

应用系统遗传学与细胞发生的基因 调控网络序列标记显示分析

曾 (杰) 邦哲

(邦哲系统生物工程研究所系统遗传学与合成生物技术实验室, 常州 213022)

摘要: 基因型-表现型复杂系统自组织化是基因系统到蛋白质系统、代谢酶系统的遗传信息转换过程。一个协同表达的基因群调控一个相对独立性状的功能模块, 基因网络的自组织化建构基因组稳态与遗传适应过程。腺垂体干细胞分化成 5 种不同的内分泌细胞系, 受上丘脑和性腺、胰岛细胞等激素的调控, 涉及系列转录因子的诱导表达, 成为细胞系发生研究的模型。GH 基因的表达受上丘脑激素 GRF、GHRP-6 刺激以及 SMS 抑制, 经不同受体、G 蛋白亚单元和 PKA、PKC 信号传导路径, 转录因子调控细胞再生或 GH 基因表达、激素分泌。基因表达调控决定于基因序列, 如启动子、非翻译 RNA 区、蛋白质的结构域等, 系统生物学包括组学、计算与合成生物技术, 序列标志片段显示 (STFD), 可用于细胞系分化、病理变化等基因表达谱、信号传导网络的系统分析与功能基因克隆。

关键词: 基因调控 STFD 细胞发生 生物技术 转录因子

Applied Systems Genetics and Sequence Tagged Fragments Display Analysis of Gene Regulatory Network Involved in Cytogenesis

Zeng (Bangzhe) Jie

(System Genetics and Synthetic Biotechnology Lab., Benjoe Institute of System Biological
Engineering, High Tech. Park, Changzhou 213022)

Abstract The self-organization biosystem of genotype-phenotype complexity is the information transformation from gene regulatory network, proteins interaction to metabolism system. The independent phenotype which forms a functional module is controlled by synergic expression of genes group of the genotype. During evolution, networks of gene groups are constructing of genomic stability, genetic co-adaptation and self-organization of genomes. Cytogenesis of endocrine cells within pituitary is in response to hormones stimulation, and involved in induced expression of a serial transcription factors. Cell treatments with GRF, GHRP-6 and active inhibitor PKA, PKC pathways and involved in cell proliferation and differentiation. The regulation of gene expression depends on the elements in the sequence of gene, the promoter, the untranslated region of mRNA, the membrane domain of protein etc. Systems biology includes the omics, computational and synthetic biotechnology. An efficient approach, termed sequence tagged fragments display (STFD), be developed that allow for the identification of genes from differential expression tissues and analysis of genes involved in cytogenesis and pathogenesis.

Key words Gene regulatory STFD Cytogenesis Biotechnology Transcription factor

1 腺垂体细胞系发育的基因程序表达调控

动物个体发育受遗传与环境因素的双重影响, 神经-内分泌与免疫系统构成个体发育的调控中枢, 环境和行为因素从神经-内分泌系统或从基因、分子层次影响细胞发生与器官发育。系统遗传学研究的

是细胞进化、细胞发育、细胞病理以及细胞药理的信号传导网络与基因表达调控的非线性系统发生动力学。细胞是个体发生与系统进化的基本单元, 因此, 细胞基因组的变异与细胞系发生的图式 (pattern) 构成生物界的个体与物种的演变。系统进化是细胞的

基因组结构发生过程, 个体发育是细胞发生的类型与数量的时空组织过程。细胞基因变异、基因调控与信号传导对细胞周期、再生、分化、凋亡、迁徙与粘附, 以及细胞系谱定位 (cell mapping) 的调控构成物种进化的个体发育的细胞发生动力学过程。

腺垂体 5 种细胞类型的内分泌细胞发育过程成为典型的细胞发生动力学研究模型。垂体 Corticotrophs(分泌 POMC、ACTH)、Gonadotrophs(分泌 LH、FSH)、Thyrotrophs(分泌 α 、 β TSH)、Lactotrophs(分泌 PRL)和 Somatotrophs(分泌 GH)等 5 种细胞系起源于一个共同前体干细胞系(图 1), 由于特异性基因差异性表达而导致了细胞系非对称分化, 最后导致

不同类型的内分泌细胞系的形成。分离不同胚胎发育时期的腺垂体, 进行细胞体外培养, 采用相关激素基因表达调控的转录因子进行细胞信号传导路径的分析, 探讨基因调控、信号传导与细胞系形成及细胞发育的分子系统调控机理。从一个共同的原基、干细胞系到一系列不同细胞系的分化, 涉及一系列相关基因的连接诱导表达, 其中一些关键基因的表达调控, 关键的细胞分化阶段: 干细胞 $Co \rightarrow Cg1 + Cg2$, $Cg2 \rightarrow Cg3 + Cg4$, $Cg4 \rightarrow Cg5 + Cg6$ 等, $g1-n$ 代表不同阶段表达的基因, 从而形成了细胞的非对称命运决定与细胞分化方向, 最后形成独自的细胞类型与分泌激素的细胞模式。

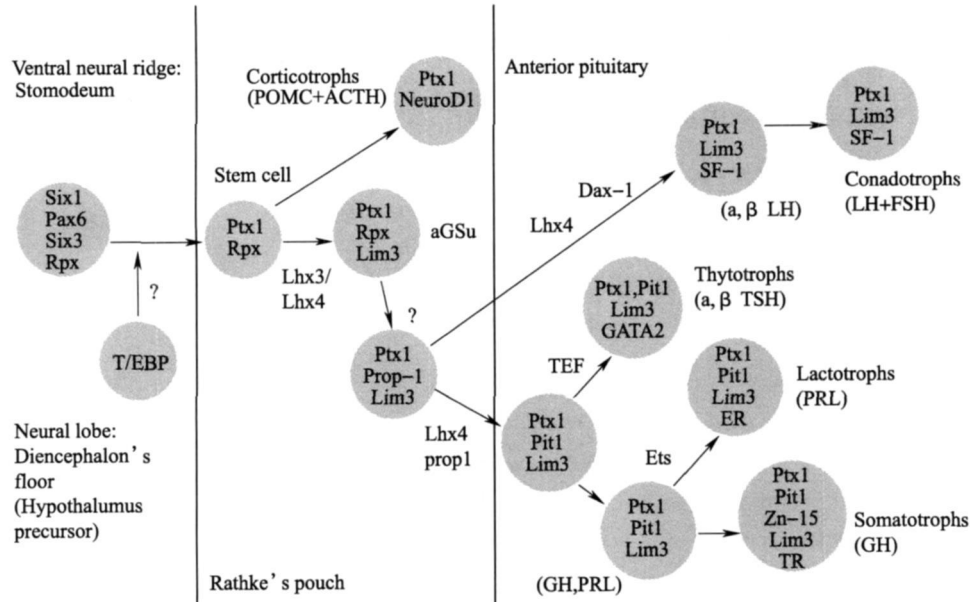


图 1 垂体细胞系分化与基因程序化表达

细胞分裂的染色体行为与基因的染色体定位, 建立了经典细胞遗传学, 细胞间期从基因到蛋白质的表达过程及其调控的研究, 形成了分子遗传学体系。然而, 细胞分裂与细胞间期构成细胞发生的周期, 决定于细胞内外信号传导与基因调控的系统动力学过程。细胞命运的决定, 细胞的分化、再生、凋亡、突变与迁徙, 以及细胞系的定位, 一同构成了细胞发育与进化的基因组结构、功能与演变自组织化系统, 从而基因差异表达与不同调控层次的研究显得极为重要。

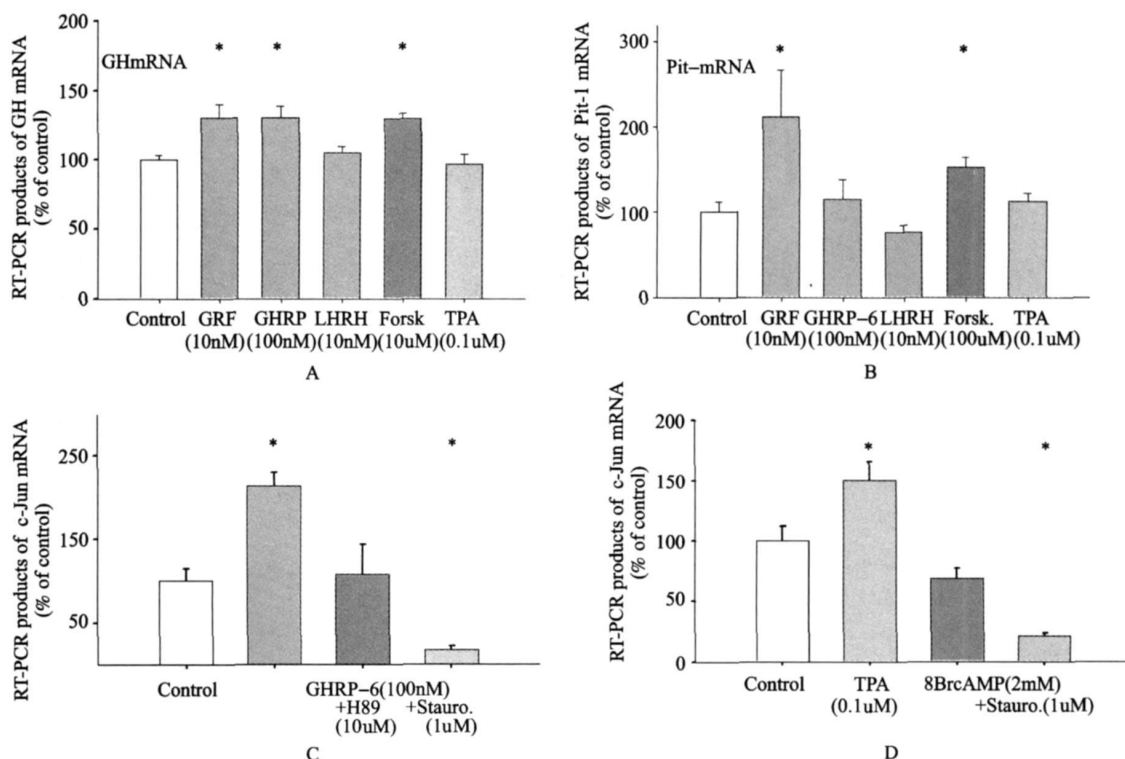
2 基因表达不同层次的细胞信号传导网络

内分泌细胞 Gonadotrophs(分泌 LH、FSH)、Somatotrophs(分泌 GH)是动物、人体发育过程涉及生长与发育的重要激素分泌细胞, 影响性腺细胞、肌肉细胞等发育。Somatotrophs 受上丘脑细胞激素分泌 GRF 或 GHRP-6 激素的促进调控, 还受到 somatostatin 的抑制调控, 通过细胞表面的受体蛋白质的相互作用而影响 G 蛋白不同亚基耦联的细胞内信号传导路径、转录因子基因表达, 从而调控细胞再生、分化或作用于 GH 的基因表达与激素分泌。采用动物

生长激素的表达水平为模型,可以分析在基因转录、翻译、分泌表达水平,以及细胞再生、分化与凋亡水平的系统调控,以及受到细胞外其它激素的刺激与抑制等复杂调控机理。

腺垂体(AP)细胞体外单细胞层培养试验^[1],试验结果证实,GRF刺激GH基因表达经PKA路径,Pit-1表达受GRF刺激经PKA路径,GHRP-6刺激GH表达经由c-Jun与PKC细胞再生路径调控,但LHRH对GH没有刺激作用(图2)。比较人类与小鼠的GH基因表达启动子,有一个相同的区域,在GH转录之前的近端一段启动子序列含2个Pit-1转录因子及与一个Pit-1位点有重叠的Sp1转录因子结合位点,但在启动子上游远端调控人类与小鼠

GH基因的转录因子却不同。对照人类的IHBeta基因启动子,同样,LHBeta基因转录直接受近端一段启动子序列结合的转录因子Egr-1与PKC路径调控(图3-A,图3-B)。GH基因表达受到上游远端启动子序列、近端启动子序列的调控,SP1基因通过与Pit-1等相互作用间接调节GH基因表达。GH激素的分泌、释放受钙离子的直接调控,而PKA与PKC路径调控钙离子的含量。GHRP-6通过刺激PKC、c-Jun调控Somatostrophs细胞再生而增加GH表达水平(图3-C)。由此可见,细胞水平与分子水平构成蛋白质表达调控的复杂系统网络,细胞信号传导与基因表达调控是多重蛋白质因子复合体的多层次网络的复杂调控系统。



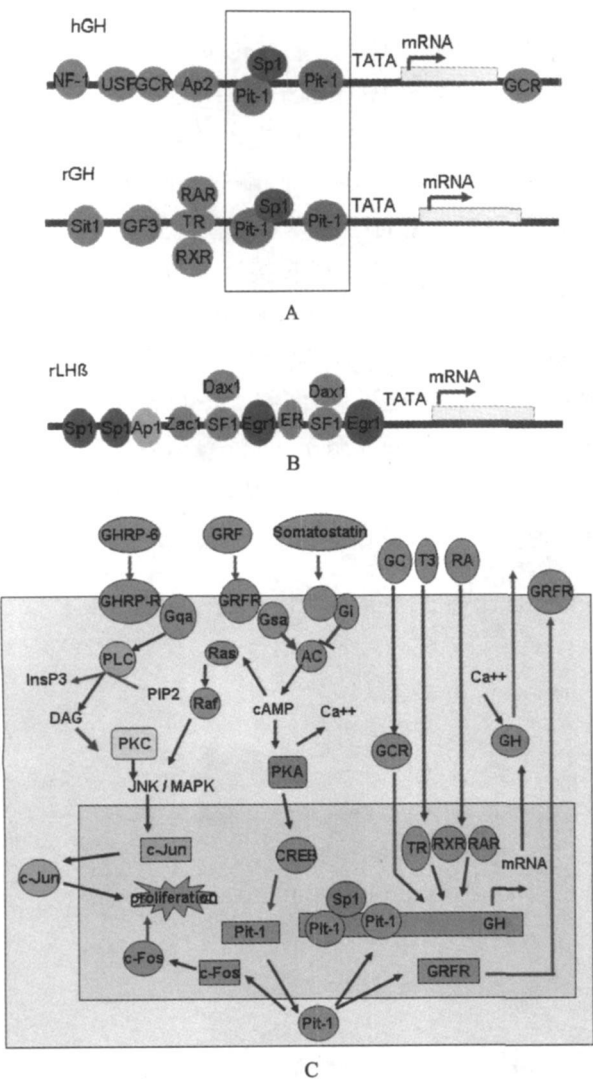
A. GHRH、GHRP-6刺激GH基因表达经PKA信号路径,LHRH对GH表达调控无效;B. GHRH刺激Pit-1因子表达经PKA信号路径,GHRP-6对Pit-1基因表达无影响;C. GHRP-6刺激c-Jun基因表达主要经PKC路径调控;D. c-Jun基因表达主要受PKC信号路径调控

图2 GH、Pit-1、c-Jun基因转录的信号传导路径

3 应用系统遗传学序列标志显示技术

系统生物学开创于贝塔郎菲的一般系统论与理论生物学,艾根的超循环理论提出细胞起源的生物化学、分子层次的系统理论。一方面探索遗传信息、

基因的物质基础发展了细胞、分子遗传学;另一方面从神经系统反馈调控、行为学产生了系统科学。系统生物科学是实验、计算与工程方法的生物系统分析学^[2],涉及组学生物技术、计算生物技术与合成



A. GH 基因启动子转录因子调控, 人与鼠的 GH 基因启动子近端转录因子相同而远端不同; B. LHβ 基因启动子转录因子调控, LHβ 基因转录直接反应的是近端 Egr1 转录因子与 PKC 信号传导路径; C. GH 基因表达调控的细胞信号传导路径。GHRH 刺激 GH 基因表达调控经 PKA 和转录因子 Pit-1 路径, 还 GHRP-6 和 GHRH 促进细胞再生经 c-Jun 转录因子和 PKC 路径调控。

图 3 内分泌激素的基因表达调控网络

生物技术, 研究生物系统的结构、动力学、图式形成等。后基因组时代, 经历了系统生态学、系统生理学时期, 开始进入系统 (结构) 遗传学^[3, 4]时期。2008 年, 美国国立卫生研究院 (NIH) 设立肿瘤的系统遗传学研究专项基金。细胞基因组的自组织化、程序化表达与疾病发生构成细胞进化、发育与病理学基础, 细胞信号传导、基因调控网络与细胞再生、分化、

凋亡、迁徙等, 细胞的时空定位图谱, 基因型-表现型复杂系统分析, 构成系统遗传学的基本内容, 系统理论、计算模型、组学技术、化学合成等整合构成了系统遗传学的方法与技术基础。

细胞病理与药物, 转基因动物模型是人类病理学研究的重要工具, 遗传病的细胞系建立可以提供天然的基因变异病理模型。禽类胚胎在体外的禽蛋中发育成稚, 较小鼠等哺乳动物更有利于胚胎细胞发生与基因调控的研究, 药物筛选与药理分析的系统遗传学动物模型建立。输卵管细胞可以看成是一个受信号 S (甾体激素) 调控的输入 M (氨基酸分子) 与输出 P (分泌蛋白质) 细胞反应器系统: $P = M \cdot K_s (T_1 + T_2 + \dots T_n)$, 其中 K 为参数, T₁, T₂到 T_n为转录因子。禽类细胞发育与输卵管细胞发育研究, 是开发转基因禽类输卵管生物反应器^[3-5]应用于药用蛋白质表达的基础。细胞发育与病理发生, 一是细胞内信号传导与基因表达调控, 二是细胞之间通讯行为与反馈调控, 神经-内分泌、免疫系统构成细胞与细胞群形态、疾病发生与药物作用的系统动力学。系统遗传学研究细胞发生的信号传导与基因调控网络, “基因型-表达型”复杂生物系统非线性细胞发生动力学。细胞进化与发育, 基因变异的协同性或基因群体的适应性, 导致的不论是生物的疾病, 还是生物的进化或物种的变异, 发育是基因组的正常功能表达过程, 体现个体生理活动的正常。但是, 遗传性疾病或体细胞变异引起生物发育、生理功能的异常。

细胞进化与发育是基因组复杂系统的自组织进化与程序化表达过程, 复杂疾病发生及其治疗涉及细胞信号传导与基因网络的基因组复杂系统调控。基因调控位点转录因子群、信号传导蛋白质分子模块、生物化学酶代谢反应链、细胞特异性蛋白质表达图式 (pattern) 等, 形成细胞系发育与病理发生的非线性系统动力学。基因组表达调控从转录组、蛋白质组到代谢组的细胞信号传导网络^[6], 构成基因组程序化表达与细胞系形成、定位图谱的生物形态发生过程。细胞系发育、病理细胞系的基因差异表达谱或复杂系统疾病发生的基因表达图式分析方法, 序列标志片段显示 (STFD)^[7]系统生物技术, 依据生物系统原理, 基因与蛋白质序列的元件、功能、区域,

以及分子相互作用、传导、调控等网络,解析与建构基因组的系统遗传学,从整体到局部解析基因系统、信号系统与细胞系统的结构模块,建立差异基因表达谱分析与功能基因克隆体系,设计微流控芯片与生物传感器筛选天然药物;然后,再从局部到整体,人工设计与合成全基因、基因网络、分子模块与细胞通讯系统的细胞计算机、生物反应器,合成生物学开发生物系统的人工设计与合成生物技术,人工设计细胞信号传导与基因调控网络,为复杂性疾病与药物筛选提供了复杂生物系统模型等。

参考文献

[1] Zeng BJ Signal transduction and gene regulatory network involved in

neur endocrine cyto genesis Neustadt a Rbge Gemany. 2002.

[2] Zeng BJ Genbrain Biosystem Network of the Associates for Biosystem Science and Engineering Neustadt a Rbge Gemany. 1999.

[3] 曾(杰)邦哲. 转基因动物表达系统转基因蛋战略 (Golegg Plan). 转基因动物通讯, 1994(11): 3.

[4] 曾(杰)邦哲. 转基因动物的基础与应用研究. 生物技术通报, 1997(6): 13-18.

[5] Zeng BJ Transgenic avian used as oviduct bioreactor international biotechnology symposium and industrial exhibition of pharmacy Shanghai 1995 15-20

[6] Ayroles JF, Carbon e MA, et al Systems genetics of complex traits in drosophila melanogaster Nat Genet 2009 41(3): 299-307.

[7] Zeng BJ Genetic mechanism of biosystem patterns none linear cell dynamics Proceedings of XX International Congress of Genetics Berlin 2008 12-17.

• 科学出版社新书 •

八仙山蝴蝶

李后魂 胡冰冰 梁之聘 赵铁建 任秀柏 编著

978- 7- 03- 025840 - 3 ¥98.00 2009年 11月出版

内容简介: 本书按国际最新分类系统记述天津八仙山国家级自然保护区蝴蝶 5科 58属 88种。介绍了蝴蝶识别与研究的基本知识,编制了分种检索表。依据实际标本描述了各种的形态特征,提供了成虫彩色照片,尽可能给出了生态图、已知寄主、生活习性和详细的分布资料。图文并茂的编写方式为寻找、识别和保护蝴蝶资源提供了方便。

本书适合各类学生、大自然爱好者和相关研究人员阅读与收藏。

欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书(免邮费)

邮购地址: 北京东黄城根北街 16号

科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 **邮编:** 100717

联系人: 李韶文(010- 64000849) 周文字(010- 64031535)

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn> 欢迎致电索要书目