

植物同源异型基因及同源异型盒基因的研究进展*

魏文辉 宋运淳¹⁾ 覃 瑞

(武汉大学发育生物学研究中心, 武汉 430072)

摘要 植物同源异型基因及同源异型盒基因是涉及植物个体发育调节的两类重要转录因子编码基因。近 10 年来的研究表明, 这两类基因及其产物的结构与功能具有明显的差异。深入研究这两类基因的结构与功能对揭示植物的发育机制具有重要意义。

关键词 同源异型基因, 同源异型盒基因, 发育调节

学科分类号 Q37

植物同源异型基因 (homeotic gene) 及同源异型盒基因 (homeobox gene) 是涉及生物个体发育调节的两类重要转录因子编码基因。植物中的同源异型盒基因一般不产生明显的同源异型突变, 所以不能称之为同源异型基因, 与能产生同源异型突变的同源异型基因之间存在着基序结构上的差别。动物中的同源异型盒基因一般能产生明显的同源异型突变, 故又称为同源异型基因。植物中的同源异型盒基因与同源异型基因区别在于: 前者具有保守的 183 bp 同源异型盒 (homeobox), 后者具有保守的 168 bp MADS 盒 (MADS-box) 或其他非典型序列^[1]。MADS 盒编码 56 个氨基酸, 动植物中的同源异型盒均编码 61 个氨基酸^[2], 但这 61 个氨基酸序列在动植物中其空间结构及成分不太相同, 因而存在着作用机制和功能上的差别。

研究同源异型盒基因首先是以果蝇为材料, 从果蝇中克隆了第一个同源异型盒基因 Antp 基因, 紧接着在海胆、线虫、蛙、鼠和人类中相继发现了同源异型盒基因。这些同源异型盒基因集中分布在一条或几条染色体上。植物中的同源异型基因及同源异型盒基因的研究起步较晚, 80 年代末至 90 年代初才开展起来。最早从植物中克隆的同源异型基因是金鱼草中的 *deficiens* (*defA*)^[3] 和拟南芥中的 *agamous* (*ag*)^[4]。最早克隆的同源异型盒基因是玉米中的 *Knotted-1* (*Kr1*) 基因^[5]。在不到 10 年的时间里, 植物中同源异型盒基因及同源异型基因的研究已获得了长足进展。目前从不同植物中克隆了上百种同源异型盒基因及同源异型基因。

1 植物同源异型基因及其产物的结构与功能

1.1 同源异型基因结构

首先从植物中克隆的两个同源异型基因, 即金

鱼草的 *defA* 和拟南芥的 *ag* 均含有 168 bp 的保守序列, 这个保守序列与酵母中编码 GRM (general regulator of mating type) 的 MCM1 (minichromosome maintenance) 基因及脊椎动物中编码血清反应因子 (serum response factor) 的 SRF 基因有区域类似性。这些基因决定 56 个氨基酸的基序被称为 MADS 盒 (MCM1-AGAMOUS-DEFICIENS-SRF)^[6]。

defA 基因全长 5.6 kb, 编码区 2.6 kb, 编码区上游 3.0 kb。S1 作图 (S1 mapping) 和引物延伸实验 (primer extension experiments) 揭示了 *defA* 启动子区域几个转录起始位点, 信号最强的那个位点在序列中被指定为 +1, 从 -19 到 -32 有一个较长的 TATA 盒 (TATA-box), TATA 盒上游是一个几乎完整的 244 bp 的反向重复 (inverted repeat), 在 *defA* 基因的转录调节中这个潜在的茎环结构 (stem-loop structure) 的意义是未知的^[3]。

对已知的转录因子编码基因启动子区域一致结合位点的研究揭示了转录起始位点上游 1.2 kb 有一个 CArG-box, 这一基序 (motif) 代表了 MADS-box 基因启动子区域结合位点的一致性, 这一区域对 *defA* 基因的表达调节是重要的。长 294 bp 的第一外元含有 MADS-box, 第 3 个和第 4 个外元对应于 K 盒 (K-box)。K 盒因其编码产物与角蛋白 (keratin) 卷曲螺旋区域结构类似而得名, 这一区域能形成两个 α 螺旋, 可能参与蛋白质间相互作用。K 盒 N 端赖氨酸的丢失, 会引起基因功能的突变^[3]。

* 国家自然科学基金 (39870423) 和国家教委博士点基金资助项目。

¹⁾ 通讯联系人。

Tel: (027) 87684505, E-mail: ycsong@whu.edu.cn

收稿日期: 1999-02-08, 修回日期: 1999-06-14

1.2 同源异型基因产物结构及作用方式

defA 是与金鱼草花瓣及雄蕊发育遗传控制有关的同源异型基因。根据 RNA 印迹分析, defA 基因在花中表达而在叶中不表达, 其表达在整个花发育过程中几乎是连续的。1.1 kb 长的 mRNA 有一个 681 bp 长的开放阅读框, 它能编码一种具 227 氨基酸的蛋白质。在其 N 端, DEF 蛋白显示出与动物中调节蛋白 SRF 及酵母中的调节蛋白 GRM/PRTF (pheromone receptor transcription factor) 的保守区域同源^[3]。ag 和 defA 这两个基因可能自主调节, 或通过其他与这两个基因蛋白质产物的保守区域同源的因子调节。

另对野生型花发育过程中 defA 及另一控制金鱼草花瓣和雄蕊发育的 glo 基因的时空表达方式的分析, 以及对花中各种稳定和不稳定 defA、glo 等位基因分析表明, defA 和 glo 的转录是独立诱导的。体内 DNA 结合研究表明 DEFA 和 GLO 蛋白作为异源二聚体特异地结合到靶基因启动子中的基序上来调节基因表达, 从而控制花瓣和雄蕊发育(器官特异性调节)。

金鱼草中的 flo 基因控制花序分生组织到花分生组织的转变。原位杂交表明 flo 基因在花发育的较早期阶段瞬时表达, 最早在苞片原基中表达, 接着在花萼、花瓣和心皮原基中表达, 但没有发现在雄蕊原基中表达, 这暗示着 flo 是以一种顺序方式与其他同源异型基因相互作用来影响花器官的特异性。flo 的转录本为 1.6 kb。FLO 蛋白含 396 或 397 个氨基酸, N 端富含脯氨酸, 中心区域为高度酸性, 富含谷氨酸和天冬氨酸, 这些特征常存在于转录因子中。FLO 可能是一种转录激活因子, 在一定原基中的表达可能激活一些决定器官分化的基因, 其 C 端序列对其功能影响可能更为重要^[7]。

1.3 同源异型基因的功能

1.3.1 在营养生长到生殖生长转变中起开关作用: 金鱼草中 ple 座位发生隐性突变引起性器官转变为无性的花被器官, 半显性的胚珠突变, 使无性的器官变成有性器官, 这一突变表型与 ple 突变的表型是互补的。ple 通常在花的内部两轮中表达, 即性器官发育的位置。胚珠突变体对应于 ple 的功能获得性等位基因, 表明 ple 在从营养生长到生殖生长的转变中促进性器官的发育^[8]。

1.3.2 在花序分生组织到花分生组织转变中起开关作用: 金鱼草中的 flo 基因^[7]、拟南芥中的 lfy 和 ap1 基因^[9]控制着花序分生组织向花分生组织的

转变, 它们的突变会引起花分生组织全部或部分转变为花序分生组织。ap1、lfy 二者具有重叠功能, 共同决定花分生组织的特异性。

1.3.3 在花器官发育中起开关作用: 控制花部结构的基因首先是通过分析相应的突变体而克隆得到的。花的四种结构: 花萼、花瓣、雄蕊和心皮成轮状排列, 称 1、2、3、4 轮。Coen 等建立了一个控制花结构性质的模型。若把每一类同源异型基因的功能划分为 a、b、c, 那么野生型花的四轮中功能组合为 a、ab、bc、c, 即花萼发育由 a 类基因控制, 花瓣由 a、b 两类基因控制, 雄蕊由 b、c 两类基因控制, 心皮由 c 类基因控制。每种同源异型突变使一种功能失活。在金鱼草中还发现有一种影响花结构在某一轮位置的突变 cyc, cyc 基因突变使金鱼草的两侧对称花变成了辐射对称花。这是一种独特的不影响某轮花结构性质, 但改变花结构在这轮位置的突变。

1.3.4 影响胚胎发育: 在种子发育中也发现一类同源异型突变。子叶是胚胎发生中产生的特化的叶, 二者在形态、超微结构及基因表达模式上均有区别。Meinke^[10]分离到的叶状子叶(lec)突变体中, 子叶上生出了只见于叶和茎的毛状体, 并有介于叶与正常子叶之间的维管组织。许多胚胎特异蛋白消失。表明 lec 突变体的子叶部分转变为叶, 提示拟南芥中叶和子叶的区别由胚胎发生中特异表达的调节基因 lec 控制。lec 基因的失活导致胚胎成熟的终止。Lec 基因产物可能与许多胚胎成熟时期表达基因的转录激活因子相互作用, 使胚胎特异基因得以表达。

2 植物中同源异型盒基因及其产物的结构与功能

2.1 同源异型盒基因结构

玉米中同源异型盒基因 Kn1 是植物中特定的同源域基因家族的一个成员, 其转录单元的 181 位的 ATG 密码子可能是 Kn1 蛋白的翻译起始位点, 起始密码子下游为 1 240 bp 长的开放阅读框。其同源异型盒被 5 kb 的内含子 3 与 N 端的编码序列分开, 且在螺旋 1 的 C 端附近被内含子 4 隔开^[5]。

2.2 同源异型盒基因产物结构

植物同源异型盒基因产物结构具多样性的特点, 有的具有同源域-亮氨酸拉链, 有的具有同源域-锌指结构, 有的在同源域的氨基端附近具有一短的富含组氨酸区域, 等等, 这些都是与其功能多样性相适应的。

2.3 同源异型盒基因分类

根据同源异型盒基因产物结构特点, Kerstetter 等^[11]将同源异型盒基因分为四类: a. 编码产物具同源域-亮氨酸拉链. b. 编码产物具同源域-锌指结构. c. 拟南芥 GLABRA2 类. 编码产物其序列与第 1 类相近, 但没有亮氨酸拉链. d. 类 Kn1 类. 与玉米 Kn1 具很大程度的相似性. 有的在分生组织中表达, 有的在所有组织中表达.

2.4 同源异型盒基因的功能

2.4.1 影响胚胎发育: 同源异型盒基因编码的一个大的同源域蛋白质家族, 它们在动物胚胎模型的形成中起着关键作用. 类推可知, 同源异型盒基因在植物中被认为介导了其胚胎发生的重要过程, 但是支持这一观点的证据寥寥无几. Sato 等^[12]研究了水稻同源异型盒基因 OSH1 在胚胎发生中的时空表达方式. 原位杂交分析表明, 在野生型胚胎及无器官胚胎突变体 *orl1* 中, OSH1 的表达方式相同, 尽管突变体缺少胚性器官. 这表明 OSH1 并不直接与器官分化相联系, 可能与器官分化之前某过程相关或独立于器官分化. OSH1 与动物中的同源异型盒基因类似, 在早期胚胎细胞特异性的区域化中起重要作用.

另外, Long 等^[13]发现了拟南芥中的一种功能丧失突变 *stm1*, 表现为胚胎无茎尖分生组织, 野生型中茎尖分生组织得到恢复. *stm1* 是第一个通过功能丧失突变来研究其功能的同源异型盒基因, 也是植物中第一个真正意义上功能已知的同源异型盒基因.

2.4.2 影响叶的发育: Vollbrecht 等^[5]研究表明 Kn1 座位发生突变时, 叶的发育会发生改变, 沿侧脉的细胞中心没有正常分化, 而是连续分裂形成了突起或节. 在叶片与叶鞘连接处的穗状物叶舌时常发生位置改变.

2.4.3 影响细胞间物质运输: Lucas 等^[14]发现 Kn1 蛋白还介导了 Kn1 蛋白本身及其 mRNA 通过胞间连丝在细胞之间的运输, 这表明同源异型盒基因产物在细胞间物质运输中起重要作用.

2.4.4 影响花的演化: 在大麦中, 花序的单位是小穗, 小穗上有苞片、外稃和一个能育的小花. 小花由内稃、两个浆片、三个雄蕊及一个雌蕊组成. 盔状突变 (*Hooded* mutation) 引起外稃极性的改变从而出现了额外花. 这是目前植物中所发现的同源异型盒基因能引起同源异型突变的唯一证据. 这一表型由单个显性遗传座位 K^3 控制. 同源异型盒

基因 *Knox3* 代表了这一座位. *Knox3* 基因在额外小花原基中的表达是由内含子 4 中 305 bp 序列连续复制引起. 可得出结论的是 *Knox* 基因家族中的同源异型盒基因涉及到花的演化^[15].

3 研究展望

a. 目前对植物同源异型基因功能的研究比较清楚, 它们在营养组织到分生组织的转变、花序分生组织到花分生组织的过渡、花器官的发育中起着开关作用. 但对同源异型盒基因的功能了解还不透彻, 仍然只停留在某些局部的认识上. 并且对这两种基因作用的分子机制了解极少, 要从分子水平来阐述它们的作用机制仍然存在着很大的困难. 发育生物学已成为整个生命科学领域中研究的热点. 彻底阐明这两种发育基因及其产物的结构、功能、作用机制, 从而揭示植物的发育规律, 是科学家们面临的课题.

b. 需要揭示不同花式的进化机制. 不同植物如拟南芥、金鱼草具不同的花式, 这是因为同源异型基因本身的改变, 还是它们的调节因子的改变, 或者是这些调节因子的下游基因的改变, 需要进一步澄清.

c. 目前对植物同源异型基因及同源异型盒基因在植物基因组中的分布还缺乏整体认识, 构建二者在植物基因组中的物理图谱包括细胞遗传学图, 进而阐述二者结构与功能之间的关系仍是今后长远的工作.

参 考 文 献

- 1 陈吉龙, 马海飞. 发育生物学进展. 北京: 高等教育出版社, 1994. 289
Chen J L, Ma H F. *Advances in Developmental Biology*. Beijing: High Education Press, 1994. 289
- 2 Ruberti I, Sessa G, Lucchetti S, *et al.* A novel class of plant proteins containing a homeodomain with a closely linked leucine zipper motif. *EMBO J*, 1991, **10** (7): 1787~1791
- 3 Sommer H, Beltran J P, Huijser P, *et al.* *Deficiens*, a homeotic gene involved in the control of flower morphogenesis in *Antirrhinum majus*: the protein shows homology to transcription factors. *EMBO J*, 1990, **9** (3): 605~613
- 4 Yanofsky M F, Ma H. The protein encoded by the *Arabidopsis* homeotic gene *agamous* resembles transcription factors. *Nature*, 1990, **346** (6279): 35~39
- 5 Vollbrecht E, Veit B, Sinha N, *et al.* The developmental gene *Knotted-1* is a member of a maize homeobox gene family. *Nature*, 1991, **350** (6315): 241~243
- 6 Schwarz-Sommer Z, Huijser P. Genetic control of flower development by homeotic genes in *Antirrhinum majus*. *Science*, 1990, **250** (4983): 931~936
- 7 Coen E S, Romero J M, Doyle S, *et al.* *floricaula*: A homeotic

- gene required for flower development in *Antirrhinum majus*. Cell, 1990, **63** (7): 1311~ 1322
- 8 Bradley D, Carpenter R, Sommer H, *et al.* Complementary floral homeotic phenotypes result from opposite orientations of a transposon at the *plena* locus of *Antirrhinum*. Cell, 1993, **72** (1): 85~ 95
 - 9 Detlef W, John A, David R S, *et al.* *LEAFY* controls floral meristem identity in *Arabidopsis*. Cell, 1992, **69** (5): 843~ 859
 - 10 Meinke D W. A homeotic mutant of *Arabidopsis thaliana* with leafy cotyledons. Science, 1992, **258** (5088): 1647~ 1650
 - 11 Kerstetter R, Vollbrecht E, Lowe B, *et al.* Sequence analysis and expression patterns divide the maize Knotted1-like homeobox genes into two classes. Plant Cell, 1994, **6** (12): 1877~ 1887
 - 12 Sato Y, Hong S K, Tagiri A, *et al.* A rice homeobox gene, *OSH1*, is expressed before organ differentiation in a specific region during early embryogenesis. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, **93** (15): 8117~ 8122
 - 13 Long J A, Moan E I, Medford J I, *et al.* A member of the KNOTTED class of homeodomain proteins encoded by the *STM* gene of *Arabidopsis*. Nature, 1996, **379** (6560): 66~ 69
 - 14 Lucas W J, Bouche-pillon S, Jackson D P, *et al.* Selective trafficking of KNOTTED1 homeodomain protein and its mRNA through plasmodesmata. Science, 1995, **270** (5244): 1980~ 1983
 - 15 Muller K J, Romano N, Gerstner O, *et al.* The barley *Hooded* mutation caused by a duplication in a homeobox gene intron. Nature, 1995, **374** (6524): 727~ 730

The Advances of Studies on Plant Homeotic Genes and Homeobox Genes. WEI Wen-Hui, SONG Yur-Chun, QIN Rui (Research Centre for Developmental Biology, Wuhan University, Wuhan 430072, China).

Abstract Plant homeotic genes and homeobox genes are two types of the important genes encoding transcription factors involved in plant development. Research during recent ten years indicates that there are differences between their structures and functions. It is very important to study their structures and functions and reveal plant developmental mechanisms.

Key words homeotic gene, homeobox gene, developmental regulation

巨噬细胞凋亡及其调控

黄行许 黄有国¹⁾

(中国科学院生物物理研究所, 生物大分子国家重点实验室, 北京 100101)

摘要 巨噬细胞通过介导和调控自身及其他细胞凋亡而实现其免疫调节和效应细胞功能。引起巨噬细胞凋亡的原因有生物、化学、病理、自身等因素。不仅巨噬细胞自身凋亡和凋亡调控有其特点, 更为有趣的是, 巨噬细胞可根据需要: 介导或抑制自身凋亡; 介导或抑制其他细胞凋亡; 抑制自身凋亡, 介导其他细胞凋亡。这可能是巨噬细胞在免疫调节, 特别是肿瘤免疫中发挥重要作用的基础。

关键词 巨噬细胞, 细胞凋亡, 凋亡调控, 免疫调节

学科分类号 Q28

细胞凋亡 (apoptosis) 或细胞程序化死亡 (programmed cell death, PCD) 是与个体发育、组织更新、神经发育、免疫调节等生理过程以及肿瘤、神经退行性疾病、自身免疫病等病理过程密切相关的细胞生理性死亡^[1]。巨噬细胞作为免疫调节和效应细胞, 通过吞噬杀灭微生物, 抗原递呈和分泌多种细胞因子等调控机体炎症反应和免疫应答。巨噬细胞与细胞凋亡的密切关系首先是因其作为凋亡细胞的主要清除者而受到关注, 随着对细胞凋亡研究的深入, 人们发现巨噬细胞既在吞噬凋亡细胞方面发挥作用, 也在介导或抑制其自身凋亡,

介导或抑制其他细胞凋亡过程中表现出凋亡的复杂性及凋亡调控的特异性。

1 巨噬细胞吞噬凋亡细胞

凋亡作为一种利他性的生理性死亡不仅表现在机体通过凋亡的方式清除体内多余的或者异常的细胞, 而且吞噬细胞可以吞噬凋亡早期或晚期的凋亡细胞, 这样就避免了凋亡细胞内有害物质泄漏而损

¹⁾ 通讯联系人。

Tel: (010) 64888518, E-mail: huang@sun5.ibp.ac.cn

收稿日期: 1999-02-03, 修回日期: 1999-08-18