

- 1067.
- [15] Cummings, C. and C. Cronmiller, 1994, *Development*, 120: 381—394.
- [16] Ruohola, H. et al., 1991, *Cell*, 66: 433—449.
- [17] Ruohola-Baker, H. et al., 1994, *TIG*, 10: 89—94.
- [18] Greenwald, I. and G. Rubin, 1992, *Cell*, 68: 271—281.
- [19] Mello, C. et al., 1994, *Cell*, 77: 95—106.
- [20] Knipple, D. et al., 1985, *Nature*, 317: 40—44.
- [21] Pignoni, F. et al., 1990, *Cell*, 62: 151—163.
- [22] Doe, C. and M. Scott, 1988, *TINS*, 11: 101—105.
- [23] Patel, N. et al., 1989, *Genes Dev.*, 3: 890—904.
- [24] Leptin, M., 1991, *Genes Dev.*, 5: 1568—1576.
- [25] Tonylp, Y. et al., 1994, *Development*, 120: 199—207.
- [26] Lawrence, P. A., 1992, In *The making of a fly, the genetics of animal design*. Blackwell Scientific Publications.
- [27] Brunner, D. et al., 1994, *Cell*, 76: 875—888.
- [28] Dworkin-Rastl, E. et al., 1994, *Dev. Biol.*, 161: 425—439.
- [29] Pokrywka, N J. and E. C. Stephenson, 1991, *Development*, 113: 55—66.
- [30] Ripoll, P. et al., 1992, *Current topics in developmental Biology*, 27: 275—307.

ras 信号传导途径

杜宪兴 施涓康

(中国科学院上海细胞生物学研究所 200031)

ras 信号传导途径是起始于酪氨酸激酶受体的一种重要的细胞信号传导方式。近年特别是 1993 年夏以来, 一个比较完整的、以 ras 为中心的细胞信号传导途径被揭示。

ras 是目前所知最保守的一族癌基因, 对于细胞生长、增殖、发育及分化调控以及细胞恶性转化的重要性已众所周知^[1,2]。许许多多癌基因、生长因子和刺激细胞生长的化学物质对细胞生长的促进, 都要求 ras 的参与^[3]。

ras 基因的正常产物是一族鸟苷酸结合蛋白^[4], 以两种状态存在: 结合 GTP 分子的活性态和结合 GDP 分子的非活性态^[5]。当 ras 被称作鸟苷酸释放因子 (guanine-nucleotide releasing factors, GRFs, 又称 GEFs, guanine-nucleotide exchanging factors) 的一类蛋白质催化时, 它释放 GDP 结合 GTP, 从而被激活^[4]。同时, ras 自身还具有弱的水解 GTP 的能力, 在 GTP 酶激活蛋白 (GTPase activating

proteins, GAPs)^[4] 的催化加速下, 活化态的 ras 迅速水解自身结合的 GTP, 从而结束其功能态。如果将 ras 比喻成一道电闸的话, 那么 GRF 就是合闸人, GAP 就是拉开闸门的人。

酵母细胞周期突变型的研究导致第一个 GRF 蛋白: CDC 25 的发现^[6]。CDC 25 通过 ras 来调控酵母有丝分裂生长周期; 92 年发现酵母对葡萄糖营养源的感受亦是通过葡萄糖转运蛋白→cdc 25→ras→腺苷酸环化酶的途径实现^[7]。在酵母中, 无论是减数分裂、出芽、细胞形状的调节^[8], 还是对性激素的反应^[9], ras 都受上游 GRF 调控, 进而再调控诸生物学过程。果蝇遗传学研究导致另一种 GRF 蛋白“SOS(son of sevenless)”的发现^[10]。SOS 控制果蝇早期胚胎终末结构和复眼的发育。果蝇 SOS(D-SOS) 在哺乳动物和人中的同源基

本文得到高健刚同志的帮助, 特表谢意。

因——小鼠 SOS-1 与 SOS-2 (mSOS-1, mSOS-2)^[11] 及人 SOS (hSOS) 随即被克隆, 它们都是高度同源的, D-SOS 可以在大鼠细胞中稳定表达。mSOS-1 和 mSOS-2 在组织中广泛存在, 而分别发现于脑中和造血细胞中的 p 140 Ras-GRF 和 Vav 蛋白^[12] (两者都属于 GRF 家族) 仅各自在脑与造血细胞中表达, 后者 (Vav) 参与 TCR-CD 3 对 ras 的刺激^[13]。

可见, GRF 蛋白族是 ras 上游的信号传递者, 是 ras 的正调控者。从目前研究看来, 势必存在某些种类的 GRF, 它们介导的对 ras 的调控普遍存在于众多种类细胞之中, 是没有特异性的; 而同时存在另一些种类的 GRF, 它们对 ras 的调控具有组织、种属或器官特异性, 是不同种类分化细胞中 ras 家族蛋白介导不同功能表达的体现^[12]。

与此同时, 将细胞表面酪氨酸激酶受体与 GRF-ras 通路联络起来的“接头蛋白”也被发现。对隐杆线虫中 ras 信号通路的研究导致 Sem 5 基因的克隆^[14], 随之 Sem 5 的同源基因——果蝇的 Drk 基因与小鼠中的 Grb 2 (Growth factor receptor-bound protein 2)^[14, 15] 基因亦被发现。Grb 2 和 Sem 5 虽各自经历 6 亿年独立的进化, 仍皆可以高亲和力结合于 mSOS 1 的 C 端 1135 至 1166 区域, 该区域含 VPVPPVPP SH₃ 结合域。Grb 2/Sem 5 并不包含催化功能域, 仅有 SH 2 和两个 SH 3 功能域 (Src homology domain 2 and 3)。这两种功能域的功能是介导蛋白质之间的相互作用^[16]。因此, Grb 2/Sem 5 起的是“接头蛋白”的角色, 其 SH 3 域与 mSOS 1 C 端相互作用, 而 SH 2 域与业已自身磷酸化的酪氨酸激酶受体结合, 从而作为中介将 mSOS 1 “收集”到细胞表面自身磷酸化的酪氨酸激酶受体上, 使信号从酪氨酸激酶受体向 ras 的传导得以实现^[9]。EGF 刺激细胞不到 1 分钟, mSOS 1 与 EGF 受体的复合物就已形成。可能酪氨酸激酶受体、接头蛋白、mSOS 1 和 ras 都相互作用并在细胞膜内侧附近形成复合体。

但是一个正常细胞不能无限制地受 ras 刺激。由于 ras 本身不能较快水解 GTP, 所以 ras 活性的终止必须依赖另一类蛋白: GAP (GTP 酶激活蛋白) 的协助。GAP 结合于 ras 后, 改变 ras 的构型, 催化 ras 自身 GTPase 活性从而终止 ras 活性。所以, 有一种假说认为 GAP 蛋白家族是 ras 的上游负调控者。然而, 在 GAP 作为 ras 上游调控者尚未得到直接证据的情况下, GAP 作为 ras 下游效应者却得到许多实验阐述^[16, 17]。第一个被鉴定出来的 GAP 蛋白: p 120-GAP 包含疏水氨基末端、羧基末端 ras GTPase 活性的催化域、2 个 SH 2 结构域和 1 个 SH 3 结构域。有证据显示其 SH 3 域在 ras 下游信号传导中起重要作用^[18]。

这方面另一个著名例子是 raf 蛋白。raf 也是 GAP 的一种, 其 N 端 1—257 位功能域能够与 p 21^{ras} 结合, 并且与 p 21^{ras}-GTP 的结合力远远高于 p 21^{ras}-GDP, 不与 p 21^{ras}-GAP 结合。一旦结合, raf 就协助 ras 水解自身 GTP, 使 ras 功能终止^[19]。所以, GAP 终止 ras 活性不仅不能说明它只是或就是 ras 的上游负调控者, 而且相反, 恰恰说明这是 GAP 执行 ras 下游功能所必需的: GAP 终止 ras 活性, 确保 ras 在完成信号传递后就及时关闭, 由 GAP (例如 raf) 接下去执行传递信号的使命。这与 raf 能够模拟 ras 某些功能的现象是一致的。raf 一旦活化, 就磷酸化 MAPKK (又称 MEK, MAP kinase kinase or ERK Kinase, 见 MAPK^[20-22]), 后者再激活 MAPK (Mitogen-activated protein kinases, 亦称 extracellular signal-regulated kinases, ERKs)^[24], 然后 MAPK 及其效应酶通过磷酸化转录因子如 fos 和 jun 将信号传递入核。

由此可知, 细胞表面酪氨酸激酶受体→接头蛋白→鸟苷酸释放因子→ras→GTPase 激活蛋白→下游靶酶, 构成了目前所知较完整的一幅细胞信号传导途径。

许多酪氨酸激酶受体、某些 G 蛋白偶联受体、生长因子、化学物质都可通过此相同的

高度保守的 ras 信号通路传导信号, 如 EGF、PDGF、胰岛素、淋巴细胞表面抗原——受体复合物、某些白细胞介素、神经生长因子, 等等^[8]。ras 通路是极为重要的。

使问题复杂化的是发现不仅接头蛋白可以与带有自身磷酸化位点的受体结合, 而且 GAP 也可以与这类受体结合, 如 PDGF 受体、EGF 受体等^[23], 由 GAP 的 SH2 功能域介导这种相互作用。因此, GAP 势必是表面受体与 ras 之间的某种桥梁。对于这种桥梁作用如何实现目前国际上尚无合适模型阐释。作者的观点是: 无论表面受体也好, 接头蛋白、GRF 也好, 还是 ras 或 GAP, 它们都藉相互作用形成多分子复合体, 该复合体本身诸分子间即可相互制约和反馈。例如, 是否 ras 在将信号传递给 GAP 之时, 同时授与 GAP 启动 SH2 结构域结合相应表面受体(如上文说到的 PDGF 受体、EGF 受体)的功能, 使 GAP 不仅在 ras 水平, 亦在表面受体水平封阻信号的继续刺激? 或者, GAP 与表面受体的相互耦合可以封闭或弱化该受体对 GRF 的刺激, 从而使信号中止或弱化? 从这个观点出发 GAP 对 ras 的负调节是负反馈调节, 是下游调节上游。这种调节十分迅速且绝不盲目。至于 GAP 在上游负调控 ras, 虽有此假说, 且这种可能性也同时存在, 但仍欠证据, 尚需证实。

以上多分子复合体中每一分子, 其调控者和效应者都是多个。例如, 带有磷酸化位点的受体的效应者很多, Grb 2/Sem 5 和 GAP 仅为其二; Grb 2/Sem 5 调控好几个已知蛋白的活性与定位, SOS 仅为一类; GRF 有数种功能, 激活 ras 仅为其一; ras 的效应者更是多种多样, GAP 仅为其中一类; 而仅 GAP 就有多种, raf 仅为其一。不仅 ras 可以激活 raf, 蛋白激酶 C- α (PKC- α) 也可激活 raf。raf、MEK、MAPK 也很可能各有不止一种靶酶。现在还发现癌基因 db1 和 ect 2 及抗癌基因 NF 2 也通过调控 ras 来调节细胞的形状和细胞骨架^[8]。由此可见, ras 通路是十分复杂的。

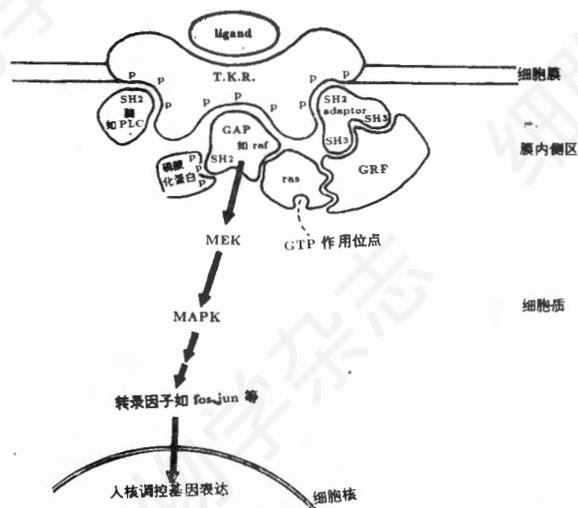


图 Ras 信号传导途径的主要元件及调控简图

ligand: 配体, 如生长因子
T.K.R.: Tyrosine Kinase Receptor, 细胞表面酪氨酸激酶受体
adaptor: 接头蛋白
GRF: 鸟苷酸释放因子(又称 GEF), 如 SOS、cdc 25
GAP: GTPase 激活蛋白
PLC: 磷酸酯酶 c
P: 指代磷酸化位点
其他分子全称见本文

除 ras 通路之外, 独立存在的以癌基因介导的细胞信号传导途径也被发现。它们包括 TAN 1/int-3 癌基因通路(果蝇、线虫、蛙中)、Wnt 通路(果蝇及蛙中), 及果蝇中新鉴定出来的 rel, bcl-3 和 lyt-10 癌基因通路等^[8]。

总之, 虽然 ras 信号传导途径是细胞信号传导一条中心的、重要的途径, 但它本身就是一个极其复杂的网络, 而且该网络仍只是细胞内部庞大的信号传导系统的一部分。这个系统中, 某些脉络已初步显现, 但绝大多数尚未触及, 更不曾被揭示。可以预料, 就象当年 Jerne 提出免疫调节网络一样, 总有一天, 细胞内部错综复杂的信号调节网络也终将被揭示, 许多基本的生命现象也将因此得到解释。美好的前景激励着我们前进。

参 考 文 献

[1] 张惟杰, 1994, 细胞生物学新动态, p.

- 103—118.
- [2] 陈禹保, 1989, 生物化学与生物物理进展, 16: 271—275.
- [3] Egan, S. E. and Robert A. Weinberg, 1993, *Nature*, 365: 781—783.
- [4] Boguski, M. S. and McCormick, F., 1993, *Nature*, 366: 643—654.
- [5] Egan, S. E. et al., 1993, *Nature*, 363: 45—51.
- [6] Broek, D. et al., 1987, *Cell*, 48: 789—799.
- [7] Gross, E. et al., 1992, *Nature*, 360: 762—765.
- [8] Egel, R. et al., 1990, *Trends Genet.*, 6: 369—373.
- [9] Powers, S. Sem., 1992, *Cancer Biology*, 3: 209—218.
- [10] Simon, M. A., 1991, *Cell*, 67: 701—716.
- [11] Bowtell, D. et al., 1992, *PNAS*, 89: 6511—6515.
- [12] Feig, L. A., 1993, *Science*, 260: 767—768.
- [13] Gulbins, E. et al., 1993, *Science*, 260: 822—855.
- [14] Lowenstein, E. J. et al., 1992, *Cell*, 70: 431—442.
- [15] Koch, C. A. et al., 1991, *Science*, 252: 668—674.
- [16] Boguski, M. S. et al., 1992, *New Biologist*, 4: 247—260.
- [17] Marchuk, D. A. et al., 1991, *Genomics*, 11: 931—940.
- [18] Duchesne, M. et al., 1993, *Science*, 259: 525—528.
- [19] Zhang, X. et al., 1993, *Nature*, 364: 308—313.
- [20] Kyriakis, J. M. et al., 1992, *Nature*, 358: 417—421.
- [21] Hughes, D. A. et al., 1993, *Nature*, 364: 349—352.
- [22] Crews, C. M. et al., 1992, *Science*, 258: 478—480.
- [23] Parsons, J. T., 1990, *Trends in Genetics*, 6: 169—171.
- [24] Errede, B. and Levin, D. E., 1993, *Curr. Opin. Cell Biol.*, 5: 254—260.

转基因小鼠在肿瘤研究中的应用

沈锡中

(上海第二医科大学附属仁济医院、上海市消化疾病研究所 200001)

将可能激发肿瘤的基因导入小鼠受精卵, 已制备了许多具有癌症倾向的小鼠系。这些小鼠能使人在整体水平系统研究不同癌基因在细胞分化、增殖中的作用以及在肿瘤发生中癌基因间的协同作用。同时, 这些小鼠具有对病毒和化学致癌物敏感的倾向, 因而为潜在致癌原测试, 治疗和预防肿瘤药物的筛选提供了很有价值的研究模型。

过去20年, 用分子克隆和基因转移等手段, 将癌基因导入特定细胞以研究癌基因在细胞转化过程中的作用机制, 取得了可喜进展。但体外培养系统具有其局限性, 因为活体内肿

瘤的形成受众多因素影响。细胞首先发生恶性转化, 新生的恶性细胞必须逃逸免疫监测, 建立自己的血液供应, 突破周围组织并转移到其他部位。而体外细胞转化受所处的特定生长环境的影响, 无法将单一的目的基因和其在整体的作用加以综合研究, 所以不能从整体水平去全面认识基因的表达, 调节及其功能。80年代初, 人们将克隆的基因导入小鼠生殖细胞系, 建立了转基因小鼠模型^[1], 使在整体水平系统地研究那些具有控制细胞生长、增殖及分

从笑倩副教授曾对本文提出宝贵的意见, 特表谢意。