

动物发育过程中热休克基因的表达*

刘 鹏 翰 梅 尚 筠

(华中师范大学生物系, 武汉 430070)

提 要

本文综述了动物发育过程中热休克基因的表达及热休克蛋白质的合成与生物耐热性的相互关系。动物发育过程中热休克基因的表达具有阶段依赖性。热休克蛋白质的合成与生物耐热性的获得呈正相关。

关键词 动物发育, 热休克, 热休克基因, 热休克蛋白, 耐热性

二十多年前, 人们发现热休克[heat shock: HS] 能诱导果蝇体内产生一组热休克蛋白[heat shock protein:Hsp], 而大部分正常蛋白质则停止合成或被抑制。目前, 国际上对 Hsp 的研究已成为生物工程领域中较为活跃且是发展较快的课题之一。HS 可诱导 Hsp 基因的表达为研究动物发育过程中基因的控制机理提供了有用的方法。海胆^[1-4]、果蝇^[5-8]、爪蟾^[10-13]和鼠^[14-16]等动物发育过程中热休克基因的表达情况已被深入研究。本文就这方面的情况作一简要概述。

动物发育过程中 Hsp 基因的表达

不同发育阶段的动物胚胎经热处理后, Hsp 的合成仅在卵裂期以后的各期胚胎中才能检测到, 也就是说, 胚胎发育过程中 Hsp 的合成具有阶段依赖(stage dependent) 性。

海胆 Hsp 基因的表达 将不同发育阶段的海胆胚胎[从单细胞期到原肠胚期]在高于正常发育温度条件下处理一定时间, 在受精卵到早囊胚期之间的任何发育阶段中都没有观察到 Hsp 的诱导合成, 而当孵化至囊胚期及以后, HS 能诱导 Hsp 合成并能继续正常发育, 所以在 HS 的囊胚期及原肠胚期都能检测到 Hsp 70^[1-4]。囊胚期前后对 HS 的不同敏感性表明海

胆胚胎在发育期间囊胚期是一转折点(turning point), 即发育到此期时胚胎获得了热休克应答能力——能够产生 Hsp, 而这类蛋白质的合成能保护细胞免受损伤。

Hsp 的合成是由于 mRNA 的转录还是由于对特殊 mRNA 的选择翻译呢? 为回答这个问题, Roccheri 等^[1,3]将放线菌素 D 加入 HS 的海胆胚胎中, 结果发现 Hsp 的合成量减少。提取 HS 和对照组囊胚期胚胎中的 mRNA 进行体外翻译, HS 组提取的 mRNA 可指导 Hsp70 大量合成。Howlett 等^[4]用果蝇 Hsp70 基因片段做探针, 对从不同发育阶段提取的 HS 和对照组 poly(A)⁺RNA 进行杂交, 仅 HS 的 32-128 细胞期和囊胚期中提取的 mRNA 可与之杂交。这说明海胆胚胎中 Hsp 的表达是由于新的 mRNA 转录。无论是杂交的方法或是体外翻译的方法, 卵裂期以前的海胆胚胎中都没有检测到 HSmRNA 的存在, 这可能是 (i) HS 没有激活热休克基因的转录或是 (ii) 转录的 HSmRNA 没有能积累就已降解。

果蝇 Hsp 基因的表达 对果蝇不同发育阶段的胚胎 HS 研究得到了与海胆类似的结果, Hsp 仅在囊胚期以后的各发育阶段才能诱导合成^[5,6], 但 Hsp83 在各个发育阶段都可检

* 国家自然科学基金资助项目

表1 不同发育阶段海胆胚胎热休克后的发育情况^[1]

发育阶段	热处理时间 (h)	受精后 36h
受精卵	1	50% 死亡;50% 异常桑椹期胚胎
2-细胞期	1	50% 死亡; 25% 异常桑椹期胚胎;25% 异常囊胚期胚胎
32-细胞期	1	44% 死亡;55% 异常囊胚期胚胎; 1% 原肠胚期胚胎
早囊胚期	1	34% 死亡;65% 异常囊胚期胚胎; 1% 原肠胚期胚胎
孵化囊胚期	1	99% 长腕幼虫;1% 死亡
原肠胚期	1	100% 长腕幼虫
对照	无	100% 长腕幼虫

测到^[9]。Mason 等^[7]报道 Hsp 83、Hsp 26 和 Hsp 22 mRNA 存在于果蝇正常发育的各个时期。Zimmerman 等^[8]在未经热休克的卵巢中也观察到了上述三种 HSmRNA 的存在。这三种热休克基因在正常发育的一定时期表达,推测它们可能在卵子发生或早期发育中具有某些功能,它们的表达控制可能不同于其它热休克基因。最近研究表明 Hsp 83 基因的表达可能与 Hsp 基因家族类似^[9]。

爪蟾 Hsp 基因的表达 对爪蟾胚胎不同发育阶段热休克应答研究表明,在卵裂期未发现Hsp的合成,囊胚期及以后经热处理检测到了Hsp 68—70 的表达^[10,11],且观察到热休克应答的产生依赖于 HS mRNA 的合成与积累^[11,12]。Niekells 等^[13]对爪蟾动物极细胞与植物极细胞分别进行热处理,两极细胞都能合成 Hsp 68—70 和 Hsp89,动物性半球细胞合成少量的 Hsp 43 和 Hsp59,但植物性半球合成大量的 Hsp43 和 Hsp59 及一种独特的 35kDHsp。这是两栖动物中最早观察到的一个特殊区域蛋白质合成的例子。

鼠的 Hsp 基因表达 热或其它应力对哺乳动物胚胎发育影响的知识在临床上对妊娠期间母体的高温治疗有重要意义,因此,用鼠胚胎作为模式体系研究 HS 对胚胎基因的表达引起了人们的广泛兴趣。

鼠的 Hsp70 基因家族由同族的 (cognate) 和诱导的两部分组成。HS 同族基因是指在无环境应力时细胞表达的 Hsp,至少有两种形式 (Mr = 70 和 74 kD),简称 Hsc70 和 Hsc74,而诱导合成的为 Hsp 68。鼠胚胎发育过程中

Hsp 的表达与海胆等有类似的特征。Hahnel 等^[14]在未受精的鼠卵中,不论是正常或 HS 情况下都未能检测到 Hsp70 家族组成存在。在2-细胞期,由于发育调节激活 Hsp70 基因转录而表达 Hsc70 和 Hsc 74,但此期热处理未能观察到 Hsp68,在囊胚期,继续合成 Hsc70,胚胎经热处理能合成 Hsp68。Bensande 等^[15]证明鼠胚2-细胞期合成的70kD蛋白质与鼠 Hsp70 和 Hsp 68 相同,是合子基因激活的第一个产物。Hsp70 基因家族可在正常胚胎发育过程中表达,也可诱导合成,故可认为它们在发育和耐热方面起重要作用。

动物发育过程中耐热性的获得

细胞热休克应答的研究表明,Hsp 的诱导合成与耐热性获得有一定关系。动物发育过程中是否也存在这种关系呢?Roccheri 等^[1]将不同发育阶段的海胆胚胎在 31℃ 热处理 1h 后置于常温下到第36h,观察结果如表1。从表1中可以看出,热处理早囊胚期以前的各发育阶段几乎都不能正常发育,这与前述的在囊胚期以后各发育阶段 HS 观察到的 Hsp70 合成是一致的。

Heikkila 等^[14]以爪蟾胚胎为材料做了类似于 Roccheri 等的实验,结果表明,卵裂期的胚胎 HS 后很快退化,中细胞囊胚期的胚胎 HS 后内胚层未能形成,也不能正常发育到孵化,表现耐热性的最早阶段是晚期细胞的囊胚,62% 的胚胎可经受 HS 而发育到孵化,到原肠胚期,90% 以上的胚胎 HS 后可孵化,以后的各发育阶段在上述条件下都产生耐热性。Nickells

等^[43]指出,爪蟾胚胎的耐热性是在双相态获得(动物性半球和植物性半球)。中细胞囊胚期的胚胎 HS 后能形成正常的外胚层和中胚层(由动物性半球细胞分化而成),内胚层却未形成。动物性半球细胞比植物性半球细胞较早地获得耐热性,这与观察到的 Hsp 合成也是一致的,即 Hsp 合成图型有区域特性。这些研究结果对在早期胚胎发育中研究细胞特殊区域的调节作用在分子水平上提供了重要信息。

近期对果蝇的研究认为:HS 诱导产生的 Hsp70 可结合到核酸上保护染色体的开放区和 hnRNA 复合物以免降解^[47]。如果胚胎发育过程中 HS 诱导合成的蛋白质也有类似的功能,就有助于解释卵裂期胚胎 HS 不能发育的原因。HS 因不能诱导 Hsp 合成致使发育中起重要作用的基因或 mRNA 降解。在爪蟾胚胎中已有了 HS 卵裂期胚胎影响预存的肌动蛋白 mRNA 稳态水平的报道^[41]。因此,这些 Hsp 可能在核水平上起着某些作用。

Hsp 的合成与耐热性之间有一定关系,但还没有某种 Hsp 表现耐热性的具体例子。然而最近在未经刺激的细胞中发现一种功能与 70kD 蛋白质有关。Chappel 等^[48]报道人 Hsc71 (与鼠 Hsc70 相当)与牛脑 71kD 的 ATPase 不可分辨。通过 ATP 亲和层析法已将很多类似的应激蛋白纯化,这包括人 Hsc71、Hsp70 (同鼠 Hsp68)、人和仓鼠 Hsp78 等,这些蛋白质有 80% 以上的同源性,在 Hsc71 中,这一区域正是结合 ATP 并表现水解功能的部位,因此认为 70kD 蛋白质不仅可结合 ATP,且有 ATPase 功能。已有证据表明 Hsp70 在体内具有 ATPase 活性^[49]。最近在酵母中也发现 SSCI 是 Hsp70 多基因家族中的基本成员,它编码一种线粒体蛋白,这种蛋白也有结合 ATP 的能力^[20,21]。因此 Chappell 等^[18]推想所有 70kD 应激蛋白都有 ATPase 功能。

结 束 语

对果蝇、海胆、爪蟾和鼠的研究表明,胚胎

的热休克应答能力依赖于发育阶段,而且这种现象在进化上是保守的。用体外翻译和 RNA 杂交技术未检测到 HSmRNA 的积累是和 Hsp 未能诱导合成相关的,因此控制这种现象可能是在转录或转录后水平上发挥作用。

Hsp 可在正常胚胎发育中表达,也可 HS 诱导合成,最近也观察到处于分化状态的胚胎癌细胞也合成 Hsp^[46]。因此,动物发育是研究 Hsp 生物学功能的很好系统,随着对 Hsp 表达机理的阐明,对 Hsp 的生物学功能将会有更进一步的认识。

参 考 文 献

- 1 Roccheri M C, Bernardo M G D, Giudice G. *Dev Biol*, 1981; 83: 173
- 2 Sconzo C, Roccheri M C, Rosa M L *et al. Cell Differ*, 1986; 19(3): 173
- 3 Roccheri M C, Sconzo C, Carlo M D *et al. Differentiation*, 1982; 22: 175
- 4 Howlett S, Miller J, Schultz G. *Biol Bull*, 1983; 165: 500
- 5 Graziosi G, Micall F, Marzari R *et al. J Exp Zool*, 1980; 214: 142
- 6 Dura J M. *Mol Gen Genet*, 1981; 184: 381
- 7 Mason P J, Hall L M C, Gausz J. *Mol Gen Genet*, 1984; 194: 73
- 8 Zimmerman J L, Petri W, Meselson M. *Cell*, 1983; 32: 1161
- 9 Xiao H, Lis J T. *Mol Cell Biol*, 1989; 9(4): 1746
- 10 Kloc M, Heikkila J J, Bury J *et al. J Cell Biol*, 1983; 97: 33a
- 11 Heikkila J J, Kloc M, Bury J *et al. Dev Biol*, 1985; 107: 483
- 12 Bienz M. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984; 81: 3138
- 13 Nickells R W, Browder L W. *Dev Biol*, 1985; 112: 391
- 14 Hahnel A C, Gifford D J, Heikkila J J *et al. Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis*, 1986; 6: 493
- 15 Bensaude O, Babinet C, Morange M *et al. Nature*, 1983; 305(22): 331
- 16 Bensaude O, Morange M. *EMBO J*, 1983; 2: 173
- 17 Velazquez J M, Lindquist S. *Cell*, 1984; 36: 665
- 18 Chappell T G, Welch W J, Schlossman D M *et al. Cell*, 1986; 45: 3
- 19 Lewis M J, Pelham H R B. *EMBO J*, 1985; 4: 3137
- 20 Craig E, Kramer J, Kosc-Smiths J. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987; 84: 4156
- 21 Craig E A, Kramer J, Shilling J *et al. Mol Cell Biol*, 1989; 9(7): 3000

[本文于1989年9月15收到]