就已获得的资料看,两者是迥然不同的。与体细胞相比,生殖细胞的性别分化机制要更为复杂一些^[1]。

首先,体细胞的性别决定是细胞自主的,而生殖细胞不但有其自身的特性还有赖于体细胞诱导信号^[2]。来自雌性胚胎的XX生殖细胞在无配子的雄性XY寄主内发育时,大部分XX细胞成为精子发生,也有一些细胞退化了,另一些则长得很小且无分化迹象,进入卵发生的细胞却从未发现,说明XX生殖细胞的性别分化对寄主生殖腺内体细胞的性别有依赖性,是由体细胞来源的诱导信号决定进入哪一条性别途径。而XY生殖细胞拥有自身的雄性发育信息,它在XX寄主的雌性环境内发育时,却显示了精子发生细胞的某些典型特征。因此有两个平行的系统来决定果蝇生殖细胞的性别:诱导信号让XX生殖细胞进入卵发生或精子发生,而自主信号使XY生殖细胞雄性化。

其次,体细胞和生殖细胞的自主信号也不一样。生殖细胞中的tra、tra-2、dsx和ix基因对其自身的性别决定不起作用,缺乏这些基因功能的XX和XY生殖细胞在适当的寄主内仍可保持正常的性别分化^[3,4]。Sxl及参与维持其活性的基因snf、fl(2)d和vir在生殖细胞中虽都有作用,但生殖细胞中Sxl的表达要晚于体细胞,且在体细胞中起作用的早期启动子与用于激活生殖细胞Sxl的启动子完全不同^[5],体

细胞中形成X:A信号的分子、分母因素和相关的母性效应基因对生殖细胞的性别决定也没有影响^[6]。可见,生殖细胞对XX和XY的自动区分有其特有的染色体计数信号,至于这一未知的生殖细胞自主的X:A信号是否调控Sxl尚属未知。

近期的一些研究表明,体细胞诱导信号对生殖细胞的性别决定有重要影响。

一、诱导信号与早期性别二态性的形成

在一龄幼虫晚期,生殖细胞已有了一定的性别区分,那么这种区分是属生殖细胞自身的特性呢,还是诱导信号作用的结果?

缺乏tra功能的XX果蝇是不育的雄性,称为假雄,它们的体细胞是雄性的,但生殖细胞仍保持了正常性别发育的潜能,能在雌性寄主体内形成有功能的卵。在一龄幼虫期的突变体内可看到形态和体积都很象雄性的生殖腺,其中生殖细胞的分化也显示雄性化特征。而XX生殖细胞在表达tra功能的XY假雌寄主体内是呈卵发生特征的。说明体细胞的tra功能对生殖细胞的性别分化有影响,能够指导XX生殖细胞进入卵发生,而且在一龄幼虫期,受tra控制的诱导作用已经存在了。

另外,dsx突变的XX个体幼虫的生殖腺因缺乏DSX蛋白,既不显示典型的雌性特征,也不是典型的雄性。显然,体细胞的DSX^F为XX生殖细胞的雌性化所需。

当缺乏dsx功能时,诱导信号为低水平的组成型表达,而野生型个体生殖细胞的正常发

育需要性别专一的 *dsx* 产物进一步地激活或抑制相应的基因来形成一个清晰的雄性或雌性诱导信号,这就有赖于正常的体细胞 *tra* 和 *dsx* 功能的存在。显然,一龄幼虫期雌性生殖细胞性别的正常分化需要 *tra* 和 *dsx* 控制的体细胞诱导信号的作用^[7]。

值得一提的是 XY 生殖细胞对诱导信号也有反应。缺乏 *dsx* 的功能,XY 生殖细胞可以显示精子发生的特性,也可以不分化,虽无卵发生细胞出现,但最终也没有精子形成。所以,确实需要一个雄性化诱导信号的存在,这并不是决定 XY 生殖细胞进入雄性途径,而是确立和维持精子发生^[7]。

令人感兴趣的是,无 *tra* 功能的 XX 假雄成虫的精巢中既有精子发生的细胞,也有卵发生或未分化的细胞,表明 XX 生殖细胞并不绝对地需要体细胞的 *tra* 功能进入卵发生。可是位于 XY 寄主体内的 XX 生殖细胞却从未进入卵发生,显然 XY 雄性体细胞的诱导功能有别于 XX 假雄的体细胞,而且这种差别源于 *tra* 上游的不同^[7,8]。提示 XX 个体体细胞的染色体比例还通过一个绕过 *tra* 和 *dsx* 的分支途径间接地促进 XX 生殖细胞的发育。这在体细胞信号对 *Sxl* 的活性影响中也有体现。

二、体细胞信号对 *Sxl* 的活性调控

与体细胞中的情形相似,在生殖细胞中 *Sxl* 也是被性别专一地剪接,且有功能的蛋白仅来自于雌性剪接产物^[5]。*tra*、*tra-2* 或 *dsx* 突变的 XX 假雄的体细胞内显示的是雌性 *SXL* 蛋白,但在其精巢中可看到雄性的 *Sxl* RNA,不过在一些生殖细胞束内也存在能翻译成功能蛋白的雌性 RNA,这与在有些假雄中也可见卵发生细胞的结果相一致。由此表明两点:(1) 体细胞来源的 *tra*、*tra-2* 和 *dsx* 影响了生殖细胞中 *Sxl* 的选择性剪接;(2) 有一条分支途径也调节着 *Sxl* 的活性,又因在 XY 雄性寄主内发育的 XX 生殖细胞从不进入雌性途径,而 *Sxl*

组成型的 *Sxl*^{M1} 突变可使这些 XX 生殖细胞部分地在精巢内成为卵发生的现象^[2],提示这一分支途径也来自体细胞诱导信号,从而进一步说明来自体细胞 X:A 比例的分支诱导途径确实参与了生殖细胞内 *Sxl* 的活性剪接。

显然,*Sxl* 是体细胞诱导基因的靶目标之一,那么,由 *tra* 和 *dsx* 控制的早期诱导信号是否就是通过 *Sxl* 而起作用呢? 运用 *snf* 纯合突变体的研究发现:*snf* 突变体的卵巢内充满如雄性的多细胞囊胚,*Sxl* mRNA 前体均是以雄性方式剪接,抗 *SXL* 抗体的检测显示极少或没有 *SXL* 蛋白存在。既然 *snf* 突变雌性的成虫生殖细胞缺少 *SXL* 蛋白,那么同一基因型的幼虫生殖细胞也同样不存在有功能的 *SXL* 蛋白,但在整个幼虫阶段,其生殖腺均显示雌性化特征,表明 *Sxl* 并不控制幼虫期的性别分化^[8]。因此,早期诱导信号不是通过 *Sxl* 来指导一龄幼虫期的性别分化的,*Sxl* 是为以后的卵发生所需。推测它是晚期诱导信号的靶目标,或者虽受到早期调控,但其产物仅在生殖细胞的晚期发生中参与卵细胞分化的调控。

三、生殖细胞来源的、影响生殖细胞 *Sxl* 活性调控的其他基因

除已提到的 *snf*、*fl(2)d*、*vir* 和 *Sxl* 自身外,两个卵巢肿瘤基因 *ovo* 和 *ovarian tumor(otu)* 也参与了此过程。*ovo* 或 *otu* 纯合强突变的雌性成蝇没有生殖细胞,弱突变则引起卵巢肿瘤:使卵巢中充满类似于早期精原细胞的未分化生殖细胞。PCR 实验显示 *ovo* 或 *otu* 突变的雌性卵巢内为雄性 *Sxl* 剪接产物,且很少或没有 *SXL* 蛋白。*otu* 弱突变雌性的卵巢中还可检测到雄性精子发生细胞专一表达的标记性产物^[5,9,10]。可见,*ovo* 和 *otu* 在 *Sxl* 上游调控 *Sxl* 的表达。

一个为多个途径所需的基因 *fuse(fu)* 突变时,*Sxl* 也呈雄性的剪接方式。*fu* 是丝氨酸/苏

氨酸蛋白激酶基因家族的成员,由于从未观察到 SXL 蛋白的磷酸化形式, SXL 不可能是 FU 磷酸化作用的直接承受者。因此, FU 的功能可能与信号转导有关。因 ovo 基因属锌指蛋白转录因子家族,推测 ovo 蛋白可能是一个 FU 激酶依赖的转录调控因子^[5,9]。

生殖细胞的 Sxl 在从极细胞迁移到三龄幼虫早期这段时间内被激活,这一机制除受控于体细胞诱导信号外,可能还有生殖细胞自主的染色体比例信号的参与。ovo 和 otu 均位于 X 染色体上,也许就与生殖细胞的 X:A 计数系统有关。

四、生殖细胞性别决定的等级体系

snf 突变的 XX 生殖细胞在幼虫期为雌性分化,变态后则转向形成类似于雄性的细胞;而缺乏 tra 功能但带有组成型 Sxl^{M1} 突变的个体幼虫的生殖腺呈雄性特征,无关 Sxl 的组成型表达,但变态以后,许多未分化的生殖细胞就开始转为卵发生。可见,生殖细胞的性别决定发生在两个不同的时期:胚胎或幼虫期和变态期^[8]。

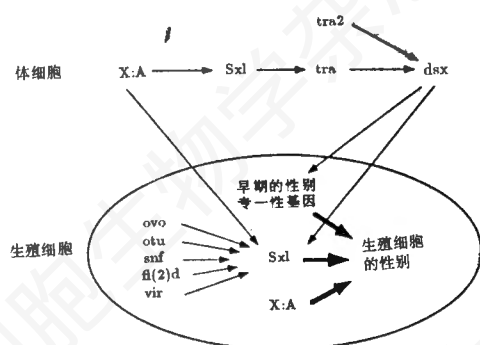


图 生殖细胞的性别决定模型
(引自参考文献[8])

在生殖细胞内(椭圆形圈),一个自主的 X:A 信号和早期性别专一性基因及 Sxl 基因共同决定了生殖细胞的性别(图中粗箭头)。而来自体细胞 dsx 的诱导信号不仅通过作用于早期性别专一性基因控制着幼虫生殖细胞的性别,还与生殖细胞中的一些基因(ovo、otu、snf、fl(2)d 和 vir)以及一个体细胞 X:A 依赖的信号一起参与生殖细胞 Sxl 表达的调控。

由于 Sxl 仅为成虫卵巢中的生殖细胞雌性化所需,故而必有其他早期基因来指导幼虫生殖细胞的性别特化,两者并不重合。此外,由于 XY 生殖细胞体现了雄性发生的自主性,显然还应有一个 X:A 的自主信号与前两者一起决定生殖细胞的性别分化(见图)。

五、生殖细胞的剂量补偿

在一龄幼虫期表达雄性专一性基因的 XX 生殖细胞,即使以后 Sxl 是组成型表达,也不是一定能够转回卵发生;而 Sxl 的组成型突变也只能部分拯救 ovo 或 otu 突变体的表型^[8]。显然,对在无 tra 功能的假雄或 XY 雄性寄主内发育的 XX 生殖细胞,以及缺少 ovo 或 otu 活性的 XX 生殖细胞来说,在 Sxl 活性需要以前,一个性别缺陷已经存在,而且甚至能导致 XX 生殖细胞的死亡。ovo 突变的 XX 生殖细胞可因 mle 的缺失获得部分拯救^[9],而 mle 的产物在体细胞中是作用于 X 染色体的剂量补偿,所以,推测生殖细胞的 X 染色体也存在剂量补偿,不适当的 X 染色体转录效率将引起生殖细胞的死亡。tra 依赖的诱导信号以及 ovo 和 otu 对 XX 生殖细胞存活的影响是因为它们可能共同控制着调节生殖细胞剂量补偿的基因。

参与体细胞剂量补偿的基因中,目前已知仅 mle 为 XY 生殖细胞所需^[11],但是雄性 mle 在生殖细胞中的功能尚不清楚。雄性生殖细胞中是否真的存在 X 染色体的剂量补偿以及 ovo 是否确实控制这一过程还需要进一步的研究证明。

结 语

果蝇生殖细胞的性别分化是一个极其复杂而又精妙的多元调控体系。它既受来自体细胞的多重诱导信号的影响,又被其自身的 X:A 信号所调控。其中,体细胞的诱导信号还不甚清楚,生殖细胞的 X:A 信号和指导早期生殖细胞特化的基因也有待被发现。我们相信,深入细致

的研究不仅有助于了解这一生命现象本身,而且也将给其他重要发育途径的机制阐明以启迪。

参 考 文 献

- [1] Steinmann-Zwicky, M., 1992, *Semin. Dev. Biol.*, **3**:341-347.
- [2] Steinmann-Zwicky, M. et al., 1989, *Cell*, **57**:157-166.
- [3] Schupbach, T., 1982, *Dev. Biol.*, **89**:117-127.
- [4] Marsh, J. L. and Wieschaus, E., 1978, *Nature*, **272**:249-251.
- [5] Bopp, D. et al., 1993, *Development*, **118**:797-812.
- [6] Granadino, B. et al., 1993, *Development*, **118**:813-816.
- [7] Steinmann-Zwicky, M., 1994, *Development*, **120**:707-716.
- [8] Steinmann-Zwicky, M., 1994, *Dev. Genet.*, **15**:265-274.
- [9] Oliver, B. et al., 1993, *Development*, **119**:897-908.
- [10] Pauli, D. et al., 1993, *Development*, **119**:123-134.
- [11] Bachiller, D. and Sanchez, L., 1986, *Dev. Biol.*, **118**:379-384.

小鼠原始生殖细胞的起源、迁移和增殖

李光鹏 谭景和

(东北农业大学生物工程系 哈尔滨 150030)

哺乳动物原始生殖细胞(PGCs)的起源、迁移和增殖是发育生物学最基本的问题之一,多年来一直未能获得较大突破。近几年,由于实验技术的改进,这一领域的研究有了较大进展。本文以小鼠为例,比较全面地介绍哺乳动物原始生殖细胞的起源、迁移和增殖及其迁移与增殖机制等方面的最新研究进展。

一、小鼠原始生殖细胞的起源

嵌合体实验显示,生殖细胞来源于胚胎的上胚层(epiblast)。上胚层是胚胎植入期即交配后4.5天(4.5 days postcoitum, 4.5 dpc)时,在滋养层与原始内胚层分化之后形成的^[1]。上胚层将来形成全部的胎儿组织,包括体细胞和生殖细胞,也形成胚外中胚层和羊膜外胚层。单个的上胚层细胞在嵌合体中能够分化为体组织和生殖细胞,因而4.5 dpc胚胎的上胚层细胞仍具有一定的全能性^[2]。

1. PGCs 前体细胞在上胚层中的位置

在原肠作用起始之前,上胚层呈杯状(6.0 dpc)。此时,PGCs 前体细胞在上胚层中的位置

已经有所限定。把6.0 dpc和6.5 dpc胚胎的单个上胚层细胞注入一种短期细胞系标志物——Lysinated rhodamine dextran(LRDX),经过40小时的胚胎培养后,利用PGCs特征性的碱性磷酸酶(ALP)进行鉴定分析,分别在神经板和早体节期追踪到其后代。而且PGCs前体细胞位于杯状上胚层的近端部^[3]。进一步研究证实,PGCs前体细胞均来自上胚层近端的1/5处,紧靠胚外外胚层(extraembryonic ectoderm)或最多伸入到胚外外胚层内约3个细胞直径远,形成预定胚外中胚层的一部分,而且在上胚层内并未出现生殖细胞谱系限定^[4]。

2. PGCs 细胞谱系限定

Lawson和Hage(1994)利用细胞克隆技术对不同时期胚胎的PGCs追踪研究发现,所有已标记的含PGCs的细胞克隆均参与胚外中胚层形成。这种参与6.0 dpc胚胎的细胞克隆要比6.5 dpc的细胞克隆更多。来自原条期以前胚胎的细胞克隆,除形成PGCs外,还参与形成3至6种胚胎结构。而原条早期胚胎的PGCs克隆,除形成PGCs外,只参与1种或2种胚胎