



# 第九章 基因与发育

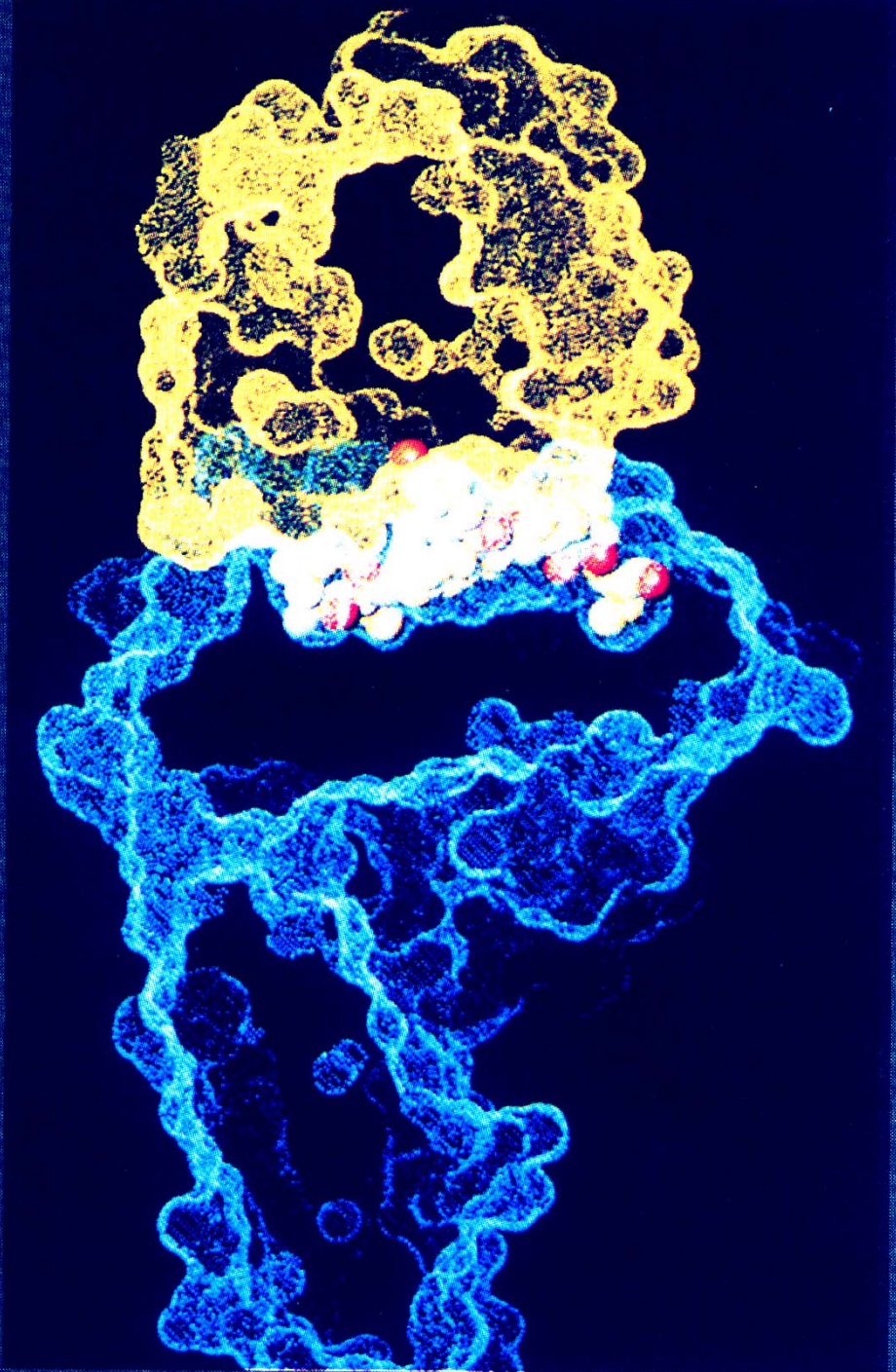
## 9.1 免疫体系发育及免疫球蛋白基因表达

**免疫体系 (The Immune System) 是 Vertebrates 所特有的。Immunity results from the combined activities of many different cells, some of which patrol the body, whereas others are concentrated in lymphoid organs, such as the bone marrow, thymus, spleen and lymph nodes.**



免疫系统的细胞通过一个被称为“分子识别”的过程鉴别“外来物质”。一旦检测到有外来物质存在，它们就用产生特异性抗体或类似方法将其消灭。

免疫系统是动物的主要防御系统，包括**淋巴细胞**（lymphocyte，分**B**淋巴细胞和**T**淋巴细胞）及组织相容性抗原两部分。巨噬细胞（macrophage）也参与免疫反应。



黄色部分是呈递于T-淋巴细胞表面的T-细胞受体，蓝色部分是展示在受感染细胞表面的MHC蛋白，白色部分是来自某个感染人体的逆转录病毒的特征性多肽。



**T** 淋 巴 细 胞 产 生 于 胸 腺 (**thymus**)，它的主要功能是产生**T** 淋巴细胞受体，识别产生抗体的**B** 淋巴细胞，以帮助巨噬细胞发挥功能。

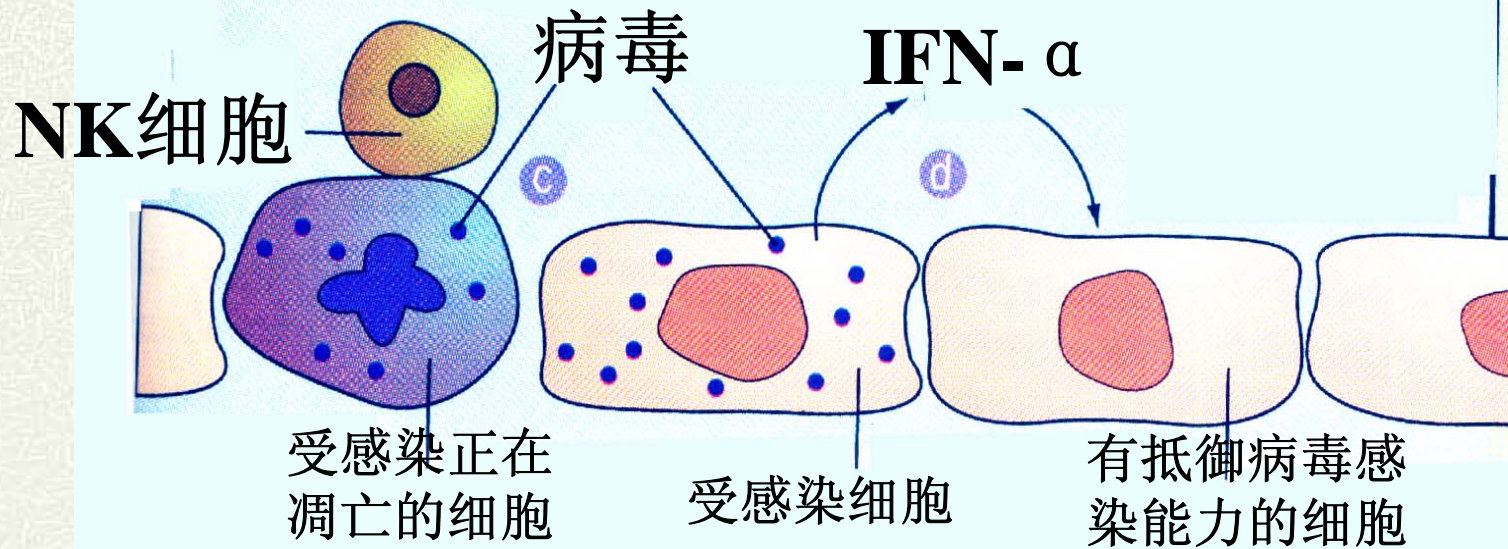
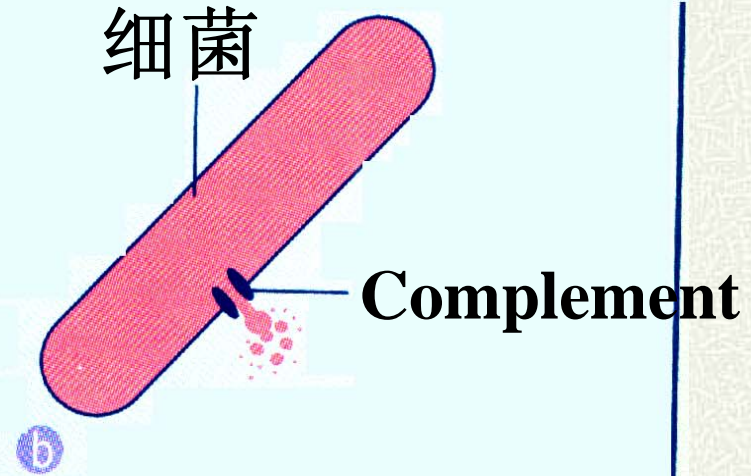
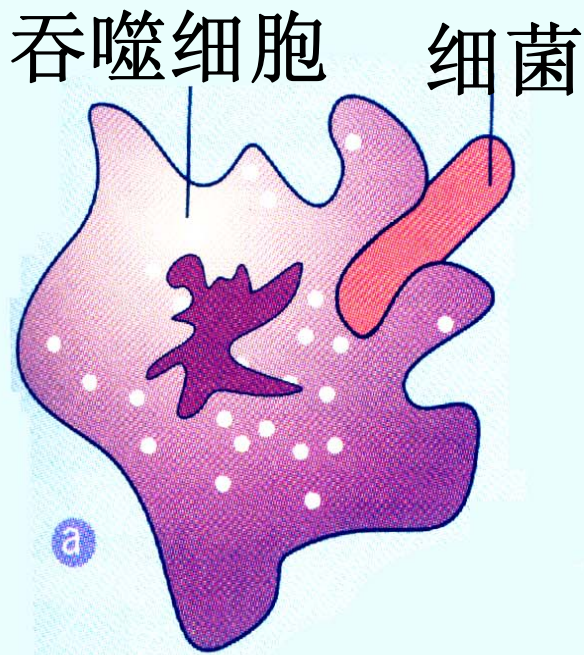
组织相容性抗原 (**histocompatibility antigen**)，保证机体识别自身细胞和异源细胞，参与淋巴细胞及其他许多细胞间的反应。



B淋巴细胞由骨髓产生，主要功能是制造用于对付外来抗原的抗体，它专一地识别相应的抗原。

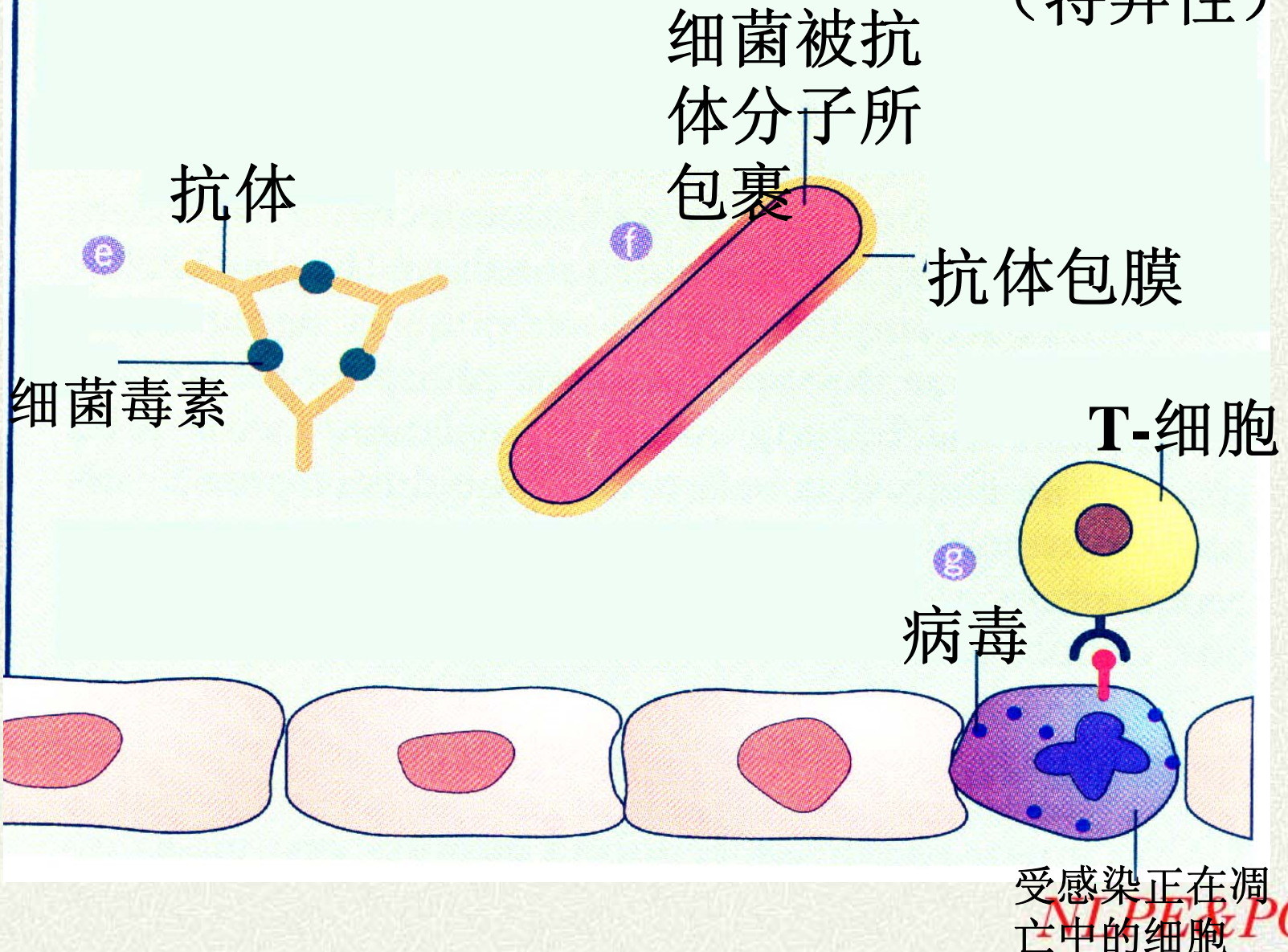


# 先天性免疫系统 (非特异性)





# 获得性免疫系统 (特异性)





抗体、T淋巴细胞受体和组织相容性抗原是免疫系统中3种最重要的成份。

这3类蛋白的共同特点：多样性。每类蛋白质都由一个巨大的基因家族编码，有许多变异型。在抗体和T淋巴细胞受体中，基因片段重排导致了所编码蛋白质的多样性。



## 9.1.1 脊椎动物免疫系统

脊椎动物免疫系统产生的抗体能识别和结合数百万种潜在的“非本身”的抗原分子（**antigen**），说明免疫细胞要合成数量巨大的抗体分子（**antibody**）。



生物体内存在着两条不同的免疫途径：**体液免疫**（humoral immunity），和**细胞免疫**（cellular immunity）。

在**体液免疫**中，**B**淋巴细胞首先识别外源致病因子或其他任何形式的抗原，通过浆细胞（即成熟**B**淋巴细胞）不断分泌出能溶于血液蛋白质中的**免疫球蛋白**（immunoglobulin, Ig）。



**Ig (抗体)分子通过特定的结合位点形成抗原-抗体复合物，最终被巨噬细胞所吞噬。Ig最高可占血液总蛋白的20%。**

**在细胞免疫体系中，受体细胞产生出类似Ig、但紧密结合在细胞膜表面的蛋白质分子，与T淋巴细胞表面的受体专一结合，导致感染细胞被后者降解。**

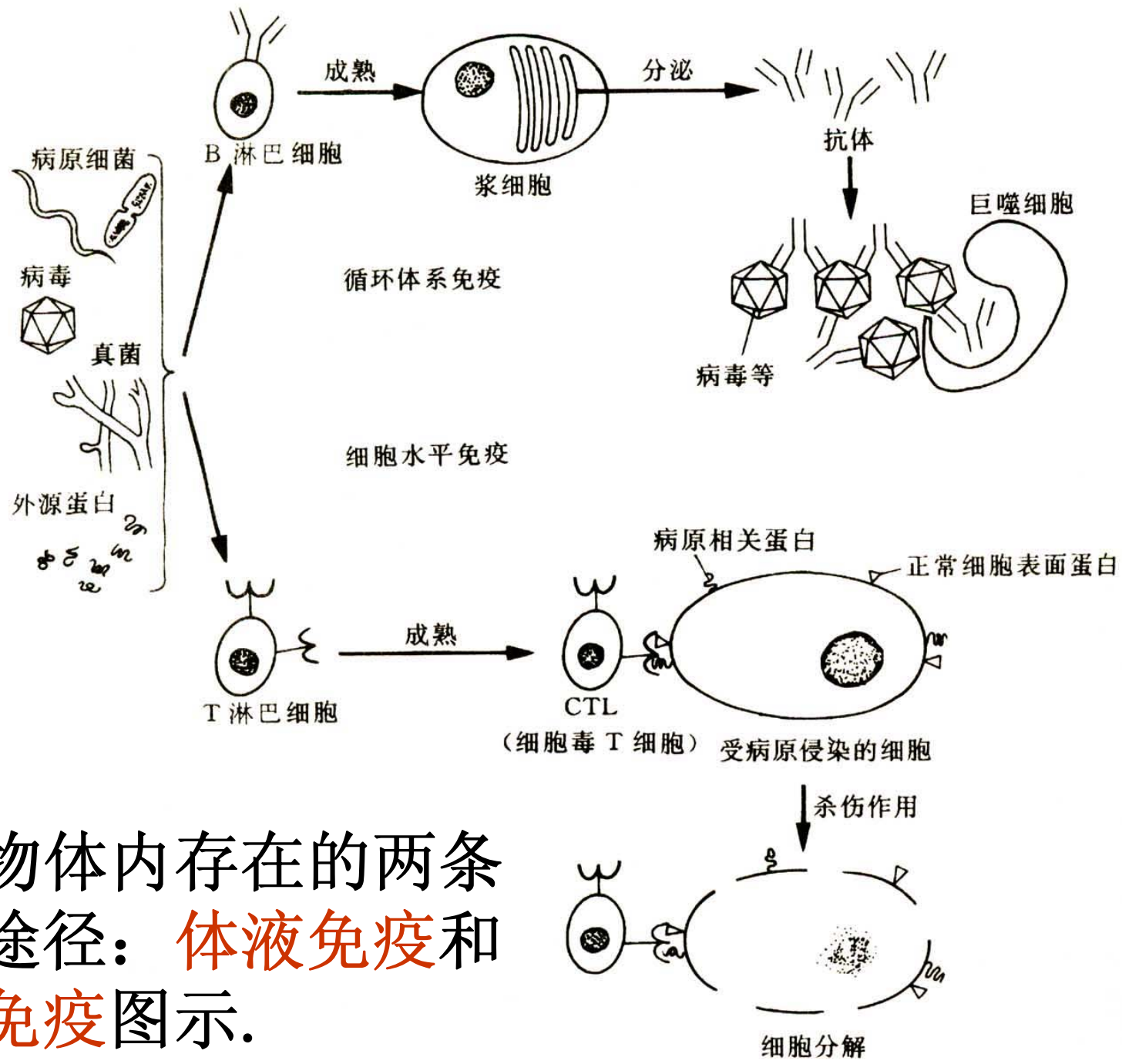


图9-1 生物体内存在的两条主要免疫途径：**体液免疫**和**细胞水平免疫**图示。



两类获得性免疫反应都由在血液和淋巴组织之间循环的淋巴细胞

(**nucleated leukocytes, white blood cells**) 所介导。

**体液免疫**由B淋巴(细胞)介导;

细胞免疫体系由**T淋巴(T细胞)**介导。



## 9.1.2 B淋巴细胞及其发育和分化

哺乳动物**B**细胞产生于**骨髓**中。  
成熟**B**细胞主要存在于淋巴结皮质浅层的淋巴小结及脾脏的红髓与白髓淋巴小结内，在抗原刺激下可分化为浆细胞，合成和分泌免疫球蛋白来识别相应的外来抗原，执行机体的体液免疫功能。

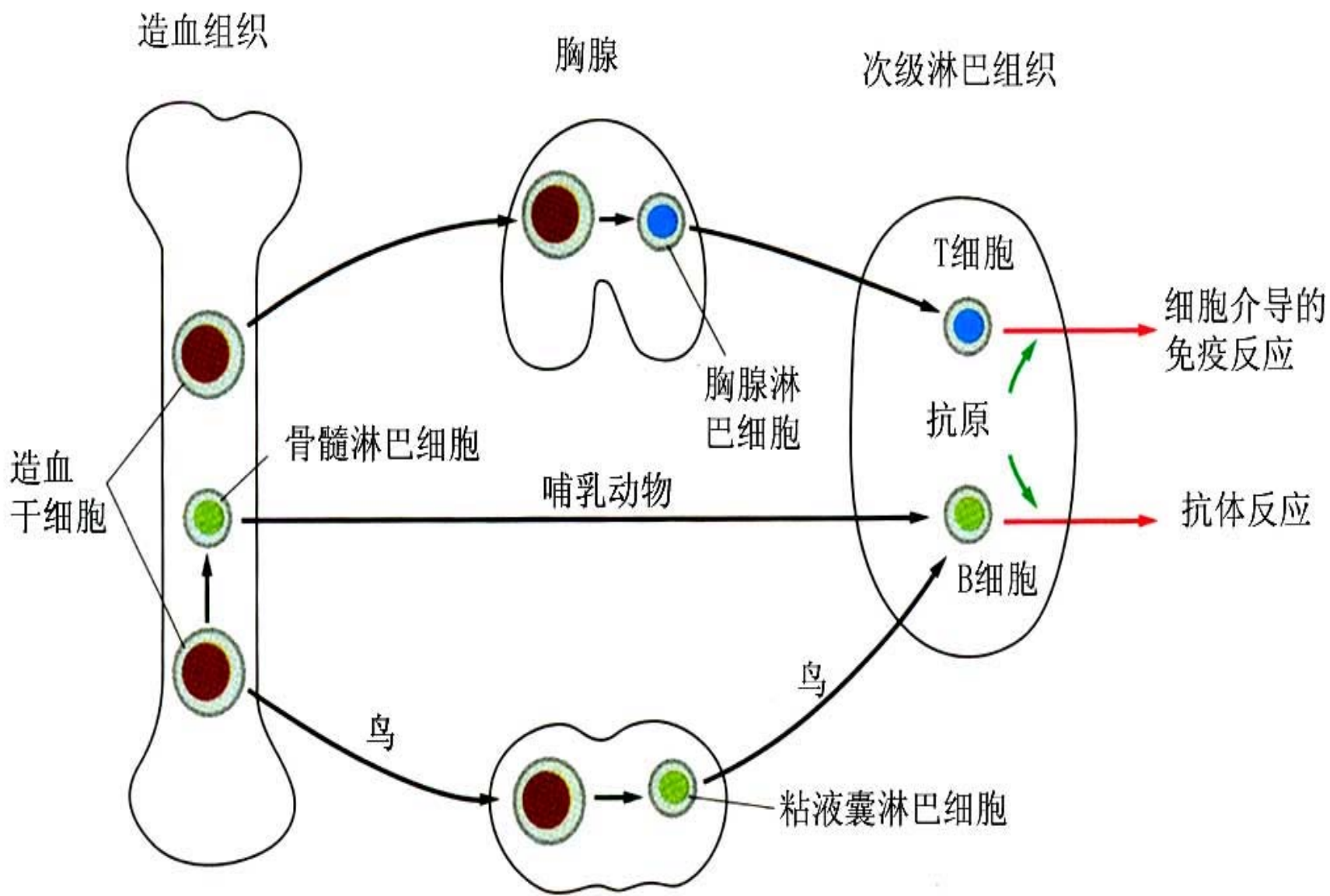


图9-2 B细胞和T细胞的发育过程。



# 1. B 细胞的分化

哺乳类动物**B**细胞的分化过程可分为以下几个阶段：**祖B细胞**、**前B细胞**、**未成熟B细胞**、和**成熟B细胞**等。其中祖**B**细胞、前**B**细胞、未成熟**B**细胞的分化不依赖于抗原，其分化过程在骨髓中完成。

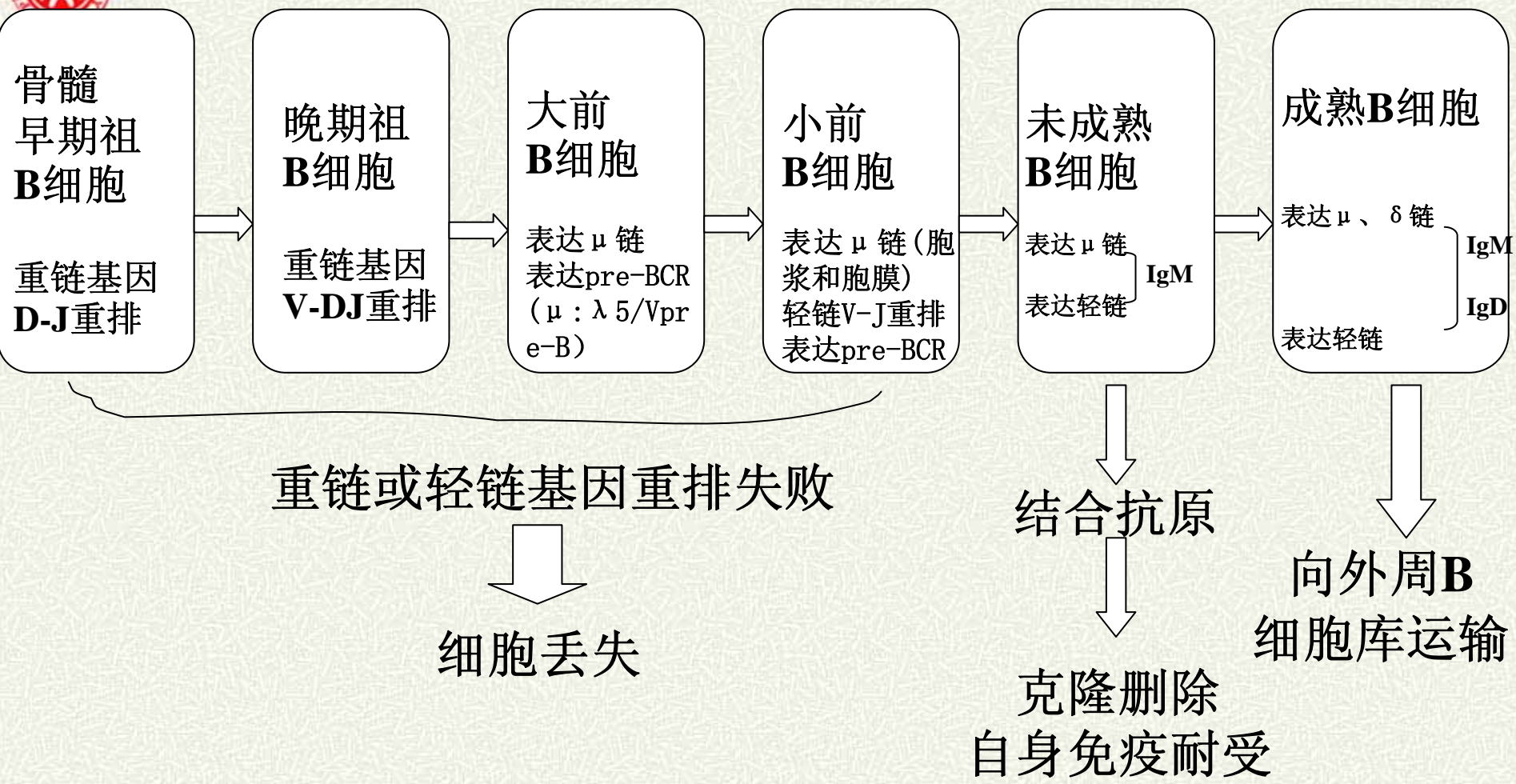


图9-3 B细胞的发育和分化



祖B细胞(**pro-B cell**)由骨髓淋巴细胞分化而来，仅存在于骨髓、胎肝等组织中。在早期祖B细胞中，**D-J**基因片段开始重排，并开始表达**B细胞受体**(**B cell receptor, BCR**)复合物中的**Ig  $\alpha$** 和**Ig  $\beta$** 。在晚期祖B细胞中**V-DJ**发生重排。



根据前**B**细胞的形态以及轻链基因的重排，可将其分为大前**B**细胞和小前**B**细胞。

大前**B**细胞**VDJ重排**后表达  $\mu$  链，并表达前**B**细胞受体。

小前**B**细胞轻链只发生V—J发生重排，无功能性Ig表达，缺乏对抗原的反应能力。



## 2. B细胞膜表面分子标记

膜表面球蛋白是**B**细胞的重要标志，是**B**细胞特异性识别抗原的受体。

未成熟**B**细胞表达**IgM**，成熟**B**细胞同时表达**IgM**、**D**、**G**、**A**和**E**。**B**细胞表面**Ig**的可变区都由**V<sub>H</sub>**和**V<sub>L</sub>**基因编码。

记忆**B**细胞表面不存在**IgD**，抗原刺激后**B**细胞表面**IgD**也消失。



## 9.1.3 T淋巴细胞发育及分化

T淋巴细胞(T lymphocyte), 简称T细胞, 来源于骨髓**淋巴样干细胞**, 其主要功能是产生T淋巴细胞受体。

T细胞不仅直接执行细胞免疫功能, 而且还可以通过产生多种细胞因子或表达黏附分子等手段, 与其他免疫细胞发生直接或间接的相互作用, 从而发挥广泛的免疫调节功能。



# 1. T细胞的分化与发育

研究小鼠胸腺细胞的发育过程表明，在胚胎发育到11-12天时，淋巴干细胞进入胸腺，并在胸腺微环境的影响下迅速发生增殖和分化。



诱导T淋巴细胞在胸腺内分化、成熟的主要因素有：

胸腺基质细胞分泌多种细胞因子及胸腺激素，通过其细胞表面的黏附分子直接与胸腺细胞发生相互作用，诱导后者分化；

胸腺中的“**抚育细胞**”参与调控T细胞的成熟和分化；

胸腺细胞自身可分泌多种细胞因子，影响本身的分化和成熟；

巨噬细胞、胸腺内上皮细胞和树突状细胞也参与胸腺细胞分化过程。



## 2. Notch信号与T细胞分化

在免疫系统发育过程中，**Notch信号途径**使淋巴干细胞向T细胞前体分化，表达功能性TCR  $\alpha\beta$  而非 TCR  $\gamma\delta$ ，并使  $CD4^+CD8^+$ T 细胞向  $CD4^-CD8^+$ T 细胞表型分化。



Notch信号决定了骨髓淋巴样干细胞向B系或T系方向分化，调控了 $CD4^+CD8^+$ T细胞的阳性选择过程，提高了胸腺中成熟的 $CD4^-CD8^+$ T细胞比例，促进了TCR  $\alpha$   $\beta$ 型T细胞的形成。

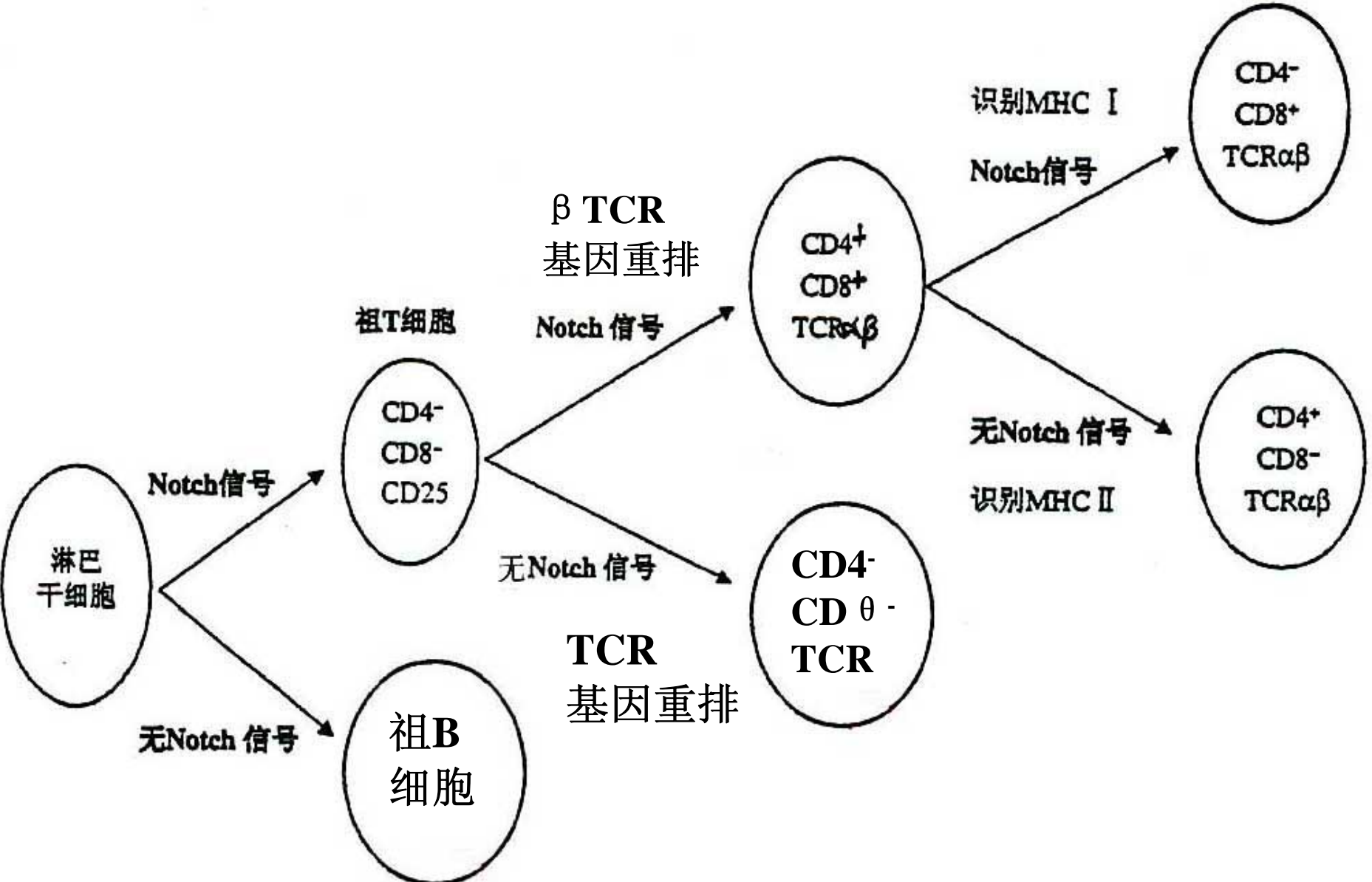


图9-5 Notch信号对淋巴细胞分化与发育的调控作用



### 3. T细胞表面受体

**T细胞受体**(T cell receptor, TCR)是T淋巴细胞表面识别自身MHC-抗原肽复合物的受体，含有 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 和 $\delta$ 四种多肽，属于免疫球蛋白基因超家族的成员。它与**CD3**在细胞表面组成**TCR-CD3**复合物，并传递抗原刺激信号。



## 9. 1. 4 免疫球蛋白的结构

抗体的基本结构是一个四聚体的**免疫球蛋白**分子，由4条（两对）多肽链组成，包括两条相同的轻链（**L-chain**）和两条相同的重链（**H-chain**）。轻链约 $2.3 \times 10^4$ ，重链则介于 $5.3 \times 10^4 \sim 7.0 \times 10^4$ 之间。

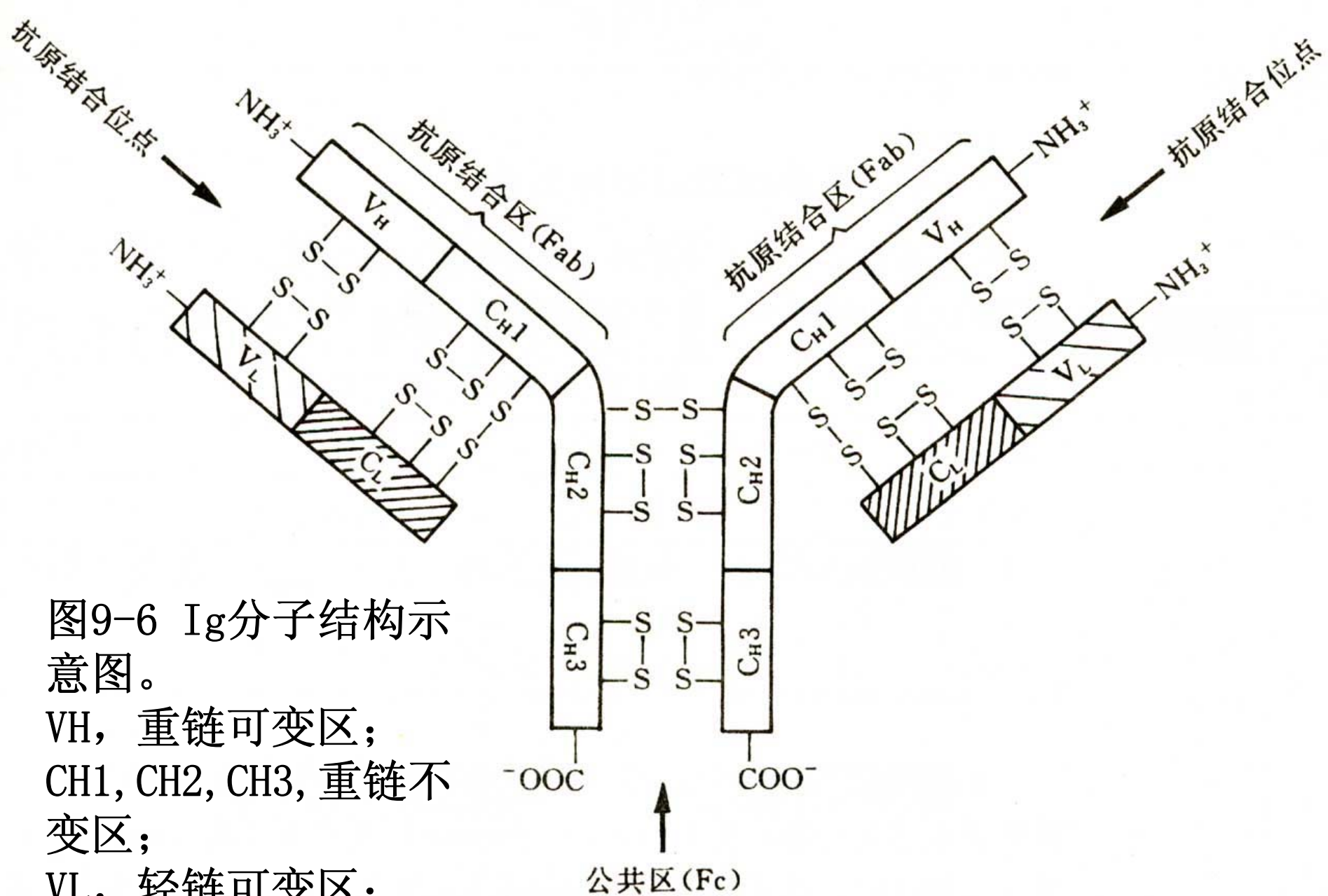


图9-6 Ig分子结构示意图。

$V_H$ , 重链可变区;  
 $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$ , 重链不变区;  
 $V_L$ , 轻链可变区;  
 $C_L$ , 轻链不变区



根据抗体的重链结构特征将其分为5类（表9-1），再根据抗原的不同和结构的变化又可分出若干亚类。每种类型都有一个特征性的恒定区。



表 9-1 抗体的分类

性质	IgM	IgD	IgG	IgE	IgA
重链	$\mu$	$\delta$	$\gamma$	$\epsilon$	$\alpha$
结构	$(U_2L_2)_5J$	$\delta_2L_2$	$\gamma_2L_2$	$\epsilon_2L_2$	$\alpha_2L_2$
占总量 $I_g$ (%)	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>80%</b>	<b>&lt;1</b>	<b>14</b>
在成年人血清中的平均含量 (g/L)	<b>1</b>	<b>0.03</b>	<b>12</b>	<b>0.0003</b>	<b>2</b>
半衰期 (d, 在血清中)	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>25</b>	<b>2</b>	<b>6</b>
特征	出现较早, 具有确定补体、有激活巨噬细胞的功能	以细胞表面为主, 少量存在于血清中	激活互补并与巨噬细胞相结合	刺激肥大细胞, 释放组胺	分泌蛋白



## 9.1.5 免疫球蛋白基因结构

免疫球蛋白分子由**Igk**、**Igl**和**Igh**基因编码，位于不同的染色体上。

**1965年**，**Dreyer**和**Bennet**认为，**Ig**的**V区**和**C区**由分隔存在的基因所编码，这些基因片段在淋巴细胞分化和发育过程中发生易位重排，形成有转录活性的免疫球蛋白基因。



**Hozumi和Tonegawa在1976年应用DNA重组技术证实了这一假说。Tonegawa因在免疫球蛋白基因结构研究上的重大突破获1987年诺贝尔生理医学奖。**



# 1. 免疫球蛋白轻链基因结构

1)  **$\kappa$  基因**。位于人类第2号染色体上，其可变区和恒定区分别由不连续的V基因和C基因编码。V与J基因以多拷贝形式存在，其中V基因簇含有约300个拷贝。



人类和小鼠的J基因簇都包含5个J基因，位于V基因簇的3'端，与最后一个V基因的3'端相距**23kb**，与 $\kappa$ 链恒定区C基因的5'端相距约**2.5kb**。

人和小鼠的C基因都是单拷贝，它编码了 $\kappa$ 链C区的106个氨基酸序列（第109-214位氨基酸）。

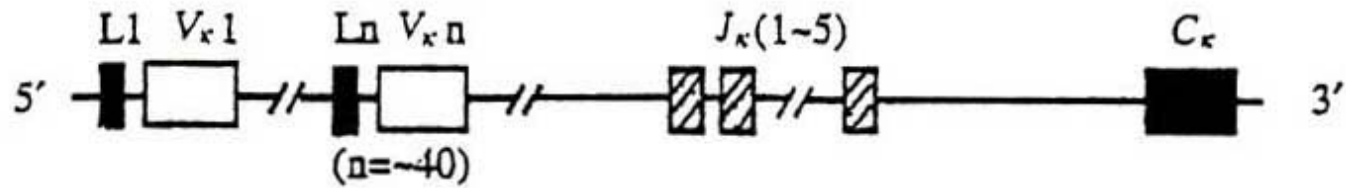


2)  **$\lambda$  基因**。小鼠有两个 $V \lambda$  基因： $V \lambda 1$ 和 $V \lambda 2$ 。人类 $V \lambda$  基因有30个拷贝，可分为 $V \lambda 1-10$ 十个亚群， $V \lambda 1-5$ 是主要亚群，比较保守。

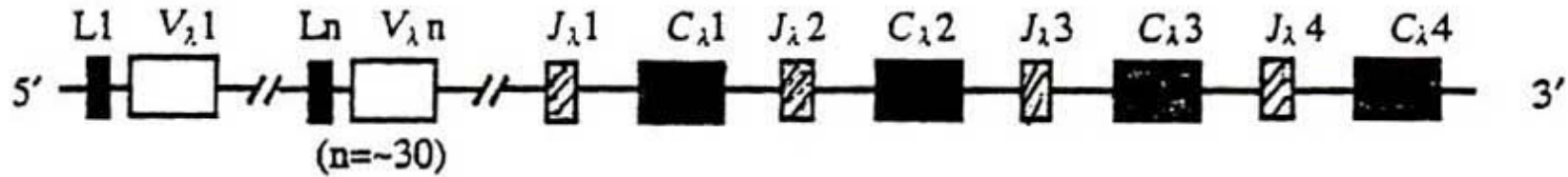
小鼠 $C \lambda$  基因簇有4个拷贝，而人类 $C \lambda$  基因有6个以上的拷贝。基因表达过程中，每个 $V \lambda$  基因都和 $C \lambda$  基因成对排列。



### κ 链基因



### λ 链基因



### 重链基因

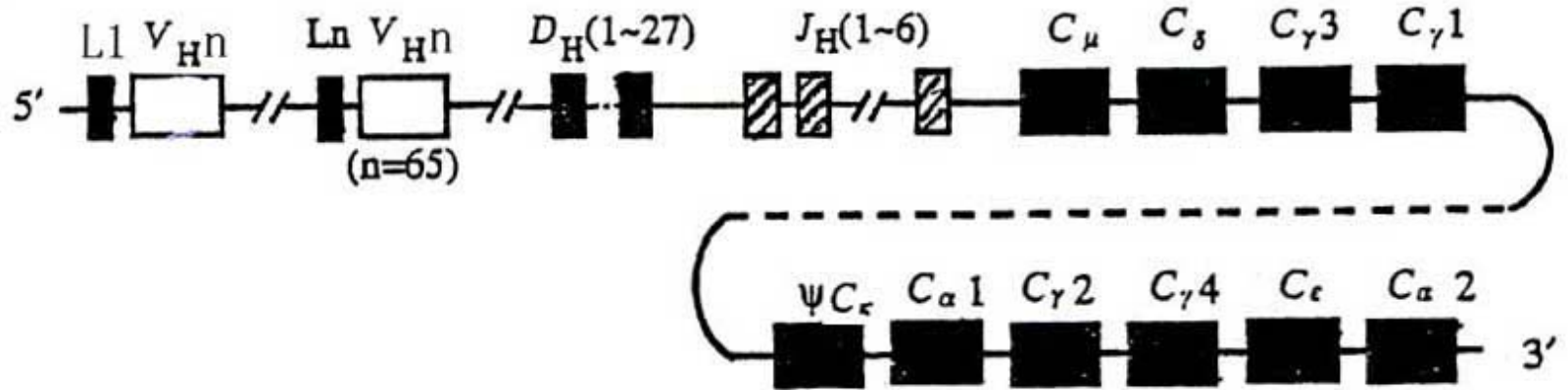


图9-7 人类Ig基因结构示意图



## 2. 免疫球蛋白重链基因结构

人重链基因位于14号染色体，由V、D、J和C四种不同基因片段组成。

编码重链V区基因长约1000—2000kb，包括V、D、J三组基因片段。每个V基因片段上游有L基因片段，编码20—30个疏水性氨基酸的信号肽。



## 9.1.6 Ig基因重排与DNA的多样性

一个生物为什么能产生百万种以上 ( $10^6 \sim 10^8$ ) 的Ig分子呢?

其根本原因是V区和C区不同片段在DNA分子水平上发生了被称为**种系重组**的重排。单一种系状态的Ig基因是不能表达的，只有经过重排才有可能得到表达。



# 1.轻链基因的重排与连接

**V**和**J**重排是通过**V**基因**3'**端和**J**基因**5'**端之间的侧翼序列（又称识别序列）实现的。它具有一段由7个碱基组成的反向回文序列—CACAGTG，在**V** **3'**端紧接着回文序列的是11个碱基的间隔序列，而后是9个富含A、C的碱基。



J 5'端也包含有与上述7碱基及9碱基区相配对的序列，其间隔序列由23个碱基组成，不能与V 3'端11个碱基配对，因而形成单链突起（茎环结构）。V、J结合后，上述茎环结构被切除，形成连续的V、J片段。

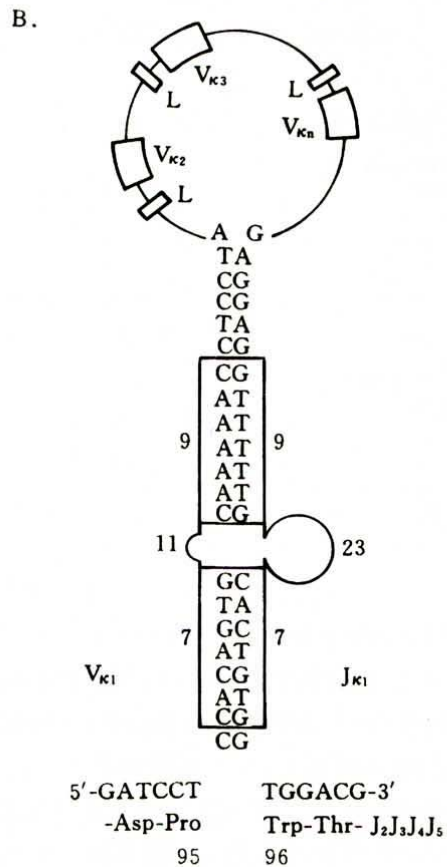
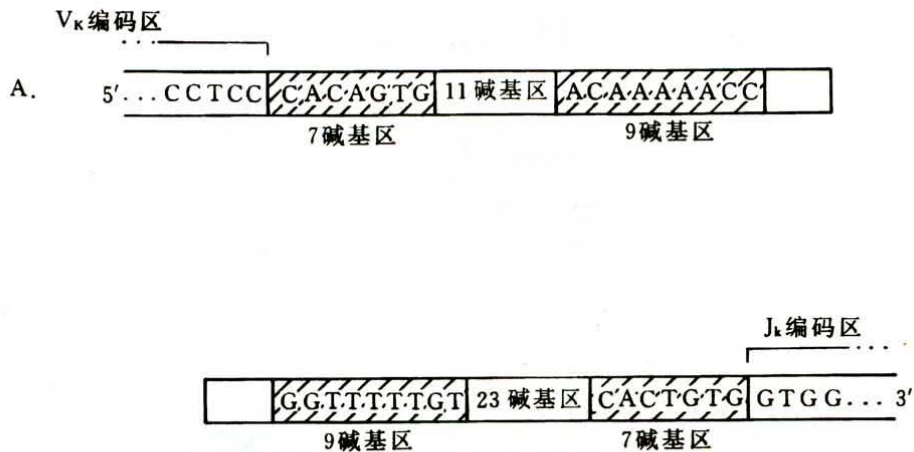


图9-8 V<sub>κ</sub> 与J<sub>κ</sub> 基因的重排是通过V<sub>κ</sub> 基因3'和J<sub>κ</sub> 基因5'端的识别序列完成的



V基因簇中的任何一个V片段和J基因簇中的任何一个J片段在DNA水平上均可随机结合形成VJ单位。这种随机组合重排并不很不精确，造成了重排后的多样性。

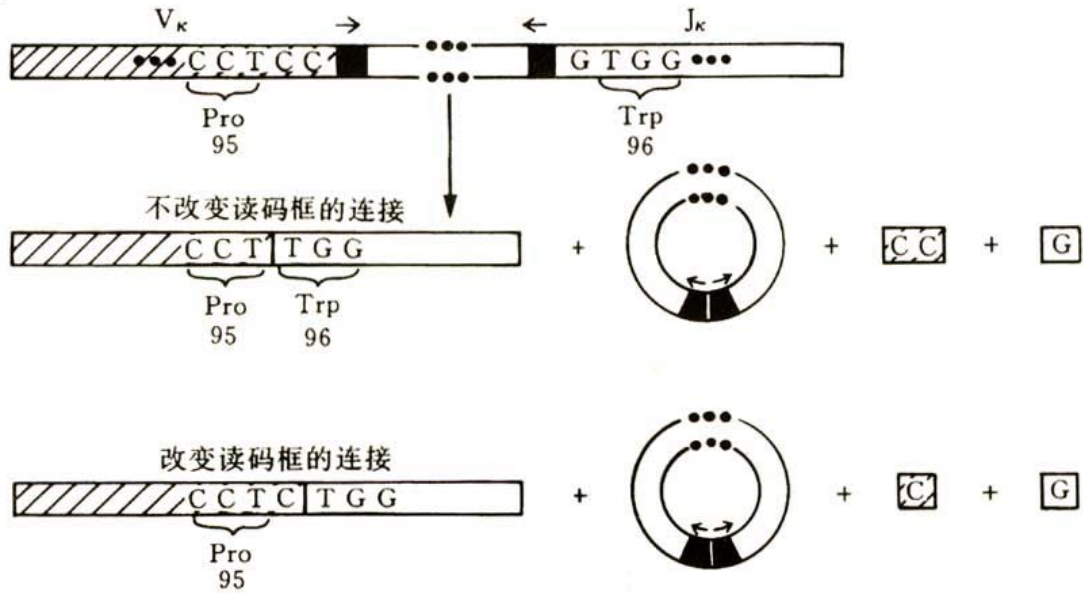
V3'和J5'常由于重排不精确而造成碱基丢失或错位，导致 $\kappa$ 链中第96位以后的氨基酸编码发生改变，免疫球蛋白结构发生多样性变化。



交互使用V和J基因间的重组位点，  
可以产生新的密码子，形成4个不同的  
重组框架，并在第96位密码子上  
产生3种不同的氨基酸，其中Arg密  
码子在种系基因组中是没有的，这  
是连接反应造成免疫球蛋白多样性的  
机制之一。



A.



B.

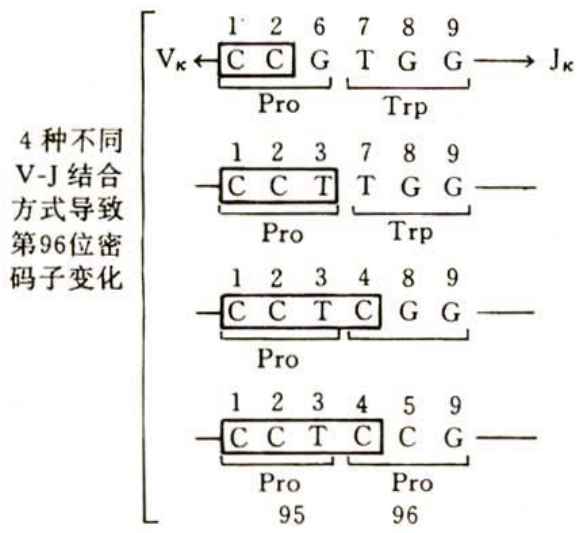


图9-9 V-J 连接反应造成Ig多样性的分子机制



## 2.重链基因的重排与连接

重链基因虽然只有一个位点，但结构十分复杂。如小鼠重链基因就包含了大约上百个**VH**片段、**10**多个**D**片段和**4**个**J**片段以及下游**17kb**处的**CH**片段。

**V**基因和**D**及**J**片段组合能产生**4000**个不同的**V**区，每个**V**区都能和**CH**基因相组合。




人类的**CH**基因簇含有**10**个基因，小鼠**CH**基因簇只有**8**个基因。这些**CH**基因虽然都有表达活性，但在同一细胞中只有一个基因表达。



1)  $V_H$ 、 $D_H$ 和 $J_H$ 基因的重排。重链基因要经过两次重排才得以完成，第一次重排发生于 $D_H$ 和 $J_H$ 之间，第二次重排发生于 $V_H$ 和 $D_HJ_H$ 之间，形成有转录功能的 $V_HD_HJ_H$ 基因。

第二次重排过程中，同样会产生不精确性，进一步造成免疫球蛋白的多样性。

 V区(数百个拷贝) D片段(~20拷贝) J<sub>H</sub>片段 (4拷贝)

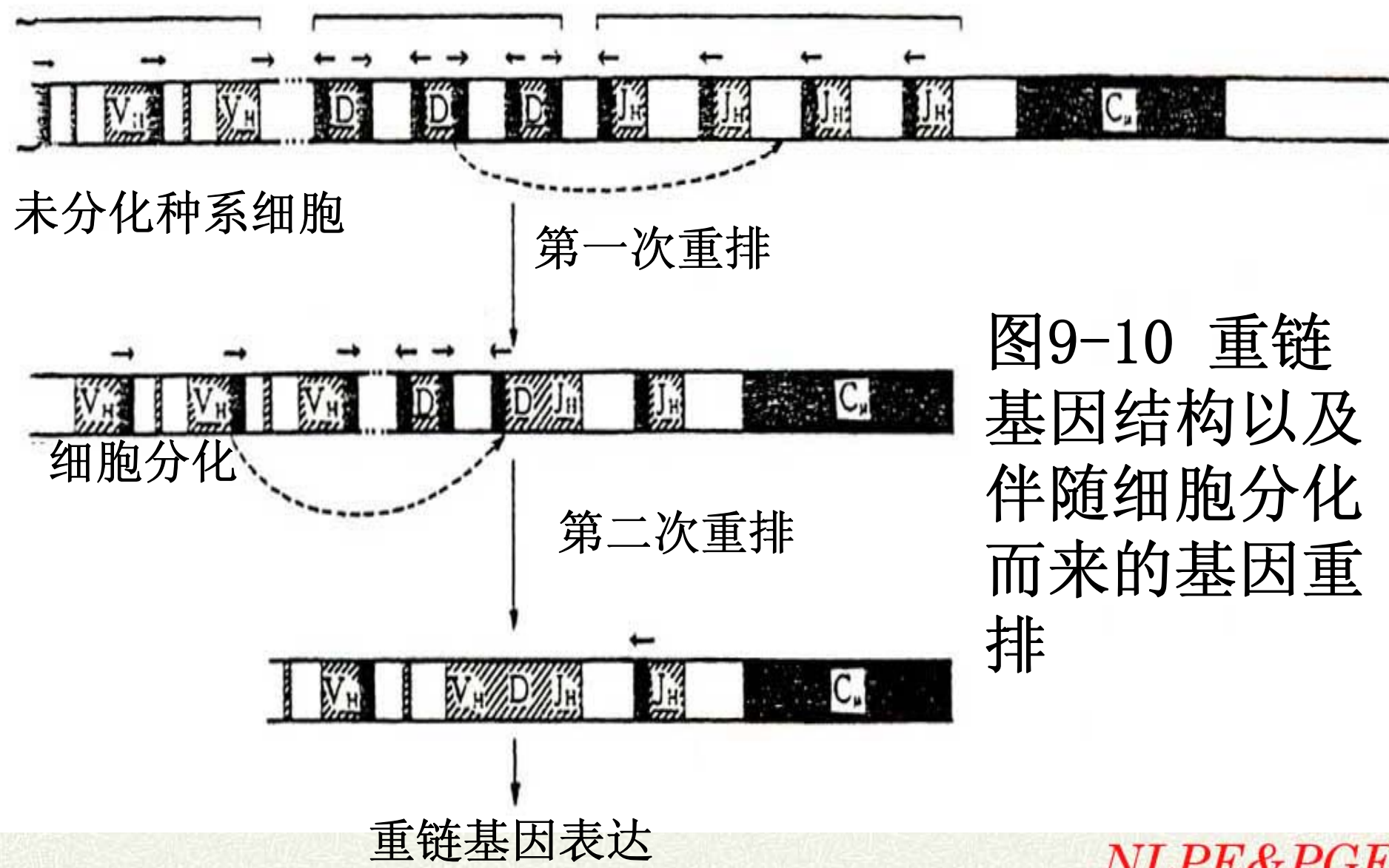


图9-10 重链基因结构以及伴随细胞分化而来的基因重排



人类基因组有**300**个**V<sub>H</sub>**基因、**20**个**D<sub>H</sub>**基因和**4**个**J<sub>H</sub>**基因及不同的**N**区，加上不同片段之间连接反应的不精确性，**V<sub>H</sub>D<sub>H</sub>J<sub>H</sub>**重排结合产生的变化达到**300 × 20 × 4 × 100**（**N**区因素）× **10**（连接不精确因素）= **2.4 × 10<sup>7</sup>**。

因为**V<sub>κ</sub>**和**J<sub>κ</sub>**重排结合的多样性程度是**5 × 10<sup>3</sup>**，因此，由**κ**链和重链组成的**Ig**分子抗体的多样性就可能有**2.4 × 10<sup>7</sup> × 5 × 10<sup>3</sup> = 1.2 × 10<sup>11</sup>**之多。



## 9.1.7. 免疫球蛋白基因表达

### 等位排斥与同型排斥

**等位排斥**：发生V-J和V-D-J重排时，只出现一种重组类型，产生一种轻链和一种重链分子。



淋巴细胞中产生免疫球蛋白的基因位于两条同源染色体上，而免疫球蛋白基因的表达只发生在其中一条上，这种因为一条染色体上的基因表达而抑制另一条染色体上相同基因表达的现象称为等位基因排斥（**allelic exclusion**）。



**同型排斥 (isotypic exclusion)**：B淋巴细胞的轻链表达时，只生成一种链（ $\kappa$ 链或是 $\lambda$ 链），不可能同时表达 $\kappa$ 链和 $\lambda$ 链。

等位排斥和同型排斥保证了B淋巴细胞无性系只表达一种特异性抗体。



科学上将未发生重排的种系构型等位基因称为  $Ig^{\circ}$ ，发生重排并进行功能表达的等位基因称为  $Ig^{+}$ ，发生无效重排的无活性等位基因称为  $Ig^{-}$ 。



细胞中有可能存在下述几种情况：

①等位基因之一发生有效重排，产生活性基因，并产生等位排斥，使另一基因的重排和表达受到抑制，这个细胞构型为  $Ig^{\circ} / Ig^{+}$ ；



②等位基因之一发生无效重排，另一个染色体上的基因仍处于种系构型，则该细胞构型为  $Ig^{\circ} / Ig^{-}$  这样的细胞构型不会抑制另一个等位基因的重排；

③第一次无效重排后，细胞内又发生另一次有效重排，生成  $Ig^{+} / Ig^{-}$ ，阻止了进一步重排的发生。



# 9. 1. 8 主要组织相容复合体的表达调控

## 1. 主要组织相容性复合体概述

引起移植排斥的细胞表面抗原称为组织相容性复合体（**major histocompatibility complex, MHC**），在移植排斥中起决定作用，是机体特异性免疫反应中心。



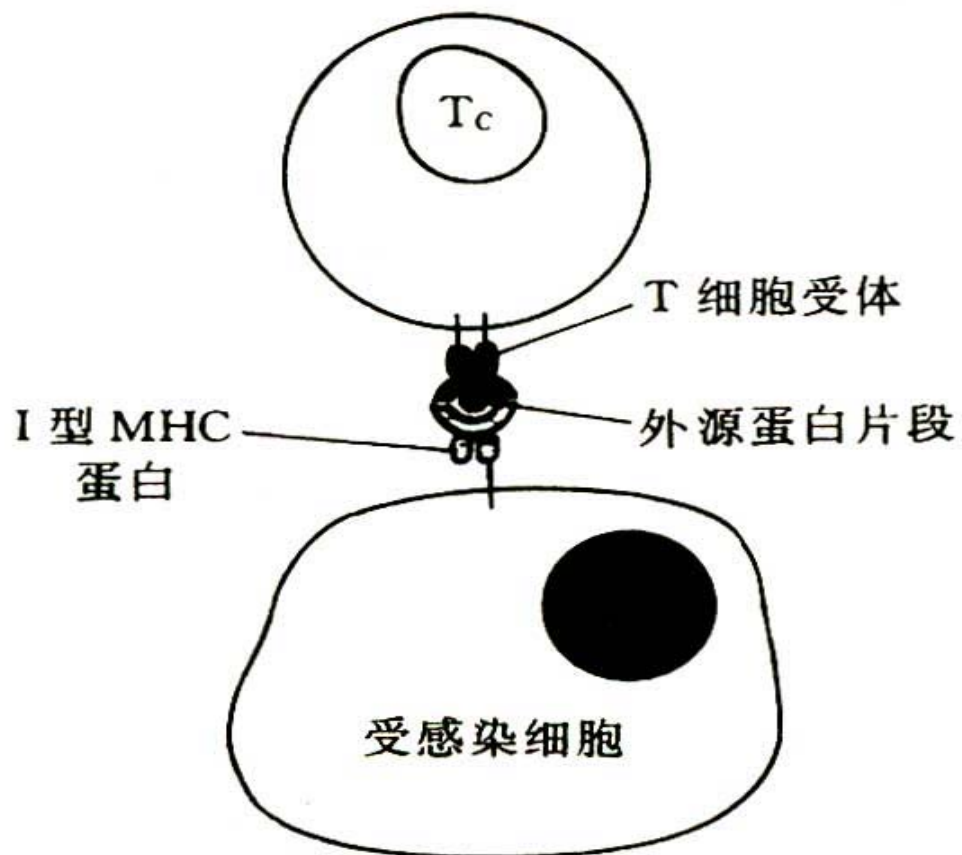
细胞毒T细胞通过表面**TCR**识别呈递于**MHC**分子表面的异己外源肽段，并直接杀伤呈递这类**MHC**的细胞。

辅助T细胞通过**TCR**识别**II型MHC**呈递的外源肽段。

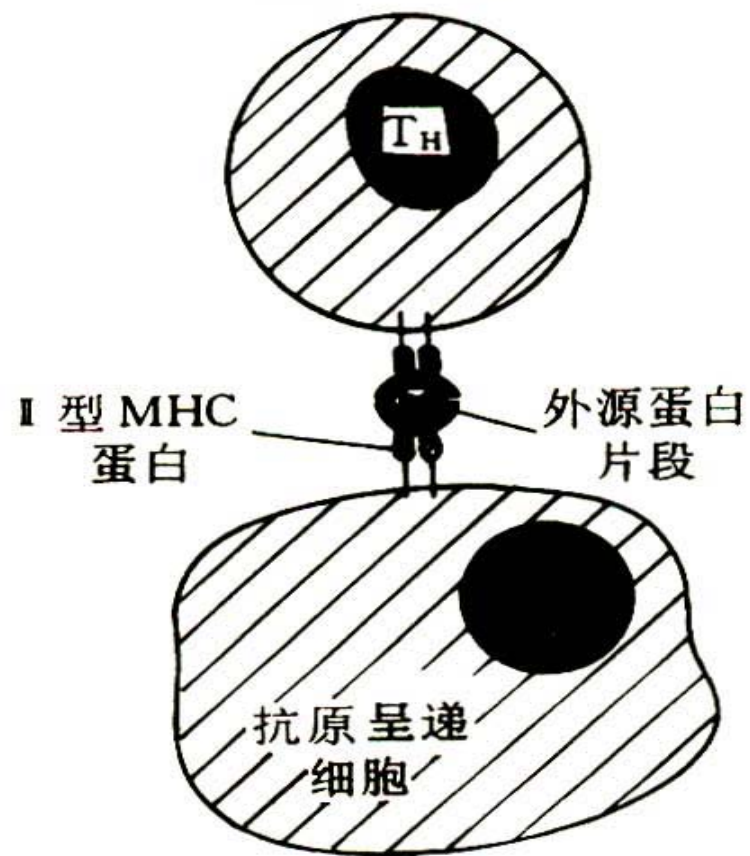
**MHC**与**TCR**、**Ig**相互配合，构成了生物体内复杂多变的免疫反应和应答。



### 细胞毒 T 细胞



### 辅助 T 细胞





细胞毒T细胞能识别所有与I型MHC分子相结合的受感染细胞携带的外源蛋白片段，辅助T细胞只能识别抗原呈递细胞（如巨噬细胞和B细胞）表面所携带的外源蛋白。



## 2. MHC的分类

人MHC又称白细胞抗原（**human leukocytoantigen, HLA**）体系，是到目前为止免疫体系中最复杂，最具多态性的体系。



**HLA基因簇位于第6号染色体，全长约 $3.0 \times 10^6$ bp，足以编码150多个相对分子质量在 $4.0 \times 10^4$ 左右的蛋白质，现已克隆了30多个基因和假基因。**



**HLA共分为4型：**

**I型分子包括HLA-A、HLA-B和HLA-C，广泛存在于各种组织中；**

**II型分子包括HLA-DP、HLA-DQ和HLA-DR，存在于B细胞、巨噬细胞和活化T细胞中；**



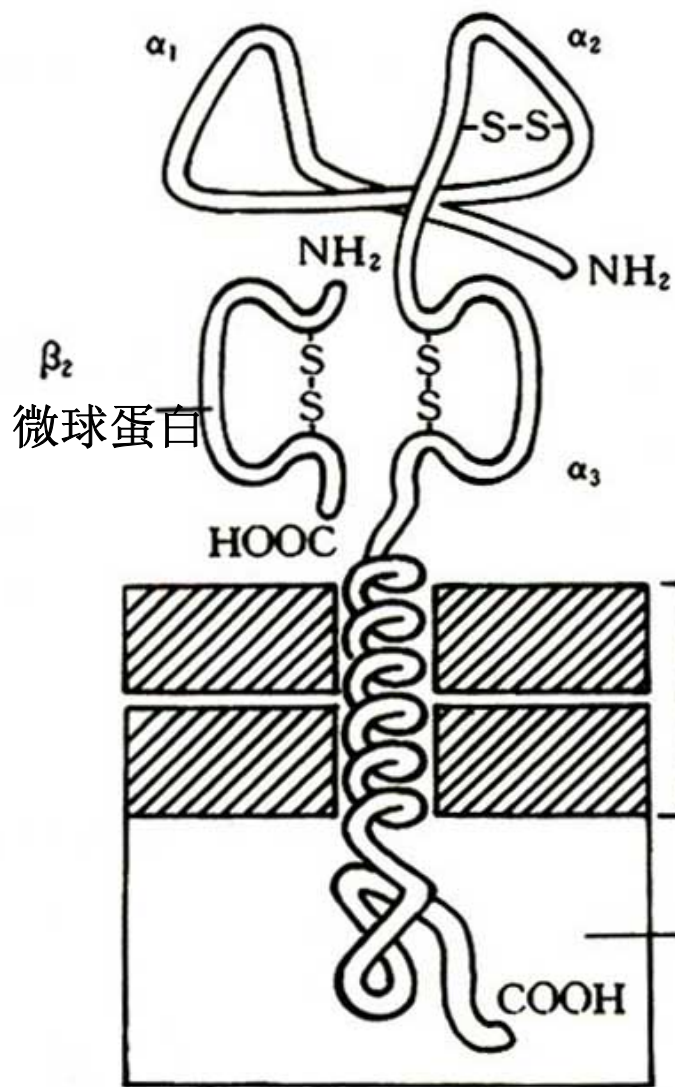
**III型分子为补体系统，包括C2和C4位点，存在于血清中；**

**IV型分子可能是一些分化抗原，只存在于淋巴细胞、某些细胞毒T细胞和白血细胞中。**

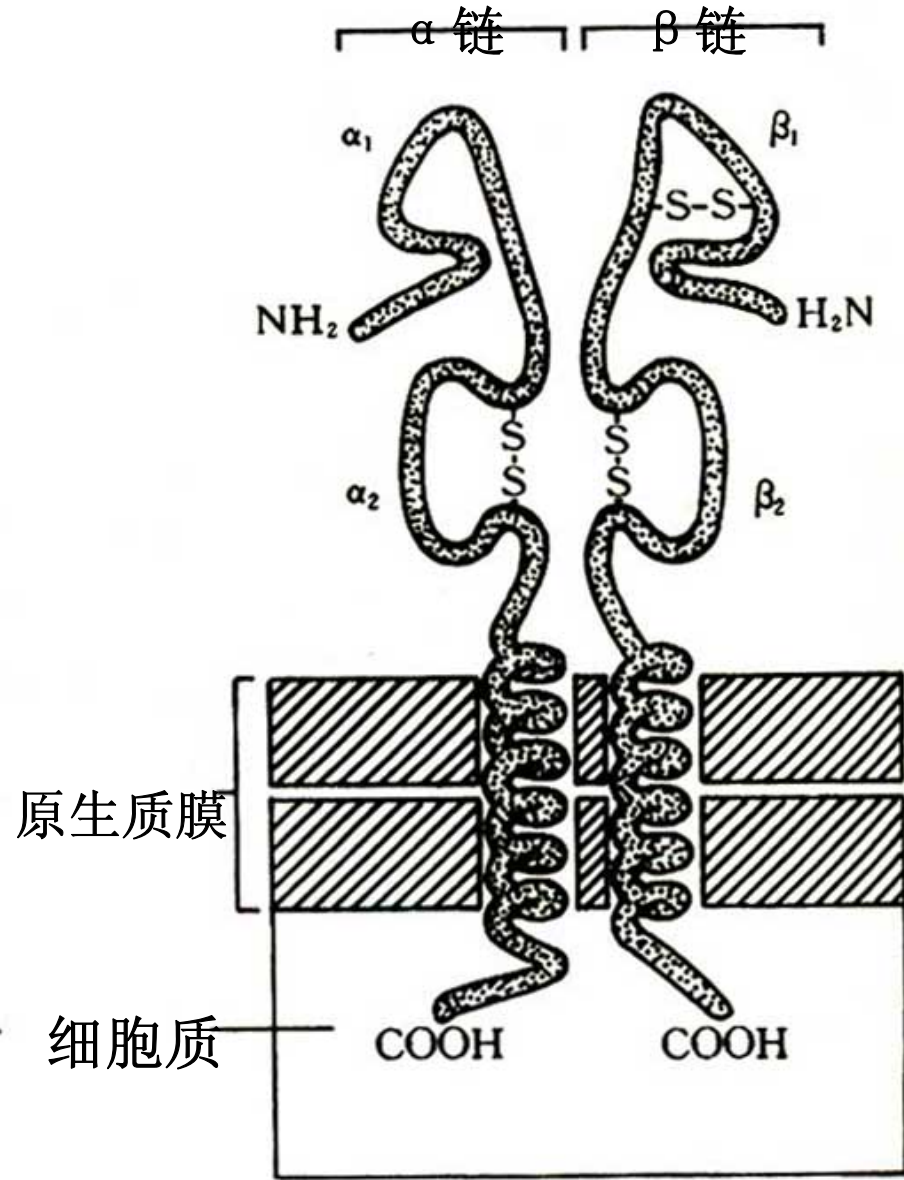


I型分子带有信号肽链，被称为**移植抗原**（transplantation antigen）。相对分子质量约为 $4.5 \times 10^4$ ，是跨膜蛋白，与免疫球蛋白结构域相似，可被分为3个部分。

细胞质内的部分是亲水的C端，称为胞质片段，横跨脂质双层的一个较短片段称为跨膜片段，在细胞膜外侧是较大的N端，称胞外片段。



A. I型MHC蛋白



B. II型MHC蛋白

图9-13 I型和II型MHC的组成和结构域分析



**II型分子由  $\alpha$  和  $\beta$  两条糖化多肽链组成。  $\alpha$  链为  $3.3 \times 10^4$ ，  $\beta$  链为  $2.8 \times 10^4$ ， 负责呈递胞外抗原。**

**II型MHC的  $\alpha$ 、  $\beta$  链只有在结合形成异源二体时才具有相对稳定性， 再通过不同途径与胞外抗原结合， 转运到质膜表面， 呈递给  $T_H$ ， 激活体液免疫过程。**



表9-3 I型和II型MHC主要性能比较

	I 型	II 型
蛋白质的结构	$\alpha$ 链+ $\beta_2$ -微球蛋白	$\alpha$ 链+ $\beta$ 链
在细胞内分布	细胞毒T细胞	辅助T细胞
抗原蛋白来源	细胞质蛋白	内吞膜蛋白和细胞外蛋白
多态性区域	$\alpha_1 + \alpha_2$	$\alpha_1 + \beta_1$



**MHC分子与TCR的相互作用往往不足以维持这两类细胞间的牢固联系，需要有另一类称为**附加受体**（**accessory receptor**）的分子协同作用。**

**当这类附加受体也具有利用自身胞间信息系统激活T细胞的功能时，就被称为**共受体**（**co-receptor**）。**



**共受体**不能单独与抗原相结合，没有可变区，也不具有多型性。**CD<sub>8</sub>**和**CD<sub>4</sub>**共受体分别参与**I型MHC**与细胞毒T细胞及**II型MHC**与辅助T细胞之间的反应。

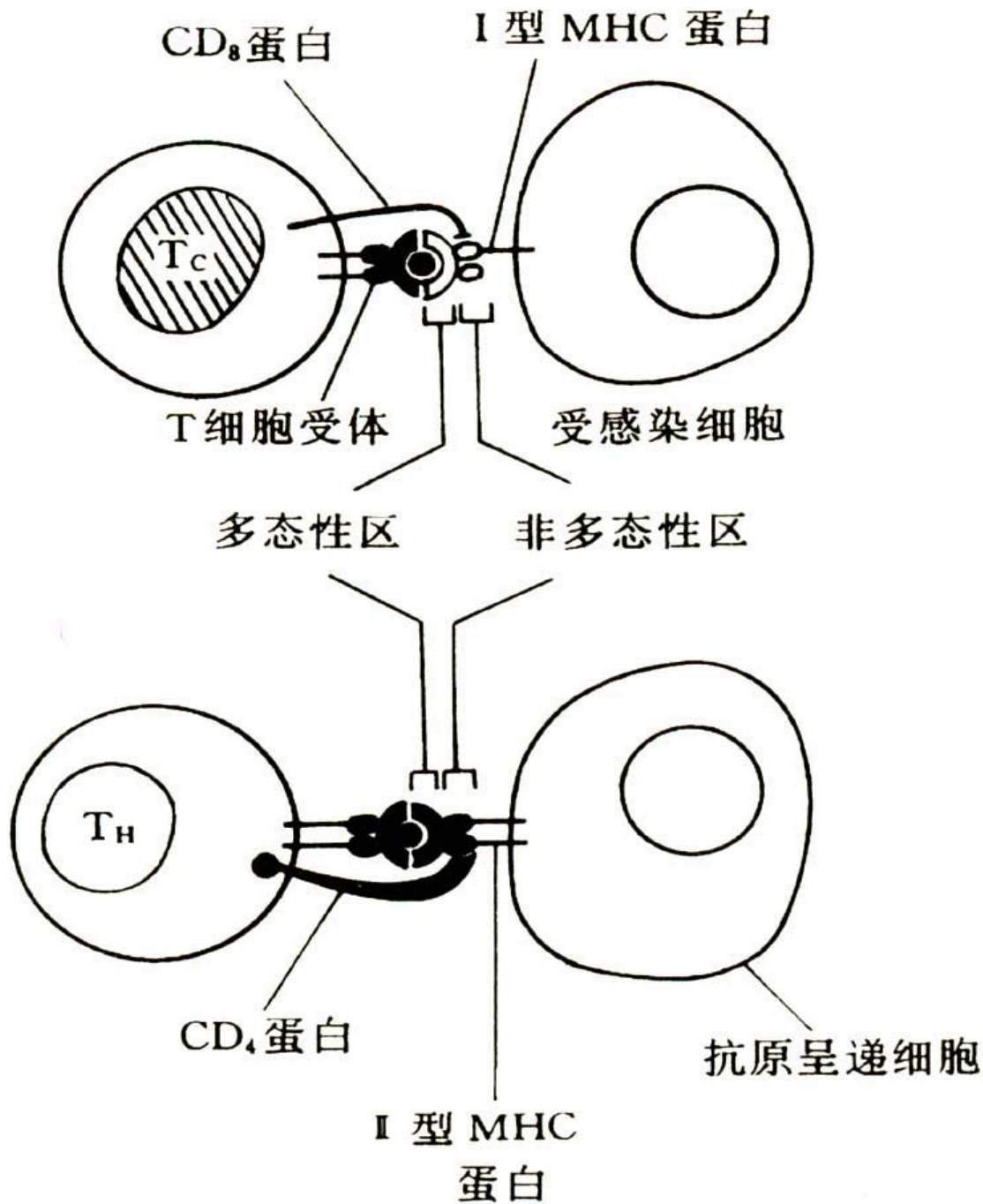


图9-14  $CD_4$  和  $CD_8$  共受体参与辅助T细胞和细胞毒T细胞介导的免疫反应



## 9.2 果蝇的胚胎发育

**果蝇**是一种双翅目昆虫，其幼虫和成虫依赖于正在腐烂的果实。果蝇的个体小、生命周期快、繁殖容易，每只雌虫两周就可以产生约300个后代。



果蝇的巨大多线染色体适宜于遗传分析和基因定位，是基因与发育领域的模式生物。T. Morgan因为发现果蝇的遗传重组原理及性染色体，于1933年获得诺贝尔生理医学奖。

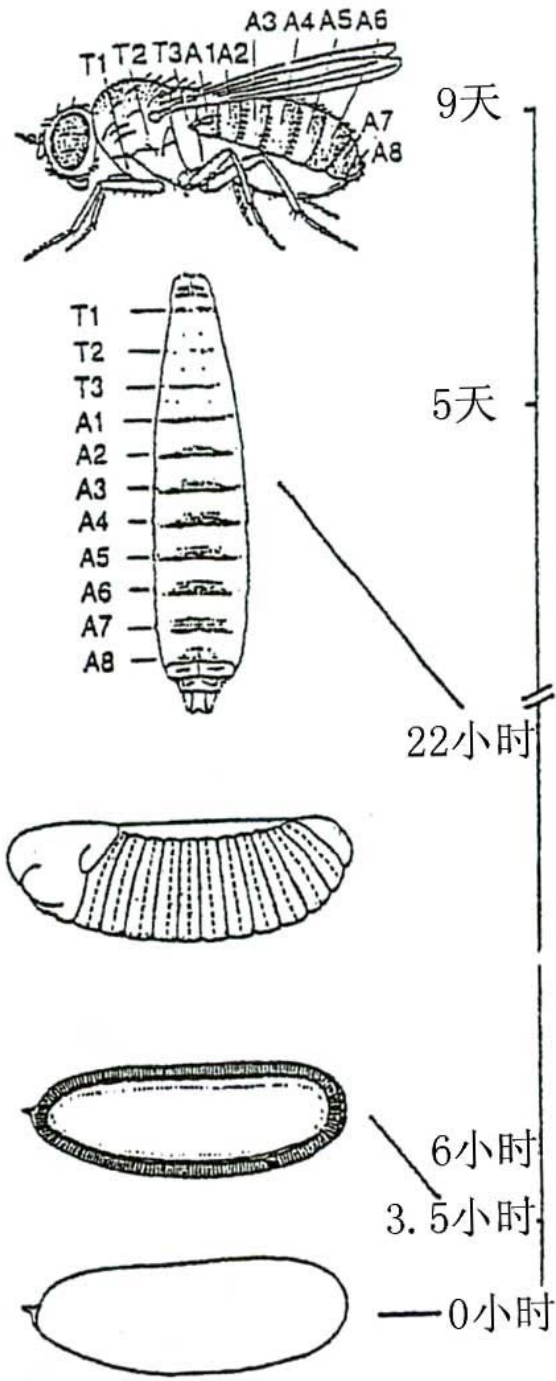
Morgan的同事H. J. **Müller**因为发现X-射线诱导突变而于1964年获得诺贝尔奖。



果蝇发育的时间周期取决于温度，在25℃下约9-14天为一个周期。

第一天为胚胎发生期，经历三个阶段后到第四天蜕皮、分化、蛹化（pupation），在蛹中经过5天的变态发育为成虫。

成年果蝇存活约9天。果蝇发育的许多特性反映出这非同一般的快速生命周期在进化过程中的演变。



成虫

变态

蛹化

孵化

体节形成  
器官发生

原肠胎形成  
胎盘形成

受精卵

图9-15  
果蝇发育的不同时期分析



## 9.2.1 卵子发育

果蝇卵细胞在产生过程中就已经开始快速的胚胎发育。

果蝇卵在卵巢管中形成。构成卵巢管管壁并围绕未来卵细胞的细胞叫**滤泡细胞**（follicle cells），类似于脊椎动物卵巢中的卵泡细胞。每个小室中含有一个雌性原始生殖细胞，即**卵原细胞**（oogonium）。

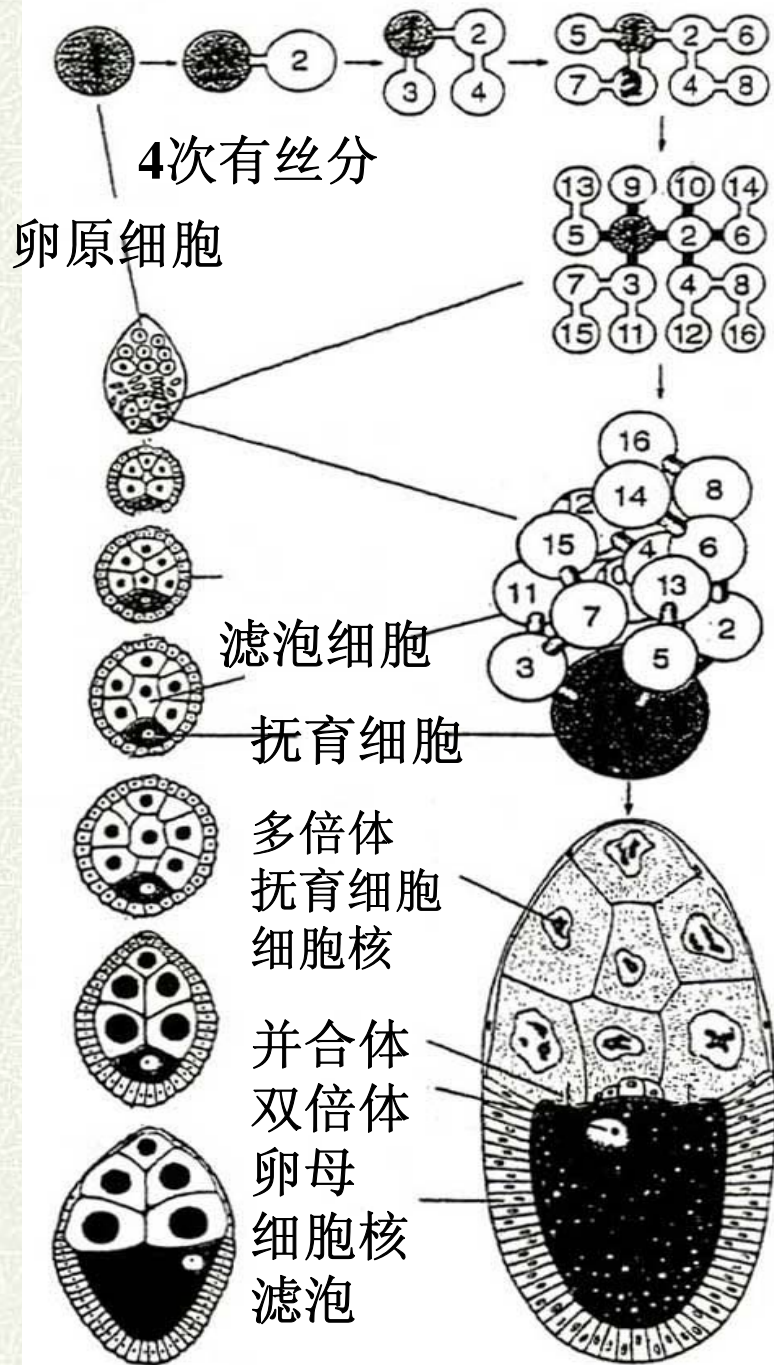


图9-16 果蝇卵  
子形成过程示意  
图



卵原细胞经过四次有丝分裂成为16个细胞（称为**并合体**，fusomes），通过胞质桥构成内部连接，其中之一发育成卵母细胞(oocyte)，其余发育为抚育细胞(nurse cell)。卵母细胞为双倍体，完成减数分裂后成为单倍体。抚育细胞是多倍体。



## 9.2.2 胚胎发育

### 1. 胚胎发生的准备—卵裂

果蝇的胚胎发育非常快，在产卵后立即开始，并在一天内孵化成幼虫。

果蝇卵裂异常。细胞核以每9分钟一次的高频率复制，直至达到约有6000个核并发育成为**合胞体**(syncytium)。

当出现256个以上的细胞核时，这些细胞核开始向卵的外周移动，并定居到皮层组织。

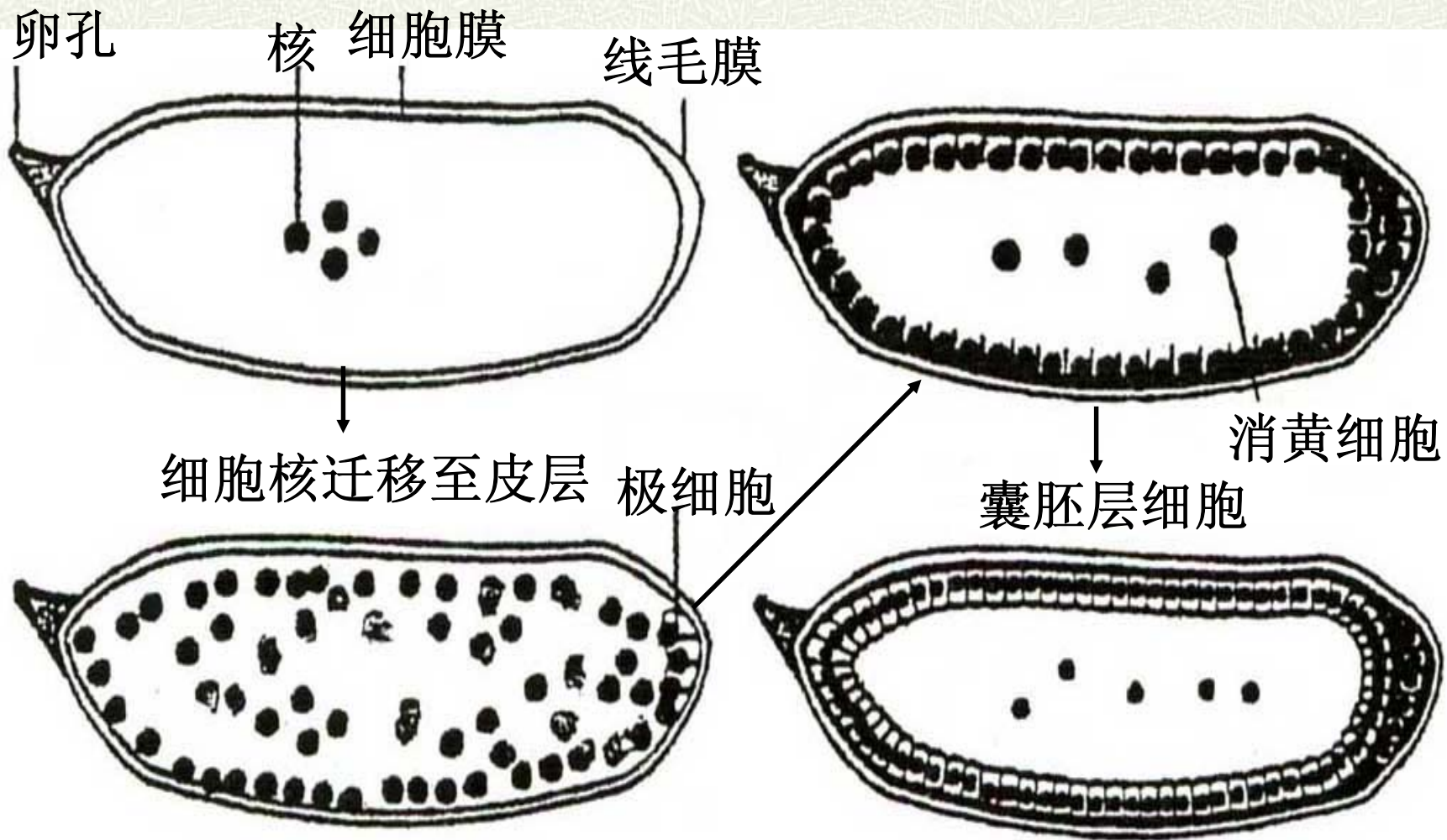


图9-17果蝇的卵裂过程简图



## 2. 果蝇胚胎的极性与躯体基本模式

果蝇的卵、胚胎、幼虫和成体都具有明确的前-后轴和背-腹轴，其形体模式沿前-后轴和背-腹轴进行。

果蝇胚胎和幼虫均沿前-后轴显示规律性分节，分属3个解剖区，从前到后称为头节，3个胸节及8个腹节。果蝇幼虫前后端又特化产生原头和尾节。

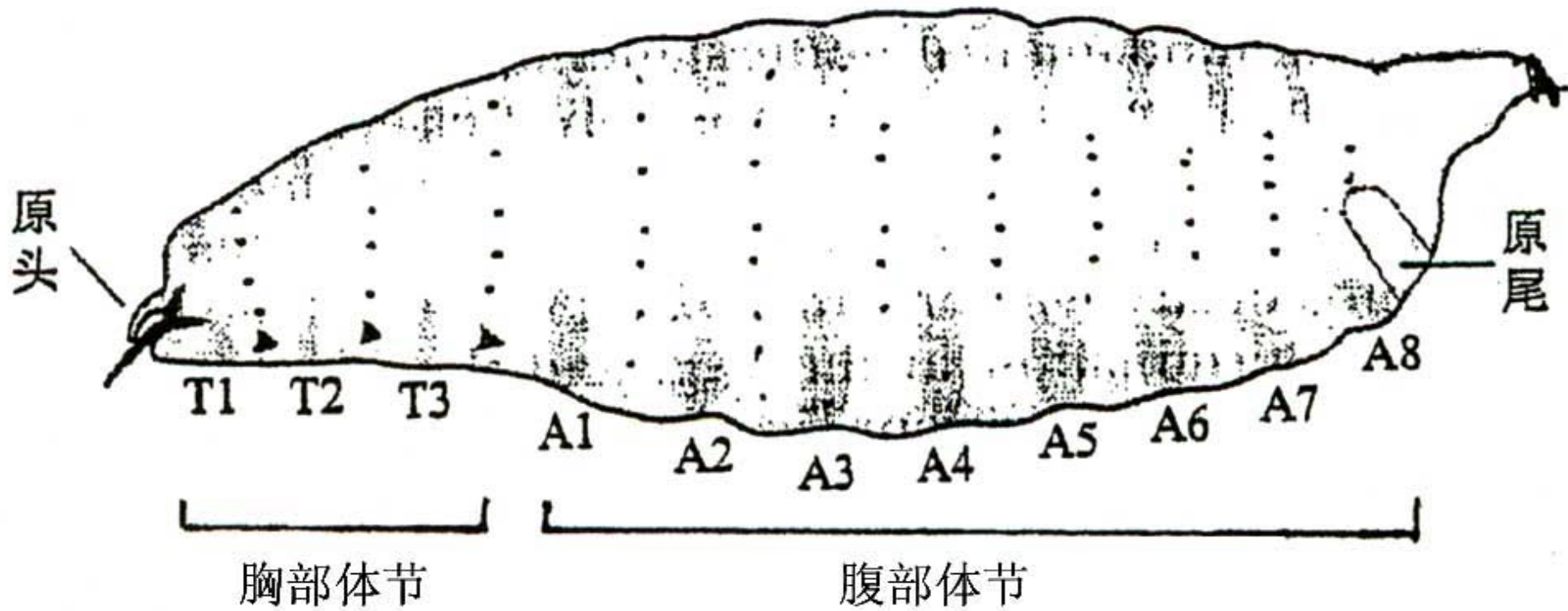


图9-18 果蝇1龄幼虫形体结构模式



在果蝇发育的卵细胞阶段，由于抚育细胞和卵泡细胞的分泌和诱导，在长椭圆形的卵细胞两端分别差异性地锚定和贮存了特异性翻译调控因子 bicoid 和 **nanos** mRNA。



进入胚胎发育阶段后， BICOID蛋白由前向后梯度性递减， NANOS则呈梯度性递增分布。

BICOID蛋白对 **caudal** mRNA、 NANOS蛋白对 **hunchback** mRNA 的翻译分别具有抑制作用， 使HUNCHBACK蛋白含量由前向后逐渐降低， 而CAUDAL蛋白的含量则渐次增高。



4个形态发生决定基因参与调控胚胎前-后轴形成。

biocoid 和hunchback调控胚胎前端结构的形成；

nanos和caudal1调控胚胎后端结构的形成。

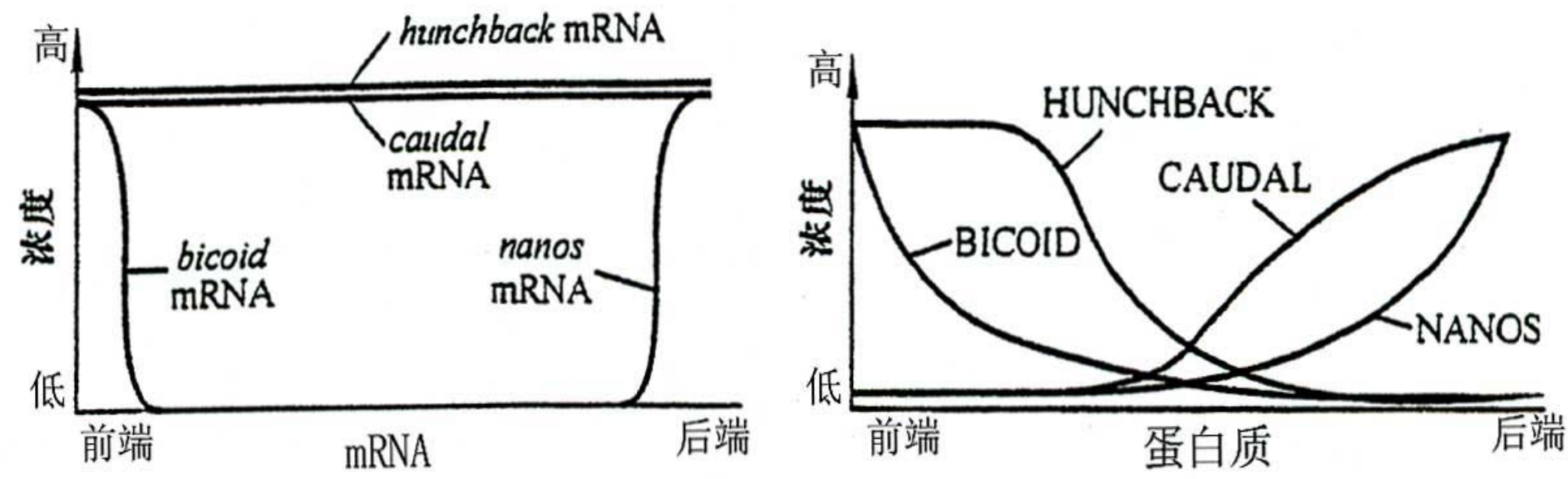


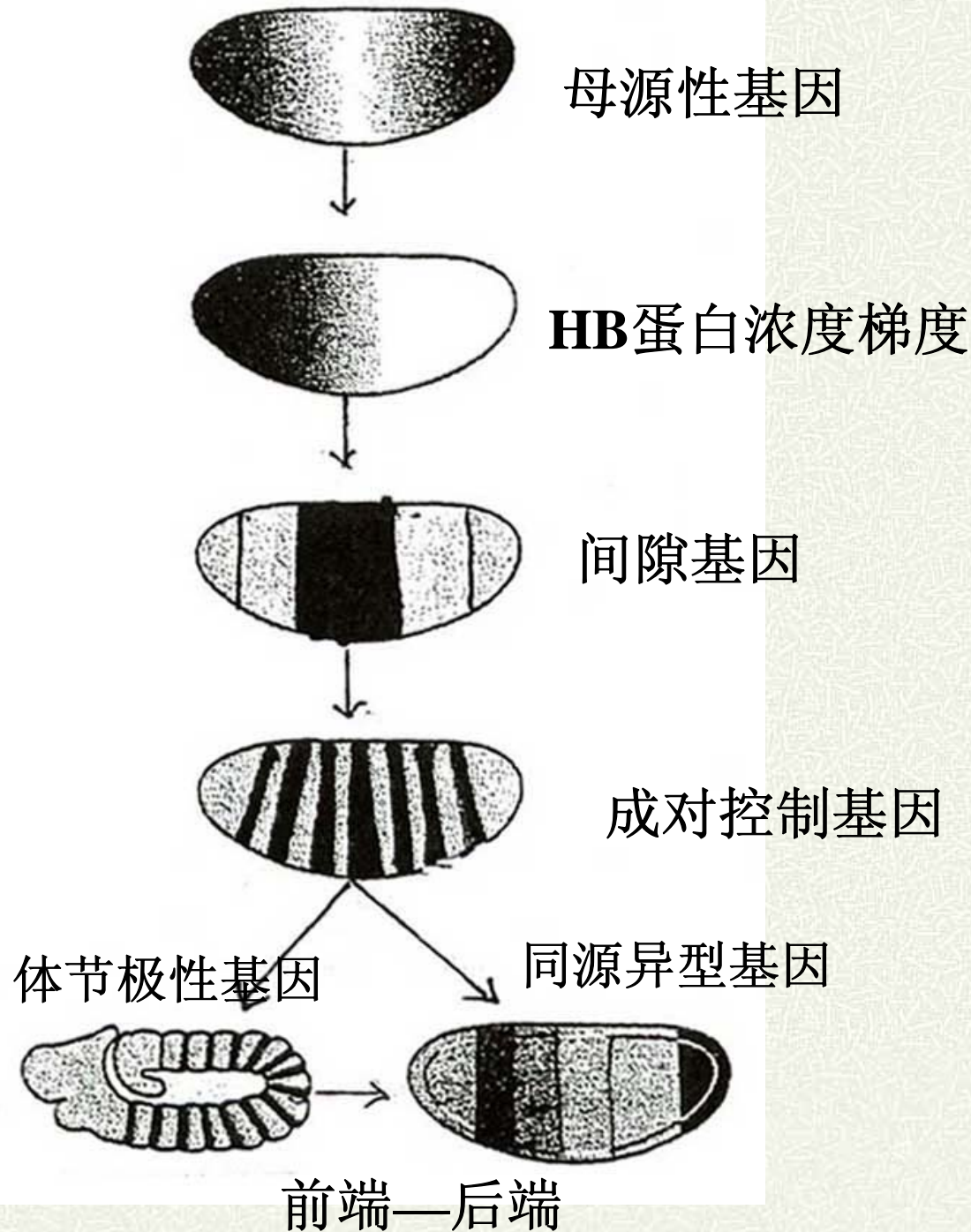
图9-19 四种母源影响基因的mRNA和蛋白沿果蝇卵子和胚胎前-后轴分布的浓度变化图



形态发生决定基因表达以后，首先激活间隙基因表达，再由间隙基因激活成对控制基因，由成对控制基因激活体节极性基因表达。

间隙基因、成对控制基因及体节极性基因产物能调节同源域基因表达，最终决定每个体节的命运

图9-20 果蝇胚胎模式建立过程中关键基因的表达顺序





### 3. TORSO信号途径控制的末端系统

如果控制前端和后端系统的基因都发生突变，果蝇仍可在第三个前-后轴确定系统（末端系统）的作用下发育成具有两个尾节的胚胎。

该系统包括大约9个母源效应基因。`torso`是关键基因，编码了跨膜酪氨酸激酶受体，在整个合胞体胚胎的表面表达。



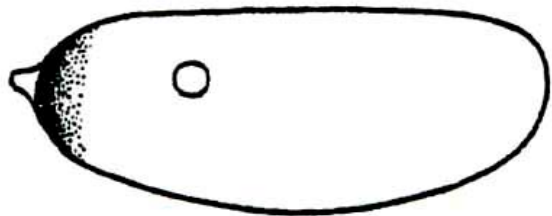
## 4. 影响果蝇背腹极性的基因

to11基因产物是卵细胞上的跨膜受体蛋白，其作用是感知外部信号并提示胚胎在何处产生腹侧。该受体与调控果蝇腹侧发育的外部信号可能是由一种蛋白酶从锚定复合体中释放出并定位于卵细胞周围外卵黄膜上或附近的母源效应基因 **spatz1** 的表达产物。

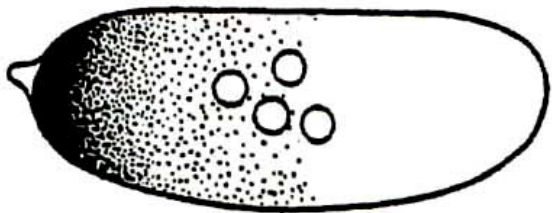


spatz1前体定位于卵子的腹侧而不是背侧，因为只有腹侧的受体能找到配基。

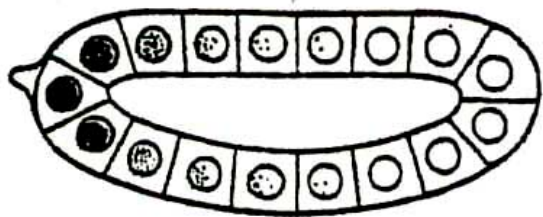
被配基占据的受体能使DORSAL蛋白磷酸化从而引起该蛋白的重新分布，保证胚胎腹侧的细胞核中DORSAL蛋白浓度较高。胚胎中dorsal基因缺失时，胚胎不能产生腹侧结构。



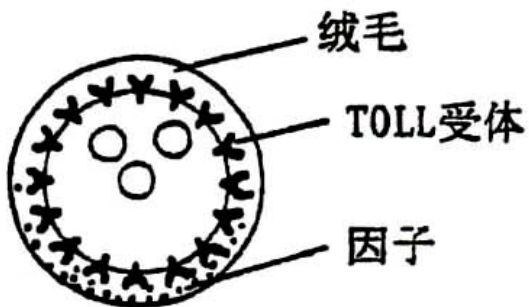
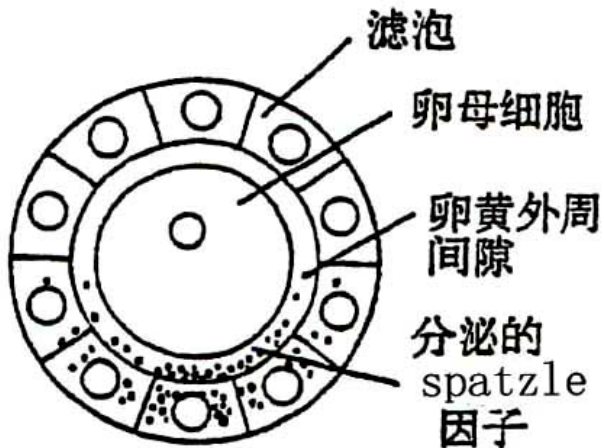
*bcd* mRNA



**BICOID**蛋白质



在囊胚层核中  
**BICOID**蛋白的梯度  
前端—后端



背—腹

图9-22果蝇前后轴和背腹轴形态发生过程中BICOID(左)和DORSAL(右)蛋白的分布

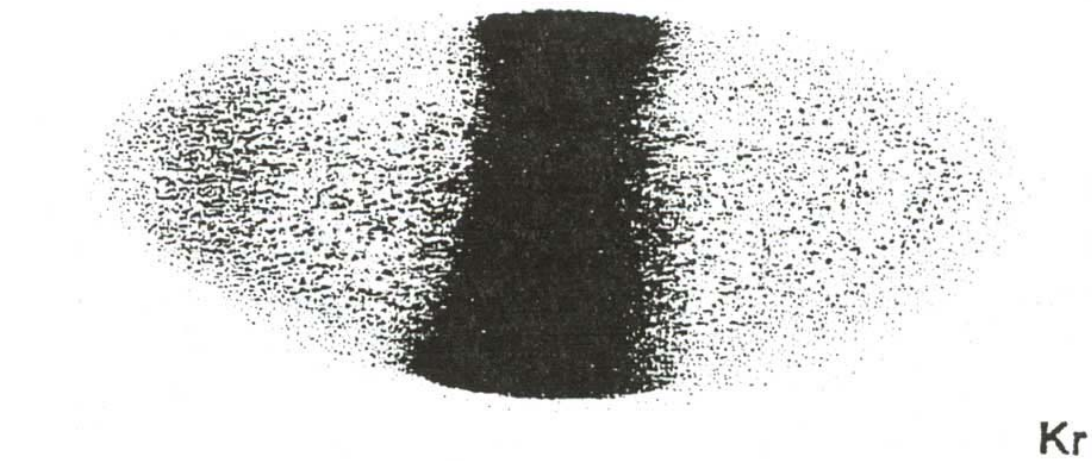


## 5. 控制果蝇躯体分节或影响体节发育的基因

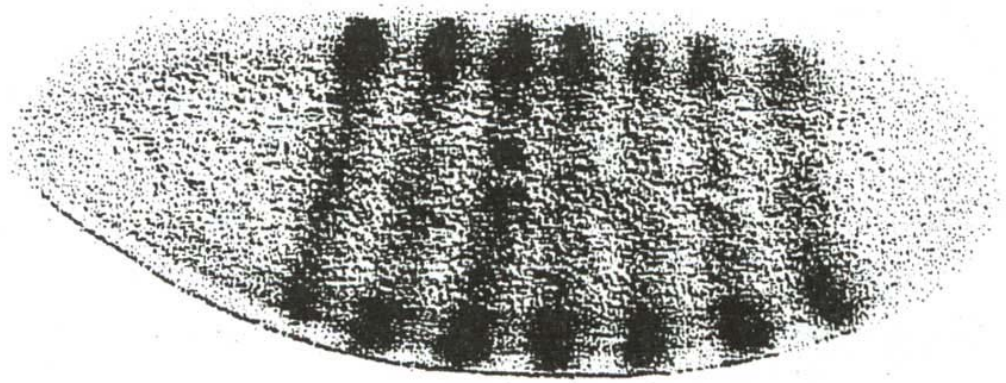
在合胞体囊胚层中，胚胎细胞开始转录和表达自身基因产物（主要是转录调控因子）。这些蛋白在体内并不呈均匀分布，而是在空间上被限制在某些表达区（expression zones），形成特殊的表达模式。



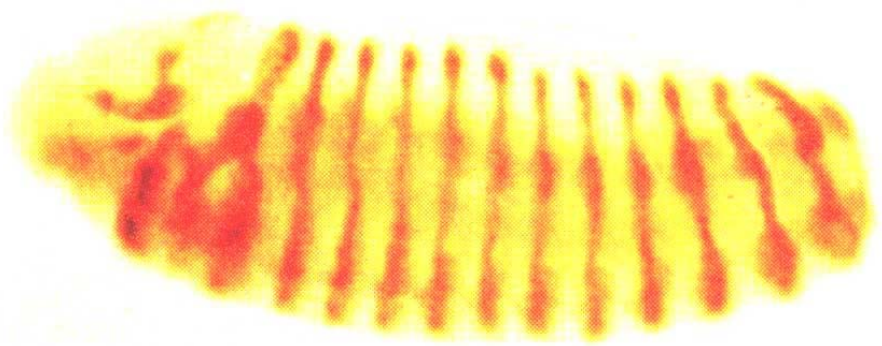
(1) **间隙基因**。这类基因包括 hunchback (hb)、krüppel 和 Knirps (kni) 等。这些基因的表达很有特点，最初在整个胚胎中都有很弱的表达，以后随着卵裂的进行而逐渐变转成一些不连续的表达区带。



Kr



eve



en

图9-23 三组参与胚胎发育早期体节分化基因的表达谱分析。上，间隙基因 Krüppel-Kr。中，成对规则基因 eve，下，体节极化基因 engrailed-en。 *NLPE&PGE*



(2) **成对规则基因**。这些基因一般以两个体节为单位相互间隔一个副体节表达，其分布具有周期性。其功能是把间隙基因确定的区域进一步分化成体节。成对规则基因的表达是胚胎出现分节的最早标志之一，它们沿前后轴形成斑马纹状的条带分布，正好把胚胎分为预定的体节。



(3) **体节极化基因** (segment polarity genes)。当果蝇体节极化基因发生突变时，每个体节都会缺失一个特定的区域。engrailed(en)和wingless(wn)基因是两个最重要的体节极化基因。



这两个基因表达的区域确立了副体节的界线。

en和wg受含有同源异型框的成对规则基因eve和ftz等的制约。En基因在FTZ和EVE基因产物的浓度达到一定阈值以后时才能被激活，但wg基因的活化浓度显著低于这一阈值。

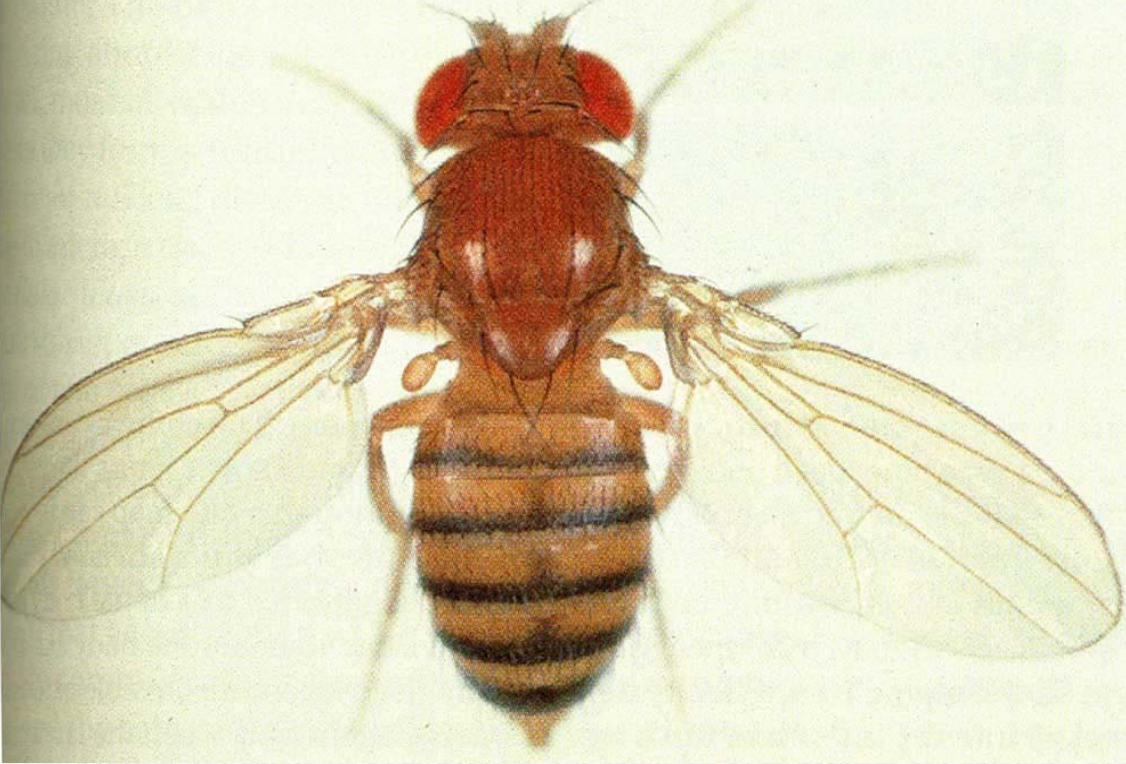


图9-24 果蝇的体节特征（左）与用 **ENGRAILED** 抗体检测到的该基因的表达（右）相吻合。





## 6. 影响果蝇体节一致性的基因——同源域基因

**同源域基因**决定躯体体节命运。躯体的某一部分最终发育成为无翅的前胸还是有翅的中胸，是有平衡器的后胸还是腹部的体节，都由同源域基因决定。



在果蝇中同源域基因统称**HOM复合体** (HOM-C)。大多数同源域基因位于第三号染色体上，排成两簇。一簇称为触角复合体 (Antp-C)；另一簇称为双胸复合体 (BX-C)。

果蝇的Antennapedia突变就是一个典型的例证。这种突变使果蝇的触角转变为足。



若将调控形成头胸体节的Antp-C基因或参与胸腹体节形成的基因突变，可产生同源异型转换，使形态正确的结构长到了错误的地方。

在触角足基因(Antennapedia)显性突变中，该基因在头以及胸部表达，使头结构部分转变成胸体节，出现了两条腿。

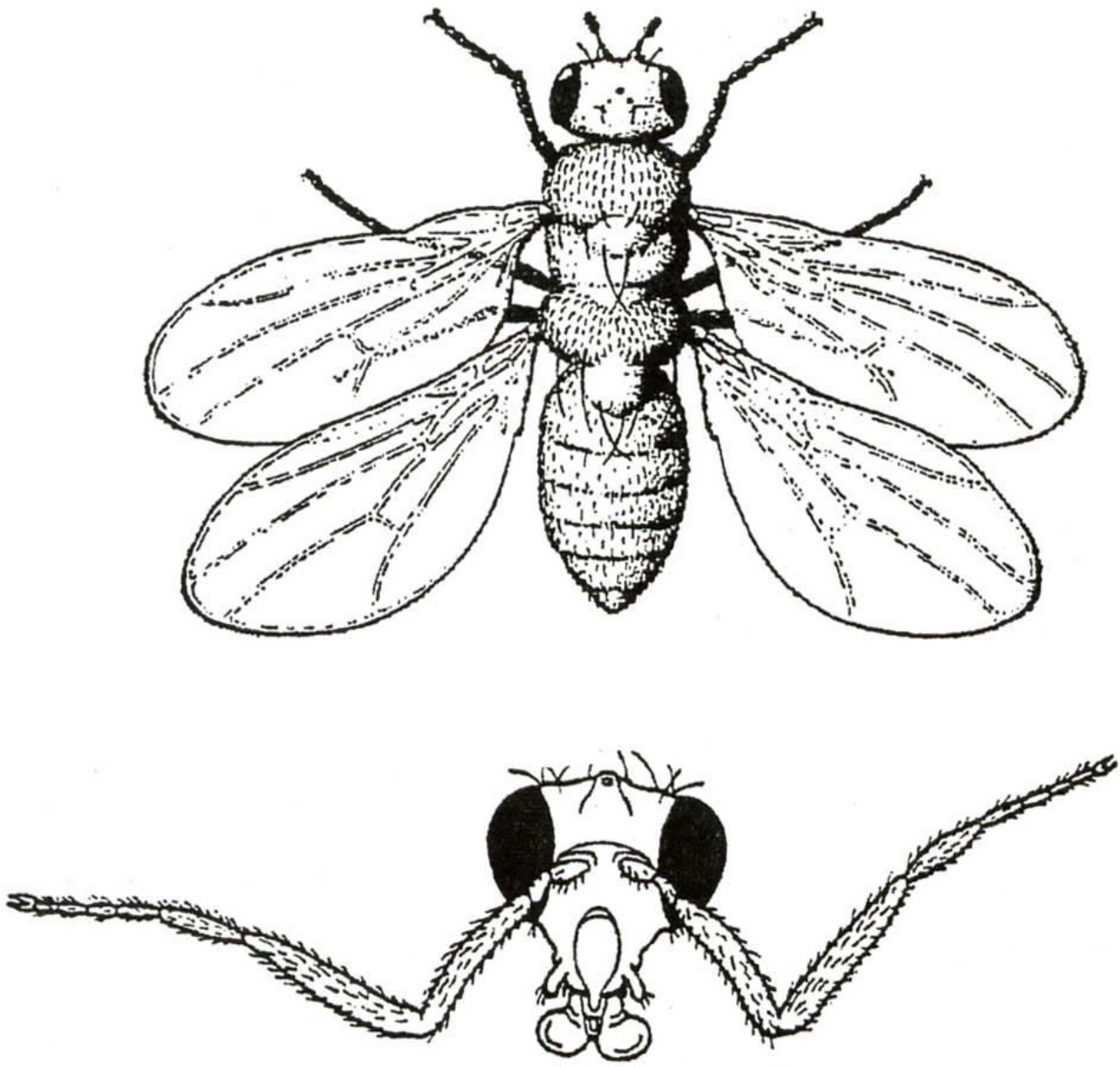


图9-25 果蝇  
触角足复合  
物基因簇  
(Antennapedia complex)  
突变，引起  
同源异型转  
换。上，平  
衡器发育成  
翅膀（产生  
四翅果  
蝇）；下，  
触角变成  
足。



## 9.3 高等植物花发育的基因调控

植物花的发育可分为三个阶段，即营养分生组织阶段，花序分生组织发生阶段和花分生组织发生阶段。人们已从模式植物如拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 或金鱼草 (*Antirrhinum majus*) 中分离克隆到许多控制植物开花的基因。

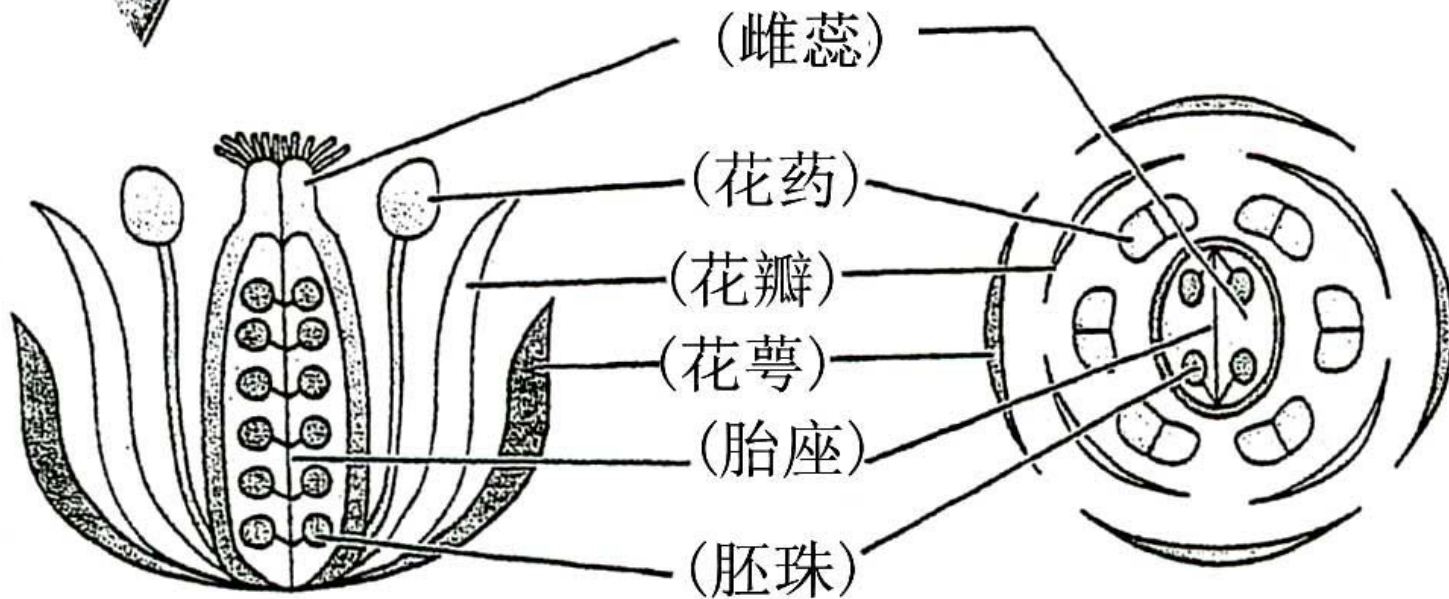
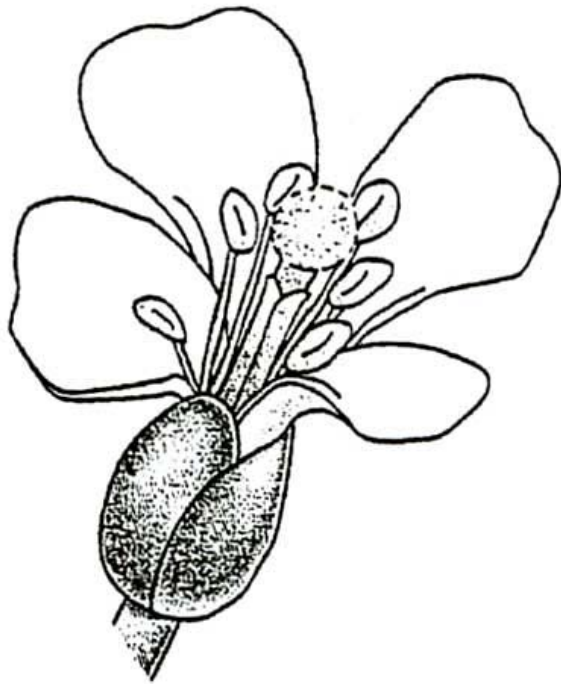


## 9.3.1植物的花器官结构

植物的花由枝条变态产生，而花器官由叶片变态产生。种子植物的成年花器官由**花萼**、**花瓣**、**雄蕊**、**雌蕊(心皮)**等四轮结构所组成。

营养分生组织产生花序分生组织，花序分生组织产生花分生组织。早期花分生组织类似于营养分生组织，具有无限生长特性。

图9-26 拟南芥花的构成





## 9.3.2 调控花器官发育的主要基因

**花分生组织决定基因 (flower meristem identity gene)** 促进从花序分生组织产生花分生组织并进一步分化产生花器官原基，但产生何种花器官则由同源域基因所控制。



# 1. 同源域基因与花器官发育

金鱼草、拟南芥等植物的花都由四种类型的花器官组成，花器官排列成向心的圆环形，称作**轮性**(whorl)。

野生型金鱼草和拟南芥的花由四个花萼组成最外的第一轮、依次向内为四个花瓣组成第二轮，六个雄蕊组成第三轮，两个融合的心皮组成第四轮。



花器官的同源异型突变包含四大类型：

类型I为第一轮和第二轮器官受影响，产生心皮状的花萼和雄蕊状的花瓣。

类型II为第二轮和第三轮器官受影响，产生花萼状的花瓣和心皮状的雄蕊。



类型III为第三轮和第四轮器官受影响，产生花瓣状的雄蕊和花萼状的心皮，而且最内两轮器官的数量和轮数也发生了改变。

类型IV中四轮结构全部受影响。研究发现，每种类型突变体都是因为发生了同源域基因的突变而使相邻两轮花器官受到影响。



已经克隆了多个涉及花发育的同源域基因。由于这些基因家族(MCM1、AG、DEFA 和SRF)成员均含有一个保守的区域，根据这几个家族基因名称的第一个字母，将该保守区命名为MADS-BOX。



表 9-4 已经克隆的植物花器官特征决定基因及其可能的功能分析

基因(拟南芥/金鱼草)	突变体表型	基因功能
APETALA1/SQUAMOSA	花萼变为叶片	转录因子
APWTALA2/Unkown	花萼变为叶片/心皮, 花瓣变为心皮	转录因子
APETALA3/DEFICIENS	花瓣变为雄蕊, 雄蕊变为心皮	转录因子
PISTILLATA/GLOBOSA	类似 AP3/DEF	转录因子
AGAMOUS/PLENA	重复发生一轮花萼及两轮花瓣	转录因子
LFY/FLORICAULA	产生更多的花序, 绿色花, 由类似花萼与心皮的花器官构成	转录因子



## 9.3.3 花器官发育的“ABC”模型

### 1. “ABC”模型的提出

在对拟南芥和金鱼草突变体及花器官特征决定基因功能的研究中，E.

**Myerowitz**提出了控制花形态发生的“ABC”模型。根据这个模型，正常花的四轮结构的形成是由三组基因共同作用而完成的。

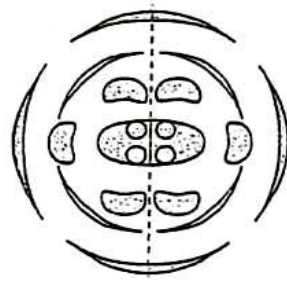


每一轮花器官特征的决定分别依赖于A、B、C三组基因中的一组或两组基因的正常表达。如其中任何一组或更多的基因发生突变而丧失功能，则花的形态将发生异常。

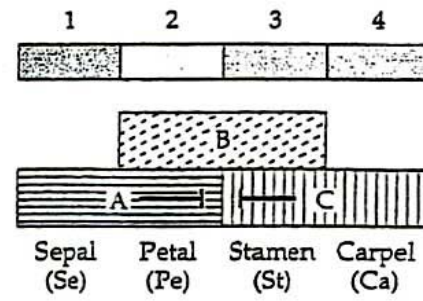
A基因在第一、二轮花器官中表达，  
B基因在第二、三轮花器官中表达，  
C基因在第三、四轮花器官中表达。



野生型

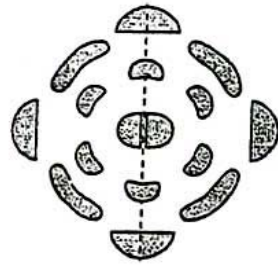


轮性  
基因  
花结构

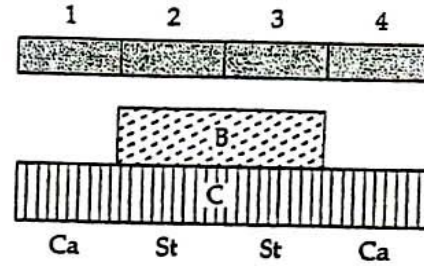


I

A 突变体

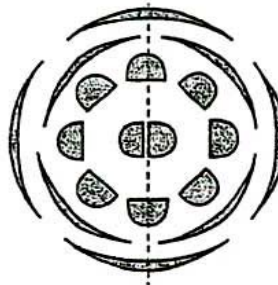


轮性  
基因  
花结构

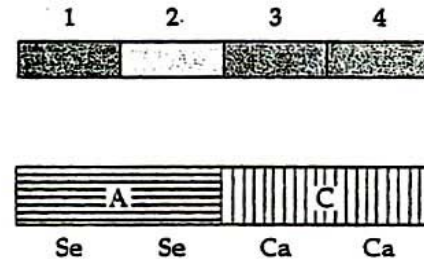


II

B 突变体

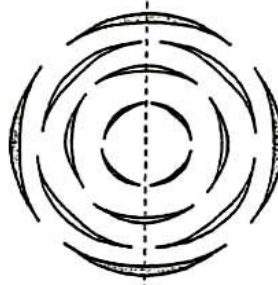


轮性  
基因  
花结构



III

C 突变体



轮性  
基因  
花结构

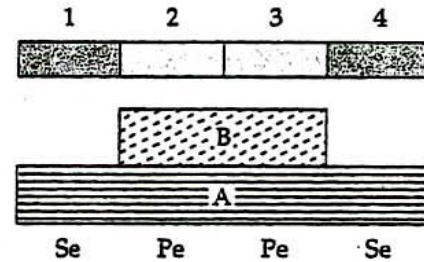


图9-27  
由三组同源异型基因决定四轮花器官特征的“ABC”模型



A基因本身决定萼片，A和B基因共同决定花瓣，B与C基因共同决定雌蕊，C基因决定心皮。

A基因突变后(如ap1、ap2)，第一轮花器官中的花萼突变为心皮，第二轮花器官中的花瓣突变为雄蕊。B基因突变后(如ap3、pi突变体)，花萼替代了第二轮花器官中的花瓣，第三轮花器官中的雄蕊变为心皮。



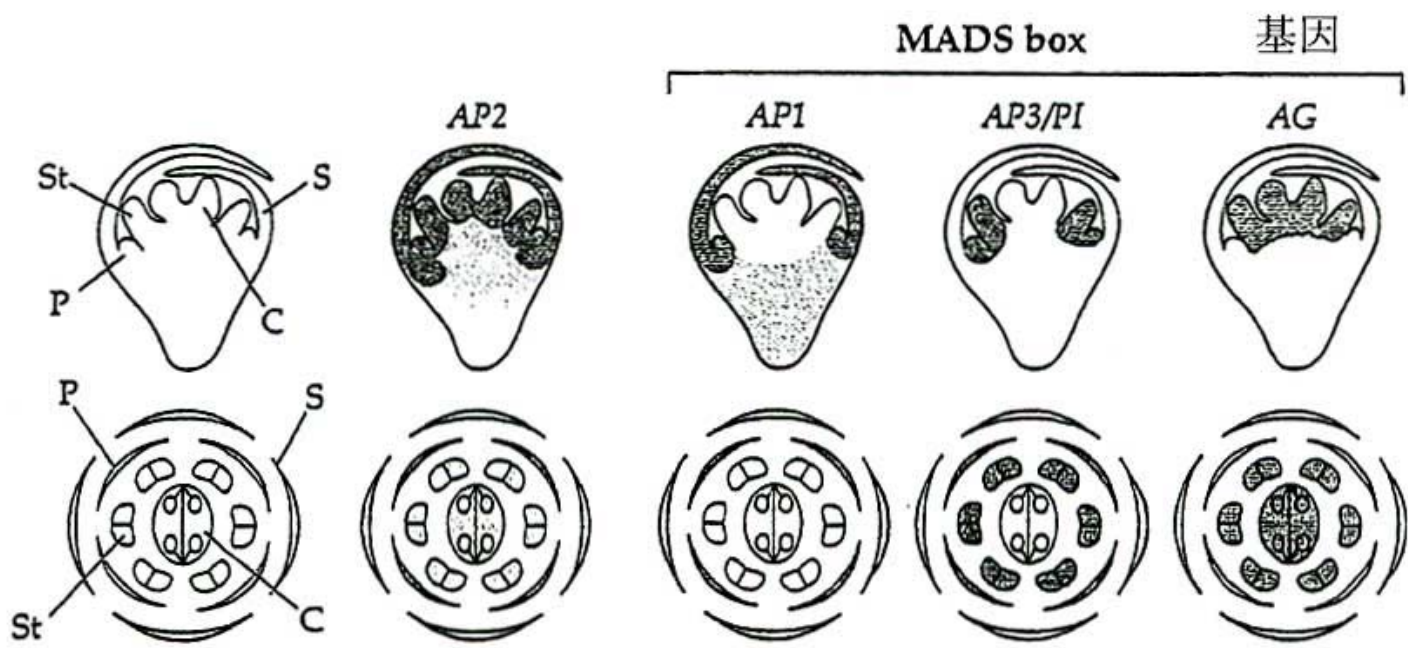
若C基因失活(如ag突变体), 则第三轮花器官中的雄蕊和第四轮花器官中的心皮都转变为花瓣。

B基因在第四轮花器官中的表达受到superman基因的抑制。sup突变体第四轮心皮数大大减少, 而雌蕊数显著增加。



# 2、对ABC模型的修正

A)



B)

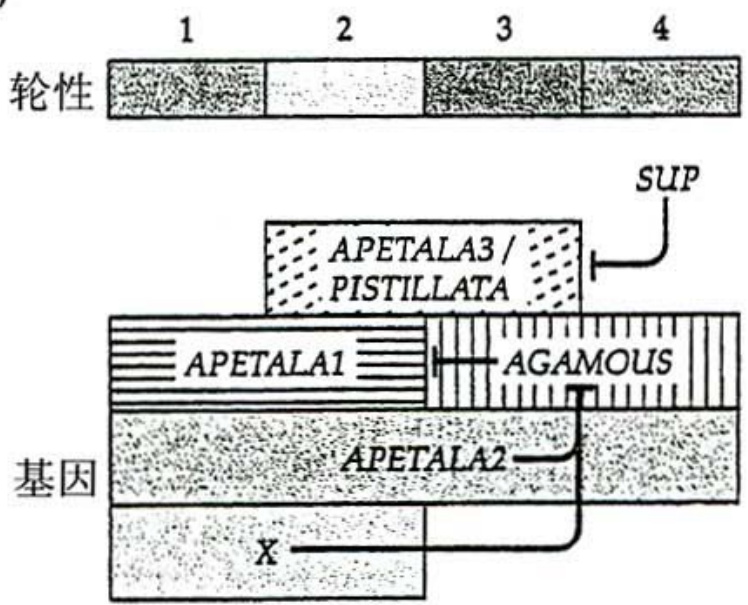


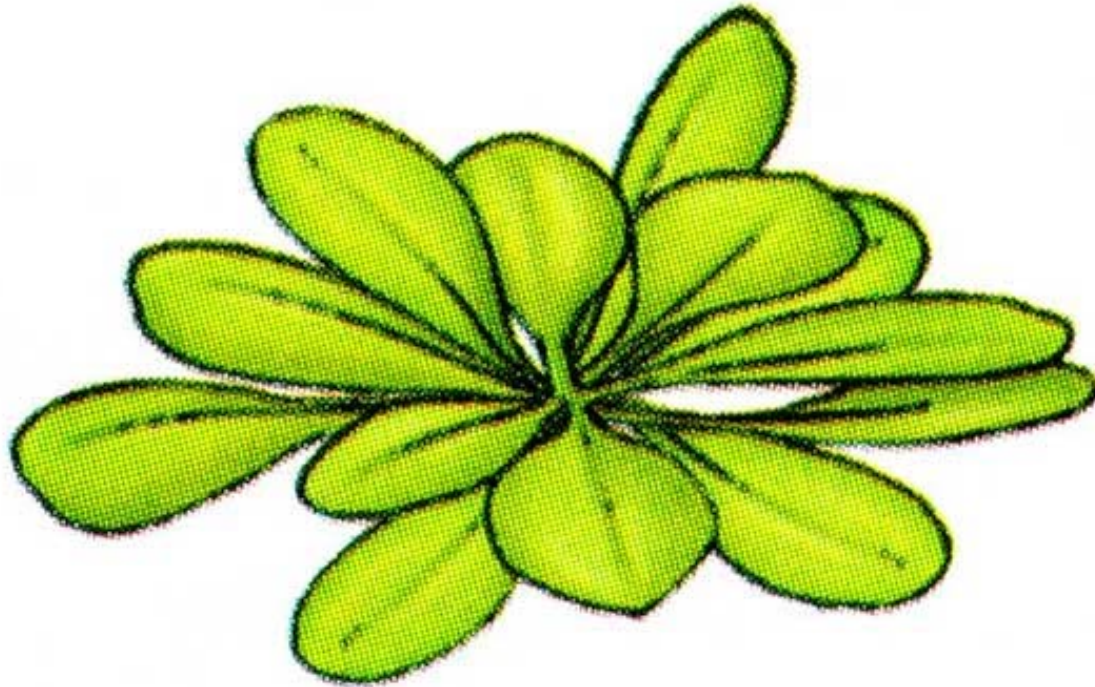
图9-28 经修改后的“ABC”模型。A：  
**AP2**基因和花同源异型**MADS**盒基因与植物花发育的关系分析。**AP2**在四轮花器官中都表达，**MADS box**基因只限定在一对花器官中表达。**S**：花萼，**P**：花瓣，**St**：雄蕊，**C**：心皮(雌蕊)。B：  
 通过对相关基因表达区域分析修正“ABC”模型。**X**基因尚未被克隆。



## 9.3.4 参与诱导开花信号产生、传递和感受的基因

已克隆了两个涉及开花时间的基因，**CONSTANS (CO)** 和 **LUMINIDEPENDENS (LD)**，两个基因都在营养生长期表达。CO可能是一个转录因子，一般情况下促进长日照生长的植物开花。

(A)



(B)

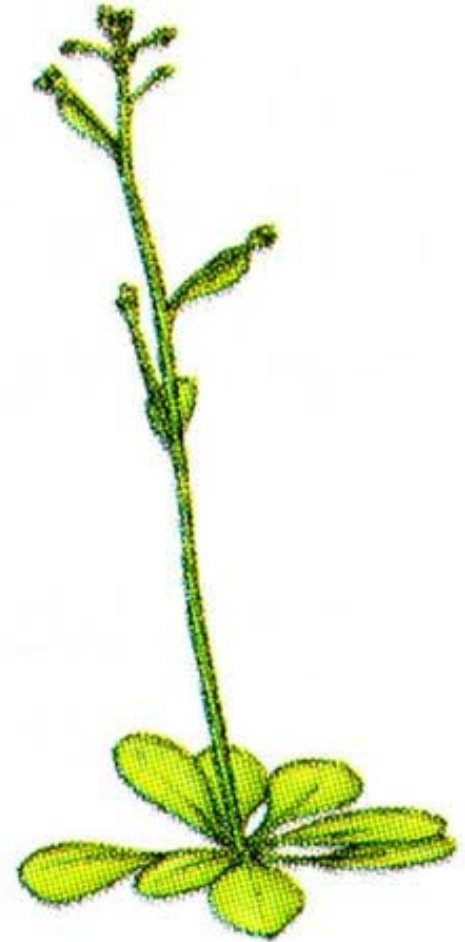


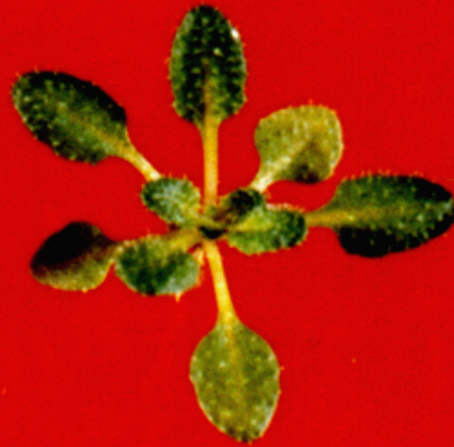
图9-29 CO表达诱导拟南芥提前开花。A：野生型拟南芥；  
B：35S启动子驱动CO基因表达诱导拟南芥提前开花。



本实验室从短日照延缓开花的豌豆中克隆了一个编码钙离子通道蛋白的**PPF1**基因。转化拟南芥发现，过量表达**PPF1**基因，明显延缓了转基因植物的开花进程。若用反义**RNA**技术抑制内源**PPF1**基因表达，转基因拟南芥的开花时间就被提前，表明钙信号在植物开花过程中也可能发挥重要作用。



a





b





d





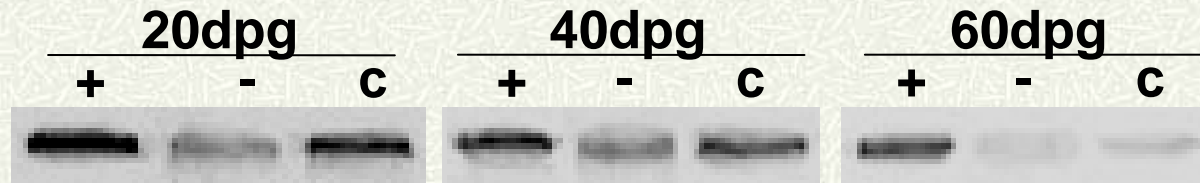
**图9-30 PPF1基因参与调控植物开花的时间进程。短日照条件下，对照组野生型拟南芥(*Columbia ecotype*)一般在长出12-13个叶片后（约发芽后45天）开花。PPF1过量表达的转基因拟南芥开花明显推迟，营养生长旺盛，到发芽后75天，长出24-25片营养叶才开花。反义表达PPF1基因的拟南芥则不到30天，长出6-7片叶就开花。**



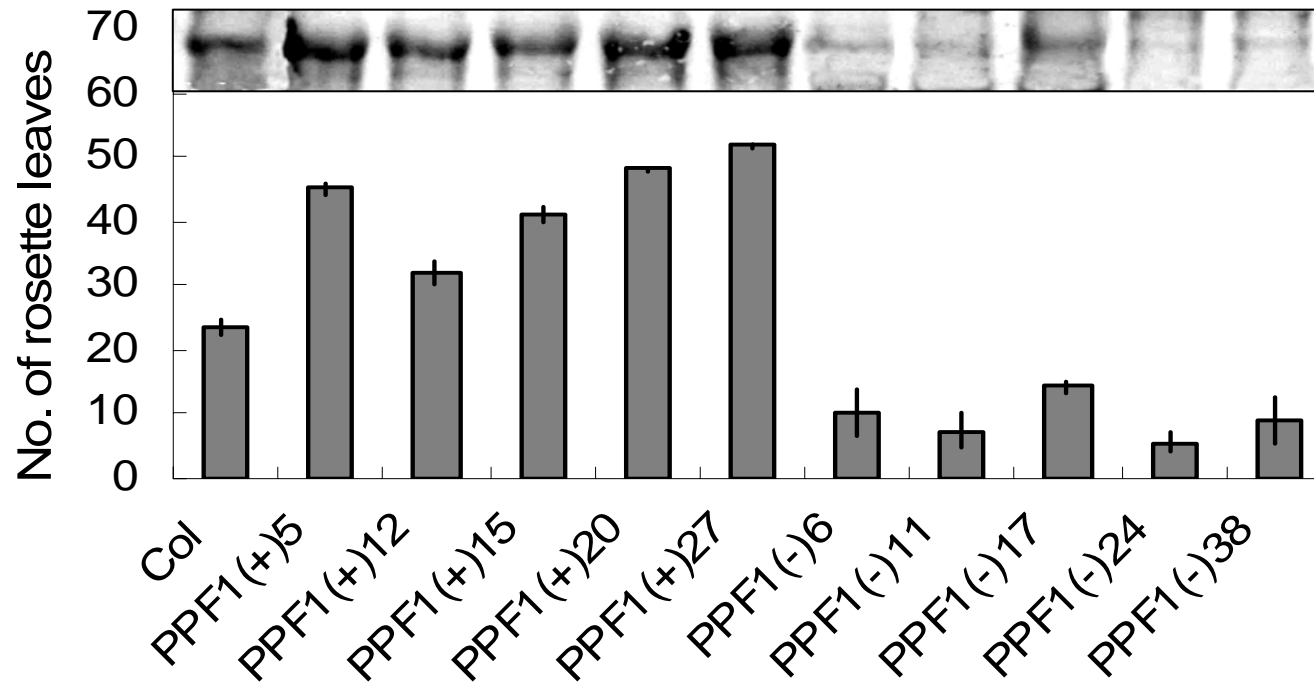
<b>Plant lines</b>	<b>Days to flowering (dpg)</b>	<b>No. of rosette leaves before flowering</b>
<i>PPF1(+)</i>	$77.4 \pm 8.1$	$25.1 \pm 2.0$
<i>PPF1(-)</i>	$35.8 \pm 4.6$	$8.7 \pm 1.1$
Col.(wt)	$52.7 \pm 3.3$	$16.5 \pm 1.6$



(a)



(b)





最终促进开花信号来源于花器官分生组织决定基因**LEAFY(LFY)**。拟南芥**LFY**突变体比野生型产生更多的花序分枝，其花呈绿色，由类似花萼和心皮样的器官构成，异位表达**LFY**导致转基因植物提前开花并将茎尖转变成花，证明**LFY**基因不仅决定花分生组织的特性，而且影响开花时间。

(A)



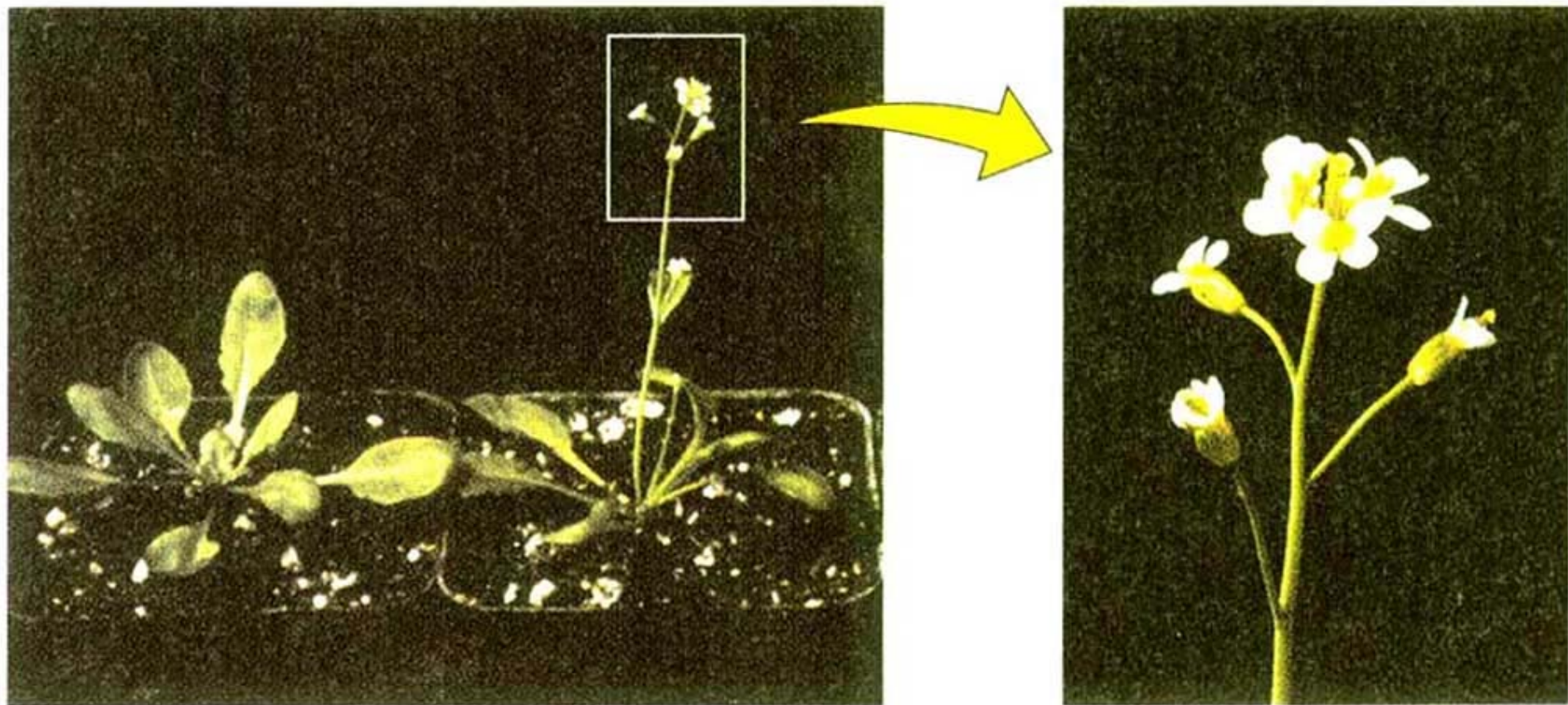
(B)



图9-31 花分生组织决定基因**LEAFY(LFY)**将具有无限生长特征的拟南芥茎尖组织转变成花。A: 在**lfy**突变体中正常情况下发育成花的枝转变成无限枝条。图中所示的所有次生枝条生长的位置在野生型拟南芥中均发育成花序。B: 过量表达**LFY**的转基因拟南芥中, 次生枝转化成花, 初级枝在早期发育成终端花或形成一簇花。



**TERMINAI FLOWER1(TFLI)** 是影响拟南芥分生组织特性的另一个非常重要的基因。**tf1**突变体开花提前，初级花序分枝转变成末端花，缺少侧枝，花的数量也大大减少。**tf1**突变体(由无限枝转变成有限的枝)和**lfy**突变体(由有限的枝转变成无限的枝)的表型恰好相反，说明两个基因可能是相互拮抗的。

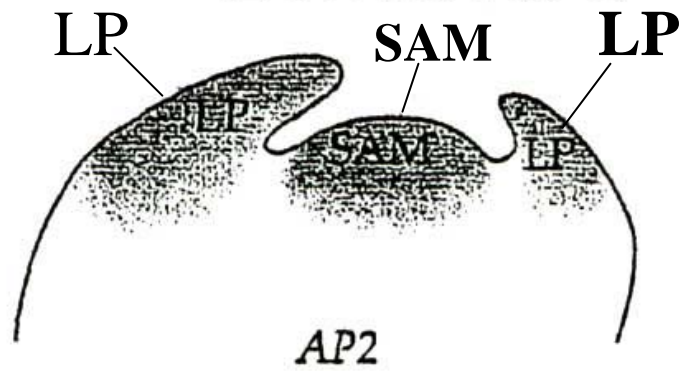


WT

*tf1*

图9-32 TFL1对花发育的调控。A: *tf1*突变体的花序表型。左边为野生型对照，右边为*tf1*突变体，很快就发育成一个终端花或一簇终端花。B: TFL1在花序分生组织中的表达分析。

营养生长顶端



成花枝顶端

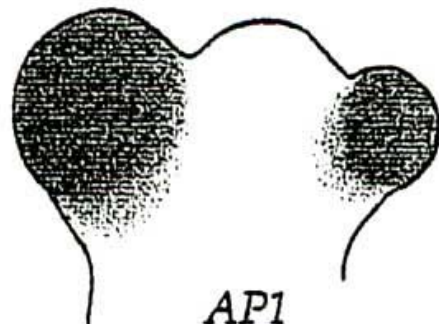
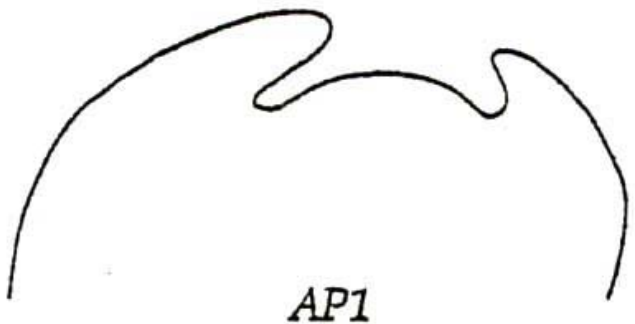
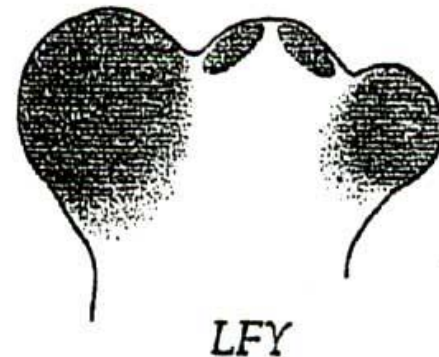
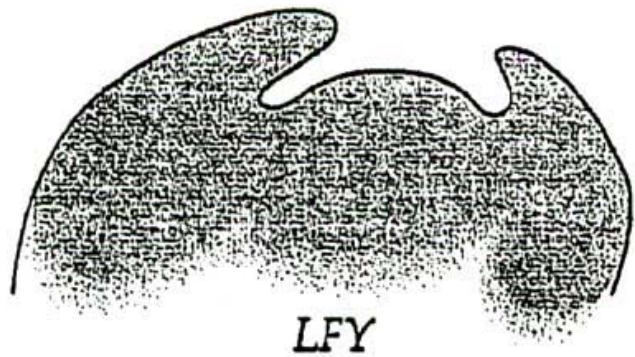
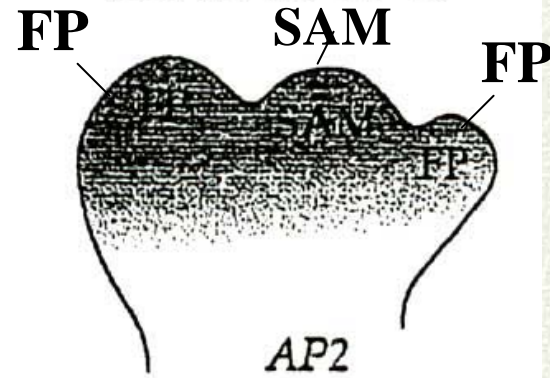


图9-33 花分生组织决定基因在营养生长和成花枝顶端的表达模式分析。

LP: 叶原基;  
SAM: 顶端分生组织。FP, 花原基。



LFY、AP1和AP2基因具有不同的功能。序列分析表明，AP1、AP2类转录因子含有MADS盒，LFY编码的蛋白质富含脯氨酸和酸性区，它可能代表着一类新的转录因子。图9-34是各条开花通路之间的相互关系，许多科学家正在共同努力，争取尽快全面揭示植物开花的调控规律，进一步造福人类。



光周期独立途径

光周期依赖途径

自主开花途径

GA1

赤霉素

长日照

CO

春化

FLC

FCA

FR1

AIP5CS2

FT

SOC1

LFY

脯氨酸

ACS10

茎秆伸长

乙烯合成

花原基决定基因

开花

图 9-34 拟南芥中各条开花通路之间的相互关系分析