

建立果蝇信息与资源平台

刘 力 (中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

果蝇作为一种经典的模式生物, 其 Gal4/UAS 系统被比喻为瑞士军刀(Swiss Army Knife), 是探索生命科学问题的强有力的工具. 凭借 Gal4/UAS 系统, 果蝇已经被应用于生命领域的各个学科中. 如神经科学的研究中, 需要研究各种基因、突触、神经元以及神经网络在各种神经活动中的功能. 有了大量特异神经元表达的 Gal4 转基因品系, 就使得上述研究得心应手. 如将 UAS 转基因品系中的目的基因换成要研究的基因, 与特定表达模式的 Gal4 品系杂交, 可以研究该基因在相关部位的功能. 如果将 UAS 转基因品系中的目的基因换成各种功能阻断分子等, 与各种特定表达的 Gal4 品系杂交, 就可以准确研究果蝇脑中从单个神经元、神经元群到神经回路的功能, 从而最终实现果蝇脑功能的精确定位. 本期发表的《用“增强子陷阱”技术构造并筛选果蝇 UAS/Gal4 系统中 Gal4 新品系及脑基因表达图谱数据库的开发》(见 645~649 页), 报道了清华大学钟毅实验室经过开展大规模的遗传筛选, 找到了一批目前国外 Gal4 基因库中还没有发现的具有特异神经元表达的 Gal4 品系, 将极大地拓展果蝇脑结构与功能的研究. 根据 Gal4 品系的表达模式, 他们开发了在果蝇脑中特异表达的图谱数据库, 将会方便快速查找实验所需的特定表达的 Gal4 转基因品系. 这项工作不仅扩大了国际上果蝇 Gal4 品系资源, 也为建立我国特有果蝇信息与资源平台打下了良好的基础.

筛选特异神经元表达的 Gal4 转基因品系对于果蝇神经系统及其功能的研究极其重要. GAL4 蛋白是酵母中的一类转录因子, 它能够与特定的上游激活序列(Upstream Active Sequences, UAS)结合, 并驱动 UAS 下游基因的表达. 果蝇的转座子 P 因子(P-element)可以在其自身产生的转座酶的作用下, 在果蝇的基因组内移动. 通过剔除 P 因子内转

座酶基因, 使其成为转基因的载体. 在外源转座酶的帮助下将带有一个弱启动子的 Gal4 基因随机插入到果蝇的基因组中, 如果插入的位置正好在某个增强子的作用范围内, 就会驱动 Gal4 基因的表达, 获得具有特定表达模式的 Gal4 转基因品系, 这就是“增强子陷阱”(enhancer-trap)技术. 通过转基因载体同样可以将 UAS 及其下游目的基因(如绿色荧光蛋白 GFP)一起转入果蝇的基因组中, 从而获得 UAS-GFP 转基因品系. 当 Gal4 转基因品系与 UAS-GFP 转基因品系的果蝇杂交后, 在其子代中产生的 GAL4 蛋白与 UAS 特异性结合, 驱动 UAS 下游的 GFP 表达, 从而标记出 Gal4 转基因品系的表达模式. 经过大规模的筛选就可以得到大量具有特定表达模式的 Gal4 转基因品系. 由于已有的 Gal4 品系本身不能产生转座酶, 保证了已有 Gal4 品系的稳定遗传. 如果人为地为已有的 Gal4 品系提供一次转座酶, 就可以引起 P 因子的再次转座, 从而可能产生具有特定表达模式的新 Gal4 品系.

目前国际上已经建立了多个果蝇的信息与资源平台, 如美国印第安纳大学的布卢明顿果蝇种系中心(Bloomington *Drosophila* Stocks Center), 日本京都工业技术大学的果蝇遗传资源中心(*Drosophila* Genetics Resource Center, DGRC)以及奥地利维也纳果蝇 RNAi 中心(Vienna *Drosophila* Resource Center, VDRC)等等. 这些果蝇的信息与资源平台为各国科研人员进行信息交流、获得果蝇品系、促进科研发展起到了非常重要的作用. 由于建立果蝇信息与资源库的成本较高, 既需要大量工作人员进行长期的筛选工作, 又需要稳定的资助来维持果蝇资源与数据库的运转. 钟毅实验室克服了各种困难, 建立了具有自己特色的 Gal4 转基因品系库和相关的数据库, 并且还在不断地扩大和完善已有的资源与信息, 极大地推动了国内果蝇信息与资源平

台的建设。另一方面,随着国内果蝇实验室的不断发展与壮大,科研水平的日益提高,新的基因突变体和转基因品系不断增多,如何有效利用国内的果蝇资源,如何推动国内果蝇信息与资源的共享,还需要国内果蝇实验室的不断努力。另外,建立和维

持果蝇品系库需要大量人员和财力的支撑,我们也希望国内的果蝇实验室在国家相关部门的大力支持下,通过多种形式建立和完善各种果蝇的信息与资源平台,推动国内科研持续稳定地发展。

► 相关链接

钟毅教授与果蝇突变体功能研究

钟毅,毕业于清华大学核工程物理系,获清华大学生物科学与技术系硕士学位,美国 University of Iowa 博士学位。现任冷泉港神经分子实验室(Cold Spring Harbor Lab)教授。2001年9月被聘为教育部“长江学者奖励计划”讲座教授,清华大学生物科学与技术系讲座教授,主持脑学习记忆及神经疾病机理的研究,并担任生命科学与医学研究院 985 重点项目“应用果蝇学习障碍突变体研究学习记忆的神经机制”的首席科学家,科技部国家重点基础研究发展计划“脑功能的动态平衡调控”的专家组成员,并承担 973 项目子课题“果蝇长时程记忆的分子机理”的负责人。

钟毅是果蝇脑学习记忆功能和退行性脑疾病研究领域中的优秀科学家之一。1994~1997年曾获美国“Pew”生物医学优秀学者奖,2003年获美国学习记忆领域的知名科学家称号。研究工作的论文分别发表在 Nature, Science, Neuron, PNAS 等国际学术期刊上,并获得三项美国专利。其中主要论文的引用次数高达 600 次以上。

主要研究工作及学术成就

1 以果蝇为模型,从事学习记忆神经机理研究

在果蝇模式动物上,钟毅教授首次发现突触传递的易化和强刺激后的强化与基因缺陷有关。并发现了由此引起的胞内代谢通路变化,为破解学习和记忆的神经生物学基础做出了贡献,并受到国内外同行专家的好评。

2 神经退行性疾病发生机理的研究

神经纤维瘤属于基因缺失或突变型疾病,该基因简称 *NF-1* 基因。钟毅教授发现 PACAP 神经多肽、PKA 等能挽救 *NF-1* 缺失果蝇突变体的学习记忆能力,确立了在该领域中的国际领先地位。并从理论上阐明了神经纤维瘤相关基因是如何影响胞内分子代谢途径而最终影响学习记忆的。该研究成果为疾病的临床治疗和药物开发提供有力的科学证据,并获得三项美国专利。

3 学习记忆缺失与增强型果蝇突变体的基因筛选及功能研究

钟毅教授 2001 年就开始在国内组建了以果蝇为模式动物的研究基地。首先通过分子遗传学等手段,开展了用 P 因子(P-element)转入 LacZ 的方法,获得近 2 500 种突变体。通过大规模嗅觉行为功能的筛选,已经确定出 11 种功能缺陷型突变体并完成其分子测序及克隆。现正采用分子生物学、电生理学、免疫学和组织化学等手段研究这些突变体

的功能,他们的研究工作紧紧围绕长时记忆机理的科学问题,在不同层次上展开,主要结果如下:①证明记忆缺陷突变体 *chi* 与 *Notch* 信号通路在长时记忆形成中的相关性;②揭示记忆缺陷突变体 *yu* 在 cAMP-PKA 信号通路的独特功能;③确定两个参与长时程记忆形成的 *Notch* 下游的候选基因,并进一步深入研究其功能。以上研究成果已在国际高水平杂志发表了 3 篇论文。

自 2004 年,钟毅实验室又利用 P 因子转入 Gal4 方法获得 2 700 多种果蝇突变体。其目的是为更便捷地对所筛选出的突变体进行脑功能定位研究。为了开展神经科学领域中的前沿课题——提高人类学习记忆功能及脑智力开发,他的实验室不仅开展学习记忆缺陷型突变体的筛选,又增加了学习记忆增强型突变体的筛选课题。现已取得可喜的初步结果,这将对提高人类学习记忆功能及脑智力的开发有非常重要的意义和新的应用前景。因基因缺陷或基因增强的突变体所导致的学习记忆功能降低或提高,都与基因结构与功能可塑性方面的变化密切相关。并且可通过基因修复手段,使其学习记忆功能恢复到正常水平。钟毅实验室充分发挥果蝇遗传发育及与高等动物基因同源的优势,用果蝇基因缺陷突变体研究长时记忆的分子机理及其相关信号通路的调控作用,并提出创新的理论来揭示“脑功能的动态平衡调控”的基因-神经网络-行为的细胞分子机理。

4 用转基因果蝇疾病模型规模化地筛选老年痴呆症治疗性药物.

为了研究人类退行性疾病发病机理及筛选开发治疗药物, 钟毅教授采用转人类疾病基因的果蝇模型, 直接使用整体动物筛选治疗及修复的药物, 以开发老年痴呆症的治疗药物为最终目. 常用的模型有相辅相成的两种: 果蝇模型和鼠模型. 果蝇模型的优点是繁殖快、生命周期短(30~50 天)、药物研发成本低、与年龄相关的神经元退化现象明显, 缺点是虽然从果蝇、小鼠到人, 在进化上具有严格的保守性, 但果蝇与人的亲缘关系较远. 因此, 有效利用这两类模型的方式是用果蝇模型进行药物筛选, 用鼠模型做进一步的验证. 经过艰辛的努力和摸索, 目前实验室不仅具备了相当规模开展果蝇学习记忆分子机理的研究平台, 而且也具备了大规模基因和药物筛选工作的平台. 利用果

蝇高通量筛选平台, 可以同时进行学习记忆及疾病基因的基因筛选和药物筛选, 这同国内外其他研究机构相比具有极大的优势. 利用果蝇疾病模型的独特优势, 对出生后神经系统发育机制及与神经退行性疾病发生的遗传机制开展探索性的研究. 通过大规模基因筛选发现并迅速克隆新的致病基因, 以及基于对果蝇 A β 神经毒性有干预作用的小分子筛选发现新的干预靶点, 尤其是选用了 A β 转基因果蝇已经被证实能够非常好地模拟人类 AD 的病理特征, 特别是伴随年龄和不同发育阶段出现的结构与功能性变化具有非常典型的代表性. 因此, 采用该果蝇模型进行致病机理遗传分析和小分子作用机理的研究途径是完全行之有效的. 规模化地筛选老年痴呆症等退行性脑疾病的治疗性药物的研究是属当今生物与医药领域的创新性研究.