

线虫发育模式的分子生物学研究概况

冯 亮 廖翔华

(中山大学生命科学学院, 广州 510275)

摘要 线虫是研究动物发育的理想模式系统. 由其细胞谱系研究深入到细胞间相互作用及信号传递的研究、细胞程序性死亡的研究, 乃至多基因相互作用调控发育的研究, 这些都是今后这一领域的研究热点.

关键词 线虫, 细胞谱系, 细胞间相互作用, 信号机制, 细胞程序性死亡, 模式系统

学科分类号 Q344.1

发育的分子生物学研究中有不少重要的模式系统 (model system), 如植物中的拟南芥菜, 动物中的果蝇等. 本文所介绍的线虫是另一模式系统. 其代表秀丽新杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 主要以雌雄同体 (hermaphrodite) 形式存在. 成虫全身透明, 长约 1 mm, 一般生长周期为 3~4 d^[1]. 重要的是, 其发育模式是沿固定的细胞谱系 (cell lineage) 进行的, 因此, 它已成为发育生物学、遗传学、分子生物学等诸多领域争相研究的对象.

1 线虫发育的细胞谱系

早在 19 世纪生物学家们就已发现了线虫发育的可塑性, 但直到 1976 年 Sulston 采用了 Nomarski 显微技术才使得这一领域的研究取得了突破. 该技术利用干涉光原理在高倍镜下对虫体进行显微观察, 它不仅提供较高分辨率, 还可以直接跟踪个体细胞的迁移、分裂和死亡, 是活体细胞谱系研究的有力工具^[2]. 雌雄同体线虫的主要解剖结构^[3] 见图 1.

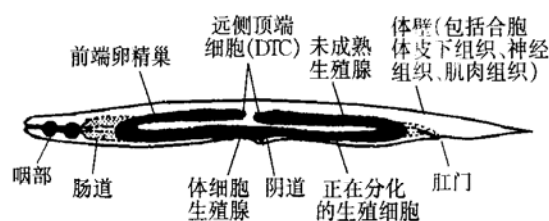


图 1 雌雄同体线虫主要解剖结构示意图

在线虫早期胚胎发生阶段, 由受精卵产生了五个体基细胞——AB、MS、E、C、D 和一个性腺基细胞 P₄ (图 2). 受精卵第一次分裂产生一个较大的前端子细胞和一个较小的后端子细胞 (P₁), 后者又经过三次不等大小的分裂直到产生 P₄. 线虫

大多数组织都由几个基细胞共同发育而来, 如皮下、神经、肌肉等组织; 只有肠道和性腺是分别由单个的基细胞独立分化而来. 在胚胎发生前半段, 体基细胞通过固定的细胞谱系共产生 671 个子细胞, 其中 113 个经历了程序性死亡 (programmed death), 剩下的 559 个细胞或终止分化或变成胚胎后干细胞. 而 P₄ 仅分裂一次产生两个性腺前体细胞. 胚胎发生的后半段主要是进一步分化和形态发生过程, 胚胎后干细胞继续分裂至 810 个左右. 然后形成约 150 μm 长的细小虫体, 孵化后经四个幼虫期 (L1~L4) 发育为成虫. 有趣的是, 线虫体胚发育沿着几乎不变的谱系形成, 这样线虫的每一个细胞都有固定的命运 (fate) 与其位置及祖细胞相对应^[2~4].

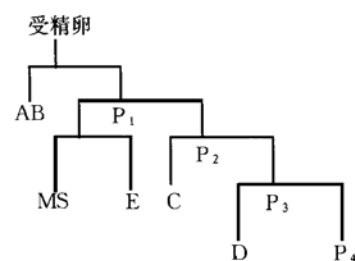


图 2 线虫早期胚胎细胞谱系简图^[4]

2 线虫发育的细胞决定模式

为什么线虫的细胞具有如此精确的命运及定位呢? 首先, 细胞命运既是由其外部固定的位置决定又是按其内在的细胞谱系决定的; 其次, 线虫的发育遵循大多数多细胞生物的发育原则, 那就是依靠细胞间相互作用 (cell interaction) 调节发育过程中的细胞分裂、分化及命运等各个方面. 因此, 研究

者们采用了多种显微操作手段, 来模拟线虫细胞发育中的不同外部环境, 并获得了许多有意义的结果.

2.1 侧部皮下组织的细胞间相互作用

在幼虫 L1 期, 有七个侧部皮下细胞位于体侧的前后轴上, 最后端的两个细胞 (V6 及 T) 产生类似辐条状的触觉结构, 前端的四个细胞 (V1~V4) 产生缝线细胞 (seam cell), 而位于中间的 V5 细胞则既产生缝线细胞又产生辐条结构. 当令 T 细胞死亡后, V1~V6 不受影响; 当令 V5 或 V6 死亡后, 前端邻近细胞会移动至空位处代替死亡细胞的命运. 这一切都是受前后轴上邻近细胞的位置及信号传递控制的^[3].

2.2 由远侧顶端细胞控制的生殖腺增殖

成虫的生殖腺是包括大约 2 500 个 P₄ 子细胞的合胞体组织 (syncytium), 并分成两个卵精巢, 每个都带有一个体细胞, 位于顶端, 称作 DTC (远侧顶端细胞, distal tip cell). 成虫中成千的子细胞正是从生殖腺前体细胞 Z2、Z3 由 DTC 诱导而产生的. 在孵化后, Z2、Z3 即进入有丝分裂阶段, 直至成虫, 其分裂后代均位于远侧末端; 而另一些生殖腺细胞开始减数分裂并形成配子, 占据着生殖腺剩余的部分. 当取走两个 DTC 时, 生殖腺细胞发育会发生变化, 它们会停止有丝分裂开始进入减数分裂. DTC 的作用不仅是抑制减数分裂, 在幼虫中它可以有利于生长发育, 在成虫中它可以维持生殖腺细胞的数目; 另外它的定位还影响着生殖腺组织的轴的极性. 这一切也是通过体细胞与生殖细胞的相互作用实现的^[3,5].

2.3 控制阴道发育的细胞间相互作用

线虫的阴道由体壁皮下组织特化形成. 早期幼虫中有六个腹面皮下组织细胞即 VPC (阴道前体细胞, vulval precursor cell), 其中一个 VPC 走向 VH1 命运, 产生 8 个阴道皮下组织 (VH) 细胞; 另两个侧翼 VPC 走向 VH2 命运, 各产生 7 个 VH 细胞. 其余三个 VPC 分裂一次后参与了合胞体皮下组织 (SH) 的形成. VH1、VH2 的命运是由生殖腺体细胞 AC (锚细胞, anchor cell) 控制的, 一旦令 AC 致死突变, 则所有 VPC 均走向 SH 命运. AC 位于 VH1 的上方, 但它同样能控制远处 VH2 的命运, 推测 AC 可能介导某个信号过程并通过产生扩散信号决定着 VH/SH 的命运. 另外, AC 与腹面子宫前体细胞 (VU) 还构成了所谓均等组 (equivalence group), 即 AC/VU 组中任何一个细胞

死亡, 另一个就会变成 AC, 因此 AC 的命运很重要. 阴道发育必需的六个 VPC 实际上也组成了一个均等组, 并按 VH1-VH2-SH 的重要性顺序走向其中一个命运. 类似的均等组还有许多, 这为线虫细胞谱系的决定增加了灵活性^[3,6].

3 与线虫发育有关的基因

研究表明线虫中存在细胞信号传递成分, 例如 G 蛋白的 α 亚基、 β 亚基以及酪蛋白激酶 II 等, 这些相关基因的获得对于阐明线虫发育的分子信号过程是极为有利的^[7~9].

3.1 *glp-1* 和 *lin-12*

glp-1 主要参与由 DTC 诱导的生殖腺增殖以及胚胎发生中前咽的形成过程. *lin-12* 主要负责调节均等组中成员的细胞命运决定. 它们所编码的蛋白质在结构基序 (motif) 和功能上很相似, 如两者都有与细胞转膜蛋白类似的结构, 胞外结构域都由两种富含半胱氨酸的基序组成, 一种类似于表皮生长因子 EGF 的基序, 另一种称作 LNG (*lin-12*, Notch, *glp-1*) 基序. Notch 是果蝇的基因, 它编码的蛋白质与 *Lin-12* 及 *Glp-1* 结构相似, 类似的 LNG 基因家族已在脊椎动物中发现. 胞质部分结构类似于酵母细胞周期启动基因 *cdc-10* 与转录调节基因 SW16 编码的蛋白质. 最新的研究表明, 该基序还与几种调节蛋白同源, 包括转录调节因子 NF- κ B 以及脊椎动物红细胞关节蛋白 (ankyrin), 后者与细胞骨架元件和细胞膜的连接有关. 由此可知, *glp-1* 和 *lin-12* 编码的可能是丰富的细胞表面受体, 虽然它们的功能上相似, 但由于表达在不同的组织中, 所以各自调节的信号过程也不同^[3,6,9].

图 3 是与 *glp-1* 有关的生殖腺增殖的信号传递模型. 该信号过程中有胞外基质及胞内第二信使的

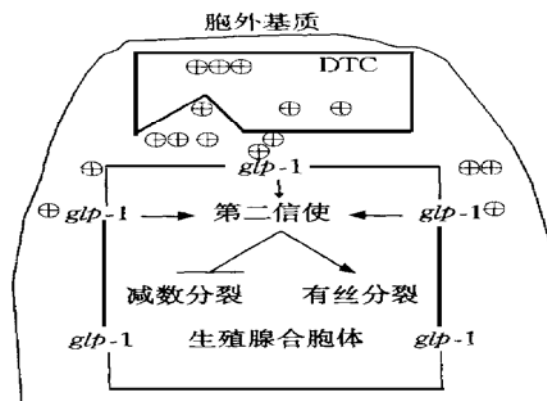


图 3 线虫生殖腺发育信号模型^[3]

参与, DTC 产生的膜联扩散信号经激活 *glp-1* 受体后转变为第二信使, 控制有丝分裂过程. 距离 DTC 较远的 *glp-1* 受体不被激活, 说明了 DTC 的作用范围在生殖腺近端.

3.2 控制 VH/SH 决定的基因

调节线虫阴道发育的信号过程是由酪氨酸激酶-Ras 介导的途径, 如图 4 所示. 共有两类基因涉及 VH/SH 决定, 第一类阴道缺失 (Vul) 表型基因共 6 个: *lin-2*、*lin-3*、*lin-7*、*lin-10*、*let-23* 及 *let-60*, 大多数 VPC 都走向 SH 命运; 第二类多阴道 (Muv) 表型基因共 3 个: *lin-1*、*lin-13* 及 *lin-15*, 大多数 VPC 走向 VH (VH1 或 VH2) 命运, 在更强的 Muv 突变体中, 所有 VPC 无论锚细胞存在与否都走向 VH 命运. *lin-15* 是阴道正常发育所必需的, 它通常在合胞体皮下组织 (hyp7) 中表达, 负责阻遏相联的 VPC 的 VH 命运. *lin-3* 在锚细胞中表达, 编码的蛋白质是阴道发育的诱导信号, 类似于生长因子前体结构即配体+ EGF 受体+ 受体酪氨酸激酶. 而 *let-23* 编码的正是类似于 EGF 受体家族的成员, 它很可能是锚细胞的信号受体. *let-60* 的编码蛋白与哺乳动物及酵母的 Ras 蛋白同源, 它起分子开关作用, 在高水平时诱导 VH 命运, 在低水平时诱导 SH 命运. 与信号通路有关的作用成分还包括 *sem-5* 编码的信号传递蛋白, 它能结合在酪氨酸磷酸化的 EGF 受体上, 传递 *let-23* 至 *let-60* 之间的信号; 以及另一个由 *lin-45* 编码的类似于哺乳动物 Raf 蛋白的同源物, 它负责传递 Ras 的下游信号. *sem-5* 及 *let-60* 基因均作为正调节元件起作用, 负调节元件 *lin-1* 位于信号通路的最下游^[3, 6, 9].

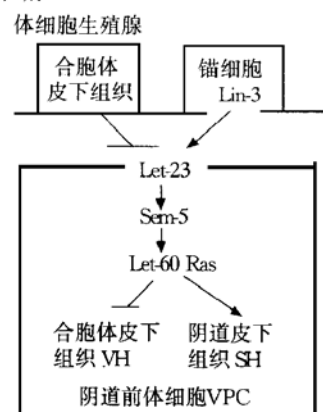


图 4 线虫阴道发育信号模型

3.3 其他相关基因

如 *lag-1* 及 *lag-2* 作为正调节元件作用于 *glp-*

1 和 *lin-12* 的下游. 还有决定寿命时间的基因 *clk-1*, 促进雄性发育的基因 *xol-1*, 同源异型基因 (homeobox) 等, 总之, 线虫的发育是多个细胞相互作用的信号过程调控的结果^[10-17].

4 线虫的细胞程序性死亡

线虫细胞程序性死亡主要特征是 DNA 的迅速降解. 共有 14 个基因参与线虫细胞程序性死亡的调控, 这些基因起着控制吞噬细胞识别、吞噬及消化死亡细胞残骸的作用. 其中不少基因具有编码蛋白质功能, 如 *nuc-1* 负责编码 DNA 内切酶, *ced-3* 负责编码的是类似于半胱氨酸蛋白酶的物质. 具体分工是这样的: *ced-3* 与 *ced-4* 的作用是启动细胞的程序性死亡, 而它们的作用受到 *ced-9* 的抑制, 这种抑制作用是一种拮抗作用, 因为 *ced-9* 的过量表达会造成本应死亡的细胞存活下来, 而它的缺失突变体中同样没有细胞死亡发生, 而且细胞发育形成的数目也减少了, 所以 *ced-9* 是细胞必需的. 在哺乳动物中有一个基因 *bcl-2*, 它编码的是一个蛋白家族 Bcl-2, 其作用与 *ced-9* 的蛋白产物 CED-9 类似, 也能抑制细胞的程序性死亡发生, 实验表明, 二者具有较高的同源性. 目前 *ced-9* 与 *ced-3* 及 *ced-4* 作用的具体机制尚未明了, 仅有 CED-9 对 CED-3 及 CED-4 的活性具有拮抗作用的证据. 另外, *ced-4* 通过不同的剪切方式可编码两种相关但不同的蛋白: CED-4_s 为短链型, 含量较多, 可促进细胞程序性死亡; CED-4_l 为长链型, 含量较少, 作用相反. 而 CED-9 恰好与 CED-4_s 的作用最为强烈, 或许这就是程序性死亡至关重要的控制点^[18, 19]. *ced-2*、*ced-5* 及 *ced-10* 与吞噬细胞的识别有关, 它们可作为吞噬细胞受体系统的一部分, 负责识别死亡细胞表面的非特异性变化. *ced-1* 及 *ced-8* 则可能控制了由死亡细胞表达的特异性标记, 并由吞噬细胞的 *ced-6* 及 *ced-7* 基因控制的受体专一性识别. 这两个过程是有一定的互补意义, 即使缺少了其中一个过程, 另一过程也会引起细胞死亡^[18, 20].

关于细胞程序性死亡的真正原因可能与细胞的选择性决定及排列有关^[18].

5 结 语

以上是对线虫发育的分子生物学研究进行的简略概括. 这对于其他无脊椎动物或脊椎动物的发育过程的了解是有帮助的. 线虫的发育模式已经成为

经典模式, 下一步要做的是将其有关的分子信号传递及细胞间相互作用机制弄清楚, 为以后的深入研究奠定基础。

参 考 文 献

- Brenner S. The genetic of *Caenorhabditis elegans*. Genetics, 1974, **77** (1): 71~ 94
- Sulston J E, Horvitz H R. Post-embryonic cell lineages of the nematode, *Caenorhabditis elegans*. Developmental Biology, 1977, **56** (1): 110~ 156
- Lambie E J, Kimble J. Genetic control of cell interactions in nematode development. Annu Rev Genet, 1991, **25**: 411~ 436
- Sulston J E, Schierenberg E, White J G, *et al.* The Embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans*. Developmental Biology, 1983, **100** (1): 64~ 119
- Kimble J E, White J G. On the control of germ cell development in *Caenorhabditis elegans*. Developmental Biology, 1981, **81** (1): 208~ 219
- Horvitz H R, Sternberg P W. Multiple intercellular signalling systems control the development of the *Caenorhabditis elegans* vulva. Nature, 1991, **351** (6321): 535~ 541
- Silva I F, Plasterk R H A, *et al.* Characterization of a G-protein α -subunit gene from the nematode *Caenorhabditis elegans*. J Mol Biol, 1990, **215** (4): 483~ 487
- Voorn L, Gebbink M, Plasterk R H A, *et al.* Characterization of a G-protein β -subunit gene from the nematode *Caenorhabditis elegans*. J Mol Biol, 1990, **213** (1): 17~ 26
- Sternberg P W. Intercellular signaling and signal transduction in *C. elegans*. Annu Rev Genet, 1993, **27**: 497~ 521
- Bürglin T R, Ruvkun G, Coulson A, *et al.* Nematode homeobox cluster. Nature, 1991, **351** (6321): 703
- Ebert I I, Cherkasova V A, Dennis R A, *et al.* Longevity-determining genes in *Caenorhabditis elegans*: chromosomal mapping of multiple noninteractive loci. Genetics, 1993, **135** (4): 1003~ 1010
- Ewbank J J, Barnes T M, Lakowski B, *et al.* Structural and functional conservation of the *Caenorhabditis elegans* timing gene *clk-1*. Science, 1997, **275** (5302): 980~ 983
- Gao D, Kimble J. APX-1 can substitute for its homolog LAG-2 to direct cell interactions throughout *Caenorhabditis elegans* development. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, **92** (21): 9839~ 9842
- Hawkins N C, McGhee J D. Homeobox containing genes in the nematode *Caenorhabditis elegans*. Nucleic Acids Research, 1990, **18** (20): 6101~ 6106
- Lichtsteiner S, Tjian R. Cloning and properties of the *Caenorhabditis elegans* TATA-box-binding protein. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, **90** (20): 9673~ 9677
- Miller L M, Plenefisch J D, Casson L P, *et al.* *xol-1*: A gene that control the male modes of both sex determination and X chromosome dosage compensation in *C. elegans*. Cell, 1988, **55** (1): 167~ 183
- Sugimoto A, Hozak R R, Nakashima T, *et al.* *dad-1*, An endogenous programmed cell death suppressor in *Caenorhabditis elegans* and veretebrates. EMBO J, 1995, **14** (18): 4434 ~ 4441
- Vaux D L. Toward an understanding of the molecular mechanisms of physiological cell death. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, **90** (3): 786~ 789
- Spector M S, Desnoyers S, Hoepfner D J, *et al.* Interaction between the *C. elegans* cell-death regulators CED-9 and CED-4. Nature, 1997, **385** (6617): 653~ 656
- Ellis R E, Jacobson D M, Horvitz H R. Genes required for the engulfment of cell corpses during programmed cell death in *Caenorhabditis elegans*. Genetics, 1991, **129** (1): 79~ 94

A Summary of the Study on Developmental Molecular Biology of *C. elegans* as a Model System. FENG Liang, LIAO Xiang-Hua (Ichthyology Laboratory, Life Science School, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China).

Abstract *Caenorhabditis elegans* is a very suitable model system for study of animal development. Based on the fixed cell lineage of *Caenorhabditis elegans*, many procedures involved in development, such as cell interaction, signal transduction mechanism, cell programmed death and multigene regulation of development, can be studied and clarified in the future.

Key words *Caenorhabditis elegans*, cell lineage, cell interaction, signal mechanism, cell programmed death, model system