

哺乳动物基因印迹及其与胚胎发育的关系

岳占碰 杨增明

(东北农业大学生物工程系 哈尔滨 150030)

关键词 哺乳动物 基因印迹 胚胎发育

在哺乳动物,一些遗传性状表现出亲本依赖性,只有当这些性状从父本或母本继承来才能够表现出来。目前已知有两种类型的亲本依赖性,第一种是由于雄性配子和雌性配子间遗传信息分布的不均衡所致,如由线粒体基因、Y染色体相连基因和母体效应基因等编码的性状;第二种即为基因印迹(Genomic Imprinting),所谓基因印迹是指雌雄配子在配子发生过程中,一些等位基因发生了某些差异性变化,使得二者在以后的胚胎发育过程中功能上表现出差异^[1]。

基因印迹的很好例证是一对等位基因中,只有父系或母系等位基因表达。在哺乳动物基因组内可能存在有100~200种印迹基因,到目前为止,哺乳动物中至少有H19、IGF2、IGF2R、ins1、ins2、 β CG、INS、XIST等29种印迹基因已经被确认(大鼠2种,小鼠14种,人13种),在上述29种印迹基因中人们对 β CG基因和INS基因的印迹存在争议^[2]。印迹基因的表达不符合经典的孟德尔遗传(孟德尔遗传学认为,所有基因的父亲及母亲等位基因有同等的表达),但它对遗传、进化、胚胎发育及病理学等的研究有深远的影响。本文仅对基因印迹的产生机理及对胚胎发育的影响进行综述。

1 基因印迹的产生机理

1.1 基因印迹的形成

哺乳动物的印迹基因在亲本生殖细胞中识别后,须打上可遗传的标记,使子代细胞能正确无误的辨认印迹基因并对其实行独立的调控。基因印迹通常是在配子发生过程中或合子的原核融合前产生。印迹基因具有三个特征:①印迹基因存在于一个配子内,该基因在有丝分裂过程中稳定的遗传给胚

胎的每一个细胞;②印迹基因仅存在于二倍体细胞的单亲染色体上;③在性别决定以后,基因印迹在生殖系内被删除^[1]。目前认为,DNA甲基化导致基因印迹。在哺乳动物基因印迹过程中,DNA甲基化仅限于C_pG双核苷酸胞嘧啶甲基化。DNA复制以后形成半甲基化的C_pG双核苷酸,这些半甲基化的C_pG双核苷酸是DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMTase)的唯一底物,该酶不断作用于这些底物,将染色体特异性甲基化模式遗传给子细胞。多数哺乳动物雌雄原核之间DNA甲基化模式存在差异,这些差异可通过两种限制性内切酶(Hpa II和Msp I)的酶切加以区分。上述两种内切酶均可识别-CCGG-位点,当中央的胞嘧啶发生甲基化时,Hpa II不能识别,而Msp I不管中央的胞嘧啶是否发生甲基化均可识别。这样,用Hpa II和Msp I分别消化来源于特定细胞的DNA,通过检测消化后的片段,就可以发现其甲基化位点的差异^[3]。

1.2 基因印迹发生的时间

目前已经发现的所有印迹基因有一共同特征,即发生特异性DNA甲基化。在一些印迹基因中,基因的甲基化标志从配子继承而来,如IGF2R基因、H19基因、XIST基因等^[4]。这些印迹基因在着床前并不发生去甲基化,其甲基化状态在体细胞内持续存在,这种甲基化状态在生殖系内被删除^[5]。IGF2R基因和XIST基因是母系基因被甲基化,而H19基因是父系基因被甲基化^[1]。在另一些印迹基因中,基因的甲基化标志是在

* 本文得到美国CONRAD基金会资助(编号:CG-96-07);

岳占碰:男,33,讲师,博士;

收稿日期:1998-01-28,修回日期:1998-03-18

胚胎发育的后期获得。对于个别基因位点,比较精子 DNA 与体细胞 DNA 甲基化形成模式就能发现显著差异。例如精子 DNA H19 基因上游区域的所有位点均未发生甲基化,而胚胎发育后期的父系等位基因在这些位点上均被修饰。显然,胚胎及体细胞中观察到的印迹基因差异性修饰是在着床后逐步从头合成的,而 IGF2 基因印迹模式最终形成于妊娠后期更是这一现象的极好例子^[7]。总之,目前人们尚不完全清楚印迹开始和结束的确切时间,只知道基因印迹开始于配子形成时期,而不同的印迹基因开始发生印迹的时间各不相同。

1.3 印迹基因的识别 印迹基因中的单等位基因表达 (Monoallelic Expression) 并不总是与正常基因组表达起始同步,这些基因的表达随着胚胎发育和分化状态的不同而变化。当母源性 mRNA 贮量显著减少时,小鼠胚胎正常基因组在二细胞阶段被激活,而一些印迹基因如 XIST 和 H19 等的单等位基因在着床之前才得以表达^[9]。基因印迹发生的时间与单等位基因表达的时间之间的不同步表明,印迹基因只有被识别后才能被表达。印迹基因修饰模式的建立与完善是在着床之后,此时一定存在识别配子亲源性的信号。一种观点认为,印迹基因中存在的甲基化修饰位点本身就是用来识别印迹基因的标记。这些修饰点作为标记,在胚胎发育早期不受基因组去甲基化的影响。所以在配子及胚胎中,这些位点的修饰模式相同。另一种观点认为,甲基化标记可能确定在某一范围内,在发育过程中,基因的甲基化标记向该基因的其它区域扩散,着床后的甲基化形成是维持印迹的重要因素^[7]。要想最终确定印迹基因的标记及其的识别,尚须更精确的定量实验。关于印迹基因的甲基化与它表达的关系,有必要进行深入研究。

1.4 单等位基因表达的维持 单等位基因表达的程度不仅在不同的发育和分化阶段表达情况不同,而且在不同的动物体内表达的程度也不同。小鼠的 IGF2R 基因为母源性表达,该基因在所有被检测的小鼠品系的组织内均表达,

而人的 IGF2R 基因表达情况不同于小鼠,只有少数人在所有的组织内该基因均表达^[9]。人的 WT1 基因在胎盘组织内的表达也与此类似。小鼠和人的 IGF2 双等位基因表达发生在一些个体的神经组织及成年人的肝脏^[10]。小鼠的 INS1 和 INS2 基因在胚外膜内呈单等位基因表达,而在胰腺内呈双等位基因表达^[11]。IGF2 可以启动人在肿瘤和其它疾病时的双等位基因表达^[12],而小鼠非活化的母源性 IGF2R 等位基因在一些情况下能够启动父源性等位基因的表达^[13]。一些实验提供的证据表明,几个印迹基因的单等位基因表达依赖于 DNA 的甲基化。当小鼠缺乏 DNA 甲基转移酶时,这些小鼠的胚胎在着床后不久死亡^[5]。甲基化能抑制 DNA 的正常转录已在 H19、XIST 及其它基因中得到证实,而 IGF2 与 IGF2R 则是经甲基化修饰后的基因显示出活性,缺乏甲基化酶的小鼠 IGF2 及 IGF2R 基因几乎不表达,说明甲基化可能激活这两个基因的表达^[14]。所以,通过抑制或激活活活动引起单基因的表达,是印迹机制的中心问题。

哺乳动物 DNA 甲基转移酶在机体内一直保持活动状态,这种酶不可能参与建立基因印迹的起始过程,一种可能是存在有其它的甲基化酶参与基因印迹的建立,而这一功能在着床后的胚胎内由 DNA 甲基转移酶所维持;另一种可能是配子特异性蛋白可以将 DNA 甲基转移酶转化成一种印迹酶,参与基因印迹过程^[1]。

2 基因印迹与哺乳动物胚胎发育关系

在哺乳动物中,基因印迹的存在最早是通过核移植实验得到证实。McGrath 等^[15]作了一个有趣的实验,即从母鼠体内获得刚受精的单细胞鼠胚后,在精子和卵子的原核融合前,通过显微操作方法将其中一个原核取出后,再将另一个精子或卵子的原核注入该胚胎内,结果,含有两个精子或两个卵子原核的鼠胚不能正常发育;如果原有的精子原核被另一精子的原核代替,或原有的卵子原核被另一卵子的原核代

替后,受精卵拥有正常互补的雄性和雌性基因组,此时能够进行正常的胚胎发育。Surani等^[16]也报道了类似的发现,并指出,在配子形成期间,精子和卵子中的某些基因易于被某种分子所印迹,只有当被印迹的基因和未被印迹的基因适当组合时,胚胎才能正常发育。

利用细胞核移植技术,一些研究者建立起孤雄生殖(胚胎只含父方基因组)和孤雌生殖(胚胎只含母方基因组),这两种病理生殖和发育模型,发现二者的胚胎均不能发育到分娩期,即使能发育到胚胎植入早期也具有明显不同的表型,前者在植入部位只有胚外成分(如胎盘等)存在,而后者则缺乏正常发育的胚外成分^[4]。表明,对新生儿来说,母源基因的产物对胚胎的适当构成尤其重要,而父源基因的产物则是胚外组织正常发育的关键。由于母源和父源基因之间存在机能上的差异,母系和父系配子间平衡的改变必然会引起表型异常和病理变化。

哺乳动物的印迹基因对胚胎的发育也会产生影响。H19基因、IGF2基因及IGF2R基因是目前研究最多的印迹基因。H19基因是母系表达基因,在小鼠的桑葚胚和囊胚早期,H19基因没有表达,而在囊胚晚期,H19基因在滋养层内被表达;胚胎着床后,H19基因在许多组织内均被表达,而在出生后,H19基因表达减少^[2]。当H19基因失活后,其雌性胎儿出生时的体重比正常胎儿重27%^[14]。IGF2基因是父系表达基因,由该基因编码的胰岛素样生长因子2(Insulin-like growth factor-2)是由67个氨基酸构成的多肽,该基因在胚胎发育到二细胞时就已经被转录,并在胚胎发育过程中广泛的被表达^[17]。胰岛素样生长因子2可对胚胎的正常发育产生重要的影响,通过基因突变实验证实,当该基因失活时,出生胎儿的体重仅为野生型胎儿的60%^[17]。IGF2R基因是母源性表达基因,可以编码产生IGF2受体,IGF2R可以与IGF2结合,将IGF2转运到溶酶体,使其降解,维持IGF2在机体内的恒定。当胎儿缺乏IGF2R时,其体重比正常胎儿高30%,这时

IGF2水平也升高,并可导致胎儿产前死亡^[16]。当将父系IGF2基因突变后发现,胎儿不再致死^[19],胎儿致死的原因可能是由于IGF2基因过度表达所致。H19基因的母系表达可以通过抑制母源性染色体的转录而降低IGF2的含量^[14],其作用机理可能是由于H19、IGF2和Ins2基因之间对共享增强子的竞争作用所致^[20]。以上结果表明,通过上述三种基因的印迹,可以准确地调节IGF2基因的表达,从而维持胚胎的正常发育。

总之,目前人们对基因印迹的认识还不深入,只停留在现象描述阶段,对印迹形成机制及印迹基因的作用了解的不多。随着转基因技术、基因突变技术等基因功能研究中的应用,人们对基因印迹的认识将会得到进一步加深。

参 考 文 献

- 1 Barlow, D P. Gametic Imprinting in Mammals. *Science*, 1995, 270:1610~1613
- 2 Looijenga, L.H., A.J Verkert, N.D.Groot et al. H19 in Normal Development and Neoplasia. *Mol. Reprod. Dev.*, 1997, 46:419~439
- 3 Driscoll, D.J., B R Migeon. Sex Difference in Methylation of Single-copy Genes in Human Meiotic Germ Cells: Implications for X Chromosome Inactivation, Parental Imprinting, and the Origin of PGC Mutations. *Somatic Cell Mole. Genet.*, 1990, 16:267~268
- 4 Chaillet, J. R., D.S bader, P Leder. Regulation of Genomic Imprinting by Gametic and Embryonic Processes. *Genes and Dev.*, 1995, 9:1177~1187
- 5 Li, E., C. beard, R. Jaenisch. The Role of DNA Methylation in Genomic Imprinting. *Nature*, 1993, 366:362~365
- 6 Kay, G. F., G. D. Penny, D. Patel et al. Expression of Xist during Mouse Development Suggests a Role in the Initiation of X Chromosome Inactivation. *Cell*, 1993, 72:171~182
- 7 Leighton, P A., J R Saam, R.S Ingram et al. Genomic Imprinting in Mice: Its Function and Mechanism. *Bio Reprod.*, 1996, 54:273~278
- 8 Tremblay, K. D., J. R Saam, R. S. Ingram et al. Gametic Methylation and Its Maintenance in the Imprinted H19 Gene. *Nature Genet.*, 1995, 9:407~413
- 9 Xu, Y., C. G. Goodver, C. Deal et al. Function Polymorphism in the Parental Imprinting of the Human IGF2R

- Gene Biochem Biophys Rev Commun*, 1993, **197**:747~754
- 10 Efstratiadis, A. Parental Imprinting of Autosomal Genes. *Curr Opin Genet Dev*, 1994, **4**:265~280
- 11 Giddings, S. J., C. D. King, K. W. Harman *et al*. Allele Specific Inactivation of Insulin I and 2, in the Mouse Yolk Sac, Indicates Imprinting. *Nature Genet*, 1994, **6**:310~313
- 12 Ramier, S., L. A. Johnson, C. J. Dobry *et al*. Relaxation of Imprinted Genes in Human Cancer. *Nature*, 1993, **362**:747~749
- 13 Wang, Z. Q., M. R. Fung, D. P. Barlow *et al*. Regulation of Embryonic Growth and Lysosomal Targeting by the Imprinted Igf2/Mpr Gene. *Nature*, 1994, **72**:464~467
- 14 Leighton, P. A., R. S. Ingram, J. Eggenschwiler *et al*. Disruption of Imprinting Caused by Deletion of the H19 Gene Region in Mice. *Nature*, 1995, **375**:34~39
- 15 McGrath, J., D. Solter. The Maternal Lethality in the Mouse is a Nuclear, not Cytoplasmic Defect. *Nature*, 1984, **308**:550~551
- 16 Surani, M. A., S. C. Barton, M. L. Norris. Development of Reconstituted Mouse Eggs Suggest Imprinting of the Genome during Gametogenesis. *Nature*, 1984, **308**:548~550
- 17 Wise, T. L., D. D. Praycheva. Perinatal Lethality in H19 Enhancers-Igf2 Transgenic Mice. *Mol Reprod Dev*, 1997, **48**:194~207
- 18 Ludwig, T., J. Eggenschwiler, P. Fisher *et al*. Mouse Mutants Lacking the Type 2 IGF Receptor (IGF2R) are Rescued from Perinatal Lethality in Igf2 and Igf1r Null Backgrounds. *Dev Biol*, 1996, **177**:517~535
- 19 Filson, A., A. Louvi, A. Efstratiadis *et al*. Rescue of the Associated Maternal Effect in Mice Carrying Null Mutations in Igf-2 and Igf2r, Two Reciprocally Imprinted Genes. *Development*, 1993, **118**:731~736
- 20 Pfeifer, K., P. A. Leighton, S. M. Tilghman. The Structural H19 Gene is Required for Transgenic Imprinting. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**:13876~13883