

生物形态进化和转录调节基因

金振华

(中国科学院发育生物学研究所,北京 100080)

[摘要] 通过阐述转录调节基因与进化的关系,列举了转录调节基因的改变是驱动生物进化的诸多论据及检验途径。

[关键词] 生物形态进化,转录调节基因,蛋白质功能,发育途径

如果说,达尔文的“自然选择,适者生存”学说是从生态学层次解决了生物形态与环境条件之间的内在联系。那么,作为遗传学和进化论有机结合的新达尔学说,则从遗传学层次阐明了突变、选择和漂移导致基因表达频率的定向改变是新形态进化的基础。有关基因、基因类型的多样性、基因间的相互作用,以及参与发育调节的基因网络组织和基因等级结构知识的积累,为认识生物形态进化机理奠定了基础。无疑,进化生物学家在新世纪面临的挑战是在分子和发育层次上解决这一问题。

1 调节基因与进化

自30年代以后,不少学者认为调节发育时间或速度的基因,一定也参与形态进化的调节^[1]。尽管,当时并不了解基因调节发育的确切过程。以后,随着遗传密码的解读、基因表达调控机理的阐述,生理和形态学进化的分子机理研究进入了新阶段。1970年前后,Britten等人提出了物种进化变异的分子基础^[2],引起生物学家的极大兴趣。他们把基因分成“生产区”和“感受区”两部分,即现在所说的编码区(结构基因)和启动区(调节基因)。接着,又提出了“整合”基因概念,认为它能产生与感受区结合的“活化RNA”。通过它的结合,启动生产区转录。实际上,整合基因就相当于现在的转录调节基因。根据他们的基因等级结构模式,单一的整合基因能控制下游多个生产基因的协调表达。因此,他们推断,进化主要涉及“调节基因”即现在我们称之为顺式调控元件的改变。

1.1 调节基因参与进化的早期证据

70年代后,基因调节区在物种进化中起支配作用的论断,获得多方面证据的支持。Ohno认为,人和马,指或趾的形成涉及一组相同的结构基因,但是,指或趾在功能和解剖上却相去甚远。因此,出现这种差异的最合理解释是,这些基因在调节上发生了改变^[3]。此后,Wilson及其同事也指出,把调节基因(即顺式调控区)而不是结构基因(蛋白质编码区)的突变看作进化变异的主要机理,才能把物种之间蛋白质改变和形态进化的非对等性或极端的形态学歧异与缺少蛋白质相应改变的现实协调一致。实际上,不少学者都注意到哺乳动物的不同物种,尽管解剖学差异明显,但蛋白质变化相对很小。形态差别不大的蛙类,种间的蛋白质变化却很大。

Kimura在《分子进化的中性理论》一书中指出,蛋白质的大量演化并不影响生物的形态,形态学改变常常是适应性的。1996年,Endo等为了重复和补充Kimura的结论,就蛋白质的变化是否对植物的外形特征有正选择作用,进行了全球性普查^[4]。根据中性理论的逻辑,硷基突变导致蛋白质中同义或非同义氨基酸取代的比例是1。如果,被选择的是有害的氨基酸其比例将小于1。如果,正选择能固定有利氨基酸的取代,其比例将大于1。结果,在受检的3595组蛋白质中只有17组呈正选择迹象。它再次表明,形态变异是对自然环境的适应,并不受蛋白质功能变化的驱动。

又如,人和非洲人猿的蛋白质分化水平与行为及形态间的明显差异之间,没有与之对应的比例关

系。换言之,少量的氨基酸取代足以有效的控制人和猿之间的差异。实际上,只有依据这种蛋白质进化模式,才能解释大部分生物的形态进化。有理由预期,少数蛋白质功能的有效改变是处在大量无效(即中性)改变的包围之中。这就是调节区的演变较之蛋白质自身演变在形态进化中更重要、更有效的早期证据。

1.2 蛋白质功能的保守性

多数蛋白质并不涉及自然选择指导下的正效应。也就是说,在长期进化过程中蛋白质功能趋于保守。比如,一个物种的某种蛋白质和它的突变或表型类似的另一物种,甚至经过长期演化已在地域上隔离物种的蛋白质在功能上往往相互补。最明显的例子是,控制小鼠眼形成的小眼基因 *pax-6* 能诱导果蝇形成异位眼。说明这种蛋白质的功能已经保持了5亿年。因为,节肢动物和脊椎动物是在那一时期才出现分歧的^[5]。另一个例子是,把鸡的 *ghoxb-1* 和果蝇的适当调控序列连接,能取代控制果蝇头内旋功能的 *Hox* 突变基因(Lab),证明 *Hox* 基因在系统发育中的保守性^[6]。同样,玉米和酵母二者的进化分歧至少在6亿年以前,但是,玉米的同源基因 *cdc2* 能与酿酒酵母的 *cdc28* 突变体互补。此外,金鱼草的 DEF 蛋白质能和拟南芥菜的 *ap3-1* 突变完全互补,和 *ap3-3* 突变部分互补。

大部分蛋白质在漫长的进化历程中显示功能的保守性同时,也有一些事例表明,蛋白质功能的改变又是物种进化的决定性因素。例如,在拟南芥菜的 MADS 框基因家族中,其蛋白质有3个不同的分隔区,分别赋予不同的功能特异性并以排列的不同区分各成员。这一蛋白质家族的同源蛋白质成员,彼此不能替换。因为,拟南芥菜花的正常发育需要每一成员。由此推断,这种花的进化和蛋白质功能的改变相关。

1.3 进化是基于基因表达的改变

进化的发生常常是由于基因表达时空方式的改变,这种观点已为不同学者所接受^[7]。启动区和增强子的渐进性修饰,最容易引起基因表达方式的改变,进而产生适应于自然选择作用的新表型。植物能够耐受外源 DNA 序列的插入、重排以及顺式调控区其他形式的序列变化。实验表明,这些很可能是产生新表征的“热点”。基因表达的改变是进化的重要机理,得到两方面证据的有力支持。

(1)关于基因表达空间方式和表型之间关系的研究。例如,蝴蝶双翅眼点的形成就和同源异型框

基因的产物 *Distal-less* 表达域有关^[8],即 *Distal-less* 表达的空间方式控制眼点的大小和分布。从原发性无翅和渐进式有翅昆虫 *Hox* 基因表达的比较中发现,涉及翅形成的基因都获得了使基因处于体节 *Hox* 基因负控制的顺式调控元件。甲壳动物的胸肢转变成摄食附肢,也和 *Hox* 基因表达方式改变有关。从植物体系看,番茄叶原基同源框基因的表达和复叶形成有关,但和单叶形成无关,其中有一些已被定位在5'调控区^[9]。因此,有理由认为,形态进化的发生基于同样的机理。

(2)基因非转录区侧翼序列的重排,导致基因新表达方式和/或表型的产生。例如,在番茄同源框基因 *Let6* 5'端插入双拷贝的代谢酶编码序列,可导致同源域蛋白过量表达,并使植株由单羽状复叶变成三羽、四羽复叶^[10]。更重要的是,新表型并非畸形,而是有花植物中常见的羽状复叶形态。还有一个类似的例子,由转座子诱导玉米酒精脱氢酶基因启动子改变,可使该基因的表达量发生改变,而且是器官特异的。

启动子的模块式结构,对于物种在进化过程中基因适应性改变非常有利。因为这种结构模式将使渐进性累积的变异,只影响相关启动子控制的基因在相应细胞、组织或器官中表达,不至于殃及原有的其他启动子元件。

1.4 信号、转导蛋白、调节基因及靶基因

Britten 等人提出调节的进化模型时,对于基因功能的多样性、基因间互作的了解还很少。虽然目前这方面的知识仍不完备,但比当时已经详细、具体的多了。因此,势必有人提出,在物种形态进化过程中是否有几类蛋白质的作用比其他的大呢?

1996年 Raff 在《生物的外形:基因、发育及动物形态进化》中提到^[7],概略地说,发育途径是由半等级方式排列的若干独立模块构成的系统。模块则由信号、转导蛋白、转录调节基因及靶基因组成。信号可以来自外部环境(如光周期)或细胞内(如植物生长素)。转导蛋白的组成要素,包括信号转导途径和参与信号产生、感知、传递及修饰的各种基因产物(如配体、受体激酶、光敏色素以及和激素合成/失活有关的各种蛋白质、酶类。所谓转录调节基因是,其产物能直接结合于顺式调控元件,并特异地调节基因表达的基因。靶基因则可以是接受作用的任何一类基因。接近发育终点的模块,它的靶基因产物(如代谢酶类)往往不致影响其他的基因。处于级联反应上游的模块的靶子包括和信号传输、转录调节有

关的基因。

因此,植物的发育是一组级联事件,从内部信号启动胚胎发生开始,通过外部、内部信号的不断输入,指令等级排列的模块依序活化。各模块的作用都是具体的,就如我们能在个体发育过程中观察到的细胞类型、组织、器官及器官系统一样。比如,一个模块能调节根毛的形成,另一个调节花瓣发育,第3个调节种子成熟。

1.5 转录调节基因和进化

遗传等级哪一个/些点的改变最可能导致新表型产生,借助什么实验来检测?判断的标准是,看处在不同等级的基因如果发生突变,将在发育上产生多大的影响,即多效性水平。整合到复合模块中的基因,它/它们的多效性范围广,受到修饰又不扰乱植株总体发育的可能性就小。反之,受单一模块控制的基因,如果发生改变,对植株总体的冲击比较有限。

生物学家曾把引起拟南芥形态突变的各种克隆基因汇编成册,并按突变后的表型变异程度分成4类^[11]。(1)非基因多效,只影响一种器官或器官系统;(2)弱基因多效,影响几个相关的器官系统;(3)中度基因多效,影响多个复合器官系统;(4)强基因多效,强烈干扰整体发育。与此同时,又将基因按从属转录调节抑或信号传输系统基因归类。结果显示,凡属转录调节基因类型的基因突变造成的表型效应,大部分属(1)、(2)类,而信号传输系统基因的突变,全部为(3)、(4)类。后者的严重程度显然高于前者。换言之,转录调节基因更容易遭受进化修饰,因为,它们的改变引起发育重大破坏的可能性小。相反,信号传输涉及发育的各个方面,相关基因的功能和/或表达,那怕出现非破坏性的改变,都会引起总体发育的紊乱。

目前,这方面的研究,动物体系集中在含同源域的转录调节蛋白^[12]。植物体系则集中在含MADS框的转录调节蛋白。转录调节蛋白常被认为是天然物种,如原种和表型很相似又有明确差异的变种,甚至分类上不同种属物种之间形态的“转换器”。只有转录调节基因适合在进化中充当这一角色,使它们的靶基因能够在功能和整合上产生新表型所需要的时空表达方式。

所谓信号传输基因对形态进化的贡献较小,并非凭直觉推断。从原理上说,这些基因的修饰也能导致靶基因在新时空环境下的协调表达。而且,广义地说,信号传输基因也是基因组的实质部分,会有

许多影响进化的机会。和玉米信号传输有关的 *tassel seed2* 基因是进化研究的好材料。这类基因在进化中的作用受到限制,主要由于在复合发育模块中这些基因是共用的。它们的改变将产生强烈的多效效应,导致个体存活能力降低。

2 发育途径与基因多效

研究表明,转录调节基因突变所产生的表型效应,往往小于上游信号传输基因的突变;并且在复合发育模块中,信号传输途径倾向于共用。发育途径的这两种结构特点为上述论点提供了支持。Okamura 等曾检查过激素信号传输在维持拟南芥花分生组织中的作用^[13]。发现转录因子 *LEAFY* (*LFY*),既在维持花分生组织的属性上起作用,又是赤霉素(GA)信号传输的靶子。有些情况下,杂合植物 *lfy* 基因的突变可使花分生组织逆转成为花序分生组织。使用外源 GA 能阻止这种逆转,就如有抑制 GA 信号转导途径功能的信号传输基因 *Spindly* (*spy*)发生突变。分析表明,*spy* 的多效效应范围广泛,而上游基因 *lfy* 的多效效应范围则比较窄。因此,如果某种自然因素能影响花分生组织属性的话,*lfy* 作为目标的可能性高于 *spy*。实验证明,*spy* 突变能造成各种缺陷,花分生组织只是相关复合发育模块对 GA 途径多种反应中的一种。

动物体系的情况同样如此,如线虫的 *Ras* 信号途径。该途径不仅影响线虫阴裂发育,还影响雄性交合刺、生育力及其它发育过程。经由配体 *LIN-3*、受体 *LET-23* 及转录因子 *LIN-1* 和 *LIN-31* 活化的该信号传输途径也受 *Ras* 途径的活化。上一途径的上游基因,如 *LIN-3*、*LET-23* 或 *LET-60* 突变都导致个体致死并形成多项发育缺陷。如果转录因子 *LIN-1* 发生突变,则个体仍可存活,只出现特异的多阴裂。*LIN-31* 突变的情况也相似,个体能存活,出现多阴裂或性质混乱的细胞。所有这些都说明,对 *Ras* 途径作出反应的多基因复合发育模块的突变是高度多效的,而由 *Ras* 途径活化的转录因子,如果发生突变则作用比较有限。

3 遗传学和转基因学检验途径

对于转录调节基因顺式调控区的修饰是新形态进化的主要模式,不仅有统计学上的可预见性还拥有大量纪录在案的实际事例。有什么方法可以检验呢?

物种在系统发生过程累积的变异,必将在控制

个体发育的基因中留下印记。因此,遗传学便为检验提供了机会。在有花植物杂交亲和的两个种中,存在某种形态差异是常见的。这样,通过杂交就可以确定差异的控制基因,并利用分子标记作出基因图。利用相关物种之间广泛存在的同线基因顺序,就能鉴定,克隆有关基因。一旦取得克隆基因,就可通过遗传学或转基因途径验证其功能,探究表型差异的分子多态性基础。如果搞清模式植物基因组全序列,工作将更加快速有效。

对于杂交不亲和/或分类学距离较远的物种的形态差异,转基因学就成为有效的途径^[14]。可以将有特别表征的候选基因,包括顺式调控元件,转化给有关的遗传原型物种并观察表型状况。如转化体呈现供体特征,即可推断该基因的特定功能。例如,拟南芥野生型基因 *Perianthia* 具有决定十字花型的功能,从系统发生角度看,由五瓣花型祖先演化成现今芥子植物的十字花型就是基于这一基因的作用。那么,用 *Perianthia* 基因转化现有五瓣花植物,即赋予受体形成十字型花的充分条件。遵循这一途径有可能鉴定表征差异的基因区(启动子和编码区)。需要记住的是,在新的宿主条件下有候选基因仍存在不能充分表现特定表征的危险。如果特定表征的进化涉及多基因,情况更是如此。

4 小 结

生物进化的研究历史表明,认识物种的遗传机理是揭示进化本质的基础。为此,应集中力量搞清个体发育过程中,以网络组织和等级结构形式整合在一起的基因,从活化(结构、功能、互作)到生理生化活动,形态发生的详细过程。

近些年,以此为中心取得的主要结果是,(1)发育程序以模块形式存在;(2)在长期进化过程中蛋白质功能趋于保守;(3)自然条件下植物(基因)的启动子容易改变;(4)信号传输基因通常有很强的多效

性;(5)转录调节基因是植物发育转换的开关。转录调节基因顺序调控区的改变容易导致植物的形态进化。遗传学和转基因植物为检验植物形态进化的分子机理,提供了必需的工具。

参 考 文 献

- [1] Goldschmidt R B. *The Material Basis of Evolution*, New Haven, CT: Yale Uni. Press., 1940.
- [2] Britten R, Davidson E. Repetitive and non-repetitive DNA sequences and a Speculation on the origins of evolutionary novelty. *Quart Rev. Biol.*, 1971, **46**:111—113.
- [3] Ohno S. An argument for the genetic simplicity of man and other mammals. *J. Human Evol.*, **1**:652—662.
- [4] Endo T, Ikeo K, Gojobori T. Large-scale search for genes on which positive selection may operate. *Mol. Biol. Evol.*, 1996, **13**:685—690.
- [5] Halder G, Callaerts P, Gehring W. Induction of ectopic eyes by targeted expression of the *eyeless* gene in *Drosophila*. *Science*, 1995, **267**:1788—1792.
- [6] Lutz B et al. Rescue of *Drosophila* labial null mutant by the chicken ortholog *Hoxb-1* demonstrates that the function of *Hox* genes is phylogenetically conserved. *Genes Dev.*, 1996, **5**:717—724.
- [7] Raff R A. *Shape of life: Genes, Development and the Evolution of Animal form*. Chicago, Uni. Of Chicago press. 1996.
- [8] Brakefield P et al. Development, plasticity and evolution of Butterfly eyespot patterns. *Nature*, 1996, **384**:236—242.
- [9] Schulte P M et al. Structural and functional differences in the promoter and 5' flanking region of *ldh-B* within and between populations of teleost *fundulus heteroclitus*. *Genetics*, 1997, **145**:759—769.
- [10] Chen J J et al. A gene fusion at a homeobox locus: alterations in leaf shape and implications for morphological evolution. *Plant. Cell.*, 1997, **9**:1284—1304.
- [11] Doebley J. Genetics, development and plant evolution. *Curr Opin. Genet. Dev.*, 1993, **3**:865—872.
- [12] Warren R, Carroll S. Homeotic genes and the diversification of the insect body plan. *Curr Opin Genet Dev.*, 1995, **5**:459—465.
- [13] Okamura J K et al. Flower into shoots: photo and hormonal control of meristem identity switch in *Arabidopsis*. *Proc. Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**:13831—13836.
- [14] Baum D. The evolution of plant development. *Curr Opin Plant Biol.*, 1998, **1**:79—86.

EVOLUTION OF LIFE FORMS AND TRANSCRIPTIONAL REGULATORS

Jin Zhenhua

(*Institute of Biophysics, Beijing 100080*)

Abstract This paper discussed relations between evolution of like forms and transcriptional regulators, and listed some evidences and testing methods for the reason of evolution of life forms is the change of transcriptional regulator.

Key words evolution of life forms, transcriptional regulators, protein function, developmental pathway