

have been published and divided into 14 sub-families , the largest one known is the Eph sub-family which is comprised of at least fifteen members. Some of the Eph family members are predominantly expressed in the developing brain, the others are expressed in a broader range of tissues. Recently the findings of the

excellular ligands of this family should facilitate further studies of its function. The isolation, pattern of expression and the ligands of Eph-like receptors are summarised.

Key words receptor tyrosine kinase (RTK), Eph-subfamily, ligand

印迹基因及其对胚胎发育的调控

李宏军 郭应禄

(北京医科大学第一医院泌尿外科, 北京 100034)

张志文

(北京医科大学生理学系, 北京 100083)

摘要 某个基因位点呈单等位基因表达, 且通过某种基因修饰作用来特异地抑制另一等位基因的表达, 将这一基因称为印迹基因, 它是等位基因排斥作用的一种特殊形式. 多数印迹基因与胚胎发育有关, 可以调节胚胎的生长、发育及新生儿的生长, 印迹功能的紊乱可以导致多种发育异常及死胎. 印迹基因的形成、特异识别及印迹性表达缺陷的机制还不清楚.

关键词 印迹基因, 胚胎, 生长发育

学科分类号 Q75, R699

1 印迹基因的概念、作用及特征

哺乳动物和人类受精卵从双亲中各继承了一套基因, 因而构成了双倍体, 每一个常染色体基因均为双拷贝. 人们推测, 在一个细胞核里每一个父源和母源性常染色体基因拷贝都能有均等的机会来行使其功能, 等位基因的两个基因位点可能同时表达或受到抑制. 然而有些基因, 如免疫球蛋白与嗅觉受体基因, 是单个等位基因随机地表达, 且抑制亲本另一等位基因的表达, 呈差异性表达, 这种现象称为等位基因排斥作用 (allelic exclusion). 如果某个基因位点成为单等位基因表达, 即父源与母源性的基因拷贝不能同时表达, 且通过某种特异的基因修饰机制来特异地抑制另一父源或母源的染色体等位基因表达, 即称之为印迹基因 (imprinted gene) (图 1)^[1,2].

印迹基因仅发现于哺乳动物, 是在长期进化过程中形成的自我调控与监护机制. 大多数印迹基因与胚胎发育有关^[3], 它们在胚胎发育中起重要的调节作用, 可以调节胚胎的生长和发育、胚胎在子宫内的生长以及新生儿的生长. 印迹功能的紊乱将导致多种发育异常及死胎. 近年的研究还发现, 在许多肿瘤组织中印迹基因失去表达, 如在睾丸生殖细胞肿瘤和膀胱癌中的 IPW 基因^[4]、在 Wilm's 瘤、癌和肉瘤中的 IGF2 基因、在 Wilm's 瘤中的 IGF2R 基因及在多种癌症中的 H19 基因^[5], 表明基因印迹作用的改变在肿瘤发生中起一定作用, 某些印迹基因, 如 H19 可能与肿瘤抑制作用有关. 神经遗传性失调的 Angelman Syndrome 是由于 15 号染色体上母源性表达的印迹基因功能丧失所致^[6,7].

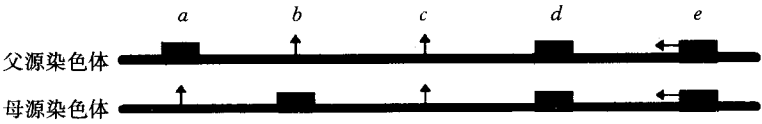


图 1 二倍体细胞等位基因表达方式模式图

a: 母源性表达的印迹基因; b: 父源性表达的印迹基因; c: 双等位基因表达; d: 被抑制的基因; e. 随机性单等位基因表达 (等位基因排斥作用).

可遗传的染色质结构修饰在染色体凝缩和选择性基因失活中具有重要意义。印迹基因的形成、特异性识别及印迹基因缺陷的机制还不清楚,可能与印迹基因的差别修饰有关,差别修饰使抑制或激活单基因表达成为可能。如染色体特异性 CpGs 甲基化作用,可能与识别亲源的不同基因有关,甲基转移酶纯和缺失的小鼠 H19、Igf2 及 Igf2r 基因表达异常,甲基化作用对转 H19 基因的印迹表达至关重要^[8],并可通过分析羊水细胞及绒毛膜的 DNA 甲基化作用来检测产前的印迹作用缺陷^[9],表明染色体甲基化对维持印迹基因的正常表达有重要意义,但这种甲基化作用是印迹作用的原因还是其结果尚不清楚^[10]。印迹基因尚可能通过远距离复杂的基因调控,包括染色质结构、反式作用因子及顺式作用序列等起作用。Buiting 等^[6, 11]曾提出与印迹基因存在于同一区域的单一遗传成分通过顺式作用来调节基因组的印迹作用,将这个单一遗传成分称为印迹中心 (the imprinting center, IC),并为后来的研究证明在印迹作用启动过程中 IC 的重要作用, H19 印迹基因的调控成分与 H19 基因 DNA 序列及基因转录无关,而是位于 H19 基因上游 10 kb 的区域内^[12],深入研究证明了一个不依赖亲源独立存在的 H19 基因上游处约 1.2 kb 的顺式调节成分的存在,即印迹中心的存在,可以抑制 H19 基因的印迹作用^[13]。

印迹基因具有如下 4 个特征^[2, 14~ 16]:

a. 印迹基因可以特异地表达父源或母源性等位基因中的一个。截止 1997 年 5 月已发现 21 个印迹基因中,其中有 15 个表达在父源性染色体,而母源性染色体静止,称为父源印迹;5 个表达在母源性染色体,而父源性染色体静止,称为母源印迹。

b. 印迹基因在染色体上无特异性结构,常单独存在,可以集结为染色体的一个功能区。

c. 印迹性单等位基因的表达是间断性的,只有 Xist 基因例外。雌性哺乳动物中灭活 X 染色体所必需的 Xist 基因仅表达于无活性的 X 染色体上,参与灭活邻近的基因^[17, 18],呈现较随机性单等位基因表达,且失去双亲基因的特异性。其他的印迹基因在发育、分化和疾病中可呈现单等位基因和双等位基因表达或交替表达。例如,小鼠 Igf2r 基因在孕卵植入前呈双等位基因表达,而在植入后则显示母源性等位基因的特异性表达;人类 IGF2 基因在胎肝中是父源性特异表达,而在生后阶段则变成

双等位基因表达,在许多肿瘤病人中 IGF2 及其邻近的 H19 基因常失去印迹性表达 (loss of imprinted expression, LOI)^[15]。

d. 小鼠及人类的印迹基因表达均十分保守,但在表达方式及表达部位上有一些不同。如小鼠 Igf2r 基因在植入后,胚胎的所有的组织中均表达单等位基因,而人类 IGF2R 基因只在少数人群中呈单等位基因表达;小鼠 Peg3 印迹基因高表达于成年小鼠脑,而人类 PEG3 基因则高表达于卵巢和胎盘^[19]。

在已确认的 21 个印迹基因中,人们采用了 5 种研究策略^[2, 20]:通过印迹基因的表型来对从前确认的每一个印迹基因进行定位克隆;小鼠基因打靶与转基因动物;通过前核移植实验来人工构建单亲源染色体的二倍体动物;按照已发现的印迹基因相近的模式来绘制印迹基因结构;显示等位基因的特异性表达或特异性甲基化作用。

2 印迹基因与胚胎发育

妊娠期胎儿的大小和重量因动物的种属而异,出生重量主要由胎盘的大小所影响以及来源于双亲等位基因之一的一套印迹基因的表达与特性所决定^[3]。印迹基因在调节哺乳类动物胚胎的妊娠重量中起重要作用。

在小鼠试验中首先观察到了印迹基因对胚胎生长的重要作用。McGrath 和 Surani 等^[21, 22]分别进行了一项重要试验,他们将核移植技术用于小鼠胚胎试验,使得小鼠受精卵单独从母源或父源获得两套染色体,仍形成二倍体受精卵,并使其在子宫内继续发育,分别称之为雌核发育 (gynogenotes) 和雄核发育 (androgenotes)。这种雌核发育和雄核发育的胚胎均不能完成发育的全过程。进一步观察发现雄核发育者胚胎生长不良,而胎盘发育相对良好;雌核发育则呈现相反的状态,胚胎生长良好,胎盘发育较差。认为父源性基因组的印迹基因表达促进胎盘生长,而母源性基因组的印迹基因表达则有利于胚胎生长,两者均为正常胚胎发育所必需。

对染色体易位株小鼠的试验研究结果也支持印迹基因调节胚胎生长的观点。易位株小鼠子代的特异的染色体可呈现单亲源性二倍体 (uniparental disomy, UPD) 即它们是二倍体核型,但染色体的两个拷贝均来自于一个亲源的染色体。通过选择性繁育,使得人们可能对多数小鼠的基因组进行分析,结果发现 6 个染色体 (2、6、7、11、12 和

17) 上具有印迹基因^[20]. 对 UPD 小鼠的研究结果表明: 只有少数的基因组携带有印迹基因, 通过表型或基因打靶分析的 1 000 个小鼠基因中只有 3 个是印迹基因, 估计印迹基因的总数在 2~ 300 个; 印迹基因对于胚胎正常发育是必需的, 因为多数 UPD 导致胚胎死亡. 对少数 UPD 存活者研究发现: 父源性的 UPDs, 如小鼠 11 号染色体的 UPDs, 可以促进胚胎的生长; 而母源性 UPDs 则抑制胚胎生长, 似乎表明父源性表达的印迹基因的作用可能是通过增加胎盘的营养转送而实现; 而母源表达的印迹基因作用恰好相反, 可能是因胎盘发育不良造成胎盘功能异常, 进而影响胚胎生长所致. 近年来有关 UPDs 的研究已发展到了人类自身, 发生在 15q 的 PraderWilli/ Angelmans 综合症和在 11p 的 Beckwith Weicلمان 综合症均为印迹综合症, 对其表型的观察研究证明了父源性表达的印迹基因具有生长促进作用, 而且在出生后印迹基因对生长仍具有调节作用^[23].

在小鼠 7 号染色体远侧臂的约 600 kb 范围内集结了 H19、Mash2、P57^{kip2}、和 Igf2 四个印迹基因, 也发现于人类的同源基因上. 首先分离到的三个印迹基因是 Igf2、Igf2r 和 H19^[3]. Igf2 呈父源性表达, 在胚胎的多数组织中大量表达, 是一个潜在的生长调节剂, 对维持正常发育至关重要. H19 基因呈母源性表达, 高表达于小鼠胚胎的内胚层和中胚层, 出生后数天内除肌肉组织外全部消失. H19 与 Igf2 两者在基因位置上相距仅 80 kb, 在胚胎发育中的许多组织中均以相似的模式表达, 形成交互印迹作用^[12]. H19 虽可调节胚胎发育, 但对胚胎发育并不是必需的, 在 H19 发生缺失突变的小鼠胚胎中因邻近的 Igf2 呈双等位基因表达而获得了较大胚胎发育^[12], 并认为 H19 和 Igf2r 可通过减低 Igf2 基因的 RNA 与蛋白质表达水平而起作用. 进一步支持了父源性表达的基因增加胚胎的生长, 而母源性表达的基因拮抗这种效应的假说. 通过基因打靶分析的第四个印迹基因 Mash2 是一个母源性表达的基因, 对胚胎发育来说是必需的. Mash2 基因是胎盘组织的生长促进因子, 缺乏活性 Mash2 母源性基因拷贝的胚胎不能植入子宫, 因而不久即死亡^[24].

3 印迹基因调节胚胎生长的可能机制

通过分析 4 个灭活的印迹基因, 结合雄核发育与雌核发育、UPD 小鼠和肿瘤中的 LOI, 认为印

迹基因的功能在于调节胚胎的营养需求, 以维持胎儿需求与母体供应间的平衡. 已有许多学说来解释印迹基因的作用^[2], 如在胚胎中双亲源性的印迹基因的作用相互抵触, 母源性印迹基因可以防御滋养层疾病, 并在植入过程中耐受父源性抗原; 防止通过单性生殖的无性繁殖 (parthenogenesis), 并调节基因的表达量; 在精卵发生中表现出印迹基因的其他作用, 并对染色体结构变化作出相应的应答等.

有关印迹基因的研究起步不久, 目前仍停留在现象描述阶段, 还有许多问题难以解释, 如印迹基因的形成与识别机制; 是否父源或母源性基因表达在生长调控中起相反的作用; 父源或母源性基因表达对不同种属胚胎或胚胎外组织的作用如何等, 是遗传学与胚胎学研究的重要课题, 有待深入研究.

参 考 文 献

- 1 Beechey C V, Cattanach B M. Genetic imprinting map. *Mouse Genome*, 1996, **94** (1): 96~ 99
- 2 Barlow D P. Imprinted genes and embryonic growth control. In: Waites G M H eds. *Current Advances in Andrology*. Italy: Lotoser Rastignano Bologna Press, 1997. 3~ 9
- 3 Barlow D P. Gametic imprinting in mammals. *Science*, 1995, **270** (5242): 1610~ 1613
- 4 Rachmilewitz J, Elkin M, Looijenga L H J, *et al.* Characterization of the imprinted IPW gene: allelic expression in normal and tumorigenic human tissues. *Oncogene*, 1996, **13** (8): 1687~ 1692
- 5 Xu Y, Grundy P, Polychronakis C. Aberrant imprinting of the insulin-like growth factor II receptor gene in Wilms' tumor. *Oncogene*, 1997, **14** (5): 1044~ 1046
- 6 Burger J, Buiting K, Dittich B, *et al.* Different mechanisms and recurrence risks of imprinting defects in Angelman syndrome. *Am J Hum Genet*, 1997, **61** (1): 88~ 93
- 7 Greger V, Knoll J H M, Wagstaff J, *et al.* Angelman syndrome associated with an inversion of chromosome 15q11.2q24.3. *Am J Hum Genet*, 1997, **60** (3): 574~ 580
- 8 Elson D A, Bartolomei M S. A 5' differentially methylated sequence and the 3' flanking region are necessary for H19 transgene imprinting. *Mol Cell Biol*, 1997, **17** (1): 309~ 317
- 9 Kobota T, Aradhya S, Macha M, *et al.* Analysis of parent of origin specific DNA methylation at SNRPN and PW71 in tissues: implications for prenatal diagnosis. *J Med Genet*, 1996, **33**: 1011 ~ 1014
- 10 Sasaki H, Ferguson-Smith A C, Shum A S W, *et al.* Temporal and spatial regulation of H19 imprinting in normal and uniparental mouse embryos. *Development*, 1995, **121** (12): 4195~ 4202
- 11 Dittich B, Buiting K, Korn B, *et al.* Imprinting switching on human chromosome 15 may involve alternative transcripts of the SNRPN gene. *Nat Genet*, 1996, **14** (2): 163~ 170
- 12 Ripoche M A, Kress C, Poirier F, *et al.* Deletion of the H19 transcription unit reveals the existence of a putative imprinting control element. *Genet Develop*, 1997, **11** (12): 1596~ 1604
- 13 Lyko F, Brenton J D, Surani M A, *et al.* An imprinting element from the mouse H19 locus functions as a silencer in *Drosophila*. *Nat Genet*, 1997, **16** (2): 171~ 173
- 14 Latham K E. X chromosome imprinting and inactivation in early

- mammalian embryos. *TIG*, 1996, **12** (4): 134~ 138
- 15 Szabo P E, Mann J R. Allele-specific expression and total expression levels of imprinted genes during early mouse development-implications for the imprinting mechanism. *Gene Develop*, 1995, **9** (24): 3097~ 3108
 - 16 Lerchner W, Barlow D P. Paternal repression of the imprinted mouse *Igf2r/Mpr 300* locus occurs during implantation and is stable in all tissues of the post implantation mouse embryo. *Mech Develop*, 1997, **61** (1): 141~ 149
 - 17 Lee J T, Jaenisch R. Long-range *cis* effects of ectopic X-inactivation centres on a mouse autosome. *Nature*, 1997, **386** (6622): 275~ 279
 - 18 Herzing L B K, Romer J T, Horn J M, *et al.* Xist has properties of the X-chromosome inactivation center. *Nature*, 1997, **386** (6622): 272~ 275
 - 19 Kim J, Ashworth L, Branscomb E, *et al.* The human homolog of a mouse-imprinted gene, *Peg3*, maps to a zinc finger gene rich region of human chromosome 19q13. 4. *Genome Res*, 1997, **7** (5): 532~ 540
 - 20 Beechey C V, Cattanach B M. Genetic and physical imprinting map of the mouse. *Mouse Genome*, 1997, **95** (1): 100~ 105
 - 21 McGrath J, Solter D. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell*, 1984, **37** (1): 179~ 183
 - 22 Surani M A H, Barton S C, Norris M L. Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature*, 1984, **308** (5959): 548~ 550
 - 23 Ledbetter D H, Engel E. Uniparental disomy in humans-development of an imprinting map and its implications for prenatal diagnosis. *Hum Molecular Genet*, 1995, **4**: 1757~ 1764

- 24 Guillemot F, Caspary T, Tilghman S M, *et al.* Genomic imprinting of *Mash2*, a mouse gene required for trophoblast development. *Nat genet*, 1995, **9** (3): 235~ 242

Imprinted Genes and Embryos. LI Hong-Jun, GUO Ying-Lu (*Institute of Urology, Beijing Medical University, Beijing 100034, China*); ZHANG Zhi-Wen (*Department of Physiology, Beijing Medical University, Beijing 100083, China*).

Abstract Some genes express only one allelic gene and the another allelic gene is specifically inhibited through some kinds of gene modification. Those genes are called imprinted genes, and they are a unique model of allelic exclusion. Most of imprinted genes participate in regulating development and differentiation of embryo and newborn infant, and disorder of imprinting function may results in many kinds of abnormal development and stillbirth. The mechanisms for the formation of imprinted genes, specific recognition and the defect of imprinting function are still not very clear.

Key words imprinted gene, embryo, development

国内外生物信息学数据库服务新进展*

李维忠 王任小 林大威 毛凤楼 韩玉真 来鲁华¹⁾

(北京大学物理化学研究所, 北京 100871)

摘要 生物信息学是生命科学中最活跃的领域之一. 各类生物信息学数据库在近年不断出现, 其规模呈爆炸趋势增长, 同时数据结构日趋复杂. 目前生物信息学数据库服务已实现了高度的计算机和网络化. 算法和软件的进步、数据库的一体化、服务器-客户模式的建立使之成为生物、医药、农业等学科的强有力工具. 在国内北京大学物理化学研究所于 1996 年建立了第一家生物信息学网络服务器. 现已为国内外科学家提供了 7 万余次服务, 在国际上具有一定影响.

关键词 生物信息学, 数据库, 软件

学科分类号 Q71

生物信息学 (bioinformatics) 是近年来发展并完善起来的热门交叉学科. 近年来随着快速序列测定、基因重组、多维核磁共振、同步辐射、机器人等技术的应用, 生物学实验数据呈爆炸趋势增长, 同时计算机和国际互联网络的发展使对大规模数据的存贮、处理和传输成为可能. 现在某一实验室的研究成果一经进入生物信息网络便为全球科学家共

享. 从新基因的发现, 蛋白质的结构功能预测、疫苗的筛选到新药研制无不依赖于生物信息学, 它在生物、医药、农业、环境等学科的应用已无所不在.

* 863 高技术计划 (960311280)、攀登计划——生命过程中重要化学问题研究 (970211006)、国家杰出青年科学基金 (29525306) 及国家教委资助. ¹⁾ 通讯联系人.

收稿日期: 1997-09-26, 修回日期: 1998-02-19