

同源框基因与发育

HOMEODOMAIN GENE AND DEVELOPMENT

王 勇¹ 郎刚华² 张培军¹

(¹ 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

(² 青岛海洋大学海洋生命学院 266003)

同源框基因是在 1984 年由 McGinnis 等^[9]与 Scott 等^[15]在研究黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)的同源异形基因时发现的。当时,他们发现在果蝇的同源异形基因中有一个保守的核苷酸序列,该序列甚至在某些无脊椎动物中也存在,他们把这一序列称为同源框。同源框含有 180 个碱基对,编码 60 个氨基酸,在蛋白质中的这段氨基酸序列叫做同源域。现在已知同源域的功能是识别那些同源异形基因所调节的基因中特定的 DNA 序列并与之结合,当同源域与靶基因结合时,同源域蛋白能激活或抑制靶基因的表达。

1 同源框基因的分类

自从 1984 年首次发现同源框基因以来,已有几位研究者对其进行过分类。1989 年, M. P. Scott 等^[16]第一次进行了分类,根据基因序列,把当时已发现的 87 个同源框基因进行分类。在这 87 个基因中,21 个来自果蝇、20 个来自人、19 个来自小鼠,其余 27 个分别来自爪蟾、大鼠、线虫等。这些基因进行编组的有: *Antp* 组、*Dfd* 组、*lab* 组、*Abd-B* 组、*en* 组、*eve* 组、*prd* 组、*Hox1.5* 组、*Hox2.4* 组、*POU* 组,另外还有 15 个基因未能进行归类。1994 年, W. J. Gehring 等^[4]基于已发现的 346 个同源框基因(来自 55 种生物,包括动物、植物和真菌)提出了新的分类系统。首先,把所有的含同源框的基因分为两大类:一大类是复合型基因大类,包括所有成簇存在的同源框基因(即 *Hox/HOM* 类同源框基因);另一大类是散在型基因大类,包括存在于同源框基因簇之外的零散的同源框基因。然后再根据序列相似程度分别予以细分。第一大类包括 6 类: *lab* 类,包括 *Hox1* 类基因,如人 *HoxA1*, 小鼠 *Hoxb-1* 等,共

13 个基因; *Pb* 类,包括 *Hox2* 类基因 7 个, *Hox3* 类基因 12 个,以及同源性稍差的另外 6 个基因,共 25 个; *Dfd* 类,包括 *Hox4* 类基因 15 个; *Scr* 类,包括 *Hox5* 类基因 17 个; *Antp/Ubx/abd-A* 类,包括 *Hox6* 类 13 个, *hox7* 类 12 个, *hox8* 类 13 个,以及另外 20 个基因,共 58 个; *Abd-B* 类,包括 *Hox9* 类 14 个, *Hox10* 类 9 个, *Hox11* 类 9 个, *Hox12* 类 4 个, *Hox13* 类 4 个,以及另外 3 个基因,共 43 个。第二大类包括 18 类基因: *eve* 类(6 个)、*ems* 类(7 个)、*D11* 类(5 个)、*cad* 类(8 个)、*Hlx* 类(6 个)、*NEC* 类(3 个)、*TCL* 类(2 个)、*msh* 类(17 个)、*NK-1* 类(5 个)、*NK-2* 类(12 个)、*en* 类(18 个)、*Prd* 类(8 个)、*Prd-like* 类(19 个)、*cut* 类(3 个)、*LIM* 类(11 个)、*ZF* 类(8 个)、*POU* 类(35 个)、真菌和植物类(17 个)。另外,还有一些序列非常独特的基因无法归类,这样的基因共有 23 个。

2 同源框基因与动物的躯体设计

2.1 *bicoid* 基因与胚胎前后轴(即头尾轴)的建立

动物在由受精卵发育成成体的过程中,经历了许多层次的分化,而最初的分化则是前后轴(即头尾轴)的建立。前后轴的建立使以后的胚胎发育中各种图式形成,在这一基础上再逐级进行。早在 1975 年 Sander 就发现,在动物的受精卵中有前部决定子和后部决定子。在卵裂期间,决定子之间相互作用,逐渐地在两个

中国科学院海洋研究所调查研究报告第 2958 号。
实验海洋生物学开放研究实验室研究报告第 143 号。
收稿日期:1996 年 4 月 4 日

决定子之间形成了一个梯度,这一梯度为胚胎的躯体设计指出了方向。因此,Sander认为,在受精卵中,某些分子从前端和后端开始扩散,从而形成了浓度梯度。以后,对果蝇的胚胎发育的研究发现,果蝇胚胎的极性(即前后轴的确定)是由少数母性效应基因决定的,根据突变表型,这些基因可以分为3组:影响胚胎前部(头和胸)的基因、影响胚胎后部(腹部)的基因和影响胚胎两末端的基因^[11]。其中作为形态发生原的同源框基因*bicoid*(*bcd*)决定了前部极性的形成,而其mRNA则恰好定位于果蝇受精卵和早期胚胎的前端^[2]。最近发现,果蝇卵中*bcd*mRNA之所以定位于卵前端,是因为*bcd*mRNA的3'-非翻译区中能形成长茎环结构的3个区域与母性效应基因*staufer*(非同源框基因)编码的蛋白质相结合,可能进而在*staufer*蛋白的介导下与微管相结合,因此在受精卵中*bcd*mRNA能高度集中于一端^[2]。Driever等^[2]曾用抗体标记法检测*bcd*蛋白在果蝇卵与胚胎中的分布,发现定域化的*bcd*mRNA翻译出的蛋白质在受精卵和早期胚胎中建立起指数梯度,这一梯度占据了受精卵全长的2/3。那么为什么*bcd*蛋白质在卵前端合成后又能扩散到卵和早期胚胎的中后部呢?详细的机制尚不清楚,推测可能因为果蝇的早期胚胎是合胞体胚盘,胚胎细胞之间没有被细胞膜完全间隔开,因此,*bcd*蛋白能经扩散和局部降解双重作用形成浓度梯度。为了确定*bcd*蛋白的浓度梯度是否与特定的细胞命运直接相关,Driever等用遗传学方法改变*bcd*蛋白质的浓度梯度,发现在胚胎中*bcd*蛋白水平的升高或降低,能引起胚胎前部特定结构的后移或前移。实验证明,*bcd*基因对于果蝇前部(头胸部)的正常发育是绝对必需的,而对于果蝇后部(腹部)的正常发育,母性效应基因*hunchback*基因(非同源框基因)则起一定作用,而且,*hunchback*蛋白在早期胚胎中也存在浓度梯度。Reinitz等^[14]建立了一个位置信息控制的动力学模型。利用这一模型,可以对*bicoid*与*hunchback*对果蝇胚胎位置信息的联合控制进行定量分析,也可以对一些实验现象进行预测。例如,如果在无*hunchback*基因的果蝇胚胎中,*bcd*的总剂量从1倍到3倍之间变动,那么根据计算可知,*bcd*靶基因的表达区随*bcd*蛋白浓度的变化而变化,但始终处于同一浓度区域。由此可见,*bcd*蛋白的浓度梯度的确可以准确地控制靶基因表达,从而建立起胚胎的前后极性。应当指出,Reinitz等人建立的这一数学模型所包括的基因数量有限,该模型所描述的是理想状态,因此,根据该模型所作的预测在进行实验验证后才能做出定论。综上所述,果蝇早期胚胎前后轴极性的建立,是由包括同源框基因*bicoid*在内的几组母性效应基因

通过各自的蛋白分子浓度梯度而联合作用的结果,这一极性的建立,又指导着胚胎各种发育图式的形成。

2.2 Hox/HOM类同源框基因与沿体轴的图式形成

Hox/HOM类同源框基因在染色体上成簇存在,位于同一簇的Hox/HOM基因在胚胎中的表达区依次沿体轴后移^[10],因此可以推测Hox/HOM类同源框基因(以下简称为Hox/HOM基因)必定在沿体轴的图式形成中发挥一定的作用。目前对果蝇HOM基因(即同源异形基因)在沿体轴的图式形成中的作用了解得比较多,由于种种原因,脊椎动物中Hox基因在沿体轴的图式形成中的作用则了解得比较少。

在研究每个同源框基因的作用时,往往采用功能缺失和功能获得两种方法进行研究。果蝇HOM基因的功能缺失与功能获得时胚胎沿体轴的图式形成的影响已有较详细的研究,这些HOM基因在缺失时会造成突变果蝇在某些结构上发生同源异形转变^[7,10]。例如,*Antennapedia*(*Antp*)基因的缺失突变导致胸体节2与3的前部表皮转变为胸体节1的前部表皮。值得注意的是,并不是8个HOM基因都会因缺失而产生同源异形突变体。HOM基因中的*labial*(*lab*)与*Deformed*(*Dfd*)基因的功能缺失突变体只伴随着胚胎结构上的缺陷,并没有发生同源异形转变。而且有证据表明,只有当功能缺失的基因与另外的HOM基因的表达区重叠时,才能产生作为功能缺失结果的同源异形转变。这一现象,我们可以这样解释,沿体轴分布的胚胎结构分别由一系列HOM基因决定,每一基因决定一段体轴上胚胎结构的发育命运;当某个HOM基因发生缺失时,如在此区内还有另外一个HOM基因的表达区,则这一基因的活性导致这一区域发育成该基因所决定的结构,这样就发生了同源异形转变;如果该区没有另外HOM基因的表达区,则该区只产生结构上的缺陷,而不会产生同源异形转变。由此可知在果蝇中,HOM基因的确能够决定沿体轴的图式形成。脊椎动物的功能缺失表型主要是利用小鼠胚胎干细胞同源重组进行研究的,另外也有人用抗体抑制相应的Hox蛋白的活性以产生功能缺失突变表型。Wright等^[17]发现,正常的X1H*box1*基因在非洲爪蟾前部脊髓中表达,而如将抗X1H*box1*蛋白的抗体注射到单细胞时期的胚胎里,所产生的蝌蚪的前部脊髓就转变成后脑。这可能是由于这一区的X1H*box1*基因失活,而导致在该区也表达的决定后脑发育的Hox基因在此区内发挥了作用,从而决定此区发育为后脑,这就与果蝇的同源异形转变非常相似。对脊椎动物Hox基因

功能缺失的研究证实了,脊椎动物由于 Hox 基因活性的变化,也可以象果蝇那样通过产生同源异形转变,而影响沿体轴的图式形式。

在果蝇和脊椎动物中的功能获得实验也证实, Hox/HOM 基因在沿体轴的图式形成中起关键作用。在果蝇中, HOM 基因的异位表达往往引起某些胚胎结构转而具有该基因在正常状态下所决定的结构特点,即发生同源异形转变。例如 *Antp* 基因在果蝇胚胎前部的异位表达,可引起头部表皮转化为胸部表皮, *ultrabithorax (Ubx)* 基因在果蝇胚胎前部的异位表达可引起头、胸部的表皮转变为前腹部的表皮。在脊椎动物中,体轴结构的同源异形转变大都来自转基因和视黄酸刺激的异位表达。Kessel 等^[6]通过向小鼠胚胎导入 $Hoxa-7$ 基因,产生了功能获得突变体,在该突变体中,部分颈椎的结构发生了变异。 $Hoxa-7$ 对颈椎发育程序的干扰,可能发生在神经脊迁移和体节向椎骨前体分化的时候。这一实验证明,单个 Hox 基因就可改变脊椎的结构。

3 Hox/HOM 类同源框基因的作用特点

Hox/HOM 类同源框基因,包括果蝇的 8 个同源异形基因以及与此 8 个基因相对应的成簇存在的同源框基因。在所有的同源框基因中这类基因数量最多,其作用的规律性也最强。归纳起来, Hox/HOM 基因的作用特点大致有 3 个:第一,它们的编码蛋白都充当转录因子;第二,它们的表达具有共线性;第三,在控制发育表型方面有后部优势现象,或者叫表型阻遏。下面分别阐明 Hox/HOM 基因的这几个作用特点。

首先,对同源框基因的蛋白产物能充当转录因子这一点,一开始并没有充足的证据。有关 Hox/HOM 蛋白的作用特点的最初线索,是根据基因序列推测出的蛋白质的氨基酸序列。当时发现,在同源域中有大约 30% 的氨基酸为碱性氨基酸,据此推测,同源域可能与 DNA 结合,而同源框基因的蛋白产物在细胞核内的定位也支持这一观点^[16]。紧接着,有人用核磁共振技术研究了 *Antp* 同源域的溶液结构,发现在同源域中有螺旋-转折-螺旋结构^[12]。而已知 λ 噬菌体的 *cro* 蛋白有此结构, *cro* 蛋白能与 DNA 识别并结合,因此推测同源域也能与 DNA 识别并结合。后来通过研究 *Antp* 同源域与 DNA 的结构,认为同源域的确能与 DNA 识别并结合,并建立了 *Antp* 同源域单体与 DNA 双螺旋之间结合的模型^[4]。此外,对另外两种同源框基

因的同源域-DNA 复合物的晶体 X-射线衍射分析的结果也表明,几种同源域与 DNA 的结合方式很相似。尽管如此,但仍不能就此断定同源框基因的蛋白产物就是转录因子。与同源框基因相平行的一项研究发现,在哺乳动物许多基因的表达中,有一个八核苷酸序列与转录密切相关,这一序列是: ATTTGCAT, 有两个蛋白因子能与之结合并调节转录。后又发现 POU 类同源框基因 Oct-1 与 Oct-2 分别编码这两个蛋白,这就证明至少部分同源框基因的蛋白产物是转录因子。那么, Hox/HOM 蛋白是否也是转录因子呢? Bergson 等人的工作直接证明了这一点。Bergson 等^[11]发现果蝇 HOM 基因 *Dfd* 的蛋白产物能通过与增强子的结合来调控 *Dfd* 基因的转录, Regulski 等^[13]继而又鉴定出了 *Dfd* 蛋白在 *Dfd* 基因增强子上的高亲和位点。至此,综合上述证据,才能断定 HOM 基因的蛋白产物的确可充当转录因子。当然,这类转录因子并不是象 Oct-1 那样的通用转录因子,而是发育特异的转录因子。既然 Hox/HOM 基因都能控制其他基因的表达,那么 Hox 基因的蛋白产物必定也象 HOM 基因那样,以转录因子的作用方式在转录水平上调节其靶基因的表达。

Hox/HOM 基因作用的第二个特点就是,在 Hox/HOM 基因沿染色体的排列顺序与沿胚胎前后轴的表达之间存在共线性关系。这一特点最早是由 Lewis^[7]在研究果蝇双胸复合物基因群时发现的,当时认为该基因群能把遗传信息翻译成控制发育的位置信息。脊椎动物的 Hox 基因,除了在其他方面与果蝇的 HOM 基因高度保守外,在染色体上的排列顺序与沿胚胎前后轴的表达界限之间,也存在共线性关系,这就使人们相信, Hox 基因与 HOM 基因是在结构上与功能上同源的基因簇。对几种细胞系与脊椎动物胚胎中 Hox 基因表达图式的进一步分析表明, Hox 基因的共线性表达分为几种类型。第一种是空间共线性,是指 Hox 基因在染色体上的排列顺序,与 Hox 基因在靠近体轴的中胚层、神经管、后脑和四肢等处的空间限定的表达区的排列顺序之间的共线性^[6]。第二种共线性是时间共线性,是指 Hox 基因在染色体上的排列顺序,与在胚胎发育过程中 Hox 基因表达的先后次序之间的共线性。第三种共线性是 Hox 基因对视黄酸反应的共线性,是指 Hox 基因在染色体上的排列顺序,与细胞系和胚胎中的 Hox 基因对视黄酸作出反应的时间及敏感程度之间的共线性。总之,在同一个基因簇中,从 3' 到 5' 方向, Hox 基因表达的时间依次延迟,表达区域沿前后体轴依次向后推移,对视黄酸的反应时间也依次延迟而且反应程度依次降低。

Hox/HOM 基因作用的第三个特点就是后部优势或者叫表型阻遏,但这一特点并不是所有的基因都具有。在果蝇中,某些 HOM 基因异位表达后,能使前部的组织转变为后部的组织。例如, *Antp* 基因的异位表达可使头部表皮转化为胸部表皮, *Ubx* 的异位表达可使头胸部的表皮转化为前腹部的表皮。另外,在正常表达 HOM 基因的果蝇中,表达区相互重叠的基因(*Scr*, *Antp*, *Ubx*, *abd-A*, *Abd-B*)之间存在着交叉调节现象。在交叉调节中,表达区位于前部的基因被表达区位于后部的基因部分或全部抑制。这种抑制可能不是在转录水平上的抑制,因为某些 HOM 基因能在腹部高水平表达,但又对腹部组织的发育命运不产生明显的影响,因此,这一抑制作用应当称之为表型阻遏^[5]。在胸部, *Dfd*、*Scr* 基因的作用则与 *Antp* 等基因完全相反,即它们在胸部的过度表达,会导致胸部的组织向前部的组织转变。因此,严格地讲,只在果蝇腹部区域后部基因的表型阻遏才能成立。在小鼠中,也存在与果蝇的这种表型阻遏现象相类似的情况,即在小鼠身体后部表达的 Hox 基因往往对表型起决定作用,但在小鼠中,这一现象被称为后部优势^[8]。

4 结语

目前,同源框基因的研究是发育生物学和分子生物学研究的一个热点,这方面的进展异常迅速。在这一领域所获得的新知识使我们有可能在分子水平上,重新认识胚胎发生中的基本问题,例如, *Spemann* 的组织者的分子特性、胚胎发育早期决定子的分子本质以及卵质定域分子机制等,都有希望以同源框基因的研究

为突破口,揭示出深层的规律性。

参考文献

- [1] Bergson, C. and McGinnis, W., 1990. *EMBO J.* 9: 4 287-4 297.
- [2] Driever, W. and Nüsslein-Volhard, C., 1988. *Cell* 54: 83-94.
- [3] Ferrandon, D. et al., 1994. *Cell* 79: 1 221-1 232.
- [4] Gehring, W. J. et al., 1994. *Annu. Rev. Biochem.* 63: 487-526.
- [5] Gonzalez-Reyes, A. et al., 1990. *Nature* 344: 78-80.
- [6] Kessel, M. and Gruss, P., 1990. *Science* 249: 374-379.
- [7] Lewis, E. B., 1978. *Nature* 276: 565-570.
- [8] Lufkin, T. et al., 1991. *Cell* 66: 1 105-1 119.
- [9] McGinnis, W. et al., 1984. *Cell* 37: 403-408.
- [10] McGinnis, W. and Krumlauf, R., 1992. *Cell* 68: 283-302.
- [11] Nüsslein-Volhard, C. et al., 1987. *Science* 238: 1 675-1 681.
- [12] Qian, Y. Q. et al., 1989. *Cell* 59: 573-580.
- [13] Regulski, M. et al., 1991. *Genes Dev.* 5: 278-286.
- [14] Reimitz, J. et al., 1995. *J. Exp. Zool.* 271: 47-56.
- [15] Scott, M. P. and Weimer, A. J., 1984. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 4 115-4 119.
- [16] Scott, M. P. et al., 1989. *Biochim. Biophys. Acta* 989: 25-48.
- [17] Wright, C. V. E. et al., 1989. *Cell* 59: 81-93.