

微型述评

左右不对称信号分子 Pitx2

刘冀珑 谭 燕¹⁾

(中国科学院动物研究所, 生殖生物学国家重点实验室, 北京 100080)

摘要 同型框基因 *Pitx2* 在鸡、小鼠和爪蟾胚胎中不对称地表达在左侧板中胚层和衍生器官 (如心脏、肠等) 中. 转录因子 *Pitx2* 看来是 *Shh* 和 *Nodal* 等信号分子的下游效应子. *Pitx2* 的错误表达足以产生器官逆位和身体旋转逆向, 人类若有 *Pitx2* 表达缺陷就可能引起 Rieger 综合征. *Pitx2* 看来是脊椎动物介导左右不对称的关键且保守的信号分子.

关键词 左右不对称, *Pitx2*, 脊椎动物

学科分类号 Q344, Q952, Q71

1 左右不对称

对称是动物形态发育中的一个基本特征, 如球形 (团藻虫属)、星形 (海星)、螺旋形 (蜗牛、纤毛虫)、左右对称 (果蝇) 和假左右对称 (人) 等. 但对称是相对的, 虽然脊椎动物身体外表表现为两侧对称, 但内脏器官实际上表现为显著的左右不对称 (left-right asymmetry). 在器官发生中, 胸部和腹部的非成对器官开始在中线发育然后侧面化. 第一个左右不对称标志是发育中的心脏出现右边襻 (right-sided looping). 第二个不对称标志是羊膜动物胚胎身体的旋转. 实际上所有内脏器官最终都表现为左右不对称, 或者是在体腔中的位置, 或者是左右两边的形态差异. 在一定种范围内内脏排列不对称性是恒定的, 在进化上很保守. 器官位置发育正常的叫正位 (situs solitu), 镜像排列的叫做逆位 (situs inversus), 部分位置缺陷的叫异位 (heterotaxy), 完全失去不对称性的叫异构 (isomerism). 人的左右轴变形表现各异, 在遗传上也为异质 (来源不同). 一般地, 彻底的逆位并没有引起严重的后果, 但异位或异构的个体却与中等至严重的生理疾患紧密相关. 由于左右不对称的正确建立对于生存十分关键, 因此这些不对称性的启动和维持的机制必定被严格调节并进化保守.

对左右不对称产生机理的研究可追溯至 19 世纪, 但一直进展不大. 直到最近几年发现一系列基因不对称地表达在脊椎动物早期胚胎中, 这些基因

表达在不对称形态出现之前^[1-7]. 这些发现使得阐明左右不对称的分子机制的研究出现转机.

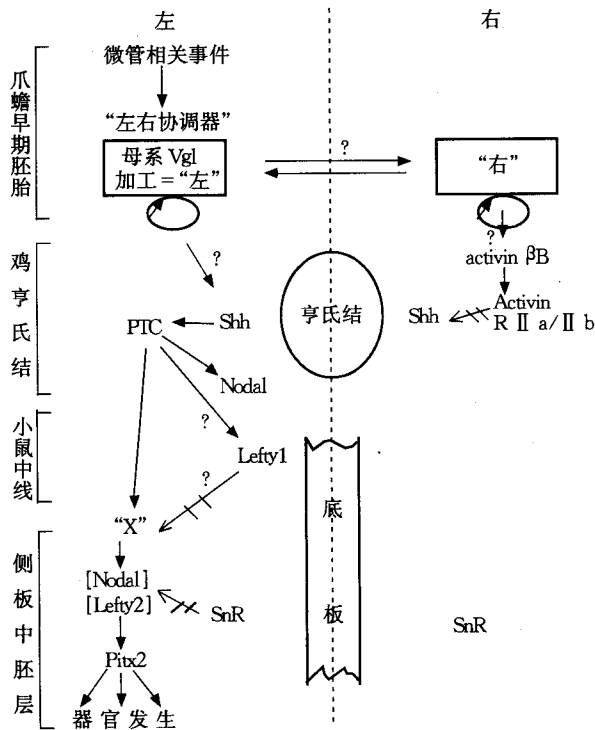
几乎在同一时间, 《Nature》、《Cell》和《Journal of Biological Chemistry》三种国际顶尖科技杂志分别独立推出主题为左右不对称的论文, 其中心关键词是 “*Pitx2*”^[1-6].

2 *Pitx2* 在左右不对称信号通路的位置

在对鸡胚左右不对称的研究中研究者发现存在一个信号级联, 它包括 TGF- β 超家族的成员 *Activin- β B*, *Nodal* 和 *Activin* 受体 *R II A* (*cAct-R II A*) 及 *Shh* (*Sonic hedgehog*), 所有这些都在左右轴上不对称地表达. *Activin- β B* (不对称出现在胚胎 3-5+ 期的右侧) 可诱导 *cAct-R II A* 局部表达, 后者接着抑制 *Shh* 的左右对称性表达. 这样导致 *Shh* 只在左侧表达. 左侧表达的 *Shh* 接着诱导 *Nodal* 出现在左侧板中胚层. *Activin* 或 *Shh* 的错误表达将破坏 *nodal* 的正常表达模式, 使心脏襻随机化. 在爪蟾, TGF- β 家族成员 *Vg-1* 的不当表达可逆转 *nodal* 的表达导致内脏逆位. 缺失 *Act-R II B* (在小鸡或小鼠中并不是左右不对称表达) 的小鼠表现为包括异构在内的左右不对称缺陷, 提示 *Act-R II B* 在小鼠的左右通路中是一个关键成分^[1,2,4] (图 1).

¹⁾ 北大维信生物科技公司, 北京 100080.

收稿日期: 1998-09-18, 修回日期: 1998-11-24

图1 左右不对称通路图示^[8]

Pitx2 全称为“垂体同型框2” (pituitary homeobox 2), 是同型框基因 *bicoid* 相关家族的一员, 因最初发现在垂体发育中发挥作用而得名^[5,7], 也有一些研究者称之为 *Otlx2*, *RIEG*, *Ptx2* 或 *Brx1*^[4,5]. 在鸡、爪蟾和小鼠中, *Pitx2* 表达在胚胎左边的侧板中胚层, 它接着不对称地表达在针对胚胎轴左右不对称的几个器官中. 将装有 Activin 蛋白的肝素丙烯酸小珠植入 4 期胚胎亨氏结 (Hensen's node) 左侧, 使 Activin 异位表达, 结果 *Pitx2* 表达出现混乱. 同样处理使 Shh 异位表达, 结果 *Pitx2* 异位表达在右侧板中胚层. 将表达 Nodal 的鸡胚成纤维细胞 (chick embryo fibroblast cells, CEFs) 植入 6 期胚胎右侧使 Nodal 异位表达, 4 h 后在植入位点发现 *Pitx2* 表达^[5]. 在侧面缺陷突变型小鼠中, *Pitx2* 表达与内脏位置变化相协调, 与 *nodal* 表达平行. 通过显性-阴性 activin 受体 R II A 来抑制 Nodal 信号也改变 *Pitx2* 表达. *Pitx2* 可能解译并接下来执行上游信号分子发出的左右不对称发育计划, 这些结果确证了 *Pitx2* 是控制胚胎左右不对称通路中第一个进化保守性转录因子^[1,3,5].

3 *Pitx2* 与左右不对称效应

Pitx2 在左侧板中胚层的不对称表达, 和

Pitx2 可以被异位表达的 Shh 和 Nodal 诱导在左右侧板同时表达, 表明 *Pitx2* 可能是导致左右不对称信号通路的下游效应子之一. 用含全长度 *Pitx2* 的 RCAS 逆转录病毒载体感染 4~6 期鸡胚右侧板中胚层, 并在 11~13 期检查胚胎以观察心脏形态的变化. 沿背腹轴横切, 大约一半的感染胚胎心脏相对正常, 但位置向头区移动了. 其余胚胎粗看正常, 但仔细检查仍有 55% 出现心脏位置缺陷. 许多感染胚胎 (约 70%) 有一个两边对称的心脏, 约 25% 的胚胎有反向心脏瓣, 偶尔有两个心脏出现. 当感染 *Pitx2* 的 4 期胚胎进一步发育, 约 12% 的胚胎表现出胚胎旋转反向 (左转代替正常的右转). 这个结果提示 *Pitx2* 在身体左边的更强表达可能与后来时期确定身体旋转方向相关. 显微注射 *Pitx2* mRNA 到两细胞爪蟾胚胎显示, 如同在鸡胚中一样, *Pitx2* 的过度表达引起左右不对称改变. 观察到的主要表型是内脏异位 (例如心脏常与肠道绕行反向), 也有一些胚胎出现内脏逆位^[1,3,4].

Pitx2 在人体上的同源因子 *RIEG* 据认为是 Rieger 综合征的根源^[1,6]. 早在 1935 年 Rieger 综合征即被确认是一种遗传病, 具体地讲, Rieger 综合征是常染色体显性的人类疾病, 表现为眼前室异常、牙齿生长不全、轻度颅面异形、脐带畸形, 伴随心脏、四肢和垂体发育的零星缺陷. 在 *Pitx2* 转录调节研究中发现 *Pitx2* 的 DNA 结合和转录特性可被蛋白质-蛋白质相互作用进行调适, Rieger 突变者可能就是在发育中影响了这种蛋白质-蛋白质相互作用^[6]. 在脊椎动物中, *Pitx2* 可能打开负责导致左右不对称形态事件的基因网. 从感染 Rieger 综合征的个体的脐和心脏的非正位表型可提示 *Pitx2* 和心脏、肠道发育的联系^[1,4].

4 *Pitx2* 的通用性和保守性

Pitx2 是程序性介导左右不对称模式的中心诱导效应子. Shh, Nodal 和 Lefty 等信号分子表达短暂且在可见不对称形态发生之前就已消失, *Pitx2* 则不然. *Pitx2* 表达开始于器官发生之始, 并贯穿于胚胎发生. *Pitx2* 不但不对称地表达在左侧板中胚层, 也在与其相关的衍生器官上不对称地表达. *Pitx2* 对于左右不对称结构的作用不限于心脏, 它在保持正确肠道位置、正向身体旋转以及血管、胃等内脏的左右不对称效应上也是必需的. 因此, *Pitx2* 被认为是第一个调节内脏左右不对称性的转录因子^[1,4,5].

通过鸡和爪蟾 cDNA 文库筛查分离不同动物的 *Pitx2* (或其同源物), 一些动物的 *Pitx2* 同源鉴定结果为: 鼠与人: 98%; 鸡与小鼠: 97%; 鸡与人: 96%; 爪蟾与鸡、小鼠或人: 89%。研究者还发现小鼠 *Lefty* 蛋白可以影响鸡 *Pitx2* 表达^[3]。种种迹象表明, *Pitx2* 是在脊椎动物沿整个左右轴建立不对称性的信号级联中的一个进化保守的下游效应子^[1, 4, 5]。

参 考 文 献

- 1 Ryan A K, Blumberg B, Rodriguez-Esteban C, *et al.* *Pitx2* determines left-right asymmetry of internal organs in vertebrates. *Nature*, 1998, **394** (6693): 545~ 551
- 2 Meno C, Shimono A, Saijoh Y, *et al.* *Lefty-1* is required for left-right determination as a regulator of *lefty-2* and *nodal*. *Cell*, 1998, **94** (3): 287~ 297
- 3 Yoshioka H, Meno C, Koshihara K, *et al.* *Pitx2*, a bicoid-type homeobox gene, is involved in a lefty-signaling pathway in determination of left-right asymmetry. *Cell*, 1998, **94** (3): 299~ 305
- 4 Logan M, Pagar-Westphal S M, Smith D M, *et al.* The transcription factor *Pitx2* mediates situs-specific morphogenesis in response to left-right asymmetric signals. *Cell*, 1998, **94** (3): 307~ 317
- 5 Piedra M E, Icardo J M, Albajar M, *et al.* *Pitx2* participates in the late phase of the pathway controlling left-right asymmetry. *Cell*, 1998, **94** (3): 319~ 324
- 6 Amendt B A, Sutherland L B, Semina E V, *et al.* The molecular basis of Rieger syndrome: analysis of *Pitx2* homeodomain protein

activities. *J Biol Chem*, 1998, **273** (32): 20066~ 20072

- 7 Gage P, Camper S. Pituitary homeobox 2, a novel member of the bicoid-related family of homeobox genes, is a potential regulator of anterior structure formation. *Hum Mol Genet*, 1998, **6**: 457~ 464
- 8 Harvey R P. Links in the left/right axial pathway. *Cell*, 1998, **94** (3): 273~ 276

Pitx2: a left-right Asymmetric Signalling Molecule.

LIU Ji-Long, TAN Yan¹⁾ (*State Key Laboratory of Reproductive Biology, Institute of Zoology, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China; ¹⁾ WBL Peking University Biotech Co. Ltd., Beijing 100080, China*).

Abstract *Pitx2* is asymmetrically expressed in the left lateral plate mesoderm and derived organs such as heart and gut during chick, mouse and *Xenopus* development. *Pitx2* appears to be downstream effector of Shh and Nodal. Misexpression of *Pitx2* is sufficient to produce reversed organs of body rotation. Defect of *Pitx2* in human may cause Rieger syndrome. *Pitx2* seems to be a key conserved signalling molecules that mediates left-right asymmetry in vertebrate.

Key words left-right asymmetry, *Pitx2*, vertebrate

蛋白质的玻璃化*

范培昌

(华东师范大学生物系, 上海 200062)

摘要 在成玻载体 (糖类) 和保护剂 (分子伴侣和脱水蛋白) 存在下, 蛋白质类生物活性物质可在室温下被玻璃化。这类玻璃态产品在室温下极其稳定, 已被用于可在室温下长期储、运的新一代体外诊断试剂盒的生产。有迹象表明, 植物种子的休眠即是由于种子内含有全套成玻物和保护剂, 使其所含活性分子能在自然条件下玻璃化而高度稳定。

关键词 玻璃化作用, 蛋白质, 植物种子, 诊断试剂, 稳定性

学科分类号 Q51

何谓玻璃化技术? 物理学界早就指出, 当某些物质处在低于或等于该物质的“玻璃转换温度 (glass transition temperature; T_g)”时就会形成玻璃 (glasses)。此时, 因分子几无活动和扩散, 故能在常温下保持永久稳定。正如 Franks 所述^[1], 由于玻璃化过程中物质并不结晶, 而是形成一种极粘滞的“超冷冻 (super cooled)”液体。此时, 因

仍保持着作为液体特征的分子无序性, 故把玻璃也称为“无定形固体 (amorphous solid)”, 并以此区别于真正的固体。1997 年, Poole 总结了各种物质玻璃化过程, 提出液体也具多态性的理论^[2], 认为一种多组分溶液 (流动态) 若在 T_g 条件下蒸发

* 上海市科委立项并已通过鉴定的项目 (沪科鉴 (98) ZR4277)。

收稿日期: 1998-06-22, 修回日期: 1998-11-24