

2015年中国动物遗传学研究领域若干重要进展

张博¹, 陈晓芳², 黄勋², 杨晓³

1. 北京大学生命科学学院, 细胞增殖与分化教育部重点实验室, 北京 100871;
2. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101;
3. 军事医学科学院生物工程研究所, 发育和疾病遗传学研究室, 北京 100071

摘要: 2015年中国科学家在动物遗传学领域的研究成果斐然。据不完全统计, 2015年围绕线虫(*Caenorhabditis elegans*)、果蝇(*Drosophila melanogaster*)、斑马鱼(*Danio rerio*)、爪蛙(*Xenopus*)和小鼠(*Mus musculus*)等5个模式动物发表的论文中涉及中国的论文数约占总论文数的1/5, 众多具有原创性的研究成果在国际高影响力的期刊上发表。例如: 首次鉴定出潜在的磁受体 MagR, 为磁感应遗传与分子机制的研究带来了重大突破; 揭示了褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)翅多型性的遗传基础; 首次证明在果蝇基因组中存在腺嘌呤的 N⁶-甲基化; 揭示了哺乳动物树突棘修剪与成熟的新的分子机制; 发现 CRTC2 介导的信号通路调控肝脏脂代谢; 发现神经递质多巴胺能够调节炎症反应; 发现 Gasdermin 蛋白家族具有诱导细胞焦亡的功能; 发现小清蛋白阳性的兴奋性视觉通路能够触发小鼠的恐惧反应等。2015年中国科学家在 TALEN 和 CRISPR/Cas 基因组靶向编辑技术领域同样做出了重要贡献。据不完全统计, 其中涉及中国的论文占比多于1/5, 覆盖了从线虫到灵长类的多种动物、多种基因组修饰方法, 并且在世界上首次成功编辑了人类早期胚胎。中国在基因组序列测定与分析研究领域一如既往地保持世界领先, 2015年中国科学家在动物基因组方面绘制了家鹅(*Anser cygnoides*)、壁虎(*Gekko japonicus*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)和大黄鱼(*Larimichthys crocea*)的基因组序列图谱, 完成了69头中国地方猪(*Sus scrofa*)的基因组重测序, 分别分析了这些动物所独有的生理病理特征以及环境适应能力的遗传基础。本文首次尝试对以中国本土科研团队为主的动物遗传学领域若干重要科研进展进行年度回顾, 并选取若干重点论文进行简要介绍, 以彰显中国科学家在动物遗传学领域的科研实力和重要贡献。

关键词: 中国; 动物遗传学; 研究进展; 2015年

收稿日期: 2016-04-25; 修回日期: 2016-06-06

通讯作者: 张博, 教授, 博士生导师, 研究方向: 斑马鱼遗传发育。E-mail: bzhang@pku.edu.cn

黄勋, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 脂肪代谢调控、发育与脂肪代谢疾病的分子机制。E-mail: xhuang@genetics.ac.cn

杨晓, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 组织稳态维持和疾病的分子机制。E-mail: yangx@bmi.ac.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.16-205

网络出版时间: 2016/6/13 10:41:31

URI: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20160613.1041.001.html>

Research advances on animal genetics in China in 2015

Bo Zhang¹, Xiaofang Chen², Xun Huang², Xiao Yang³

1. Key Laboratory of Cell Proliferation and Differentiation of Ministry of Education, College of Life Sciences, Peiking University, Beijing 100871, China;

2. Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

3. Genetic Laboratory of Development and Disease, Institute of Biotechnology, Beijing 100071, China

Abstract: Chinese scientists have made significant achievements in the field of animal genetics in 2015. Incomplete statistics show that among all the publications of 2015 involving nematode (*Caenorhabditis elegans*), fly (*Drosophila melanogaster*), zebrafish (*Danio rerio*), African clawed frog (*Xenopus*) or mice (*Mus musculus*), about 1/5 publications are from China. Many innovative studies were published in high-impact international academic journals by Chinese scientists, including the identification of a putative magnetic receptor MagR, the genetic basis for the regulation of wing polyphenism in the insect brown planthopper (*Nilaparvata lugens*), DNA N⁶-methyladenine (6mA) modification in the *Drosophila* genome, a novel molecular mechanism regarding the dendritic spine pruning and maturation in the mammals, the mechanism for the CREB coactivator CRTC2 in the regulation of hepatic lipid metabolism, the control of systemic inflammation by neurotransmitter dopamine, the role of Gasdermin protein family in triggering pyroptosis, a parvalbumin-positive excitatory visual pathway to trigger fear responses in mice, etc. Chinese scientists have also made important contributions in genome editing via TALEN or CRISPR/Cas system. According to incomplete statistics, more than 1/5 of the publications related to genome editing in 2015 are from China, where a variety of animals with different approaches were targeted, ranging from the worm to primates. Particularly, CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human triploid zygotes was successfully achieved for the first time. China has been one of the leading countries in genome sequencing in recent years, and Chinese scientists reported the sequence and annotation of the genomes of several important animal species in 2015, including goose (*Anser cygnoides*), Schlegel's Japanese Gecko (*Gekko japonicus*), grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*), large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) and pig (*Sus scrofa*). They further analyzed the genome-wide genetic basis of the species-specific physiological and pathological characteristics as well as their adaptation to environmental conditions. In this review, we make a first attempt to summarize the research advances on animal genetics in China in 2015, with an emphasis on the achievements led by Chinese scientists and carried out in Chinese institutions. We will briefly discuss the significance of their research and contributions of Chinese scientists in animal genetics.

Keywords: China; animal genetics; research advances; 2015

进入 21 世纪以来,随着二代测序等现代生物学技术日新月异的发展,随着生命科学与数学、物理、化学等学科的深入交叉,全球生命科学基础理论与应用研究进入了高速发展的轨道,作为生命科学基础与核心学科的遗传学也跨入了全新的基因组时代。近几年迅猛发展起来的以 TALEN、CRISPR/Cas (或称 Cas9/gRNA) 等人工核酸酶系统为基础的新一代基因组编辑(Genome editing)技术更是掀起了一场前所未有的革命,为遗传学乃至整个生命科学的发展带来了无限的可能。近 10 余年,中国的生命科学研究也伴随着国民经济的腾飞迎来了高速发展的热

潮,中国遗传学研究领域也同样进入了高速发展的阶段。中国生物学家始终瞄准国际热点与前沿问题,发表了诸多原创性、高水平的研究论文,取得了许多国际瞩目的科研成果。

我们借助于 PubMed 公共数据库,盘点了近 10 年(2006~2015 年)国内外学者发表的有关遗传学(Genetics)的论文中涉及线虫(*Caenorhabditis elegans*)、果蝇(*Drosophila*)、斑马鱼(*Danio rerio*)、爪蛙(*Xenopus*)和小鼠(*Mus musculus*)等 5 个具有代表性的模式动物的情况(图 1)。由图可见,最近 10 年间涉及其中任何一种模式动物的论文中跟中国有关

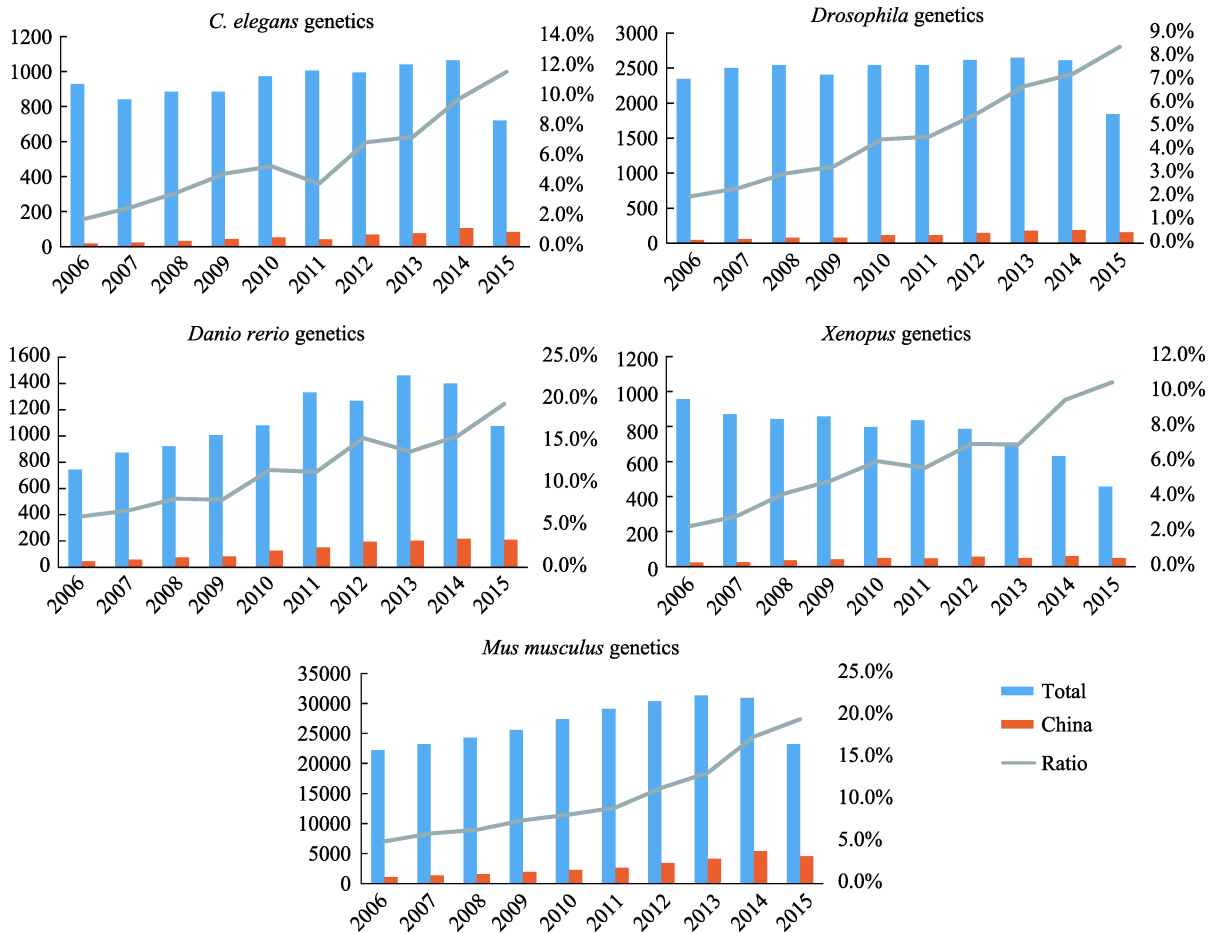


图 1 近 10 年(2006-2015)国际上发表的涉及线虫、果蝇、斑马鱼、爪蛙、小鼠等模式动物的遗传学论文以及其中涉及中国的论文的统计结果(依据 PubMed 数据库)

Fig. 1 Publications on Genetics referring *C. elegans*, *Drosophila*, *Danio rerio*, *Xenopus* or *Mus musculus*, as well as those referring China in recent 10 years (2006-2015) (Based on PubMed)

灰色折线反映的是每一年涉及中国的论文数(China)占总论文数(Total)的百分比。

的论文所占的百分比都在逐年上升,保持了良好的势头,其中 2015 年涉及中国的以斑马鱼和小鼠为模式动物的遗传学论文数均约占当年全球该领域总论文数的 1/5,充分彰显了中国科学家在动物遗传学研究领域的实力。涉及不同模式动物的论文数量明显不平衡,其中涉及小鼠的论文数量远远超过另外 4 种模式动物的总和(图 1,表 1),这充分展现出小鼠在模式动物遗传学研究中的霸主地位。近 10 年涉及线虫、果蝇、斑马鱼、爪蛙单个物种的论文数量每年最多有 2500 多篇,而涉及小鼠的论文则每年最少为 23 000 多篇,最多曾高达 32 000 余篇。

鉴于此,为了彰显中国科学家在动物遗传学研究领域的重要贡献,本文首次尝试对以中国本土科

研团队为主的动物遗传学领域若干重要科研进展进行年度回顾,并选取若干重点论文进行简要介绍,以帮助读者了解中国动物遗传学研究领域的整体状况和最新进展,同时凸显中国在该领域的整体实力和发展势头。

为了完成好这一工作,我们首先对相关的期刊进行了梳理,筛选出 *Nature* 系列、*Science*、*Cell* 系列、*Genome Research*、*Cell Research*、*PNAS* 等 22 个国际著名的综合性学术期刊, *Immunity*、*Developmental Cell* 等 12 个动物遗传学领域主流期刊,以及一些有影响力的动物遗传学领域经典期刊和医学遗传学类期刊。从上述期刊中收集到中国学者 2015 年发表的动物遗传学论文 450 余篇,其中以中国本

表 1 在 PubMed 数据库搜索 2015 年度遗传学和基因组编辑技术论文的结果

Table 1 PubMed search result for publications on genetics or genome editing of 2015

搜索主题	所有论文	涉及中国的论文	涉及中国的论文百分比
TALEN	191	41	21.5%
Cas9	854	189	22.1%
两种技术合计	1045	230	22.0%
<i>C. elegans</i>	721	84	11.6%
<i>Drosophila</i>	1843	155	8.4%
<i>Danio rerio</i>	1076	209	19.3%
<i>Xenopus</i>	456	48	10.5%
<i>Mus musculus</i>	23 210	4539	19.6%
5 种动物合计	27 306	5035	18.4%

土科研团队为主的论文(第一作者和通讯作者均为国内单位)有 360 余篇;发表在上述 22 个综合类学术期刊的论文为 150 余篇,其中绝大多数是以中国科研团队为主的论文,并且有一多半论文的所有作者全部来自国内科研单位。经综合考虑,同时兼顾不同模式动物之间的平衡,我们从中选取了 113 篇具有代表性的论文在本文中进行了综述与介绍。选取论文时我们在首先考虑论文工作的创新性和学术贡献的前提下,主要遵循以国内团队的工作为主、以基础理论研究为主、以动物个体水平的工作为主的原则。以人类疾病(包括肿瘤、病理等)为主的论文已有医学遗传学年度进展专题阐述。考虑到篇幅所限,为了有所侧重,在有限的篇幅内尽量突出动物遗传学研究领域的特色,本文也较少涉及体外培养的胚胎干细胞和 iPS 细胞、表观遗传调控、非编码 RNA、感染/免疫/炎症、肠道菌群、衰老、神经/行为、演化/古生物、结构生物学、生物信息学等学科领域,仅从中选取了很少量的代表性论文。

下文我们将从基因组靶向操作技术在动物遗传学研究中的改进与应用、动物基因组序列测定与分析、无脊椎动物遗传机制研究进展、非哺乳类脊椎动物遗传机制研究进展、哺乳动物遗传机制研究进展等 5 个方面,根据领域与研究方向简要盘点 2015 年中国科学家在动物遗传学研究领域所取得的比较重要的研究成果,展示我国动物遗传学的研究现状和发展趋势,跟读者分享收获新知识的喜悦,体验

生命世界的奇妙。由于我们知识所限以及文章篇幅有限,难免有所疏漏,敬请读者谅解。此外,本文完稿之日正值“世界实验动物日”(The World Lab Animal Day,据悉是每年的 4 月 24 日),我们在此深怀感恩之心,向已为、正为和将为人类健康献身的实验动物们致敬!

1 基因组靶向操作技术在动物遗传学研究中的改进与应用

近年来,基于位点特异性核酸酶(TALEN 和 CRISPR/Cas 系统)的基因组靶向修饰与操作技术成为反向遗传学研究领域的一大亮点。这项技术不仅颠覆了传统的基因功能研究手段,而且也在疾病模型、基因治疗、精准医学、农业动植物品种改良等应用领域掀起了一场革命。2015 年中国科学家在动物遗传学领域对基因组编辑技术的改进和应用方面取得了多项国际领先的重要成果,覆盖了食蟹猴(*Macaca fascicularis*)、猕猴(*Macaca mulatta*)、牛(*Bos taurus*)、狗(*Canis familiaris*)、雪貂(*Mustela putorius furo*)、小鼠等哺乳动物和斑马鱼、线虫等非哺乳类模式动物,还有体外培养的人类细胞,甚至在上世界上首次成功编辑了人类早期胚胎。本文选择一些重要的进展尝试对此进行一个粗略的盘点。

1.1 在非人灵长类动物中利用 CRISPR/Cas 系统高效制备突变体和疾病模型

在食蟹猴生殖细胞中成功获得 CRISPR/Cas 介导的基因修饰 与其他脊椎动物相比,非人灵长类动物(Non-human primate, NHP)在遗传、生理和心理上都更接近人类,是研究人类发育和疾病的重要模型。对 NHP 进行基因组靶向修饰对生物医学研究至关重要。2014 年云南中科灵长类生物医学重点实验室季维智、南京大学黄行许和南京医科大学沙家豪等研究团队共同合作,分别利用 CRISPR/Cas 系统和 TALEN 首次成功地对食蟹猴进行了基因组靶向修饰,开创了 NHP 研究的里程碑。但由于食蟹猴性成熟需要 3~4 年的时间,当时未能检测突变基因的种系传递情况。而要建立能够稳定遗传的灵长类突变品系,必须要在生殖细胞中实现靶向基因突变。2015 年该研究团队继续合作,检测了经过 CRISPR/Cas 系统

靶向诱变的食蟹猴的胚胎,证明胚胎多种组织器官中的基因都可被成功诱变,包括雌、雄性腺和生殖细胞,该研究将猴基因组靶向修饰的种系传递向前推进了一步^[1]。

利用 CRISPR/Cas 系统一步产生 *p53* 双等位基因突变的食蟹猴 获得通过生殖细胞遗传的突变之后,还需要通过杂交的方式获得双等位基因的突变体,才能进行后续基因功能与疾病机制研究。由于 NHP 性成熟时间长和繁殖率低,获得双等位基因的突变体依然是一项富有挑战性的工作。为了解决这一难题,中国科学院动物研究所周琪、赵小阳、李伟研究团队尝试了通过一步法来获得双等位基因的突变体。他们通过系统性优化 CRISPR/Cas 体系的诱变效率,通过受精卵注射,仅需一代就成功获得了 *p53* 双等位基因突变的食蟹猴^[2]。该方法能够大大缩短突变体猴的制备周期并降低成本,从而有力地推动了以 NHP 为基础的生物医学研究。此外,他们还利用同源重组(Homologous recombination, HR)介导的基因编辑获得了精确修饰的食蟹猴胚胎。利用这一方法可以制备能够更精确地模拟人类疾病的灵长类模型。

通过敲除 *DAX1* 基因在食蟹猴中构建人类 AHC-HH 的动物模型 *DAX1* 基因突变可导致 X 连锁先天性肾上腺发育不全(X-linked adrenal hypoplasia congenita, AHC)和促性腺激素分泌不足的性腺功能低下(Hypogonadotropic hypogonadism, HH),分别表现为原发性肾上腺机能不全和性成熟缺陷或缺乏。南京大学黄行许、昆明理工大学季维智、南京医科大学沙家豪等研究团队合作,通过 CRISPR/Cas 介导的基因打靶技术获得了一只大多数体细胞和性腺中携带 *Dax1* 功能缺失突变的流产雄性食蟹猴胎儿,发现它表现出肾上腺发育缺陷和睾丸索(Testis cord)缩小、血管增生、睾丸纤维化等一系列精巢结构异常,支持细胞(Sertoli cell)的形成则未受影响^[3]。这些表型与携带 *DAX1* 突变的 AHC-HH 患者的症状非常类似。该团队还发现这只胎猴的睾丸中 Wnt/ β -catenin- VEGF 信号异常上调,这很可能是造成 AHC-HH 症状的机制之一。这项研究证明通

过 CRISPR/Cas 介导的基因编辑技术能够制备很好地模拟人类疾病的食蟹猴模型。

利用 CRISPR/Cas 技术研制出杜氏肌营养不良症猕猴模型 中国科学院遗传与发育生物学研究所李晓江研究组和云南中科灵长类生物医学重点实验室季维智研究组合作,利用 CRISPR/Cas 系统介导的基因组编辑技术在猕猴中建立了杜氏肌营养不良症(Duchenne muscular dystrophy, DMD)的疾病模型,获得了 11 只带有抗肌萎缩蛋白(Dystrophin)基因突变的新生猴,可模拟 DMD 患者的病理变化^[4]。杜氏肌营养不良症是一种 X 染色体连锁的隐性遗传病,为症状最严重的一种肌肉萎缩症。该研究在灵长类疾病模型建立技术方面实现了新的突破,并为进一步揭示杜氏肌营养不良症的病理及干预治疗提供了重要的模型。

利用灵长类胚胎干细胞(ESC)产生嵌合体猴除了基因组靶向改造,其他遗传操作技术在非人灵长类的研究中也还有待开发或改进。由昆明理工大学李天晴、季维智以及中国科学院动物研究所周琪等率领的研究团队,首次在世界上证明利用灵长类胚胎干细胞(ESC)能够产生嵌合体猴^[5]。嵌合体(Chimera)是指由两种或两种以上不同基因型的细胞组成的组织器官或个体,之前在灵长类动物中只有一例报道通过全胚融合的方法可获得嵌合体,而无法通过 ESC 产生。该团队首先优化了食蟹猴胚胎干细胞(cESC)的培养条件,使细胞更接近“基态”(Naive)。然后将这些 cESC 注入桑椹胚,待其发育到囊胚期(嵌合体囊胚)后再移植到代孕母猴的体内,最终发育成为嵌合体胎儿。嵌合体中 cESC 参与了所有 3 个胚层和原始生殖细胞的发育与构建。与基因组编辑技术相结合,这项研究为建立非人灵长类动物疾病模型、研究发病机制以及探索治疗方案提供了一个新的途径。

1.2 利用 CRISPR/Cas 和 TALEN 技术改造哺乳类经济动物

利用 TALE 切口酶介导的同源重组培育抗结核病的转基因牛 牛结核病(Bovine tuberculosis)是一种由牛型结核分枝杆菌(*Mycobacterium bovis*)引起的人畜共患的慢性传染病,对发展中国家的危害尤

其大,目前尚无法有效地控制和消除。小鼠 *SP110* 基因能够控制巨噬细胞内结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 的增殖,并诱导被感染的细胞凋亡。西北农林科技大学张涌研究组利用 TALE nickase (TALE 切口酶) 介导的同源重组,在荷斯坦奶牛胚胎成纤维细胞中向 *M-S* 位点 (*MAT1A* 和 *SFTPA1* 基因之间) 定点敲入由牛巨噬细胞特异的启动子驱动的小鼠 *SP110* 基因,然后通过体细胞核移植培育出了抗结核病的转基因荷斯坦奶牛^[6]。这是世界首例通过 TALEN 介导的同源重组实现基因敲入/基因组精确修饰的转基因牛。体外和体内的结核菌接种和感染实验证明,该转基因牛能够控制牛结核分枝杆菌的生长和繁殖,能在感染后激活细胞凋亡途径而非细胞坏死途径杀死细胞,并且能够有效地抵抗来自结核病牛的低剂量的结核分枝杆菌的感染与传播。转入的 *SP110* 基因能够有效地遗传给后代。利用同源重组的方法,通过精确修饰基因组制备转基因动物,能够减少对动物自身基因组的影响,因而能够提高转基因技术应用的精确性和安全性。该研究不仅有助于控制和预防牛结核病,同时也为抗病动物的育种工作提供了新的方法和思路。

世界首例基因编辑狗诞生 近年来,随着 TALEN 和 CRISPR/Cas 等基因组编辑技术的出现,牛、羊、猪、猴等大型哺乳动物都通过 CRISPR/Cas 技术实现了基因敲除。然而,由于狗的生殖生理较为特殊,一直未见基因敲除狗的成功报道。其主要障碍之一是母犬的生殖周期长,在体外经过基因操作的胚胎植入代孕母犬后,在生殖生理周期上往往很难与代孕母犬保持在同一阶段,因而常常导致妊娠失败。为此,南京大学高翔、中国科学院广州生物医药与健康研究院赖良学及广州医药研究总院应军等研究团队联合攻关,放弃了在其他动物中常用的异体移植 (Allo-transplantation) 的方案,首创自体移植 (Auto-transplantation) 的策略,将母犬一侧输卵管内的受精胚胎冲出,进行显微操作,然后迅速输回同一条母犬的另一侧输卵管,巧妙地解决了供体胚胎与受体母犬生殖周期不同步的难题,大幅提高了妊娠率,从而在世界上首次建立了狗的基因打靶技术体系,并成功地培育出了世界首例基因打靶的小猎犬 (Beagle)^[7]。该研究选取的靶基因是肌肉生长

抑制素基因 (*Myostatin, MSTN*), 该基因对骨骼肌生长具有抑制作用,突变后可导致肌肉高度发达。该研究所获得的 *MSTN* 基因敲除狗的肌肉在 4 月龄时就显示比普通狗更为发达。狗基因敲除技术的建立为以狗为模式动物研究人类疾病治疗和药物研发奠定了必要的基础,同时也为培育遗传性状优良的新品种狗提供了技术保障。

在雪貂中首次实现基于 CRISPR/Cas 系统的高效基因编辑 从 1933 年开始,人们逐渐认识到雪貂在许多方面跟人类十分相似,例如大脑功能的生理特征 (具有脑的沟回结构,而小鼠却没有)、生殖生物学特征,以及癌症、流感病毒感染和囊性纤维化等多种疾病的病理特征,因而是一个很好的研究人类疾病的动物模型。然而,由于缺乏遗传操作的方法,雪貂在科研上的应用一直受到很大的限制。中国科学院生物物理研究所王晓群研究组与同济大学高绍荣研究组合作,利用 CRISPR/Cas 系统对雪貂的 *Dcx*、*Aspm* 和 *Disc1* 三个基因进行了基因敲除,敲除效率高达 73.3%^[8]。其中, *Dcx* 基因敲除还造成了雪貂类似平脑症 (Lissencephaly) 的无脑回表型,这与 Doublecortin 患者的症状非常相似。该研究在雪貂中首次实现了基于 CRISPR/Cas 系统的高效基因编辑,为该动物在人类疾病研究中的应用奠定了必要的基础。

1.3 CRISPR/Cas 系统在小鼠中的改进与应用

利用携带 gRNA 文库的单倍体胚胎干细胞进行小鼠基因突变筛选 中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所李劲松研究组和徐国良研究组于 2012 年合作建立了来自孤雄囊胚的单倍体胚胎干细胞系 (AG-haESC), 并证明这些细胞能够代替精子在注入第二次减数分裂的卵母细胞后正常发育,产生健康的小鼠,称为半克隆小鼠。不过,这些半克隆幼崽的出生率较低,限制了这种方法的广泛应用。为了解决这一问题,中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所李劲松、吴宇轩和中国科学院上海生命科学研究院计算生物学研究所杨力等研究团队共同合作,在 AG-haESC 中删除了抑制 *H19* 和 *Gtl2* 基因表达的差异甲基化区域 (Differentially methylated region, DMR), 发现来自这种双敲除 AG-haESC (DKO-AG-haESC)

的半克隆小鼠幼崽的出生率和存活率显著提高(从4.5%提高到20%)^[9]。在此基础上,该团队进一步证明这种DKO-AG-haESC利用CRISPR/Cas系统进行基因编辑后可以高效地产出携带多种基因组修饰的半克隆小鼠,通过向DKO-AG-haESC转染sgRNA文库和Cas9表达载体还可以实现功能性的突变筛选。因此,这种双敲除的AG-haESC为在小鼠中仅通过一代就引入个体水平的突变提供了可能。

在小鼠精原干细胞中利用CRISPR/Cas技术修复遗传病 精原干细胞(Spermatogonial stem cell, SSC)能够在体外培养条件下持续保持自我更新,移植到精巢后,也可以通过精子发生(Spermatogenesis)过程产生成熟的精子。因此,与基因组编辑技术相结合,SSC在基因治疗和制备转基因动物方面具有很好的应用前景。不过,目前在SSC中进行基因操作的报道很少,还没有将其用于修复遗传病的报道。中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所李劲松、吴立刚和北京大学汤富酬等研究团队合作,利用CRISPR/Cas技术修复了小鼠精原干细胞中的*Crygc*突变基因,并且证明经过修复的SSC细胞依然能够生成有功能的精子,注射到卵母细胞中后能够发育成健康的小鼠^[10]。该研究为利用SSC和CRISPR/Cas技术治疗遗传病奠定了基础。

通过分化基因修复的核移植胚胎干细胞产生可育的*Kit^w/Kit^{wv}*小鼠后代 基因突变可导致精子发生障碍与男性不育,即使借助于体外受精等辅助生殖技术,患者依然无法成功繁育后代。中国科学院动物研究所周琪、赵小阳和南京医科大学沙家豪等研究团队与其他学者合作,从*Kit^w/Kit^{wv}*小鼠模型入手,尝试将细胞重编程与基因修复技术相结合,使配子缺陷型的小鼠产生可育配子^[11]。他们首先通过体细胞核移植得到*Kit^w/Kit^{wv}*小鼠的克隆胚胎,再据此制备出核移植胚胎干细胞(ntESC)。然后使用TALEN介导的基因组编辑技术修复了ntESC中有缺陷的等位基因*Kit^w*。这种修复后的ntESC可以在体外被诱导分化成原始生殖细胞样细胞(Primordial germ cell-like cell, PGCLC),并进而在小鼠睾丸内产生具有功能的精子。将未标记的PGCLC与EGFP标记的睾丸体细胞一起移植到因药物处理而损伤的精巢中,或将未标记的PGCLC移植入*Kit^w/Kit^{wv}*小鼠睾丸中,

则未标记的PGCLC均可分化产生单倍体配子,并支持胚胎正常发育。该研究为治疗基因缺陷所导致的男性不育提供了一条新的途径。

利用CRISPR/Cas系统在哺乳动物中诱导基因组调控序列和基因簇的倒位与重复 CRISPR/Cas系统除了能够诱导基因组产生indel突变,在某些情况下还可以诱导产生缺失、倒位等其他类型的突变。上海交通大学吴强研究组利用Cas9和一对gRNA能够在人类培养细胞和小鼠中诱导基因组序列产生倒位与重复^[12],倒位的片段可达数十bp至数百kb,而且在小鼠中获得了可遗传的倒位。作者还发现,靶点区域的短反向重复序列能够通过微同源序列介导的末端连接(Microhomology-mediated end joining, MMEJ)途径高效诱导倒位的产生。CRISPR/Cas系统造成的DNA双链断裂(Double-strand break, DSB)还可以诱导两条同源染色体之间发生反式等位基因重组(*Trans*-allelic recombination),从而同时产生带有基因组片段缺失和重复的染色体。利用4个gRNA,作者还在人类培养细胞中获得了*Pcdh α, β, γ*基因簇兼有倒位和重复的组合变异。

1.4 CRISPR/Cas系统在非哺乳类模式动物中的优化与应用

在斑马鱼中利用CRISPR/Cas9系统靶向内含子实现高效的基因敲入 虽然在斑马鱼中借助于人工设计的位点特异性核酸酶TALEN能够通过同源重组的途径实现基因敲入,但是这一方法的效率并不高。有研究报道用CRISPR/Cas9系统进行不依赖于同源重组的靶向基因插入,在斑马鱼中可以获得较高的效率。不过,由于靶点位于外显子中,导致内源基因往往会遭到破坏。在实验设计中,人们更希望在向基因组中引入外源基因的同时,确保内源基因的完整性和其的正常表达,在这种情况下,就需要采用其他的策略。中国科学院上海生命科学研究院神经科学研究所杜久林研究组利用CRISPR/Cas系统在斑马鱼中建立了一种靶向内含子、不依赖于同源重组的高效基因敲入的方法^[13]。该方法不仅能够维持内源目的基因编码序列和调控元件的完整性,而且由于不依赖于同源重组,也不存在读码框移码的问题,因此基因敲入的效率也比较高。该方法在

供体 DNA 中也包含跟内源靶基因内含子序列中相同的 CRISPR/Cas 靶位点, 因此供体 DNA 和内源靶点将在细胞中同时被切割, 继而通过非同源重组实现供体 DNA 在内含子中的特异整合。选择在内含子进行基因编辑操作, 并且利用非同源重组整合方式, 使得该技术在实现高效基因敲入的同时, 也保证了内源基因的完整性。

在斑马鱼中通过 Csy4-RNA 加工扩大 CRISPR/Cas 基因组靶标位点 北京大学深圳研究生院林硕研究组报道了一种能够扩展 CRISPR/Cas 基因编辑系统靶点选择范围的方法^[14]。该系统作用位点(即 gRNA 的识别与结合位点)的通用模式为“N₂₀-NGG”。在实际应用中, gRNA 通常在体外直接合成或者以表达载体的形式导入体内/细胞内表达。体外转录 gRNA 时通常采用噬菌体的 T7 或 SP6 启动子, 体内表达则常采用 U6 启动子。T7 启动子因效率高而应用最为广泛, 但是, 该启动子要求其转录的序列的前两个核苷酸为 G, 因而通常要求“GG-N₁₈-NGG”为靶点的最佳模式, 这使 CRISPR/Cas 的靶点选择大为受限。绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)的 Csy4 作为一种核糖核酸内切酶, 能够高效识别并结合一段 16nt 的特异序列, 进而切割具有发卡结构的 RNA 来释放出 gRNA, 从而激活获得性免疫。有研究报道 Csy4 的这一特性可用于在人类细胞中协助表达 5' 为任意核苷酸的 gRNA, 而不用受限于 5'-G。该团队将 Csy4 的应用扩展到斑马鱼个体水平的基因组编辑。他们在 gRNA 序列的 5' 端接入 16nt 的 Csy4 识别序列, 通过体外转录得到 Csy4-gRNA, 然后用 Csy4 蛋白将 Csy4 识别序列切除, 得到跟斑马鱼内源基因靶点序列完全互补的 gRNA, 并证明这样的 gRNA 能够有效地在斑马鱼胚胎中诱导突变。利用这一方法, 体外合成 gRNA 时就无需再考虑靶点 5' 端的序列, 只要符合“N₂₀-NGG”的模式即可, 因而大大地扩展了靶点的选择范围。

1.5 利用 dCas9/gRNA 系统调控基因表达

利用缺乏催化活性的 Cas9 在线虫和斑马鱼中调控内源基因表达 CRISPR/Cas 系统不仅能改变基因组的碱基序列, 而且还可以在不改变 DNA 靶序列的基础上改变基因的表达状态, 使靶基因的表达

被特异抑制或激活, 从而模拟靶基因的功能获得或功能失活突变。北京大学刘东研究组利用缺乏催化活性的 Cas9(dead Cas9 或 catalytically inactive Cas9, 简称 dCas9)与靶基因特异的 gRNA 在线虫和斑马鱼中实现了对内源基因表达的人工干预^[15]。dCas9-KRAB 融合蛋白能够有效地抑制基因表达, dCas9-VP16 则能够有效地激活基因的表达, 但同时引入多个 gRNA(他们选用的靶点是针对编码链的, 并且都位于靶基因的编码区)才能达到理想的效果。有趣的是, dCas9-VP16 似乎只能激活有转录活性的基因, 对处于转录沉默状态的靶基因则没有激活作用。这一点跟他人报道的体外培养细胞中的结果有所不同。该研究建立的方法是整体动物条件性基因激活或失活研究的一个新工具。

利用 dCas9/gRNA 在人类体外培养细胞中对顺式调控元件进行功能注释 除了可转录的序列, 人类基因组中还有很大一部分序列具有调控作用, 包括大量的可结合转录因子的顺式调控元件。然而, 由于缺乏简便易行的实验手段来破坏这些序列的功能, 对它们的研究长期以来都远远滞后于对编码序列的功能研究。南京大学刘江怀与黄行许研究团队合作, 在人类细胞中成功地采用非切割型的 dCas9/gRNA 对序列特异性的顺式元件实现了靶向抑制^[16]。其原理是利用 dCas9/gRNA 复合物对靶位点的高度亲和性, 使其与转录因子竞争性结合顺式调控元件, 干扰转录因子的功能, 从而达到抑制基因表达的效果。该研究建立了一个利用 dCas9/gRNA 方便高效而又灵活的抑制基因表达的方法, 开辟了 CRISPR/Cas 技术新的应用方向, 为探究基因组中顺式调控元件的功能开创了新的道路。

1.6 在人类胚胎中首次实现基因编辑

2015 年 4 月份, 中山大学黄军就、周灿权研究团队在 *Protein & Cell* 发表论文, 报道他们首次利用 CRISPR/Cas 技术改造人类胚胎基因组的研究结果^[17], 引起了人们的广泛关注和伦理学争论。为了避免伦理争论, 他们采用的是无法正常发育的三原核受精卵(Tripronuclear zygote, 或称 3PN zygote; 有一个卵核和两个精核), 在这类胚胎中尝试了靶向修饰 *HBB* 基因(β -globin)。他们既检测到了非同源末端连接(Non-homologous end joining, NHEJ)造成的大量

indel 突变,也检测到了少量的以 ssDNA 为供体模板、通过同源重组修复产生的变异。他们同时还发现邻近 *HBB* 的内源 *HBD* 基因能够跟外源的 ssDNA 供体竞争,参与介导 *HBB* 靶位点的同源重组修复。此外,这些人类 3PN 胚胎显示出比 293T 细胞更严重的脱靶效应。

鉴于上述工作在全球范围内引发了争议,去年 12 月,美国科学院、英国皇家学会和中国科学院联合主持了人类基因组编辑国际峰会,就基因组编辑技术用于人体样品的范围和底线达成初步共识,认为无需禁止将基因组编辑技术用于人类胚胎或生殖细胞进行基础理论和临床前的研究,但是需要慎重对待安全性的问题。今年 2 月 1 日,英国人类生育与胚胎学管理局(HFEA)正式对外宣布,批准伦敦 Francis Crick 研究所 Kathy Niakan 研究团队采用 CRISPR/Cas 技术对日龄胚胎(Day-old embryos)进行基因组编辑的申请,成为第一个公开批准人类胚胎基因编辑研究的官方机构。该研究旨在破译人类早期胚胎发育关键基因的功能,为不孕不育的治疗提供理论基础。

2 动物基因组序列测定与分析

2015 年度中国科学家在基因组序列分析方面也取得了重要成果。例如:绘制了世界上第一个家鹅(*Anser cygnoides*)的基因组序列图谱,初步揭示了家鹅易患脂肪肝的遗传基础;对一只中国的壁虎(*Gekko japonicus*)进行了全基因组测序,并初步分析了跟壁虎爬墙及断尾再生能力相关的基因;发表了大黄鱼(*Larimichthys crocea*)全基因组精细图谱,并探讨了大黄鱼免疫系统的特征以及环境胁迫适应的分子和遗传机制;完成了国际首例草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)基因组序列草图的绘制,分析了草鱼基因组的演化过程以及与其草食性相适应的遗传基础;采用二代测序技术对 32 个家猪(*Sus scrofa*)品种进行了基因组重测序和比较分析,初步揭示了猪环境适应性的可能分子机理及可能的种间杂交现象。

2.1 世界首个家鹅全基因组序列图谱绘制完成

由浙江省农业科学院畜牧兽医研究所李进军与深圳华大基因研究院王俊率领的研究团队与其他学

者合作,发表了国际首例家鹅基因组序列图谱^[18]。这是继鸡、鸭、火鸡之后人类破译的第 4 个家禽基因组。鹅是人类最早驯化的家禽之一,至今已经有 6000 多年的驯养史。中国家鹅由鸿雁(*Anser cygnoides*)驯化而来。中国是目前世界上最大的家鹅生产和消费大国,同时也拥有最为丰富的鹅类资源。鹅能够快速生长、易于饲养、抗病能力较强,其肝脏可以耐受储存高脂肪而不易发生肝纤维化或坏死,因而受到人们的欢迎。浙东白鹅是中国特有的一种具有重要经济价值的家鹅品种,该研究采集了一只浙江象山养殖的 70 日龄的雄性浙东白鹅的血样,制备了基因组 DNA,采用鸟枪法对其进行了全基因组序列测定与分析。最终拼接出了一个 1.12 Gb 的家鹅基因组序列草图,并注释出 16 150 种蛋白编码基因。

比较基因组学分析发现,鹅类的基因组与其他陆生鸟类存在显著差异,尤其是在主要组织相容性复合物、粘液病毒抗性(Myxovirus resistance)、视黄酸诱导基因 I(*RIG-I*),以及其他抗病相关的基因等方面,这有可能与家鹅的抗病能力较强有关。鹅类易感脂肪肝,其肝脏容易沉积饱和脂肪酸,同时拥有较低水平的胆固醇。该研究对人工填饲与非填饲状态下的鹅肝组织进行了高通量转录组测序与分析,初步揭示家鹅的这些特性很可能跟瘦素基因(*Leptin*)缺失有关。这一现象很可能是正向选择(Positive selection)的结果,从而使肝脏能够储存大量能量,以利于鹅/雁的长途迁徙。

该项研究为从基因组水平揭示家鹅的起源、驯化及其重要生物学特性的遗传机制奠定了重要的基础,为今后挖掘和利用水禽重要功能基因、家鹅的改良和新品种培育提供了宝贵的资源。同时,该研究对脂质代谢异常和人类脂肪肝相关疾病的研究也具有重要的参考价值。

2.2 通过全基因组测序分析壁虎爬墙及断尾再生能力相关基因

壁虎作为一种古老而重要的爬行动物,具有断尾再生、攀爬光滑表面、夜视等一些独特的能力,但目前尚不清楚这些性状特征的遗传与分子机制。南通大学顾晓松研究组和深圳华大基因研究院杨焕明研究组合作,对一只来自中国江苏的成年雄性壁

虎进行了全基因组测序,获得了 2.55 Gb 的基因组序列草图,注释出了 22 487 个基因,并初步揭示了跟壁虎独特的爬行、再生、夜视、嗅觉等适应性能力相关的基因及演化特点^[19]。例如,爬行动物比较基因组学分析结果显示, β -角蛋白基因(β -keratin)家族的规模跟不同物种之间的趾端粘附能力呈现正相关。跟安乐蜥(*Anolis carolinensis*)和扬子鳄(*Alligator sinensis*)相比,壁虎的垂直爬行能力最强, β -角蛋白基因也最多。他们还发现,参与前列腺素生物合成的 *PTGIS* 和 *PTGSI* 基因很可能跟壁虎较强的再生能力有关。这些研究结果有助于深入了解壁虎的演化史,同时也可能有助于阐明再生过程的遗传基础以及促进仿生粘合技术的发展。

2.3 大黄鱼全基因组精细图谱绘制完成

继中国科学家 2014 年首次发表了大黄鱼基因组草图之后,2015 年国家海洋局第三海洋研究所陈新华研究组与浙江大学邵建忠研究组、深圳华大基因研究院王俊研究组合作发表了大黄鱼全基因组的精细图谱,并结合转录组和蛋白质组数据探讨了大黄鱼免疫系统的特征以及环境胁迫适应的分子和遗传机制^[20]。

大黄鱼是一种温水迁徙鱼类(Temperate-water migratory fish),主要生活在中国东部和南部的沿海水域,是中国和东亚国家最重要的海洋经济鱼类之一,也是目前我国海水网箱养殖产量最高的鱼种。大黄鱼具有独特的行为和生理特性,对缺氧和空气暴露等环境胁迫非常敏感。这些特征使大黄鱼成为一种良好的研究环境胁迫应答机制的模式生物。

大黄鱼基因组 DNA 取自福建省宁德市三都澳海域捕获的一条野生雌鱼的血样。该研究采用细菌人工染色体(BAC)全基因组逐级鸟枪法(Whole-genome shotgun hierarchical strategy)相结合的策略,克服了大黄鱼基因组高杂合度的障碍,获得了高质量的基因组数据,并绘制了其精细图谱。最终拼接获得的基因组为 679 Mb,基因区覆盖率达到 98%以上,包含 25 401 个蛋白编码基因。基因组精细分析结果显示,大黄鱼不仅具有发达的先天性免疫系统,还具有相对完整的获得性免疫系统,其中大多数与 CD4⁺1 型辅助性 T 细胞(CD4⁺Th1)、CD4⁺2 型辅助

性 T 细胞(CD4⁺Th2)和 CD8⁺ T 细胞相关的基因都存在于大黄鱼基因组中。比较基因组学分析发现,大黄鱼中关于适应行为的基因家族显著多于其他脊椎动物,有 7 个基因家族出现明显扩增,例如视觉相关的晶状体球蛋白(Crystallin)、嗅觉受体以及听觉相关基因。

该论文还对大黄鱼进行了大脑低氧转录组和皮肤粘液蛋白质组的研究。低氧转录组研究揭示了神经-内分泌-免疫/代谢调控网络的一些新的特征,它们有可能在大黄鱼大脑应答低氧胁迫中发挥关键作用,有助于大黄鱼在低氧下避免炎症性脑损伤,并保持缺氧条件下的能量平衡。蛋白质组分析结果显示,暴露于空气中的大黄鱼的皮肤黏液成分复杂,含有 3209 种基因编码的蛋白,它们的功能主要涉及抗氧化、氧运输、免疫防御,以及渗透压和离子调控等,有可能为大黄鱼应对空气暴露胁迫提供抗氧化、氧供给等多重保护。

该研究结果为鱼类抗病/逆的分子与遗传机制提供了新的认识,也为大黄鱼抗病/逆性能和产量的遗传改良提供了重要资源。

2.4 国际首例草鱼全基因组序列图谱绘制完成

中国科学院水生生物研究所朱作言、汪亚平与国家基因研究中心韩斌、中山大学林浩然等团队合作完成了国际首例草鱼基因组序列草图的绘制,相关研究成果发表于 *Nature Genetics*^[21]。草鱼是一种重要的淡水养殖鱼类,约占全球淡水水产养殖业的 16%。我国淡水鱼类养殖品种绝大部分属于鲤科,草鱼则是鲤科鱼类的代表性物种。该研究采用鸟枪法测序策略,分别对一尾源于人工雌核发育的雌鱼(Gynogenetic female)和一尾野外捕获的雄鱼的基因组进行了全基因组序列测定,首次获得了草鱼的基因组草图(雌鱼 0.9 Gb,雄鱼 1.07 Gb)。从雌鱼基因组中可注释出 27 263 个蛋白编码基因。

该研究将草鱼基因组与现有的另外 12 种脊椎动物的基因组进行比较,证明草鱼跟同为鲤科的斑马鱼在演化关系上最为接近,有报道估计这两个物种的分歧时间发生在 4900~5400 万年前。同线性分析和 FISH 检测结果显示,草鱼的第 24 号染色体对应于斑马鱼的第 10 和 22 号染色体,提示草鱼基因

组在演化过程中发生了一次染色体融合。因此,斑马鱼单倍体有 25 条染色体,而草鱼则只有 24 条染色体。草鱼第 24 号染色体的物理长度最长,但遗传距离却最短,表明其在减数分裂过程中的重组率较低。推测草鱼第 24 号染色体的融合有可能与其决定性别的染色体的分化有关。

草鱼以典型的草食性特征而得名,但是人们并不清楚它们如何从水草中汲取营养以支持其快速生长,只是推测草鱼能够吸收纤维素。然而,该研究获得的草鱼肠道 RNA 表达谱分析结果未能支持这一假设,因为并没有从中发现编码纤维素降解酶的基因。草鱼在发育到 3~5.5 cm 时(约孵化后一个半月)会完全从肉食性转变为草食性。该论文比较了草鱼肠道、肝脏、大脑等组织器官发生食性转变前后的转录组,发现草鱼肠道中昼夜节律(Circadian rhythm)相关基因的表达发生了明显变化,肝脏中则是类固醇和萜类化合物骨架生物合成通路以及磷脂甘油代谢途径出现了显著差异,类固醇生物合成途径被明显激活。推测这一系列变化与草鱼从肉食性到草食性的适应性转变有关。草鱼可能通过持续高强度的食物摄入来获取足够多的营养,以维持其快速生长。

草鱼全基因组序列的解析,将为发掘该鱼类的重要经济性状相关基因和利用基因组学的方法选育更优良的品种提供必要的资源和平台,同时也将为鱼类基因组演化、性别决定及分化机制、食性转变机制等基础理论研究奠定重要基础。

2.5 全基因组重测序揭示猪环境适应性的分子机理及可能的种间杂交现象

中国是世界第一养猪大国,拥有全球最丰富的地方猪种资源,不同的品种对南北方不同的生态环境产生了很好的适应性。然而,这种环境适应性的遗传与分子机制并不清楚。江西农业大学黄路生教授和任军教授带领研究组成员,与深圳华大基因研究院等单位合作,通过新一代测序技术对多个中国地方猪品种进行了深度基因组重测序和比较分析,初步揭示了猪环境适应性的可能分子机理^[22]。该研究挑选了来自我国 15 个不同地理居群的 69 头中国地方猪(涵盖 11 个国家猪品种和 3 个野猪种群),进行了高覆盖度(25×)的全基因组重测序,鉴别到

4100 万个多态性位点,其中 52% (2100万)为新发现的位点。比较基因组学分析结果发现,常染色体上有 219 个基因有可能与不同纬度(南方和北方)的适应性有关,这些基因与毛发发育、前脑神经元分化、肾脏发育、能量代谢、血液循环等生物学过程有关。

该研究还发现,在 X 染色体上有一个 14 Mb 的区域在南方猪和北方猪中存在两种截然不同的单倍型,并且这一区域的重组率很低。这一区域很可能也跟不同品种猪对不同纬度/温度的适应能力有关。有趣的是,北方猪这一区域独特的单倍型很可能源于一个古老的已经灭绝的猪类物种的种间杂交事件。这是在哺乳动物中首次报道由物种间基因渗入(Interspecies introgression)推动适应性进化。

该研究所获得的数据与结果极大地丰富了国际猪基因组多态性位点数据库,为家猪种质特性遗传机制研究和基因挖掘提供了重要的资源,也对培育适应不同纬度/温度环境的优良猪种、促进中国养猪业的可持续发展具有重要的参考价值。

3 无脊椎动物遗传机制研究进展

2015 年中国科学家在无脊椎动物遗传机制研究上也取得了不俗的成果,例如首次证明在果蝇基因组中存在腺嘌呤的 N⁶-甲基化,在非模式物种褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)中发现胰岛素受体调控翅多型性发育的分子机制。其中褐飞虱翅多型性的工作还入选了中国科协生命科学学会联合体首次评选的 2015 年度“中国生命科学领域十大进展”。

3.1 线虫和果蝇的亚细胞结构与功能

利用 CRISPR/Cas 技术介导的条件性突变揭示动力蛋白在线虫纤毛中的功能 纤毛的形成和维持需要纤毛内的运输(Intraflagellar transport, IFT)。虽然对驱动蛋白 kinesin-2 介导的纤毛内正向运输(Anterograde IFT)已经有所了解,但对介导纤毛内逆向运输(Retrograde IFT)的特定动力蛋白(Dynein)的组成和调控仍然未知。胞质动力蛋白有可能参加纤毛内的运输;然而,它们在细胞分裂中是必不可少的,因此无法直接研究它们在有丝分裂后纤毛中的功能。为此,清华大学欧光朔研究组利用诱导表达的 CRISPR/Cas 系统,在线虫中获得了纤毛马达蛋白

的条件突变。研究表明,动力蛋白中间链、轻链 LC8 和 lissencephaly-1 调节逆向纤毛内的运输;动力蛋白轻中间链作用于树突上,间接有助于纤毛发生;动力蛋白轻链 Tctex 和 Roadblock 不影响纤毛组装^[23]。因此,IFT动力蛋白和胞质动力蛋白既有相同的组分和调控机制,也有独特的组分。

PtdIns(4,5)P₂ 和 PtdIns3P 共同协调吞噬泡闭合以清除线虫凋亡细胞 细胞凋亡以及凋亡细胞的清除对个体发育以及维持机体的稳态有非常重要的作用。北京生命科学研究所以王晓晨研究组追踪线虫凋亡细胞的清除过程中的磷酸肌醇动态变化以研究磷酸肌醇如何协调吞噬泡的闭合及成熟过程^[24]。追踪发现,磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸(PtdIns(4,5)P₂)和磷脂酰肌醇-3-磷酸(PtdIns3P)分别短暂积累于未闭合和完全闭合的吞噬小体上,并在吞噬泡闭合(Phagosomal sealing, phagosome closure)中起重要作用。PtdIns3P 磷酸酶 MTM-1 作为 PtdIns(4,5)P₂ 的效应分子促进吞噬小体闭合。MTM-1 与 Class II PI3 kinase PIKI-1 共同调节尚未闭合的吞噬小体上 PtdIns3P 的水平。SNX9 蛋白家族 LST-4 是吞噬小体闭合所必需的,它向未闭合的吞噬小体的募集受 PtdIns(4,5)P₂、PIKI-1 和 MTM-1 的调控。该研究揭示了吞噬小体闭合与磷脂酰肌醇转变的共调控机制。

Sec22 对于果蝇内质网的形态维持和眼睛发育具有重要作用 内质网(Endoplasmic reticulum, ER)是一种高度动态的细胞器,在许多细胞过程中起着重要的作用,其形态异常与一些人类疾病相关。浙江大学夏大静研究组与佟超研究组合作,发现参与内质网到高尔基体运输的 SNARE 家族蛋白 Sec22 调节内质网形态^[25]。失去 Sec22 基因导致内质网膨大和晚期内体的增大。然而,Sec22 基因不影响饥饿诱导的自噬。Sec22 基因是感光细胞形态建成所需要的,在 Sec22 突变体的感光细胞中,ER 高度膨大并随着年龄的增长逐渐失去正常的形态。果蝇 *eye(Eyes closed)* 基因编码 p47 蛋白,为膜融合所必需。过表达 *eye* 产生与 Sec22 突变体类似的眼睛表型。编码高尔基体上的 t-SNARE 的 *Syx5(Syntaxin5)* 基因缺失也造成类似 Sec22 突变体的表型。Sec22 与 Syx5 和 Eyc 可形成蛋白复合物。因此,内质网和高尔基体之间的适当运输是维持内质网形态和果蝇眼睛形

态建成所必需的。

3.2 无脊椎动物的信号转导与基因表达调控

3.2.1 果蝇卵子发生与生殖干细胞

miR-318 在果蝇卵子发生中调控图式形成和基因扩增 浙江大学戈万忠和杨晓杭团队研究了卵巢富集的 miR-318 在果蝇卵子发生中对上皮细胞发育的功能,发现 miR-318 在维持细胞的命运、促进雌性卵泡上皮发育转折中的重要作用^[26]。母源缺失 miR-318 导致雌性不育、卵形态异常和背部部卵泡细胞的图式形成紊乱。miR-318 突变的雌性也由于绒毛膜基因扩增受损产生薄和脆弱的卵壳。研究表明,蜕皮激素信号通路激活 miR-318 表达,miR-318 配合含 BTB 结构域的 Ttk69 控制了卵泡上皮细胞分化中从核内周期到绒毛膜基因扩增的转换。

Pelo-Hbs1 mRNA 监测复合体为果蝇生殖细胞转座子沉默所必需 后生动物生殖细胞的转座子沉默是维持基因组完整性的关键因素,其主要取决于 Piwi 蛋白和相关的 RNA,通过转录和转录后机制发挥其功能。北京生命科学研究所以袁荣文研究组与他人合作,发现进化上保守的 Pelo(Dom34)-Hbs1 mRNA 监测复合体(RNA surveillance complex)是果蝇生殖细胞转座子沉默所必需的^[27]。Pelo 是一个翻译释放因子样蛋白,它与 Hbs1 形成蛋白复合物在 mRNA no-go 降解中起重要作用。在 *pelo* 及 *Hbs1* 突变体性腺中,有些转座子 mRNA 和蛋白表达上调,并且过表达核糖体蛋白 RpS30a 可以部分恢复 *pelo* 突变体中的转座子沉默缺陷。因此,Pelo 可能在翻译水平沉默转座子。

COP9 通过 Hedgehog 信号通路调节果蝇生殖干细胞谱系分化 果蝇卵巢生殖干细胞(Germline stem cell, GSC)是在体内从分子和细胞水平上研究成体干细胞自我更新和谱系分化的一个非常好的模式材料。干细胞群体受不同类型的基质细胞组成的微环境的严格调控。清华大学倪建泉研究组和美国解亭研究组合作,揭示了微环境护卫细胞(Escort cell, EC)中 COP9 调节自分泌 Hedgehog(Hh)信号通路从而促进生殖干细胞谱系分化的新功能^[28]。COP9 是一个高度保守的、由 8 个 CSN 亚基组成的蛋白复合物,催化从靶蛋白上去除 NEDD8 蛋白质修饰。遗

传分析结果表明,所有的COP9组件和Hh通路组件,包括Hh本身,都是护卫细胞促进生殖干细胞后代分化所必需的。有趣的是,COP9是护卫细胞保持Hh信号通路活性所必需的,在护卫细胞中激活Hh信号通路可以部分补偿在生殖干细胞后代分化所需的COP9信号。COP9和Hh信号通路在护卫细胞中促进生殖干细胞后代分化的功能是部分通过抑制BMP信号来实现的。

Ci在卵巢体细胞中通过拮抗Hippo信号通路促进果蝇生殖干细胞分化 中国科学院动物研究所陈大华研究组和南开大学吴世安研究组合作,发现护卫细胞在促进果蝇卵巢生殖干细胞分化中,Hippo(Hpo)信号通路的关键组成部分Yki必不可少^[29]。主要由帽细胞(Cap cell)发出的Hedgehog(Hh)支持护卫细胞的功能,Hh信号效应分子Ci(Cubitus interruptus)抑制Hippo信号的激酶级联反应活性。Ci竞争性地与Hpo结合,从而干扰了Hpo-Wts信号复合物的形成,进而促进Yki的核定位。Ci确保Yki信号的有效性,以对抗护卫细胞中的Sd/Tgi/Vg介导的缺省抑制。

组蛋白H1通过调控H4K16乙酰化促进果蝇生殖干细胞的自我更新 清华大学倪建泉研究组和同济大学孙方霖研究组合作,发现组蛋白H1是果蝇卵巢生殖干细胞维持所必需的^[30]。生殖干细胞中H1减少导致生殖干细胞分化因子BAM激活,造成生殖干细胞提早分化而丢失。有趣的是,在H1缺失的细胞中,只有组蛋白H4上的乙酰化(H4K16ac)特异性地增强。此外,过表达组蛋白H4乙酰转移酶MOF可以减少染色质上的H1,显现与H1缺失类似表型。尤其重要的是,在H1缺失的生殖干细胞里,MOF表达水平的降低可以挽救生殖干细胞丢失的表型。这些结果表明,H1拮抗MOF对H4K16ac修饰,调节生殖干细胞的自我更新与分化。

3.2.2 果蝇肠道稳态与肠干细胞

转录抑制因子Ttk69在果蝇肠干细胞分化中抑制肠内分泌细胞的特化 在成年果蝇的中肠(Midgut),肠道干细胞(Intestinal stem cells, ISC)周期性地产生前体细胞,这些前体细胞所接收的Notch活性水平决定其终末分化为肠上皮细胞(Enterocyte, EC)或肠内分泌细胞(Enteroendocrine, EE)。北京生命科

学研究所袁荣文研究组发现含有转录阻遏BTB结构域的Ttk69是肠内分泌细胞特化的关键阻遏因素^[31]。在前体细胞中缺失*ttk69*导致所有前体细胞接受了肠内分泌细胞的命运,肠上皮产生大量的肠内分泌细胞。相反,在前体细胞中强制表达*ttk69*足以防止肠内分泌细胞特化产生。*ttk69*的表达不受Notch信号调控。Notch强制激活虽然足以引起正常前体细胞特化产生肠上皮细胞,但也未能阻止*ttk69*缺失导致的肠内分泌细胞的特化产生。*ttk69*缺失导致的acheate-scute复合体(AS-C)基因*scute*和*asense*的去抑制,进而诱导*prospero*的表达并促进肠内分泌细胞的特化。

Windpipe通过促进受体内化与降解调控JAK/STAT信号通路以维持果蝇肠道稳态 JAK/STAT信号通路也参与维持肠道稳态。中国科学院动物研究所林鑫华研究组发现含有4个LRR结构域的Windpipe(WDP)是JAK/STAT通路的负反馈调节因子,参与肠道稳态调控^[32]。果蝇成体肠道中JAK/STAT信号正调控WDP。WDP失活破坏了正常和再生条件下中肠稳态。相反,WDP的异位表达抑制JAK/STAT信号活性。在机制上,WDP可以与JAK/STAT通路受体Domeless相互作用,促进其内化并随后被溶酶体降解。

Su(dx)通过介导Pez降解调控果蝇中肠稳态 Pez作为Yorkie(Yki)上游的负调控因子调节肠道干细胞(ISC)的增殖。中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所张雷研究组发现Suppressor of Deltex(Su(dx))是Pez的一个负调节因子,揭示了在维持果蝇中肠稳态中先前未知的Pez降解机制^[33]。过表达Su(dx)可以介导Pez降解,诱导果蝇中肠上皮细胞增殖,同时该表型可被过表达Pez挽救。Su(dx)的WW结构域和Pez的PY/PPxY结构域是互作必需的。而另一个Pez结合分子Kibra,可以通过WW结构域和PY/PPxY结构域的互作稳定Pez。

3.2.3 果蝇Hippo信号通路的其他新调控机制

果蝇成虫盘中Hippo信号抑制Slmb对Expanded的降解作用 中国科学院生物物理研究所焦仁杰研究组与其他学者合作,通过筛选候选基因发现了果蝇成虫盘Hippo通路中的一个新的负调节因子Slmb^[34]。Slmb作为E3泛素连接酶降解Exp-

anded(Ex),同时,Slmb介导的Ex降解又受到Hippo信号的抑制。Hippo信号抑制ex基因的转录,该结果暗示Hippo通路可能采用一个双保险的机制来确保其在发育过程中的稳态微调。

Hippo信号通路与JNK信号通路在果蝇中的相互作用 Hippo信号通路通过转录共激活因子Yki/YAP调节靶基因的表达。同济大学薛雷研究组与其他学者合作,发现Hippo信号受损还可通过小G蛋白Rho1诱导JNK通路的激活^[35]。阻断Rho1-JNK信号可以抑制Yki诱导的果蝇翅成虫盘过度生长,而当细胞凋亡被抑制时,异位表达Rho1可以促进组织生长。此外,Yki通过转录因子Sd可直接调节Rho1转录。该研究结果发现了Hippo和JNK信号通路之间的新联系,并暗示了JNK信号通路在Hippo信号相关的肿瘤发生中的重要作用。

3.2.4 线虫和果蝇基因组的结构、变异与演化

解析果蝇DNA腺嘌呤N⁶-甲基化修饰 DNA腺嘌呤N⁶-甲基化(N⁶-methyladenine, 6mA)修饰常见于微生物基因组,在细菌的许多生物学过程中起着重要的调节作用。然而,在高等真核细胞中,腺嘌呤N⁶-甲基化是否发生及其潜在的作用仍然未知。中国科学院动物研究所陈大华课题组和中国科学院生态环境研究中心汪海林研究组合作,发现在果蝇基因组中存在腺嘌呤N⁶-甲基化,并且该修饰在胚胎发育过程中是由果蝇Tet同源分子DNA 6-甲基腺嘌呤去甲基化酶(DMAD)来动态调控的^[36]。在体外,DMAD可以直接催化6-甲基腺嘌呤去甲基化。通过进一步基因测序分析表明,DMAD主要在转座子区域移除6-甲基腺嘌呤,并与果蝇卵巢的转座子抑制相关。

表达谱和基因的进化年龄在果蝇中共同决定提早终止密码子突变的产生 在人类和果蝇群体中观察到广泛存在的提早终止密码子突变(Premature termination codon mutation, PTC)。中国科学院动物研究所张勇研究组利用果蝇群体的重测序数据,建立了一个高质量的PTC数据库,探讨了表达谱和基因的进化年龄如何影响PTC等位基因的频率分布^[37]。发现与没有PTC的基因相比,PTC基因转录表达的组织更少,而且新基因含有PTC的机率更高。

全基因组范围构建*C. briggsae*与*C. nigoni*的杂交不亲和图谱 系统解析相关物种之间的杂交不亲和(Hybrid incompatibility, HI)是了解物种演化的关键。杂交不亲和的遗传基础已在果蝇中进行了深入的研究,但在其他物种(如线虫)中仍不清楚。为了阐明线虫物种演化的遗传基础,香港浸会大学赵中应研究组首先在*C. briggsae*中建立了96个染色体整合的GFP标记,并在这些确定了染色体位置的GFP标记辅助下,建立了*C. briggsae*与*C. nigoni*的渐渗系。通过记录这些渐渗系的杂交不亲和的特征,他们发现遍布的杂交不亲和位点并构建了果蝇之外的第一个基因组水平上的两种线虫之间的物种杂交不亲和图谱,为研究线虫物种之间的演化遗传学开辟了新的途径,并可与果蝇及其他物种的杂交不亲和进行平行比较^[38]。

3.2.5 线虫和果蝇基因表达的转录后调控

解析线虫RNA编辑组图谱 RNA编辑通过对RNA的转录后修饰增加了转录组的多样性。其中腺嘌呤-次黄嘌呤(A-I)的编辑是高等真核生物中最普遍的形式,由一类双链RNA腺苷脱氨酶(ADAR)家族蛋白催化。北京大学魏丽萍研究组和北京生命科学研究所董梦秋研究组合作,分析了不同发育阶段的野生型和ADAR突变的线虫RNA编辑组(RNA editome)谱^[39]。该研究共鉴定到47 660个腺嘌呤-次黄嘌呤的RNA编辑位点,其中99.5%以成簇的形式分布。在3080个RNA编辑簇中,65.7%与在非编码区的DNA转座子重叠,73.7%能形成双链发夹结构。线虫有两个ADAR编码基因(*adr-1*和*adr-2*),其中敲除*adr-1*后,RNA编辑簇的数目不受影响,但RNA位点的编辑频率普遍降低;而敲除*adr-2*后,几乎所有的RNA编辑都消失了;表明在腺嘌呤-次黄嘌呤的RNA编辑中*adr-2*和*adr-1*分别发挥决定作用和调节作用。定量蛋白质组学分析表明,*adr-2*突变改变了与衰老和寿命相关调节蛋白的丰度;与此相一致的是,RNA编辑能力缺失的线虫是短寿命的。

果蝇内含子中保守的U1 snRNA结合序列促进反式剪接发生 RNA剪接是真核生物基因表达调控的重要步骤,与典型的发生在分子内的顺式剪接(*cis*-splicing)不同,反式剪接(*trans*-splicing)来自两

个 mRNA 前体中的外显子拼接在一起, 产生嵌合的 mRNA (Chimeric mRNA)。在锥虫 (Trypanosome) 和线虫中, 绝大多数反式剪接的发生由剪接前导 RNA (Spliced leader RNA, SL RNA) 促进完成; 然而, 在高等真核生物中相关的发生机制尚不清楚。在对果蝇的经典反式剪接基因 *mod(mdg4)* 研究中, 中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所徐永镇研究组发现在 *mod(mdg4)* 的最后一个 5' 内含子中存在两个关键的促进反式剪接的 RNA 元件——TSA 和 TSB^[40]。在 TSA 区域, 一个高度保守的核心序列 (13 nt) 对于反式剪接是充分和必要的, 该核心序列通过非常强的碱基配对招募剪接体的重要组份 U1 小核 RNP (UI snRNP)。在 TSB 区域, 一个保守的二级结构起到增强反式剪接的作用。利用 CRISPR/Cas 技术删除 TSA 和 TSB 区域导致果蝇胚胎发育缺陷。虽然目前还不清楚 5' 内含子是如何发现另一个 mRNA 前体分子中的 3' 内含子, 但是 U1 snRNA 的代偿性变化可以挽救 TSA 突变体的反式剪接效率, 表明 U1 snRNP 的招募是促进反式剪接的关键。此外, TSA 区域中的核心序列在包括 *lola* 等许多果蝇反式剪接基因中均存在。因此, 徐永镇课题组发现了一种新的反式剪接发生机制, 其中, 在上游 5' 内含子的核酸元件足以拉近独立的两个 mRNA 前体分子, 促进反式剪接的发生。

3.2.6 无脊椎动物其他基因表达调控与信号转导

在线虫中小 RNA 通过 Nrde 通路介导组蛋白 H3K27 的三甲基化 小 RNA 介导的染色质修饰已在植物和裂殖酵母中进行了广泛的研究, 但是在动物中尚缺乏相关报道。线虫 Nrde (Nuclear RNAi defective) 通路从细胞质运输 siRNA 到细胞核内, 调节转录延伸, 诱导组蛋白 H3 赖氨酸 9 (H3K9) 的三甲基化, 介导 RNAi 的代际传递。中国科技大学光寿红研究组发现外源性 RNAi 和 NRDE 结合的内源性 22 G RNA 可以通过 Nrde 通路在靶基因上介导序列特异性的组蛋白 H3 赖氨酸 27 (H3K27) 的三甲基化^[41]。由此产生的 H3K27 三甲基化状态可多代遗传。

果蝇 Pelle 调节细胞凋亡的新功能 Pelle 是果蝇白细胞介素-1 受体相关激酶 IRAK 唯一的同源蛋白, 参与保守的 Toll 通路以调节背-腹侧形态、先天

免疫反应、肌肉发育和轴突导向。同济大学薛雷研究组发现了 Pelle 独立于 Toll 途径之外调节细胞凋亡的新功能^[42]。Pelle 缺失不影响果蝇翅细胞的大小而是导致其细胞数减少。Pelle 缺失可上调促凋亡基因的转录, 激活 caspase 活性和细胞死亡。转录因子 dFoxO 是 *pelle* 缺失诱导的细胞死亡所必需的。Pelle 可以与 dFoxO 互作并直接磷酸化 dFoxO。Pelle 缺失可以激活 dFoxO, 促进其从胞浆转位到细胞核, 并上调其靶基因 *Thor/4E-BP* 的转录。

胰岛素受体调控褐飞虱翅多型性发育的分子机制 很多昆虫都能成功进化出翅多型性以应对各种环境因素。长翅型的变种可以飞, 这能让它们逃离不利的生境和追踪变化的资源, 而短翅型是不能飞的, 但通常具有比长翅型更高的繁殖力。浙江大学张传溪研究组揭示了半翅目 (Hemiptera) 昆虫褐飞虱翅多型性发育的分子机制^[43]。研究发现褐飞虱的两个胰岛素受体 INR1 和 INR2 通过转录因子 FOXO 在控制长翅或短翅的发育抉择中起相反的作用。INR1-PI(3)K-Akt 信号途径如果被激活, 可导致长翅型; 若失活, 则为短翅型。而 INR2 作为 INR1-PI(3)K-Akt 途径的负调节因子, 抑制 INR2 可导致长翅型。大脑分泌的胰岛素分子 iIP3 触发长翅型发生。该研究第一次揭示了昆虫长短翅型可塑性发育的分子机制。

甲基法尼酯在果蝇变态中的双重功能 果蝇咽侧体 (Corpus allatum, CA) 产生并释放 3 种倍半萜类激素 (Sesquiterpenoid hormone): JHB3、JH III 和甲基法尼酯 (Methyl farnesoate, MF)。中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所李胜研究组与其他学者合作, 发现由幼虫咽侧体产生的甲基法尼酯可以释放到血淋巴液中, 在那里转换为更高活性的 JHB3 之后间接发挥其抗昆虫变态的作用, 也可通过两个保幼激素受体 MET 和 GCE, 作为一种激素起作用^[44]。

细胞非同步分裂和命运不对称的遗传基础 细胞分裂时间的协调对于细胞命运特化和组织生长至关重要, 若调控失败很可能导致肿瘤生长和异常的细胞死亡。但是, 在发育过程中相同类型细胞或者不同类型细胞间的细胞分裂时间如何受到差异调控仍不清楚。香港浸会大学赵中应研究组与其他学者合作, 发现了调控细胞分裂非同步和命运不对称的

遗传基础。为解析细胞分裂时间协调在系统水平上的遗传基础, 研究者们对秀丽隐杆线虫胚胎发育过程的基因进行了高通量筛选, 以期获得缺失后导致 ADS(Asynchrony of division between sister cells, 即同类型细胞间非同步分裂)显著降低的目标基因。利用 3D 定时成像及计算机辅助的谱系分析量化分裂时间, 同时基于发育过程中基因的保守性及其已知功能, 一共筛选得到 822 个目标基因。他们发现细胞命运决定因子不仅对建立命运不对称必不可少, 对不同类型细胞的 ADS 确定也至关重要, 说明这两种细胞过程有共同的遗传基础。命运决定因子的研究证明这两种细胞过程存在偶联调节, 也存在各自调节。时间上的协调可能有助于命运特化和组织生长过程中的细胞迁移^[45]。该研究为深入理解发育过程中细胞分裂在空间和时间上协调的遗传调控机制提供了新的认识以及具有细胞分辨率的定量数据资源。

3.3 线虫和果蝇的神经、免疫与行为

电压门控性钙通道通过调控自噬泡与溶酶体融合维持神经元稳态 果蝇 *cac(cacophony)* 基因编码电压门控性钙通道(Voltage-gated calcium channel, VGCC) $\alpha 1$ 亚基, 是神经递质释放时突触小泡与细胞膜融合所必需的。浙江大学佟超研究组与其他学者合作, 发现 *cac* 突变有神经突触退化的表型。*cac* 突变的感光神经元末梢积累自噬泡(Autophagosome)与溶酶体融合的中间体, 表明 *Cac* 蛋白可能参与自噬泡与溶酶体的融合。编码 VGCC $\alpha 2\delta$ 亚基的 *straightjacket(stj)* 基因的缺失所导致的表型与 *cac* 突变非常相似, 表明 VGCC 通道是自噬泡与溶酶体融合所必需的。VGCC 在自噬泡与溶酶体融合中的作用在进化上是保守的, *pac* 和 *stj* 在鼠中的同源基因 *Cacna1a* 和 *Cacna2d2* 突变后同样导致自噬缺陷。此外, 该研究还发现 CACNA1A 定位于溶酶体中, 在鼠小脑神经元培养中溶酶体 CACNA1A 缺失会导致溶酶体和自噬体及溶酶体和胞内体融合缺陷。基于该研究结果, VGCC 可能通过钙离子通道活性调节自噬泡与溶酶体融合, 从而维持神经元的稳态^[46]。

细胞支架蛋白 Anillin 通过介导 RhoG 信号向肌动蛋白细胞骨架的传导来调控线虫神经细胞迁移和神经突生长 在神经细胞迁移和神经突(Neurite)生

长中, 神经引导信号是如何通过受体传导到肌动蛋白细胞骨架上的还不清楚。清华大学欧光朔研究组与他人合作, 揭示了在神经细胞迁移和轴突生长中 Anillin 介导 RhoG 信号到肌动蛋白细胞骨架的一种新的信号转导途径^[47]。细胞支架蛋白 Anillin, 在细胞迁移和轴突生长中重新分配到线虫 Q 神经前体细胞的前缘。通过制备 Anillin 的条件突变, 他们证明 Anillin 通过稳定在细胞前沿的纤维型肌动蛋白 F-actin 网络进而调节细胞迁移和生长锥的延伸。Anillin 的肌动蛋白结合域足以通过拮抗切割 F-actin 的 Cofilin 活性来稳定 F-actin。而活性形式的 RhoG/MIG-2 直接结合并招募 Anillin 到细胞前沿。

线虫 COE 转录因子 UNC-3 调控谱系特异的细胞凋亡和神经突生长 COE(Collier/Olf/EBF) 转录因子参与了包括神经元在内的多种细胞的发育。中国科学院遗传与发育生物学研究所黄勋研究组发现, 线虫中唯一的 COE 蛋白 UNC-3 和组蛋白乙酰转移酶 CBP-1/p300, 共同调节谱系特异的细胞凋亡和轴突轨迹(Neurite trajectory)的部分特性^[48]。在胚胎发育的过程中, RID 前体细胞产生 RID 神经元和 RID 姐妹细胞, 后者在促凋亡基因 *egl-1* 表达后不久凋亡。UNC-3 在 RID 前体细胞中表达, 并且在 *unc-3* 突变体中 RID 姐妹细胞存活, 伴有 *egl-1* 的报告基因表达丢失。UNC-3 与 CBP-1 互作并且 *cbp-1* 突变体具有 *unc-3* 突变体相似的表型。因此, UNC-3 除了在神经元终末分化中起作用, 也是细胞谱系特异性的细胞凋亡调节因子。

钙离子传感分子 synaptotagmin 1 通过协调突触囊泡胞吐与 Rab3 循环调控神经递质的重复释放 神经突触囊泡在钙离子涌入下会迅速释放神经递质, 同时准备下一次的释放。如何实现这一协调目前还不清楚。中国科学院遗传与发育生物学研究所丁梅研究组发现: 钙离子传感分子 synaptotagmin 1 调控了活性依赖的小 G 蛋白 Rab3 的突触囊泡定位过程^[49]。在没有钙内流的情况下, synaptotagmin 1 结合 Rab3 GTP 酶激活蛋白(GAP), 抑制 Rab3 蛋白上的 GTP 水解。Rab3 GAP 定位在突触囊泡上, synaptotagmin 1 对于该定位是必不可少的。在钙离子存在下, synaptotagmin 1 解除对 Rab3 GAP 的抑制作用, Rab3 GAP 水解 GTP-Rab3, 促使 Rab3 蛋白从突触囊泡解

离。此外, synaptotagmin 1 缺失, Rab3 下膜和囊泡胞吐之间的紧密耦合被破坏。这项研究揭示了 Rab3 循环和囊泡释放偶联机制, 明确了 synaptotagmin 1 在神经递质重复性释放中的重要功能。

S6 激酶家族成员 S6KL 通过促进 BMP 受体 Tkv 的降解抑制果蝇突触发育和功能 神经环路的正确形成依赖于精确的突触连接。在果蝇中, 骨形态发生蛋白(Bone morphogenetic protein, BMP)激活在运动神经元中表达的 BMP 受体 Wit(Wishful thinking)和 Tkv(Thickveins), 从而促进神经肌肉接头(Neuromuscular junction, NMJ)的生长。中国科学院遗传与发育生物学研究所张永清研究组发现进化上保守的、先前未知的 S6 激酶(S6K)家族成员 S6KL(S6K like)作为 BMP 信号通路的负调节因子, 促进 BMP 受体 Tkv 的蛋白酶体降解进而调节突触发育和功能^[50]。果蝇 *S6KL* 无功能突变体表现出 NMJ 的过度生长和突触内吞障碍, 并伴有 Tkv 蛋白水平和 BMP 信号通路效应分子磷酸化 Mad 的蛋白水平升高。在 *S6KL* 突变背景下减少一个拷贝的 *Tkv* 可以回复 NMJ 过度生长的表型。在体外培养的果蝇 S2 细胞中, Tkv 与 S6KL 相互作用, 而 *S6KL* 过表达则可通过蛋白酶体下调 Tkv 水平。

线虫 ASH 和 ASI 感觉神经元之间通过相互抑制调控痛觉和回避行为 华中科技大学吴政星研究组发现, 线虫 ASH 和 ASI 感觉神经元之间的一个不对成的交叉抑制神经环路调节线虫对铜离子的正常感觉和适应性回避反应^[51]。在这个神经环路中, ASH 神经元对铜离子反应非常强烈, 并经电突触兴奋章胺能 RIC 中间神经元来抑制 ASI 神经元。RIC 神经元释放章胺(Octopamine), 作用于 Ser-3 受体, 进而抑制 ASI 神经元。此外, ASI 感受铜离子, 并可能通过释放神经肽, 允许铜离子敏感的 ADF 神经元快速起始铜离子诱发的反应, 进而抑制 ASH 神经元。感觉神经元 ADF 在功能上起着中间神经元的作用, 通过释放 5-羟色胺作用于 ASH 神经元上的 SER-5 受体来抑制 ASH 神经元。这种感觉神经元间通过相互抑制实现的精细调制可精确调控痛觉和回避行为。

神经肽受体 NPR-1 和 NPR-2 调控线虫对水杨酸甲酯的回避反应 水杨酸甲酯(Methyl salicylate, MeSa)是植物在受到病原体或食草动物攻击时所释

放的一种应激激素, 它能够吸引食草动物的扑食者和驱除害虫。中南大学马龙课题组研究了线虫对水杨酸甲酯回避反应的神经环路和分子机制^[52]。两个密切相关的神经肽受体 NPR-1 和 NPR-2 参与了该反应: NPR-1 配体 FLP-18 和表达在 RMG 中间/运动神经元的 NPR-1 是水杨酸甲酯回避反应所需要的; NPR-2 表达在多种感觉和中间神经元中, 其中 NPR-2 在中间神经元 AIZ 表达是水杨酸甲酯回避所需要的。另外, AWB 感觉神经元可能作用在 RMG 和 AIZ 上游来侦测水杨酸甲酯。

代谢型 GABA 信号调控线虫寿命 神经系统在调节寿命中起着重要而知之甚少的作用。华中科技大学刘剑峰课题组通过研究线虫主要神经递质的突变体, 发现 GABA 信号突变体可以延长寿命^[53]。这种长寿的效果是通过代谢型 GABA_B 受体 GBB-1, 而不是离子型 GABA_A 受体介导的。GBB-1 通过 G 蛋白-PLC 信号, 将长寿信号传导到调节寿命的关键转录因子 DAF-16/FOXO 上。哺乳动物的 GABA_B 受体可以替代线虫 GBB-1 控制寿命的功能。

线虫表皮损伤导致 STA-2 释放与天然免疫的激活 表皮不断遭遇的入侵可以破坏其结构, 但表皮的免疫系统是否利用受损结构作为危险信号来激活自我防卫是不清楚的。苏州大学张惠敏研究组以线虫表皮为模型, 通过分析穿透损伤或感染皮肤来激活免疫防御和抗菌肽(Antimicrobial peptide, AMP)的产生, 揭示了一个进化上保守的表皮侦测危险和激活免疫防御机制^[54]。研究发现破坏层的半桥粒才能触发免疫反应和强烈的抗菌肽表达。表皮通过与半桥粒相关的 STAT 样蛋白来识别表皮结构损伤。半桥粒破坏导致的 STA-2 从半桥粒上脱落和抗菌肽的转录。该机制使表皮在受到大范围的结构损坏时绕过一定的信号放大机制而直接触发抗菌肽的产生。

CDK12 通过调控异染色质重塑影响果蝇的求偶学习 真核生物需要染色质结构的动态变化调控基因转录。然而, 参与异染色质结构可塑性的因素是未知的。同济大学孙方霖研究组和清华大学倪建泉研究组合作, 报道了 CDK12(Cyclin-dependent kinase 12), 一个参与修饰 RNA 聚合酶 II(RNAPII)的蛋白激酶, 拮抗果蝇常染色体上异染色质的形成^[55]。缺失 CDK12 导致异染色质蛋白 1(Heterochromatin

protein 1, HP1)在常染色质上异位积累,特别是在 X 染色体上更为明显。此外,染色体免疫沉淀和测序分析表明,缺失 CDK12 后,在 X 染色体上的异染色质富集主要发生在与神经元功能相关的、且相对较长的基因上,从而导致学习相关基因在果蝇成体大脑的转录降低。

章胺介导饥饿诱导的成体果蝇运动增强 浙江大学王立铭课题组研究了饥饿动物运动增强背后的神经机制,发现饥饿引起的运动增加可以被中枢营养感知和外周的甜感知机制检测到食物以及诱导的进食所抑制^[56]。进一步研究发现,脊椎动物中去肾上腺素的昆虫类似物章胺,以及章胺神经元,对于饥饿诱导的运动增强是充分和必要的。然而章胺不是饥饿诱导摄食行为变化所必需的,表明饥饿下能量摄入行为的调控是独立的。

4 非哺乳类脊椎动物遗传机制研究进展

4.1 以斑马鱼为主的造血与血管发育机制研究进展

2015 年度我国学者以斑马鱼等脊椎动物为模式,在体内造血与血管发育机制研究领域取得了令人瞩目的成果,从多方面深入解读了造血与血管发育机制的复杂性。例如,在造血方面,证明 G 蛋白偶联受体(G-protein coupled receptor, GPCR)、炎症信号、DNA 损伤修复、核糖体功能与自噬、三羧酸循环等对于造血干/祖细胞(Hematopoietic stem/progenitor cell, HSPC)命运决定与功能的重要作用,揭示了 T 淋巴细胞与髓系细胞命运决定的新机制,通过时空谱系追踪揭示了斑马鱼胚胎和成体小胶质细胞(Microglia)的不同起源。在血管发育方面,证明属于免疫球蛋白超家族的跨膜蛋白 CD146 能够作为神经导向分子 netrin-1 的受体促进血管发育与新生, UXT(Ubiquitously-expressed, prefoldin-like chaperone)则通过抑制 Notch 信号促进血管新生。下面简单介绍一些有一定代表性的工作。

G 蛋白偶联受体 Gpr183 通过抑制 Notch1 促进内皮细胞向造血命运转变 脊椎动物中,胚胎造血干/祖细胞(HSPC)来源于一群称为生血内皮(Hemogenic endothelium, HE)的内皮细胞,其命运转变过程称为内皮-造血转变(Endothelial-to-hematopoietic transition, EHT)。已知 Notch 信号对于 HSPC 的发育

是必须的。然而,Notch 是否调控 EHT 过程尚不清楚。中国科学院动物研究所刘峰研究组通过比较斑马鱼胚胎非生血内皮细胞、HE 和 HSPC 的转录组,鉴定出 Gpr183 在 HE 中高表达,并进一步证明 Gpr183 信号通过抑制 Notch 通路控制 EHT 的起始^[57]。抑制 Gpr183 的功能会导致 Notch 信号异常激活且 HSPC 无法生成。被其配体 7 α -25-OHC 激活后,Gpr183 能够在特定的 HE 细胞中通过招募 β -arrestin1 和 E3 连接酶 Nedd4 降解 Notch1,继而促进 EHT 的发生。7 α -25-OHC 在体内和体外实验中均能促进 HSPC 的生成,并且这一作用在斑马鱼和小鼠中是保守的。该研究为在体外制备功能性的 HSPC 细胞提供了一个新策略。

炎症信号调节脊椎动物中造血干/祖细胞的发生 已知炎症信号对于成体骨髓中的应激造血作用非常关键,它能够刺激细胞增殖,或者诱导造血干/祖细胞向髓系或淋系分化。不过,它对于胚胎正常造血的功能尚未见报道。中国科学院动物研究所刘峰研究组证明在斑马鱼和小鼠胚胎中,炎症信号本身就是 HSPC 发生的充分必要条件,并不需要感染或病理炎症的刺激^[58]。该信号通过作用于保守的 TLR4-MyD88-NF- κ B 信号通路,并进而激活 Notch 活性来调节由生血内皮衍生的 HSPC 的发育。该研究建立了炎症信号和 HSPC 发生之间的联系,为再生医学和天然免疫相关疾病的治疗提供了新的视角。

TopBP1 在斑马鱼定向造血中保证造血干/祖细胞的存活 脊椎动物造血干/祖细胞在发育过程中有一个快速扩增的阶段,容易出现 DNA 复制诱导的 DNA 损伤(DNA replication stress induced DNA damage),因此 DNA 损伤修复机制在这一阶段非常重要。中国科学院上海生命科学研究院/上海交通大学医学院健康科学研究所潘巍峻研究组在斑马鱼中鉴定到一个 *topbp1*(topoisomerase II β binding protein 1)基因失活突变体,发现该突变导致斑马鱼胚胎尾部造血组织(Caudal hematopoietic tissue, CHT, 相当于哺乳动物的胎肝)中的造血干/祖细胞大量减少。原因是由于 TopBP1 突变蛋白在细胞内定位异常,无法正常激活 ATRChk1 通路,导致 DNA 伤大量累积,从而激活了依赖于 p53 的细胞凋亡^[59]。该研究揭示了 TopBP1 在 HSPC 扩增阶段对于维持其基因组稳定

性及细胞存活的重要作用。

***kri11*突变通过诱导依赖于PERK的过度自噬导致定向造血缺陷** 核糖体合成失调可导致多种人类疾病,包括造成纯红细胞再生障碍性贫血的戴-布二氏贫血(Diamond-Blackfan anemia)、5q-综合征(del(5q)-syndrome)和骨髓衰竭(Bone marrow failure)。然而,造成这些造血功能缺陷疾病的机制仍不清楚。中国科学院上海生命科学研究院/上海交通大学医学院健康科学研究所潘巍峻研究组与陈赛娟研究组合作,通过研究斑马鱼突变体 *cas002*,揭示了核糖体功能不全和过度自噬之间在调节造血干/祖细胞(HSPC)中的关联^[60]。*cas002* 携带 *kri11* 基因的隐性致死突变,该基因编码 rRNA 小亚基加工体(rRNA small subunit processome)的一个重要组分。该研究表明,Kri11对于核糖体的生物发生、HSPC的扩增与谱系分化是必须的,该基因功能缺失会导致 HSPC 中错误折叠的蛋白质过度积累以及 PERK 依赖性的过度自噬。通过过表达 Bcl2 抑制自噬而不抑制细胞凋亡,能够拯救 *kri11* 突变体的造血缺陷,虽然仍无法拯救该基因突变对胚胎的致死效应。使用自噬抑制剂(3-MA 和 Baf A1)或 PERK 抑制剂(GSK2656157),或者敲低 *beclin1* 基因或 *perk* 基因,都能够显著恢复 HSPC 的增殖和分化。这些研究结果有利于为由核糖体缺陷造成的贫血或骨髓发育患者提供有效的治疗线索。

***Idh1* 调节斑马鱼造血发育** 异柠檬酸脱氢酶 1(Isocitrate dehydrogenase 1, IDH1)的一个碱基突变(1DH1-R132H)最近被鉴定出与急性骨髓性白血病(Acute myeloid leukemia, AML)相关。该突变编码的酶能够将 α -酮戊二酸(α -ketoglutarate, α -KG)转变为致病的羟戊二酸(2-hydroxyglutarate, 2-HG),羟戊二酸可抑制 TET2(Ten-eleven translocation 2)的功能,从而影响 DNA 甲基化。然而,野生型 IDH1 在正常造血中的功能尚不清楚。香港大学梁如鸿研究组(Anskar YH Leung)与中国医学科学院程涛、香港科技大学温子龙、南方医科大学张译月、张文清等研究团队合作,在斑马鱼中研究了 *idh1* 和 *idh2* 基因的功能^[61]。通过 MO 敲低或者 TALEN 敲除斑马鱼 *idh1* 有可能导致髓系分化受阻,表现为 *pu.1* 上调和 *mpo*、*l-plastin*、*mpeg1* 表达降低,同时,定向造血也显著降低。MO 敲低 *idh2* 也可导致骨髓分化受阻,不过

并未影响定向造血过程。*idh2* mRNA 无法拯救 *idh1* 敲低的表型,说明二者在功能上并非冗余。在斑马鱼中过表达人 *IDH1-R132H* 或斑马鱼的同源基因导致 2-HG 增加和髓系细胞增生。人 IDH1-R132H 特异的抑制剂 AGI-5198 能够显著改善人的造血缺陷和 2-HG 的增加,但不会改变斑马鱼 *idh1* 突变基因的表达。该研究揭示了 *idh1* 在髓系发生和定向造血中的重要作用。

Irf4 在胚胎发育过程中调控 T 淋巴前体细胞与髓系细胞的命运抉择 T 细胞在早期胚胎中的发育过程难以在哺乳动物中进行研究,但斑马鱼胚胎在体外发育,有利于研究这一过程。中国科学院动物研究所刘峰研究组以斑马鱼为模式动物,研究了 T 细胞的早期决定(Commitment),发现转录因子 Irf4a(Interferon regulatory factor 4a)通过抑制 T 淋巴前体细胞(T lymphoid-primed progenitor)向髓系命运转变来保证 T 细胞的正常发育^[62]。*irf4a* 功能缺失削弱了 T 淋巴前体细胞向胸腺的归巢(Homing),同时导致趋化因子受体 *ccr9a* 的表达下调。不仅如此,单细胞命运追踪实验结果显示缺失 *irf4a* 的 T 淋巴前体细胞发生了向髓系细胞的命运转变,同时伴随着 *pu.1* 表达的上调。这说明 Irf4a 一方面通过调控 *ccr9a* 的表达保证 T 淋巴细胞的分化与归巢,另一方面通过抑制 *pu.1* 的表达防止 T 淋巴前体细胞向髓系细胞命运分化。该研究揭示了 T 淋巴细胞命运决定的新机制。

时空谱系追踪揭示斑马鱼胚胎和成体小胶质细胞的不同起源 小神经胶质细胞(Microglia)是位于中枢神经系统的巨噬细胞,对于神经的发育和功能具有重要作用。有研究表明小鼠的小神经胶质细胞仅来源于卵黄囊,但是这些研究缺乏足够的空间分辨率来确认小神经胶质细胞真正的来源。采用光诱导型的高时空分辨率谱系追踪技术,香港科技大学温子龙和瞿佳男研究团队证明斑马鱼中的小神经胶质细胞有多个来源^[63]。斑马鱼胚胎期和幼鱼期的小神经胶质细胞源于头部血岛(Rostral blood island, RBI),这一区域相当于小鼠中参与髓系造血的卵黄囊;成体的小神经胶质细胞则源于背主动脉的腹侧壁(Ventral wall of dorsal aorta, VDA),该区域在小鼠中也参与定向造血。VDA 来源的小神经胶质细胞依赖

于 Runx1 而非 cMyb, 跟 RBI 来源的小神经胶质细胞在发育过程中受到不同的调节。该结果为小神经胶质细胞的发育和功能研究建立了一个新的基础。

CD146 作为 netrin-1 的受体促进血管发育与新生 血管新生(Angiogenesis)是指从已有的血管萌发出新血管的过程, 对脊椎动物的发育和成体的稳态维持至关重要。有研究报道神经导向分子 netrin-1 对于血管新生具有促进和抑制的双重作用, 其抗血管新生活性由 UNC5B 受体介导, 但是, netrin-1 如何促进血管新生仍不清楚。中国科学院生物物理研究所阎锡蕴和吴瑛研究团队与他人合作, 证明属于免疫球蛋白超家族的跨膜蛋白 CD146(又称 melanoma cell adhesion molecule, MCAM)作为 netrin-1 的受体起到了促进血管新生的作用^[64]。netrin-1 对 CD146 具有很高的亲和性, 两者结合后能够诱导内皮细胞活化及其相关的下游信号。在小鼠内皮细胞条件性敲除 *Cd146* 或者利用 CD146 的特异性抗体破坏 netrin-cd146 的相互作用, 均可阻碍或降低 netrin-1 诱导的血管新生。在斑马鱼胚胎中下调 *netrin-1a* 或 *cd146* 的表达可导致相似的血管发育缺陷。敲低 *cd146* 可抑制 *netrin-1* 过表达所诱导的异常血管萌生。该研究证明 CD146 是 netrin-1 的一个新的受体, 并揭示了 netrin-CD146 信号对于血管新生的重要作用。

UXT 通过抑制 Notch 信号促进血管新生 血管新生受到包括 Notch 在内的多重信号通路的协调控制。中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所王琛研究组和重庆医科大学周钦研究组合作, 发现 UXT(Ubiquitously-expressed, pre-foldin-like chaperone, 又称 ART27)作为 Notch 的抑制因子为斑马鱼体节间血管(Intersegmental vessel, ISV)形成所必需^[65]。在斑马鱼胚胎中抑制 UXT 表达可造成 ISV 变短、顶端细胞(Tip cell)功能缺失、内皮细胞迁移和分裂减弱。UXT 可与 Notch 通路靶基因的启动子结合, 特异性地与 Notch 胞内结构域(Notch intracellular domain, NICD)的转录激活区域相互作用, 从而削弱 NICD 与转录因子 PBP-J κ 的互作, 使 RBP-J κ 无法激活下游基因的表达。阻断 Notch 信号通路能够拯救因 UXT 敲低所导致的血管新生异常。该研究证明 UXT 是 Notch 信号通路的一个新的抑制因子, 增进了人们对血管新生分子机制的了解。

4.2 以鱼类为主的其他组织器官发育与基因表达调控机制研究进展

除了心血管和造血系统, 2015 年度中国科学家在鱼类的内耳与侧线等其他组织器官的发育机制、性别分化、低温应激反应, 以及 DNA 损伤修复与细胞死亡的基因表达调控研究中也取得了多项令人瞩目的成果。

Jag1b 通过调控组织形态分离和抑制细胞死亡参与内耳感觉壶腹嵴发育 脊椎动物内耳中的感觉囊斑(Sensory patch)包含毛细胞(Hair cell)和支持细胞(Supporting cell), 对于听觉及平衡功能至关重要。已有的研究表明, Jag1 介导的 Notch 信号通路参与内耳原感觉区特化和维持。然而, 原感觉区如何通过形态发生成为位置特定和功能独立的感觉斑依然不清楚。中国科学院遗传与发育生物学研究所张建研究组研究表明, Jag1b 通过调控组织形态分离(Morphogenetic tissue separation)和抑制细胞死亡参与内耳感觉壶腹嵴的形成^[66]。他们发现, *jag1b* 基因捕获的斑马鱼突变体, 后部原感觉区 *fgf10a* 表达下调并在发育后期发生细胞凋亡, 导致后部壶腹嵴(Posterior crista)缺失。在杂合体胚胎中, 外源小分子直接抑制 FGFR (Fibroblast growth factor receptor) 活性导致后部壶腹嵴丢失, 提示 Jag1b 可能在后部原感觉区细胞激活 *fgf10a* 表达而维持这些细胞生存。在前部原感觉区(Anterior prosensory domain)的发育过程中, Jag1b 调控位于前部和侧面壶腹嵴原基之间的前体细胞分化为扁平的非感觉上皮细胞, 从而使前部原感觉区分割为前部和侧面两个独立的壶腹嵴。这一过程需要激活非感觉上皮前体细胞中的 MAPK 信号。在 *jag1b* 突变体中, MAPK 信号的激活和细胞的扁平化会扩展到前部壶腹嵴原基(Anterior crista primordia)中, 导致前部壶腹嵴缺失。抑制 MAPK 活性会抑制非感觉上皮细胞的分化, 从而产生一个大的融合壶腹嵴以及额外的毛细胞。该研究证明, Jag1b 采用两种不同的机制, 调控斑马鱼前、后、侧 3 个感觉壶腹嵴的形成。

TGF β /Smad5 信号通路调控斑马鱼侧线发育 斑马鱼的侧线(Lateral line)是研究集体细胞迁移(Collective cell migration)的很好的模型。趋化因子(Chemokine)、Wnt、Fgf、Notch 等多种信号通路都

参与调控这一复杂的过程,但是 TGF β 在其中的作用鲜有报道。清华大学孟安明、贾顺姬研究团队首次发现 TGF β /Smad5 信号通路对于斑马鱼的侧线发育具有重要的功能^[67]。他们发现斑马鱼 *tgfb1a* 在后侧线原基(Posterior lateral line primordium, pLLP)中特异表达,该基因突变导致神经丘(Neuromast)数目减少、神经丘之间的距离变大、毛细胞数目减少,以及一系列 pLLP 发育调控基因的表达下降。过表达组成型激活的(Constitutive active) *smad5* 能够拯救上述表型,敲低 *smad5* 的表达则会影响 pLLP 的发育。

Y 染色体特异的 TGF- β 家族基因 *amhy* 决定尼罗罗非鱼的雄性性别分化 性别决定基因仅在少数脊椎动物中有过报道,而鱼类的性别决定机制则更为复杂多样,不少鱼类的性别决定还会受到环境的影响。近年来的研究表明,TGF- β 信号通路参与了硬骨鱼的性别决定。西南大学王德寿研究组与他人合作,从尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的 Y 染色体中鉴定到一个编码 TGF- β 超家族成员的基因 *amhy*(*Y-specific duplicate of the anti-Müllerian hormone*),并证明该基因是罗非鱼雄性性别决定所必需的^[68]。*amhy* 基因在 Y 染色体上位于 *amh Δ -y* 基因的下游,它们在 X 染色体上的同源基因为 *amh*。*amhy* 与 *amh* 在编码区仅有一个核苷酸(C/T)的差异,造成 Amhy 蛋白的 N 端第 92 位氨基酸残基由 Ser 变为 Leu。此外,*amhy* 基因还缺乏 *amh* 基因拥有的 5608 bp 的启动子序列。*amh Δ -y* 基因在其第 6 个外显子中有 5 bp 的碱基插入,造成编码序列提前终止,预测将编码一个缺乏 TGF- β 结构域的截短蛋白。*amhy* 和 *amh Δ -y* 仅在 XY 类型的性腺中表达。在 XY 鱼中利用 CRISPR/Cas 技术敲除 *amhy* 基因,可导致雄鱼转变为雌鱼;*amh Δ -y* 突变则不会造成这种表型。在 XY 鱼中敲除 *amhrII*(*anti-Müllerian hormone receptor type II*)基因能够引起类似的雄鱼向雌鱼的性别转变。相反,在 XX 鱼中过表达 *amhy* 则可导致雌鱼向雄鱼的性别转变;过表达 *amh Δ -y* 却没有这种效果。这些结果证明 *amhy* 是罗非鱼中一个潜在的性别决定基因,Amhy/AmhrII 信号通路为罗非鱼雄性性别决定所必需。该研究进一步证明了 TGF- β 信号通路在鱼类性别决定中的功能保守性。

p53 异构体 $\Delta 113p53/\Delta 133p53$ 通过促进 DNA 双

链断裂修复防止细胞死亡或衰老 p53 能够抑制 DNA 双链断裂(Double-strand break, DSB)的修复,这似乎与 p53 的肿瘤抑制功能存在一定的矛盾。有研究报道 p53 存在多种异构体,其中 $\Delta 113p53/\Delta 133p53$ 是全长 p53 蛋白的靶基因,由 p53 全长基因的第 4 个内含子中的 p53 启动子转录,其翻译产物缺少 N 端能与 MDM2 互作的结构域以及转录激活结构域,还缺少一部分 DNA 结合结构域。 $\Delta 113p53/\Delta 133p53$ 能够被 DNA 损伤激活,并拮抗 p53 诱导的细胞凋亡。但是 $\Delta 113p53/\Delta 133p53$ 在 DNA 双链断裂修复中的作用并不清楚。浙江大学陈军、彭金荣团队与他人合作,证明在斑马鱼胚胎和人类培养细胞中利用 γ 射线等造成 DNA 双链断裂后, $\Delta 113p53/\Delta 133p53$ 在细胞损伤后期大量积累,并且能够激活所有的 DSB 损伤修复途径;这一功能是通过激活 *RAD51*、*LIG4* 和 *RAD52* 等基因的转录实现的,并且这一激活作用不依赖于全长 p53^[69]。该研究进一步丰富了人们对于 p53 基因功能复杂性的认识。

p53 基因内含子中 4 bp 的天然缺失产生了一系列具有抗凋亡作用的新型 p53 异构体 p53 通过调节控制细胞增殖或凋亡的基因的表达发挥抑癌作用。p53 能够激活其异构体 $\Delta 133p53/\Delta 113p53$ 的表达,而 $\Delta 133p53/\Delta 113p53$ 则能够特异性地拮抗 p53 的凋亡活性,二者之间形成一个负调节环路。该环路对于保障胚胎的正常发育尤其重要,如果由于 DNA 损伤或发育压力造成 p53 突然激活将会有损于胚胎的发育。浙江大学彭金荣研究组又从斑马鱼中鉴定出了 5 个新的 p53 异构体,其中, *p53 β* 来源于 p53 基因中第 8 个内含子的可变剪接, *TA2p53*、*TA3p53*、*TA4p53* 和 *TA5p53* 则是 *113p53* 基因第 1 个内含子(p53 全长基因的第 4 个内含子)的可变剪接及其可变剪接产物中天然存在的一个 CATT 4 bp 缺失造成的。这个 4 bp 的 CATT 缺失造成了 4 个跟 *113p53* 读码框一致(in-frame)的翻译起始密码子。*TAp53* 类异构体与 *113p53* 共享相同的启动子,其编码产物亦可拮抗 p53 的促凋亡活性。该研究证明 *113p53/TA2/3/4/5* 等 p53 异构体的存在构成了胚胎发育过程中一个强大的应对 DNA 损伤、促进生存的机制^[70]。

全面鉴定斑马鱼低温胁迫反应的遗传调控网络与顺式调控元件 硬骨鱼是世界上分布最广的脊椎

动物。虽然都属于变温动物(Ectothermic animal),不同的硬骨鱼物种对水温的适应能力存在较大的差异,广温性的(Eurythermal)能忍受较大的温度波动,而狭温性的(Stenothermal)则对温度变化的适应能力有限。显然,对环境温度的适应能力是受遗传控制的。温度变化往往会引起转录组的改变。不过,硬骨鱼低温胁迫反应(Cold response)的顺式调控元件和反式作用因子尚未完全阐明。上海海洋大学陈良标研究团队以斑马鱼为模式动物,将其从正常的 28℃ 逐步降到 18℃ 和 10℃,然后通过 RNA 测序检测了心、脑、鳃、肠道、肌肉、肾脏、肝脏、脾脏等 8 个组织的转录组的变化^[71]。他们共鉴定到 1943 个差异表达的基因(Differentially expressed gene, DEGs),其中肾脏(硬骨鱼的造血、排泄和免疫器官)的 DEG 最多,脑的 DEG 最少。该结果与前人报道的对鲤鱼(*Cyprinus carpio*, 比斑马鱼更适应低温环境)的研究结果不同,可能反应了物种之间的差异。在这些 DEG 中,有 231 个基因在所有的 8 种组织都表达上调,121 基因在所有组织中表达下调。在这些共同被调控的基因中,有 38 个基因也在鲤鱼中表现出差异表达,它们有可能是在硬骨鱼中保守的低温胁迫反应基因。作者对所有的 DEG 进行了基因分群(Clustering),并利用 DREME 软件分析这些表现出共调控(Co-regulated)基因的启动子序列,鉴定到 17 个(10 个已知,7 个新鉴定)调控元件。其中有 2 个元件是 Bcl6 和 Jun 的结合位点,它们在实验检测中确实能够应答低温胁迫。蛋白相互作用网络预测和实验均证明, Bcl6 和 Jun 能够直接相互结合,它们很可能作为核心因子协调斑马鱼的低温胁迫反应。该研究建立的研究策略以及获得的研究结果为阐明硬骨鱼低温适应的遗传机制奠定了重要基础。

4.3 爪蛙早期胚胎与组织器官发育机制研究进展

爪蛙是经典的两栖类模式动物,2015 年度中国科学家利用这一经典模式动物揭示了 Wnt 信号通路与胚胎体轴发育、TGF- β 信号通路与胚层诱导、BMP 信号通路与神经嵴发育、RA 信号通路与前肾发育等多个新的调控机制,凸显了这类模式动物在发育机制研究中的特色与优势。

赖氨酸去甲基化酶 Kdm2a/b 通过调节核内

β -catenin 的稳定性调控 Wnt 信号通路和非洲爪蛙体轴的发育 Wnt/ β -catenin 信号通路是在进化中高度保守的信号通路之一,在胚胎发育、组织器官发育和稳态维持等多种生理过程中发挥关键作用。 β -catenin 是 Wnt 信号通路的核心转录因子,其稳定性调节对于 Wnt 信号通路及其生理功能至关重要。之前的研究证实,经典 Wnt 通路被激活后可导致细胞质内 β -catenin 进入细胞核,激活靶基因表达。在没有 Wnt 信号分子存在时, β -catenin 则通过 N 端磷酸化进入蛋白质酶体降解途径。 β -catenin 在细胞核内的过度积累会导致 Wnt 靶基因的持续激活,导致机体稳态失衡。但是,核内 β -catenin 蛋白稳定性的调控机制仍有争议。南京大学曹莹研究组发现蛋白质赖氨酸去甲基化酶(Protein lysine demethylase, KDM)家族的 Kdm2a 和 Kdm2b 能够调节 Wnt 信号通路靶基因的转录。进一步研究证实, Kdm2a/b 通过与第四和第五 armadillo 重复结构域直接相互作用,在细胞核内促进非磷酸化的 β -catenin 去甲基化,进而经泛素化途径降解,破坏了 β -catenin/TCF711 复合体的形成,从而造成 Wnt/ β -catenin 信号通路靶基因的转录及时终止^[72]。这一机制对于非洲爪蛙(*Xenopus laevis*)胚胎前后体轴的决定具有重要作用。在非洲爪蛙胚胎中敲低 Kdm2a/b 的表达,可造成甲基化但非磷酸化的 β -catenin 的增加,同时伴随 β -catenin 靶基因表达的上调。该研究揭示了 Kdm2a/b 通过甲基化/去甲基化调节核内 β -catenin 的稳定性以控制经典 Wnt 信号下游输出的新机制,对于深入理解 Wnt 信号通路的调节以及胚胎发育的机理具有重要意义。

Jmjd6 通过解除 Tcf711 对 Wnt 靶基因的转录抑制作用调控非洲爪蛙体轴的形成

Tcf711(Transcription Factor 7-like 1, 又称 Tcf3)是一个双功能的转录调控因子,对于胚胎发育、胚胎干细胞和成体干细胞都具有重要作用。一方面, Tcf711 作为转录抑制因子,通过招募 Groucho 相关的转录共抑制因子来阻遏 Wnt 靶基因的转录;另一方面, Wnt 通路激活后,它又通过与 β -catenin 相互作用,激活 Wnt 靶基因。不过, Tcf711 的活性是如何被调控的并不清楚。南京大学曹莹研究组证明 Jmjd6(JmjC Domain-containing Protein 6)蛋白能够与 Tcf71 相互作用,

从而解除 Tcf71 的抑制作用^[73]。Tcf71 蛋白中与 Jmjd6 结合的区域同时也会与 Groucho 相互作用,因此,很可能是 Jmjd6 与 Tcf71 的结合取代了 Tcf71 与 Groucho 转录共抑制因子的相互作用。Jmjd6 能够拮抗 Tcf71 对靶基因转录的抑制作用,并且还能够增强 β -catenin 诱导的靶基因的转录激活。反之,抑制 Jmjd6 的活性则会妨碍细胞和非洲爪蛙早期胚胎中靶基因的转录激活。在非洲爪蛙胚胎中抑制 Jmjd6 的表达可造成前后轴发育调控基因的下调与前后轴的发育缺陷。该研究揭示了一个调控 Tcf71 活性以及胚胎体轴形成的新机制。

在非洲爪蛙中 SCP3 通过去磷酸化 R-Smad 的接头区域促进 TGF- β 介导的胚层诱导 胚层诱导是早期胚胎发育的一个重要事件。在爪蛙中,母源转录因子 VegT 可激活编码 Nodal/Activin 配体的合子基因的表达,从而使 TGF- β 信号形成从植物极到动物极的浓度梯度,进而起始三胚层的诱导。R-Smad (Receptor-regulated Smad)是响应该信号通路的重要效应分子,其磷酸化状态决定靶细胞对该信号通路的反应性,但是尚无母源因子调控 R-Smads 磷酸化状态的报道。清华大学吴畏、陶庆华、张奇伟等研究团队合作,发现 SCP3(Small C-terminal domain phosphatase 3)有母源表达并且在胚胎的植物极富集,这种表达与定位对于胚层诱导是必需的^[74]。SCP3 能够去磷酸化 R-Smad 的接头(Linker)区域,这对于 Nodal/Activin 和 BMP 的充分激活是必要的。R-Smad 的接头区域在受精卵中最初是被磷酸化的,在胚胎向中囊胚转换(Midblastula transition, MBT)阶段的发育过程中逐渐被去除。抑制母源 SCP3 的功能会削弱上述去磷酸化作用以及 Nodal/Activin 和 BMP 在 MBT 后的活化。该研究证明 SCP3 作为一个在植物极富集的母源性因子,能够通过去磷酸化 R-Smad 的接头区域确保 R-Smad 在爪蛙胚层诱导过程中进入可被 TGF- β 信号激活的状态,从而揭示了母源因子调控早期胚胎细胞响应合子发育信号的一种新机制。

Ets1 通过结合 HDAC1 弱化 BMP 信号调控非洲爪蛙神经嵴发育 神经嵴(Neural crest, NC)是一类具有迁移能力的细胞群,它能够分化为多种组织,包括颅颌面软骨、色素细胞和周围神经系统。神经嵴细胞起源于神经板和非神经外胚层之间,由多种

信号通路的平衡调节而诱导形成,如 BMP 信号就需要保持合适的活性。原癌基因 *ets1(v-ets avian erythroblastosis virus E26 oncogene homolog 1)*对于肿瘤的浸润具有重要作用,同时也参与调控神经嵴细胞的分层(Delamination)。香港中文大学赵晖研究组与他人合作,利用非洲爪蛙研究了 Ets1 在神经嵴形成过程中的功能^[75]。过表达 *ets1* 可抑制 BMP 信号下游基因 *id3* 的表达,造成 BMP 信号通路下调,神经嵴的形成受到抑制。过表达 *id3* 能够部分挽救这一表型。进一步研究发现,Ets1 能够跟 *id3* 的启动子以及组蛋白去乙酰化酶 1(HDAC1)结合,表明 Ets1 能够通过招募 HDAC1 诱导 *id3* 启动子区域的组蛋白去乙酰化。该研究显示,Ets1 通过表观遗传调控的方式弱化 BMP 信号,从而调控神经嵴的形成。

Hspa5 通过作用于 RA 信号通路调控爪蛙前肾的发育 Hspa5(Heat shock 70-kDa protein 5)属于热休克蛋白 70 kDa 家族,又称 Bip(Binding immunoglobulin protein)或 Grp78(Glucose-regulated protein 78),其功能多样,参与调节蛋白质折叠和钙稳态,而且还是内质网应激反应(Endoplasmic reticulum(ER) stress response)的一个重要调节因子。Hspa5 还可以位于质膜上,作为受体或共受体参与信号转导过程。但是,它在胚胎发育过程中的功能还未见报道。香港中文大学赵晖和南方科技大学邓悻、陈永龙等研究团队在爪蛙胚胎中利用吗啉代反义寡核苷酸(Morpholino antisense oligonucleotides, MOs)敲低 Hspa5 的表达,发现前肾的标记基因 *lhx1(Lim homeobox protein 1)*、*pax2* 和 *atp1b1(β 1 subunit of Na/K-ATPase)*的表达均显著降低,说明前肾的形成受到了抑制。在体外用全反式视黄酸(All-trans-retinoic acid, atRA)和激活素(activin)处理动物极帽(Animal cap),可诱导产生前肾组织。在动物极帽中利用 MO 抑制 Hspa5 的表达,可抑制对前肾组织的诱导以及 RA 靶基因 *lhx1* 的表达,而 *lhx1* 是前肾分化必需的转录因子。共注射 Hspa5MO 和 *lhx1* 的 mRNA 能够部分拯救上述表型。该研究证明 Hspa5 在早期胚胎发育过程中通过作用于 RA 信号调控前肾的形成^[76]。

5 哺乳动物遗传机制研究进展

2015 年度中国科学家发表的关于哺乳动物遗传

机制的论文数量远远超过其他模式动物, 因我们精力和篇幅所限, 本文主要挑选了所有作者均为国内单位、发表在国际著名综合性学术类期刊和动物遗传学领域主流期刊上比较有代表性的工作, 重点关注了生殖与胚胎发育、代谢与组织稳态维持、细胞分裂调控、内吞与自噬、炎症与细胞死亡、组织修复和再生、神经认知与行为等几个方面, 其他领域涉及较少, 请读者谅解。

5.1 哺乳动物生殖和胚胎发育

单细胞 RNA 转录组分析小鼠植入前胚胎的线性和环状 RNA 转录组是指一个细胞内转录的全部 RNA。即使在同一类型的不同单个细胞中, 其转录组之间也存在着显著的差异。单细胞转录组分析为理解这种差异的生物学意义提供了强有力的技术手段。之前开发的真核单细胞 RNA 测序策略依赖于 Oligo(dT) 来启动逆转录过程, 从而避免了占哺乳动物细胞总 RNA 90% 的无信息核糖体 RNA (rRNA) 的干扰。这些方法仅限于检测 poly(A)⁺ 的 RNA, 将不可避免地遗漏多种类型的 poly(A)⁻ RNA 的信息。近年来, 科学家们在真核细胞中发现了一类独特的 poly(A)⁻ RNA——环状 RNA (circRNA), 并证明这些 circRNA 具有重要的功能。为了研究以 circRNA 为代表的 poly(A)⁻ RNA, 开发出一种涵盖 poly(A)⁻ RNA 的新方法来检测单细胞内完整的转录组成为大势所趋。北京大学黄岩谊研究组和汤富酬研究组合作开发出一种新型的单细胞转录组分析方法, 命名为“单细胞通用 poly(A)⁻ 非依赖 RNA 测序 (SUPeR-seq)”。这种方法利用具有靶向序列的随机引物取代常用的 oligo(dT) 引物, 用于 cDNA 合成, 从而有效保留了 poly(A)⁻ RNA, 包括 circRNA 的信息。与该研究组之前开发的 RNA 测序技术 Tang2009 相比, SUPeR-seq 具有更高的灵敏度, 同时能高效检测更多的基因。更重要的是, 来自基因组 DNA 和 rRNA 的污染几乎可以忽略不计。利用 SUPeR-seq, 该研究组总共发现了来自 HEK293T 细胞的 141 个 circRNA 转录本和来自单个小鼠植入前胚胎的 2891 个 circRNA 转录本 (包括 913 个新的线性转录本)。他们将来自小鼠卵母细胞的 SUPeR-seq 信息与来自 2-细胞阶段胚胎的 SUPeR-seq 信息进行比较, 确定了两个母系和合子基因; 用 α 鹅膏蕈碱 (基因转录的强效抑制剂)

处理 2-细胞胚胎后进行测序, 81% 的合子基因得以证实^[77]。该研究证明了 SUPeR-seq 的准确性、稳定性及其潜在的应用价值, 为揭示哺乳动物早期胚胎发育以及 circRNA 在这一过程中的调控机制提供了重要的工具。

组蛋白甲基转移酶 GLP 激活的新机制 组蛋白甲基转移酶 GLP 和 G9a 是最主要的组蛋白 H3K9 二甲基化酶, 在小鼠早期胚胎发育过程中具有重要作用。GLP、G9a 具有 Ankyrin 结构域, 该结构域可以结合其催化产物 H3K9me1 和 H3K9me2, 但是对其功能意义所知甚少。中国科学院生物物理研究所朱冰研究组与其他学者合作, 发现 GLP 结合 H3K9 甲基化修饰并被激活, 从而在细胞分化过程中, 在那些应该沉默的基因上迅速建立 H3K9 二甲基化修饰并抑制其表达。他们发现 GLP 的活性可以被相邻核小体上 H3K9 的单甲基化修饰激活, 而 G9a 的活性可以被相邻核小体上 H3K9 的二甲基化修饰激活。这种激活依赖于 GLP、G9a 的 Ankyrin 结构域对 H3K9 甲基化的识别。当 Ankyrin 结构域中参与 H3K9me1/2 结合的氨基酸突变之后, 其激活活性消失。同样突变的基因敲入小鼠 H3K9 甲基化结合能力丧失, 并出现胚胎发育生长迟缓、头骨骨化缺陷以及出生后致死的表型。在胚胎干细胞分化过程中, GLP 突变导致 H3K9 甲基化结合能力丧失, 包括干细胞多能性基因 *Oct4*、*Nanog* 和 *Fgf4* 等在内的大量基因无法正常建立 H3K9 二甲基化修饰, 进而导致其表达不能被及时下调^[78]。该研究揭示了一种新的组蛋白修饰建立机制, 对于进一步认识组蛋白修饰的遗传调控机制具有重要意义。

CCNYL1 而非 CCNY 协同 CDK16 调节小鼠精子发生 Cyclin Y-like 1 (CCNYL1) 是一个新发现的细胞周期蛋白家族成员, 蛋白质序列与周期蛋白 CCNY 具有高度的相似性。然而, CCNYL1 在各种生物中的功能还知之甚少。中国科技大学吴家睿研究组和上海科技大学岑慧枝研究组合作, 揭示了 CCNYL1 调控小鼠精子发生的生理功能。他们发现 *Ccnyll1* 在小鼠睾丸中表达丰富, 比 *Ccny* 的水平高出 7 倍。雄性 *Ccnyll1* 敲除小鼠具有正常的睾酮水平以及交配能力, 但却表现为不育, 但无论是雄性还是雌性的 *Ccny* 敲除小鼠均具有正常的生育能力。从

Ccnyl1 敲除小鼠中获得的精子表现出显著的运动受损,并出现一个薄的环形区,有些还伴发头部弯曲。进一步研究证实,CCNYL1可与CDK16相互作用,这种相互作用可提高这两种蛋白质的稳定性并增强CDK16的激酶活性。通过质谱分析确定了CDK16的磷酸化位点,并证实CDK16 N端区域的多个磷酸化修饰位点对于CCNYL1结合并调节CDK16激酶活性是必不可少的^[79]。该研究证实了CCNYL1在小鼠精子发生过程中必不可少的生理功能及其分子机制,为深入理解男性不育症的发病原因以及发展避孕策略提供了新的线索。

mTORC1通过Notch信号通路阻止前成骨细胞分化 雷帕霉素的作用靶点mTOR(Mechanistic target of rapamycin)是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,可被细胞内外多种信号激活,调节细胞生长、增殖和代谢。成骨细胞是骨形成的主要功能细胞,负责骨基质的合成、分泌和矿化,mTOR信号在成骨细胞分化和骨形成中的作用及其分子机制尚未阐明。南方医科大学白晓春研究组与他人合作,发现mTORC1(mTOR complex 1)通过Notch信号通路阻止前成骨细胞分化。他们发现mTORC1是前成骨细胞增殖所必需的,而mTORC1失活对于成骨细胞分化和成熟是至关重要的。抑制mTORC1可阻止前成骨细胞增殖并促进其分化。在小鼠前成骨细胞中敲除*Tsc1*,可以激活mTORC1,导致前成骨细胞过度增殖、分化和成熟受阻。利用mTORC1特异性抑制剂—雷帕霉素处理,能够在体外和小鼠体内挽救由于mTORC1激活导致的这些表型。在分子机制上,他们发现mTORC1可以通过激活STAT3/p63/Jagged/Notch通路以及下调*Runx2*阻止成骨细胞的分化成熟。抑制mTORC1激活的前成骨细胞内的Notch通路,可使前成骨细胞重新获得完全分化和成熟的能力^[80]。该研究揭示了mTORC1信号通路在成骨细胞增殖与分化过程中的关键作用及其调节机制,对于深入理解骨形成机制及其调控以及骨质疏松等发病机制具有重要意义。

Zbtb20通过抑制Sox9调节肥大软骨细胞的终末分化 肥大软骨细胞的终末分化是软骨内成骨过程中的关键阶段,受到多种因素的调控。Sox9负向调控肥大软骨细胞的终末分化,并能直接抑制肥大

软骨细胞表达*Vegfa*,从而延迟成骨过程中的血管侵入。Sox9在终末分化的肥大软骨细胞中显著下调,然而其表达下调的分子机理并不清楚。第二军医大学章卫平、谢志芳研究组与其他学者合作,发现锌指蛋白*Zbtb20*通过抑制Sox9表达调控肥大软骨细胞的终末分化。他们发现*Zbtb20*从小鼠胚胎发育晚期开始高表达于肥大软骨细胞。软骨细胞特异性*Zbtb20*基因敲除小鼠表现出成骨延迟和出生后生长障碍。组织学分析表明,突变小鼠长骨生长板的肥大区显著延长,血管侵入延迟。*Zbtb20*缺失后导致肥大软骨细胞中*Vegfa*表达下调,而Sox9的mRNA和蛋白表达水平异常升高。*Sox9*敲低可提高*Zbtb20*缺失肥大软骨细胞中*Vegfa*的表达^[81]。该研究为深入理解肥大软骨细胞分化的调控机制提供了新的线索。

转录中介体Med23基因通过BMP信号通路抑制胚胎干细胞向神经细胞分化 揭示胚胎干细胞早期神经分化的机制对神经退行性疾病的细胞治疗很重要。神经的命运获得是由一种“默认”的机制控制,其分子调控不甚明确。转录中介复合体是一种进化上保守的多蛋白复合体,它能将转录因子连接到mRNA聚合酶II上进而参与基因活性和生物学过程的调控。此前,转录中介体Med23已被证实在胚胎发育过程中参与多种信号通路并起重要作用,中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所王纲研究组与其他学者合作,发现转录中介体Med23基因通过BMP信号通路抑制胚胎干细胞向神经细胞分化。他们对Med23在小鼠胚胎干细胞全能性及细胞谱系决定中的功能进行了探索,发现Med23缺失不会改变胚胎干细胞的全能性及自我更新,但会促进胚胎干细胞向神经细胞方向分化。敲低其他中介体亚基如*Med1*和*Med15*时,不影响胚胎干细胞向神经细胞分化,但*Med15*敲低会抑制内胚层的分化,说明细胞命运决定是特异地由不同的中介体亚基控制的。基因表达谱显示,Med23缺失能减弱胚胎干细胞的BMP信号。他们进一步证实Med23通过转录因子ETS1来控制*Bmp4*基因的启动子及增强子的功能,从而调控*Bmp4*的表达。在斑马鱼胚胎中敲低Med23也能促进早期胚胎发育过程中的神经发育,而同时注射*bmp4*的mRNA则能逆转这一过程^[82]。该研究揭示了中介体Med23亚基在

早期神经发育过程中的重要功能, 阐明了胚胎发育过程中神经命运决定的一种新的分子机制, 为神经退行性疾病的治疗提供了新的线索。

树突棘的协同修剪与成熟由树突棘间对 cadherin/catenin 复合体的竞争所介导 神经网络大部分的兴奋性突触位于神经元树突上一种名为树突棘的微结构上。在哺乳动物发育早期, 大脑中树突棘的数量快速增加, 与同样快速增加的轴突末端形成功能性的神经网络。在神经网络的复杂度达到一定程度后, 大脑进入树突棘修剪阶段以确保最佳的信息传递与储存效果。树突棘修剪具有高度的特异性, 同一个神经元的不同树突棘在整个过程中有着各不相同的命运。这一“树突棘修剪”的过程对于大脑正常功能的行使至关重要, 树突棘修剪缺陷与神经发育障碍(如孤独症)有关, 但是其分子机制仍不清楚。中国科学院上海生命科学研究院神经科学研究所于翔研究组发现树突棘的协同修剪与成熟由树突棘间对 cadherin/catenin 复合体的竞争所介导。他们发现小鼠桶状皮层的树突棘修剪和成熟是通过 cadherin/catenin 细胞粘附复合物协调并受触须感觉经验的双向调控。通过丰富环境饲养增加小鼠的感觉输入能够同步加速树突棘的修剪与成熟, 而剪除触须则同时阻止了这两个过程的进行。他们进一步证实在单个树突棘上局部富集 cadherin/catenin 复合体可以同时导致被刺激树突棘的增大和相邻树突棘的缩小或消失。这种树突棘的命运分化取决于两个树突棘之间的物理距离和 N-cadherin 的动态变化, 而不依赖于蛋白合成或降解。体内实验也证实局部增加小鼠桶状皮层中部分树突棘突触前的 cadherin/catenin 复合物水平, 可以使它们在神经环路精确化的过程中更容易存活与成熟^[83]。该研究揭示了基于有限分子资源的竞争机制在神经环路精确化过程中的作用, 并确认了自然感觉刺激对神经环路发育与可塑性的重要作用, 也为深入理解孤独症、精神分裂症等发育性神经系统疾病的发生机制提供了重要的理论基础。

组蛋白去乙酰化在小鼠神经诱导中的作用及其调控机制 表观遗传修饰对于基因表达及细胞命运决定具有重要调控作用。但是, 在小鼠神经诱导过程中, 哪种表观遗传修饰参与其中并如何发挥调控功能仍未被完全阐明。中国科学院上海生命科学研

究院生物化学与细胞生物学研究所景乃禾研究组与其他学者合作, 发现组蛋白去乙酰化作为细胞内一种重要的表观遗传调控修饰, 可通过抑制 Nodal 信号而促进上胚层细胞的神经命运决定。他们发现组蛋白去乙酰化修饰发生在神经命运起始阶段, 且与上胚层细胞神经命运决定密切相关。在上胚层细胞阶段, 无论是体外通过组蛋白去乙酰化酶抑制剂阻断组蛋白去乙酰化酶活性, 还是体内条件性敲除组蛋白去乙酰化酶 1(HDAC1)都能够显著抑制神经分化而促进中内胚层分化。在分子机制上, 他们发现 HDAC1 蛋白特异地结合在 *Nodal* 基因位点, 通过去除其内含子区域的组蛋白乙酰化修饰抑制 *Nodal* 基因的转录。进一步的功能实验证明, 在小鼠 7.0 天的胚胎中, 抑制前端上胚层细胞的组蛋白去乙酰化, 可以激活 *Nodal* 基因表达进而抑制神经发育^[84]。该研究揭示了组蛋白去乙酰化在小鼠神经诱导中的作用及其调控机制, 丰富了对小鼠早期神经发育机制的理解, 对于提高人胚胎干细胞及诱导性多能干细胞的神经分化效率也具有一定的指导和借鉴意义。

水通道蛋白 AQP5/8 介导的植入前宫腔液体过多是激素紊乱导致胚胎植入失败的原因 胚胎植入的成功与否是妊娠建立的关键步骤。除子宫内膜接受性因素之外, 胚胎在植入前需要宫腔内液体的快速重吸收, 以促进胚胎与子宫上皮的粘附。植入前激素异常可能是导致宫腔液体调控紊乱、进而影响胚胎植入的一个重要因素。中国科学院动物研究所段恩奎研究组、北京大学第三医院乔杰研究组、大连医科大学麻彤辉研究组发现水通道蛋白 AQP5/8 介导的植入前宫腔液体过多是激素紊乱导致胚胎植入失败的一个重要原因^[85]。他们建立了妊娠早期激素紊乱诱导胚胎植入异常的小鼠模型, 发现植入前高于正常生理水平的雌激素确实会导致宫腔内液体的急剧聚集, 并导致胚胎植入紊乱以及妊娠中期胚胎死亡。随后通过基因芯片筛选, 发现高雌激素下两个水通道蛋白基因 *Aqp5* 和 *Aqp8* 的表达同时发生急剧的上调, 基因敲除实验证明 AQP5/8 是高雌激素病理情况下介导宫腔液体过量分泌的重要分子。此外, 该研究还发现通过对高雌激素模型的小鼠同时给予孕激素处理以降低雌激素/孕激素的比例, 可明显降低子宫 AQP5/8 的异常表达、缓解宫腔异常

积水, 并显著纠正胚胎植入的异常。该研究提示胚胎植入时的宫腔液体状况与内膜接受性应当引起同等重视, 为临床上理解植入失败的原因以及开发新的诊断治疗手段提供了新的思路。

5.2 哺乳动物代谢与组织稳态维持

高尔基体蛋白 PAQR3 通过促进 Scap/SREBP 复合体的形成调节胆固醇稳态 生物体内胆固醇的从头合成是体内胆固醇的主要来源之一, 其过程受转录因子 SREBP 及其护送蛋白 Scap 的调控。胆固醇缺乏时, Scap/SREBP 复合物从内质网转运到高尔基体, 随后 SREBP 激活。而在胆固醇充足的情况下, Insigs 作为锚定蛋白将 Scap/SREBP 锚定在内质网上。然而, Scap/SREBP 在高尔基体上的锚定蛋白一直没有报道。中国科学院上海生命科学研究院营养科学研究所陈雁研究组与其他学者合作, 发现高尔基体蛋白 PAQR3 通过促进 Scap/SREBP 复合体的形成调节胆固醇稳态。他们发现 PAQR3 能与 Scap/SREBP 复合物相互作用并将它们锚定在高尔基体上。PAQR3 促进 Scap/SREBP 复合体的形成、增强 SREBP 的剪切并促进脂质合成。PAQR3 与 Insig-1 能竞争性地结合 Scap, 且这种竞争作用受胆固醇水平调控。在体内, 小鼠肝脏内敲降 PAQR3 能够抑制 SREBP 信号通路, 降低小鼠肝脏中的胆固醇含量。而利用一种合成的短肽抑制剂破坏 PAQR3 和 Scap/SREBP 的相互作用后, SREBP 的合成和激活都受到了抑制。将这种抑制剂注射到小鼠体内后, 能够显著抑制肝脏胆固醇和甘油三酯的含量^[86]。该研究揭示了高尔基体蛋白在调节细胞内胆固醇合成代谢中的重要作用及其机制, 为降低胆固醇以及甘油三酯合成的药物研发提供了一个崭新的作用靶点和思路。

CREB 的转录激活因子 CRTC2 通过 SREBP1 调控肝脏脂代谢 在肥胖、糖尿病以及脂肪肝患者体内, 脂合成代谢的增强是引起甘油三酯在肝脏内异常堆积的主要原因之一。固醇调节元件结合蛋白 1 (Sterol regulatory element-binding protein 1, SREBP1) 是调控脂合成的重要转录调控因子, 它合成后以非活性前体的形式存在于内质网。当胰岛素信号通路激活后, SREBP1 以依赖于 COPII 的方式从内质网转运到高尔基体, 并在高尔基体受蛋白酶加工剪切,

成熟后的 N-SREBP1 进入细胞核诱导脂合成相关基因的表达。长期以来, 对 SREBP1 在胰岛素抵抗的肥胖和糖尿病中活性增强的分子机制一直不清楚。清华大学王一国研究组发现 CREB 的转录激活因子 CRTC2 通过 SREBP1 调控肝脏脂代谢。他们发现 CRTC2 通过在细胞质内与 Sec23A 竞争性结合 Sec31A (Sec23A 和 Sec31A 均是 COPII 的组成亚单位) 影响了 SREBP1 从内质网到高尔基体的转运; 并且 CRTC2 与 Sec31A 的结合受 mTOR 信号调控。mTOR 通过磷酸化 CRTC2 减弱 CRTC2 对 SREBP1 转运和成熟过程的抑制, 促进 SREBP1 的成熟和入核。在肥胖和糖尿病小鼠模型中, 由于 mTOR 的过度激活导致了脂合成代谢的增强。在肝脏内表达 CRTC2 的 mTOR 磷酸化缺陷的突变体可以降低小鼠肝脏中脂的生成并提高肝脏对胰岛素的敏感性^[87]。该研究揭示了 CRTC2 介导的信号通路在调控肝脏脂代谢中的重要作用, 为理解代谢性疾病中肝脏脂代谢紊乱的机制提供了新的理论基础。

肝细胞在肝纤维化中的作用 肝细胞 (Hepatocyte) 对肝脏组织稳态的维持至关重要, 但肝细胞在肝纤维化 (Hepatic fibrogenesis) 中的作用却知之甚少。第二军医大学张俊平和谢渭芬研究组与他人合作, 发现肝细胞核因子 1 α (Hepatocyte nuclear factor 1 α , HNF1 α) 调控的反馈环路通过肝细胞和肝星状细胞 (Hepatic stellate cell, HSC) 的相互作用调节肝纤维化过程。他们发现 HNF1 α 的表达在人类和大鼠的纤维化肝脏中被显著抑制。敲低肝脏中的 HNF1 α 使肝纤维化程度恶化, 而强制表达 HNF1 α 能明显减轻肝纤维化。他们证明 HNF1 α 通过直接结合肝细胞 SHP-1 (SH2 domain-containing phosphatase-1) 基因的启动子调控 SHP-1 的转录表达。抑制 SHP-1 表达将阻断 HNF1 α 的抗纤维化作用。他们还发现, 在原代肝细胞中抑制 HNF1 α 会激活 NF- κ B 和 JAK/STAT 通路并启动一个炎症性反馈环路, 导致 HNF1 α 在肝脏中表达失调。肝细胞和肝星状细胞之间的相互作用参与该正反馈环路并促进肝细胞损伤的进展^[88]。该研究证实受损肝细胞在肝纤维化中发挥积极作用, 并提示在肝细胞中早期干预 HNF1 α 调控的炎症性反馈环路将有助于治疗慢性肝脏疾病。

脂联素通过促进 M2 巨噬细胞增殖增强冷刺激

诱导的皮下脂肪组织棕色化 白色脂肪和棕色脂肪是动物储存脂肪的组织,白色脂肪负责储存多余的热量以备不时之需,棕色脂肪细胞会燃烧脂肪将其转变成热量。脂联素(Adiponectin)是脂肪细胞分泌的一种重要因子,能够对抗肥胖相关的代谢紊乱,其作用机制也比较多样化,但一直以来关于脂联素在适应性产热过程中的作用鲜有研究。香港大学徐爱民研究组发现脂联素通过促进 M2 巨噬细胞增殖来增强冷刺激诱导的皮下脂肪组织棕色化。他们发现慢性冷刺激会导致皮下白色脂肪细胞产生更多的脂联素。脂联素缺失将导致慢性冷刺激诱导的小鼠皮下脂肪组织中 M2 巨噬细胞累积、米色脂肪细胞激活以及产热基因表达都受到明显损伤,而脂联素回补可逆转这些表型。进一步研究发现,脂联素能够与 T-cadherin 结合被募集到 M2 巨噬细胞表面,激活 Akt 信号途径促进细胞增殖,最终激活米色脂肪细胞^[89]。该研究揭示了脂联素在冷刺激诱导的适应性产热过程中的重要作用,这种作用是通过调节皮下脂肪组织成熟脂肪细胞与 M2 型巨噬细胞之间的“对话”实现的。

凝血酶的天然抑制蛋白 凝血酶是一种止血和血栓形成过程中的效应酶,但是对凝血酶的内源性调节分子却所知甚少。北京大学医学部孔炜研究组与他人合作,发现软骨寡聚基质蛋白(Cartilage oligomeric matrix protein, COMP)是一种天然凝血酶抑制剂。他们发现小鼠中缺失 COMP 缩短了尾部流血和凝血的时间,加速了氯化铁诱导的血栓形成。COMP 特异性抑制血栓诱导的血小板聚集、激活和凝缩,以及凝血酶介导的纤维蛋白清除,但小鼠缺失 COMP 并不影响血小板数量。表面等离子体共振分析(SPR)发现 COMP 与凝血酶可直接结合($K_D=1.38\pm 0.24 \mu\text{mol/L}$)。用化合物封闭凝血酶识别结构域 I (水蛭素和 HD1 配体)或识别结构域 II (肝素和 HD22 配体)均影响 COMP 与凝血酶的相互作用,提示两者间的双位点结合机制。他们还确认凝血酶的 EGF 样重复区(氨基酸 84-261)是 COMP 结合位点。他们利用骨髓移植和血小板输注产生的嵌合型小鼠,证实来源于血小板而非血管壁的 COMP 具有抑制凝血的功能^[90]。该研究发现了一种通过与凝血酶相互作用而抑制凝血的内源性天然抗凝蛋白质,并提示

血小板来源的 COMP 可能参与凝血酶相关凝血过程的负反馈调控。

Egr3 是正常造血干细胞增殖的抑制因子 造血干/祖细胞产生正常血细胞的能力受损引起的血细胞减少是引发白血病发病和死亡的重要原因之一。然而,正常造血细胞是如何被新产生的白血病细胞所替代的?不同的造血干细胞和造血祖细胞亚群在白血病细胞侵袭的过程中受到怎样的影响?目前还知之甚少。实验血液学国家重点实验室程涛研究组发现在白血病细胞侵袭过程中不同亚群的造血干细胞增殖受到不同程度的抑制,但是这种抑制是可逆的。更重要的是,他们揭示了在这一过程中转录因子 Egr3 抑制正常造血干细胞增殖的新功能。利用一种稳定的不经辐射的人 MLL-AF9 白血病小鼠模型,在体内白血病细胞扩增过程中对正常造血干细胞和造血祖细胞的抑制作用进行检测。在所有具有造血潜能的细胞亚群中,长期重建造血干细胞受到的影响最小,而巨核红系祖细胞受到最显著的抑制。在晚期白血病骨髓中几乎所有的造血干细胞被迫处于非增殖状态,但是一旦被移植到非白血病宿主中,这些细胞依然具有正常的重建潜能。利用基因表达谱分析并通过功能验证,证实转录因子 Egr3 在白血病细胞扩增过程中对于造血干细胞增殖的抑制作用发挥了重要功能^[91]。该研究揭示了白血病细胞对正常造血干细胞可逆抑制的作用及其机制,为深入理解病理状态下成体造血干细胞的调控提供了新的线索。

次要类型 IV 型胶原蛋白促进癌症进展 肿瘤细胞与其微环境的交互通讯在肿瘤发展及转移过程中至关重要。细胞外基质作为微环境的重要组成部分,不仅为肿瘤细胞提供结构支撑,同时作为信号分子调控肿瘤细胞的功能。IV 型胶原蛋白是组成细胞基底膜的主要结构成分,对组织结构的完整性以及正常功能的维持都具有重要的作用。IV 型胶原蛋白的异常会导致机体发育缺陷以及肿瘤等多种疾病的发生。IV 型胶原蛋白包含 3 种高度相似的胶原蛋白前体:主要类型的 $\alpha 1\alpha 1\alpha 2(\text{IV})$, 以及次要类型的 $\alpha 3\alpha 4\alpha 5(\text{IV})$ 和 $\alpha 5\alpha 5\alpha 6(\text{IV})$ 。已有研究证实主要类型 IV 型胶原蛋白在肿瘤中的重要作用,而对次要类型 IV 型胶原蛋白(Minor Col IV)在肿瘤中的功能还所知甚少。中国科学院上海生命科学研究院生物化学

与细胞生物研究所葛高翔研究组与他人合作, 揭示了次要类型 IV 型胶原蛋白促进癌症进展的功能与机制。他们发现次要类型 IV 型胶原蛋白 $\alpha 5$ 链通过肿瘤细胞自主性和非自主性的机制促进小鼠肺癌发展。一方面, 上皮细胞/肿瘤细胞中的 $\alpha 5$ 链促进肿瘤细胞的增殖和迁移; 另一方面, 血管内皮细胞中的 $\alpha 5$ 链促进血管形成与肿瘤血管新生。他们还发现 $\alpha 5(IV)$ 而非 $\alpha 1(IV)$ 的缺失导致胶原蛋白受体 DDR1 表达下调以及下游 ERK 信号失活, 提示结构高度相似的 IV 型胶原蛋白分子通过不同的细胞表面受体与胞内信号通路发挥功能^[92]。

低氧通过抑制 Hippo 信号影响肿瘤发生 Hippo 信号通路在动物的发育、生理和肿瘤中起重要作用。南开大学吴世安、陈佺、朱玉山研究团队揭示了低氧(Hypoxia)失活 Hippo 信号通路的分子机制^[93]。E3 泛素连接酶 SIAH2 在低氧情况下降解 Hippo 信号通路的关键分子 LATS2, 从而激活 Hippo 信号通路的转录因子 YAP。在异种移植小鼠模型中, Siah2 失活抑制了肿瘤发生, 并且该抑制是 LATS2 依赖的。进一步的研究表明, YAP 与低氧因子 HIF1 α 形成复合体, 并且对于 HIF1 α 的稳定性和在肿瘤中的功能是必不可少的。在人乳腺肿瘤中 LATS2 表达水平是下调的, 并且和 SIAH2 的表达水平呈负相关, 说明 SIAH2-LATS2 途径在人类癌症中的潜在作用。该研究揭示了氧气可做 Hippo 信号通路的微环境信号, 对理解在肿瘤发生过程中的 Hippo 信号通路调控有潜在意义。

外泌体环状 RNA 可作为癌症诊断分子标志 环状 RNA 是一类广泛存在的高度稳定的 RNA 分子, 具有多种潜在的生物学功能。外泌体(Exosome)是细胞主动向胞外分泌的囊泡样小体, 其在疾病诊断方面的功能是近年来的研究热点。复旦大学黄胜林及何祥火研究组发现外泌体内含有大量稳定的 circRNA, 并可能成为潜在的肿瘤诊断标志物。他们从 MHCC-LM3 肝癌细胞以及该细胞分泌的外泌体中分别提取总 RNA(去除 rRNA)进行测序分析, 发现外泌体中的环状 RNA(exo-circRNA)比其来源细胞中的 circRNA 更加丰富, 其含量比外泌体中的线性 RNA 更多。他们进一步发现 miR-7 过表达可显著下调 circRNA CDR1as 在外泌体中的富集, 但在细

胞中无显著差异, 提示 circRNA 进入外泌体的过程可能受细胞内 miRNA 的调控。除了细胞分泌的外泌体, 人血清中外泌体也含有大量稳定的 circRNA。更有意义的是, 结直肠癌病人血清外泌体中的 circRNA 水平与正常人存在显著差异, 提示肿瘤来源的 exo-circRNA 有望成为肿瘤检测的潜在标志物^[94]。该研究为 circRNA 作为外泌体的肿瘤检测标志物奠定了基础, 同时为进一步研究 exo-circRNA 的生物学功能提供了重要线索。

人类面部三维形态作为可靠的衰老标志 衰老与许多疾病密切相关, 因而可靠的衰老过程预测对于评估与衰老相关的疾病风险至关重要。然而, 可靠的衰老标志依然缺乏。中国科学院上海生命科学研究院计算生物研究所韩敬东研究组设计了一个新软件, 可以利用人的面部三维扫描图像来判断其真实年龄。他们使用 3D 相机采集了年龄在 17~77 岁之间的 332 个中国人的面部三维图像, 分析面部的衰老特征。通过与 17~29 岁、60~77 岁男性和女性“平均脸”的比对, 发现嘴的宽度、鼻子的宽度、嘴与鼻子之间距离都会随着年龄增加而增加, 眼角则随着年龄的增加出现下垂。研究人员将每位参与者的面部三维坐标输入计算机回归模型, 进行模拟计算, 得到他们的生理年龄。年龄小于 40 岁的样本, 预测出的生理年龄和实际年龄的差距可达 6 岁; 大于 40 岁的样本, 两者差距增大。研究人员发现对于预测的生理年龄比实际年龄大 6 岁以上的样本, 他们的多项血液指标也出现了衰老迹象, 预测的生理年龄比实际年龄小 6 岁以上的人则正好相反^[95]。该研究表明, 三维面部形态分析能准确预测人的衰老程度, 可能成为评估大体健康和衰老状况的非侵袭性实用工具。

5.3 哺乳动物细胞分裂与细胞内吞和自噬

有丝分裂后纤毛组装的调控 纤毛是竖立于绝大部分脊椎动物细胞表面的一种细胞器, 它在细胞信号转导和生物个体发育中具有重要作用。纤毛结构在细胞周期运转过程中是动态变化的, 在新生成的子细胞中继承了母中心粒的子细胞优先组装其纤毛。然而, 对于不对称组装以及纤毛在细胞周期中结构变化的调控机制并不清楚。北京大学张传茂研

究组发现 GSK3 β -Dzip1-Rab8 信号级联调控有丝分裂后的纤毛组装。他们发现 Dzip1 蛋白在分裂期结束至静止期早期时优先定位于继承了母中心粒的细胞中心体及中心体外周基质, 调控一种对纤毛膜组装具有重要作用的小 GTP 结合蛋白 Rab8 的纤毛内定位, 并通过与 Rab8 在基体部位相互作用, 促进 Rab8^{GDP} 从其抑制因子 GDI2 的抑制作用中解离。他们还发现 Dzip1 促进 Rab8 激活的能力受到分裂期向静止期转化过程中活性增强 GSK3 β 激酶的正调控^[96]。该研究揭示了 GSK3 β -Dzip1-Rab8 信号通路在纤毛不对称组装及其在细胞周期中动态调控的作用, 为深入了解纤毛结构对细胞周期运转和人类相关疾病发生机制提供了理论依据。

微管绑定蛋白 TPX2 通过调节微管通量维持细胞有丝分裂中期纺锤体长度 在有丝分裂过程中, 纺锤体的正常形成和功能行使是保证染色体能够平均分配到子细胞的必要条件。有丝分裂中期, 纺锤体会通过调控微管通量(Microtubule flux)的动态平衡来维持稳定的长度。在此过程中, 微管蛋白二聚体在纺锤体微管的正极聚合, 在负极解聚。此间微管的聚合和解聚是如何相互协调的还没有明确的阐述。北京大学张传茂研究组发现微管募集蛋白 TPX2 通过调节微管通量维持细胞有丝分裂中期纺锤体的长度。他们发现一种重要的微管绑定蛋白 TPX2, 不仅可以激活重要的蛋白激酶 Aurora A(对于中心体和纺锤体的组装很重要), 同时也会受到 Aurora A 的磷酸化修饰。他们进一步证明 TPX2 的磷酸化修饰对于纺锤体维持正常长度是必须的。TPX2 的磷酸化修饰调控它和微管正极募集因子 CLASP1 之间的相互作用, 而不影响与微管负极解聚因子 Kif2a 的相互作用, 从而决定了纺锤体微管的动态平衡过程^[97]。该研究揭示了正常纺锤体组装过程中的分子调控机制, 发现了 TPX2 磷酸化修饰对微管通量速度的决定作用, 对理解细胞有丝分裂的机理具有重要意义。

VPS33A^{D251E} 突变导致自噬体-溶酶体融合缺陷

HOPS(Homotypic fusion and protein sorting)复合体参与内体和溶酶体、自噬体和溶酶体融合事件, 从而在细胞内吞和细胞自噬过程中起作用。然而, 在膜泡融合过程中的不同分子机制仍是未知的。中国科学院遗传与发育生物学研究所李巍研究组利用

一种 HOPS 复合体相关蛋白 VPS33A^{D251E} 突变小鼠(buff, bf)证明 VPS33A^{D251E} 突变导致自噬体-溶酶体融合缺陷^[98]。他们发现 bf 小鼠自发活动减少、运动学习能力下降、细胞自噬减少, 大脑浦肯野细胞的数量也明显减少。bf 小鼠胚胎成纤维细胞自噬体和溶酶体的融合存在缺陷, 但不影响细胞内吞过程内体与溶酶体的融合。突变的 VPS33A^{D251E} 与自噬 SNARE 复合体 STX17-VAMP8-SNAP29 的直接相互作用增强。此外, VPS33A 突变体增强了与其他 HOPS 亚基如 VPS41、VPS39、VPS18 和 VPS11(而非 VPS16)的相互作用, VPS33A^{Y440D} 则减少与若干其他 HOPS 亚基间的相互作用从而减弱与 STX17 的相互作用。该研究证明 VPS33A^{D251E} 点突变促进 HOPS 复合体的组装及其与自噬 SNARE 复合体的相互作用, 特异地影响自噬体和溶酶体的融合过程, 损伤细胞的基础自噬活性。该研究提示细胞基础自噬缺陷与浦肯野细胞减少相关, 为神经退行性疾病的治疗提供了新的线索。

CRL4 泛素连接酶在卵母细胞减数分裂中的作用 卵母细胞减数分裂是一种高度特化、严谨调控的产生可受精单倍体配子的细胞周期。CRL4(Cullin-ring ligase-4)泛素连接酶对于体细胞的增殖、存活和基因组稳定性具有重要调节作用。但是, CRL4 在细胞减数分裂和染色体分离以及哺乳动物卵母细胞中的作用还很不清楚。浙江大学范衡宇研究组与中国科学院动物研究所孙青原研究组合作, 利用基因敲除小鼠, 研究了 CRL4 在调控哺乳动物卵母细胞减数分裂成熟中的生理功能及其分子机制。他们实时观察了编码 CRL4 重要亚基的 *Ddb1* 基因敲除以后卵母细胞减数分裂的进程, 发现 CRL4 对于卵母细胞减数分裂细胞周期的顺利进行和同源染色体的正确分离至关重要。他们证实 CRL4 通过其底物识别蛋白 DCAF1 结合卵母细胞中的重要蛋白磷酸酶 PP2A, 使其泛素化并被降解, 推动减数分裂的细胞周期进程, 促进同源染色体分离和卵子的极体排放。编码 PP2A 亚基的 *Ppp2r1a* 基因敲除可以挽救 *Ddb1* 或者 *Dcaf1* 基因缺失导致的减数分裂缺陷^[99]。该研究首次证实了 CRL4 泛素连接酶在减数分裂细胞周期调控中的生理功能, 并揭示减数分裂过程中 PP2A 的降解是卵子成熟和受精的重要前提条件, 为深入理

解卵母细胞减数分裂及雌性生育力调控机制方面提供了新的理论基础。

E3 泛素连接酶 RNF152 通过使 RagA GTPase 泛素化抑制哺乳动物 mTORC1 激活 雷帕霉素靶蛋白复合物1(mTORC1)在应对各种环境刺激调节细胞增殖、蛋白合成、营养转运、自噬以及脂质代谢等过程中发挥关键的作用。Rag 蛋白家族是类似 Ras 的小 GTPase。在氨基酸存在的情况下,异源二聚体的 Rag GTPase 对于 mTORC1 招募到溶酶体使其激活是必需的,但是目前对于氨基酸调控的 Rag 激活机制并不完全了解。华东师范大学王平研究组发现 E3 泛素连接酶 RNF152 通过使 RagA 泛素化抑制 mTORC1 激活。他们发现 RNF152 以一种受氨基酸调节的方式与 RagA 相互作用并使其 K63 位点泛素化,从而抑制 RagA 和 mTORC1 的激活。RagA 泛素化位点的突变可以阻断 RNF152 的这一效应,并促进 RagA 介导的 mTORC1 激活。RNF152 介导的泛素化为 RagA 招募抑制因子 GATOR1 蛋白质复合物提供了一个锚定点,RagA 的泛素化促进其与 GATOR1 结合。*RNF152* 敲除可导致 mTORC1 的异常激活,从而保护细胞免于氨基酸饥饿诱导的自噬^[100]。该研究揭示了氨基酸调控的 Rag 激活及其调节 mTORC1 信号的新机制。

TGF- β I 型受体内化进入 caveolin-1 和 EEA1 双阳性早期内体 真核细胞通过内吞(Endocytosis)过程可以内化(Internalization)多种分子进而调控信号转导、神经传递过程以及细胞质膜的组成等。两种最主要的内吞途径——网格蛋白(Clathrin)和胞膜窖(Caveolae)介导的内吞作用均参与 TGF- β 受体的内化过程,但是这两种途径之间是否有相互作用依然未知。中国科学院化学研究所方晓红、清华大学陈晔光、北京大学第三医院张幼怡等研究团队合作,发现 TGF- β I 型受体(T β R I)内化进入 caveolin-1 和 EEA1 双阳性早期内吞体(Early endosome)。他们实时追踪荧光标记的 TGF- β I 型受体内化的动态过程,发现在介导了 T β R I 的内化之后,网格蛋白包被的囊泡和胞膜窖囊泡会在细胞质膜下融合,形成一种新型的 caveolin-1 和网格蛋白双阳性的囊泡。进一步研究发现,小 GTPase Rab5 可以调控这种融合的囊泡,使之靶向到早期内吞体,从而将内化的

I 型受体运输到 caveolin-1 和 EEA1 双阳性的早期内吞体。此外,他们还发现 caveolin-1 阳性的早期内吞体还有 Smad3/SARA、Rab11 和 Smad7/Smurf2 分布,说明这种新发现的早期内吞体可能作为一个多功能装置参与 TGF- β 信号通路和受体的循环和降解^[101]。该研究发现了在 TGF- β 信号转导过程中,由网格蛋白包被的囊泡和胞膜窖囊泡直接融合的一种全新的内吞模式,为研究真核细胞的内吞过程提供了新的思路,同时也有助于对 TGF- β 信号的转导机制有更深入的理解。

5.4 哺乳动物炎症和细胞死亡

多巴胺通过抑制 NLRP3 炎症小体调控系统炎症反应 炎症小体(Inflammasome)是一种由细胞质内天然免疫识别受体参与组装的多蛋白复合物,能够介导 IL-1 等多种炎症介质的产生,对炎症反应的发生至关重要,并参与肿瘤、神经退行性疾病、代谢性疾病等多种人类炎症相关的重大疾病的发生发展。由于炎症小体在炎症性疾病发生中具有关键作用,其活化必然受到机体严格的调控,但是炎症小体活化的调控机制还很不清楚。中国科技大学周荣斌和田志刚研究组发现小鼠中多巴胺可通过抑制 NLRP3 炎症小体进而控制全身炎症反应,揭示了炎症小体的一个内源性调控机制。他们发现多巴胺可通过多巴胺 D1 受体(DRD1)抑制 NLRP3 炎症小体。DRD1 信号通过第二信使环腺苷酸(cAMP)负向调控 NLRP3 炎症小体,cAMP 与 NLRP3 结合,通过 E3 泛素连接酶促进 NLRP3 泛素化及降解。更重要的是,在体内生理环境下多巴胺和 DRD1 信号可以抑制 NLRP3 炎症小体依赖性的炎症,包括神经毒素诱导的神经炎症、LPS 诱导的全身炎症,以及针状尿酸盐结晶诱导的腹膜炎^[102]。该研究证明神经递质多巴胺不仅是神经传递的关键分子,还具有调节免疫反应的重要生理功能,为神经炎症相关的神经退行性疾病的诊治提供了新的策略和靶点。

细胞焦亡的关键分子机制 细胞焦亡(Pyroptosis)又称细胞炎性坏死,是机体受到病原微生物感染后启动的免疫防御反应,其本质上是一种激活强烈炎症反应的程序性细胞坏死,在拮抗和清除病原微生物感染以及内源危险信号中发挥重要作用。

细胞焦亡主要由两种炎性 caspase 介导,包括 caspase-1 和 caspase-4/5/11。北京生命科学研究所邵峰研究组之前的研究发现了多种能够激活炎性 caspase 的免疫受体蛋白,但是对活化的 caspase 引发细胞焦亡的机制依然所知甚少。2015 年,邵峰研究组利用 CRISPR/Cas 技术,在小鼠的巨噬细胞中针对 caspase-1 和 caspase-11 介导的细胞焦亡通路分别进行了全基因组范围的遗传筛选,这两组筛选都鉴定到了一个名为 GSDMD 的功能未知蛋白可能具有促进细胞焦亡的作用。他们证实 GSDMD 缺失可以完全抑制所有已知炎症小体和细菌脂多糖(LPS,又称为内毒素)引起的细胞焦亡,并发现 GSDMD 的缺失并不抑制 caspase-1 本身的激活和对下游白介素 1 β 的切割,但切割后成熟的白介素 1 β 却几乎不能分泌到细胞外,显示细胞焦亡对于白介素 1 β 的分泌必不可少。他们还证实炎性 caspase 可对 GSDMD 进行特异性的切割,切割后释放出来的 N 端结构域具有诱发细胞焦亡的活性,其自身就足以引发细胞焦亡。他们进一步的研究结果还发现,GSDMD 所属的 Gasdermin 蛋白家族的 N 端大都可以引发细胞焦亡,通过多种机制响应病原微生物感染,最终激活天然免疫反应^[103]。该研究首次发现了 Gasdermin 蛋白家族诱导细胞焦亡的功能,开辟了一个新的程序性细胞坏死的研究领域;揭示了细胞焦亡和炎性坏死的关键分子机制,为多种自身炎症性疾病的治疗提供了全新的理论基础和治疗靶点。该工作入选了中国科协生命科学学会联合体首次评选的 2015 年度“中国生命科学领域十大进展”。

程序性坏死过程中 RIP3 激活的新机制 程序性坏死(Programmed necrotic death)又称坏死性凋亡(Necroptosis),是一种由死亡受体介导的 caspase 非依赖性的细胞死亡。程序性坏死失调与炎症性疾病、缺血性心脑血管病、神经退行性疾病等多种疾病的发生发展密切相关。受体相互作用蛋白激酶 1(Receptor-interacting protein kinase 1, RIP1)和受体相互作用蛋白激酶 3(RIP3)是程序性坏死的关键调控因子。北京生命科学研究所王晓东研究组之前的研究发现 RIP3 是在细胞程序性坏死通路中必不可少的信号传递蛋白,可被 RIP1、TRIF 在内的多种上游信号激活,从而介导坏死信号。2015 年,王晓东研究

组沈志荣博士等发现 HSP90 和 CDC37 协同伴侣分子复合物是 RIP3 激活及诱导程序性坏死的必要条件。他们发现这一复合物通过与 RIP3 相互作用,介导 RIP3 与 RIP1 的结合,进而调控程序性坏死的发生。利用 HSP90 的化学抑制剂可通过阻止 RIP3 激活从而有效地阻断坏死信号;同时敲低 CDC37 的细胞也无法响应程序性坏死信号的刺激。他们还发现当前作为一种癌症疗法处于临床研发阶段的 HSP90 抑制剂,能够在动物水平抑制 TNF- α 诱导的细胞坏死,从而抑制大鼠中 TNF- α 诱导的全身性炎症反应综合征^[104]。该研究揭示了程序性坏死过程中 RIP3 激活的一个重要调节机制,为抑制程序性坏死以及相关疾病的治疗提供了新的理论基础。

5.5 哺乳动物组织损伤修复和再生

急性炎症参与启动新生小鼠心肌再生应答 成年哺乳动物心肌受损后心肌细胞增殖再生能力极差,导致纤维化瘢痕修复,随之而来会造成心功能受损;与之形成鲜明对照的是,新生 1 天龄小鼠心脏切除 10%的心尖组织后,会激发以心肌细胞增殖为代表的一系列心脏再生反应,21 天之内完全再生修复。急性炎症在心脏损伤后迅速发生,通常被认为是导致成年小鼠心脏瘢痕组织形成、影响心脏再生的负面因素。然而,对于急性炎症在新生小鼠心脏再生过程中的作用却知之甚少。中国医学科学院阜外医院心血管疾病国家重点实验室胡盛寿院士课题组发现急性炎症作为心肌损伤后最早出现的机体应答能够诱导心肌细胞增殖和心肌组织再生。他们发现,心肌组织显微注射具有免疫原性的酵母多糖 A(Zymosan A)诱导的无损伤急性炎症能够有效促进心肌细胞增殖。新生小鼠心脏损伤所诱导的心脏再生可以被免疫抑制剂所抑制,并证实敲除 *IL-6* 同样可以造成受损后心肌细胞增殖能力丢失。他们还发现,心肌细胞特异性敲除 *IL-6* 下游的 *STAT3* 之后,可以导致心尖切除术所引起的心肌细胞增殖明显减少^[105]。该研究证明心脏急性炎症在新生小鼠心肌细胞再生过程中是必不可少的,并发现 *IL-6*-*STAT3* 信号通路在新生小鼠心脏损伤诱导的再生过程中发挥了至关重要的作用,为人类心脏疾病的再生医疗策略提供了新的线索。

非平滑肌肌球蛋白重链 Myh9 可通过限制 Lgr5+干细胞介导结肠炎诱导的肠上皮细胞损伤 成年哺乳动物的肠道上皮自我更新十分迅速, Lgr5+干细胞对肠道上皮的稳态至关重要, 靶向这类细胞有望治疗许多肠道疾病。清华大学陈晔光研究组发现非平滑肌肌球蛋白 II (Non-muscle-myosin-II, NMII)重链 Myh9 可通过限制 Lgr5+干细胞介导结肠炎诱导的肠上皮细胞损伤。他们发现 Myh9 在葡聚糖硫酸钠(Dextran sulphate sodium, DSS)处理后小鼠远端结肠上皮损伤部位累积。肠上皮特异性单等位基因删除 *Myh9* 可以减轻 DSS 诱发的结肠隐窝损伤和急性结肠炎。体外腺窝培养证明 Myh9 抑制腺窝体外存活和生长, 而 NMII 抑制剂 blebbistatin 能促进 Lgr5+干细胞存活及 Lgr5 类器官生长。利用 blebbistatin 抑制 NMII 或 *Myh9* 单等位基因删除都能通过 Rac1 和 PAK1 激活 Akt, 而 Akt 激活对 Lgr5+细胞的生存及多能性至关重要。综合这些研究结果, 证明 Myh9-Rac1-PAK1-Akt 信号通路在维持 Lgr5+干细胞中发挥着重要作用^[106]。该研究揭示了调控 Lgr5+干细胞生存及多能性的新机制, 并为胃肠道上皮损伤和一些退行性疾病提供了潜在的治疗策略。

促炎因子组合可促进肌肉干细胞长期扩增 成体干细胞是非常有前途的再生医学治疗的细胞来源。肌肉干细胞是参与肌肉再生的主要细胞类型, 但与多数成体干细胞类似, 肌肉干细胞很难在体外扩增并保持其在体内修复肌肉损伤的能力。中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所胡萃研究组和王红艳研究组合作, 发现促炎因子组合可以促进保持完整干性的肌肉干细胞在体外长期扩增。他们利用 *Rag1*^{-/-}小鼠(T、B 淋巴细胞缺陷)及 *FoxNI*^{-/-}(T 细胞缺陷)小鼠研究体内肌肉干细胞增殖的淋巴细胞微环境, 证明 T 细胞诱导的急性炎症是肌肉干细胞增殖的重要微环境。他们进而鉴定出 T 细胞所分泌的最小有效细胞因子组合, 发现 4 种促炎因子 IL-1 α 、IL-13、TNF- α 和 IFN- γ 组合可以有效地促进肌肉干细胞在体外的增殖和长期传代。长期培养后的肌肉干细胞不仅保持了高效的体外分化能力, 而且能在体内高效修复肌肉损伤。在损伤修复完成后, 移植的肌肉干细胞能够正确归巢, 损伤时

能够重新激活, 并修复后续肌肉损伤。传代后的肌肉干细胞在全基因组水平上具有与体内肌肉干细胞相似的表达谱^[107]。该研究揭示了免疫细胞、急性炎症与成体干细胞增殖之间的有机联系, 为进一步深入理解免疫反应与组织器官再生的关系奠定了理论基础。该研究建立的体外长期培养肌肉干细胞系统, 为肌肉相关退行性疾病的再生医学治疗提供了强有力的技术支撑。

miR-184 氧化修饰有助其靶向调节 Bcl-xL 和 Bcl-w 活性氧(Reactive oxygen species, ROS)是需氧生物机体代谢过程中产生的一类性质活泼的代谢产物, 它可参与许多重要的生命过程, 如细胞增殖、分化、凋亡等。低浓度的 ROS 能够促进细胞的增殖, 而过量的 ROS 能够通过氧化修饰生物大分子(蛋白质、核酸)使其功能异常, 从而引起细胞损伤效应, 这样的氧化修饰与癌症、衰老、神经退行性疾病以及心血管疾病等相关。但 RNA 氧化在发育及疾病中的功能研究报道较少, miRNA 是否存在氧化修饰以及 miRNA 的氧化修饰是否具有特殊生物学功能均不清楚。青岛大学李培峰研究组揭示了氧化修饰的 miRNA 在 ROS 诱导的心肌细胞凋亡中的重要作用。他们利用大鼠心肌细胞系 H9c2 及缺血再灌注小鼠模型在细胞和动物水平证明: miR-184 经氧化修饰后会发​​生错配, 能够结合于其非天然靶标 Bcl-xL 和 Bcl-w 的 3'非翻译区, 调控它们的表达并启动细胞凋亡^[108]。该研究首次证明了 miRNA 可以被 ROS 氧化, 在非编码 RNA 的研究中具有重要意义, 也为深入理解 ROS 调控细胞功能的机制提供了全新的理论基础。

5.6 哺乳动物神经、认知与行为

血清蛋白阳性的兴奋性视觉通路触发小鼠恐惧反应 恐惧反应是动物面对来自环境的危险时做出的本能防御行为, 对于动物的生存至关重要。之前的研究表明, 视网膜细胞可将接收到的危险信号传递到恐惧中枢杏仁核, 但对于大脑中引发这种恐惧反应的机制及其具体神经环路却并不清楚。中国科学院生物物理研究所曹鹏课题组发现血清蛋白(Parvalbumin, PV)阳性的兴奋性视觉通路触发小鼠的恐惧反应。他们利用光遗传学方法刺激小鼠上丘(Superior colliculus, SC)中的神经元, 鉴定出 PV 阳

性的兴奋性投射神经元是检测逐渐逼近的视觉目标、触发恐惧反应的关键神经元亚型。特异性地刺激 PV 神经元会引起类似的恐惧反应——小鼠首先试图逃跑但很快却僵住,而刺激表达生长抑素(Somatostatin, SST)或血管活性肠肽(Vasoactive intestinal peptide, VIP)的神经元则不会引起恐惧反应。他们进而对上丘中 PV 神经元的形态和电生理特征进行了检测,发现 PV 神经元是一类谷氨酸型的兴奋性神经元,其轴突能够延伸到上丘的表面,以便接受来自视觉的信号刺激。进一步研究发现 PV⁺ SC-PBGN 通路能够产生类似的恐惧反应,并将预警信息间接传送到最终的恐惧反应中枢杏仁核,从而特异地引发强烈的“战斗—逃跑”反应。如果反复刺激该神经环路,动物出现类似创伤后应激综合征(PTSD)的核心症状^[109]。该研究发现了将逼近的危险视觉景象转变为本能恐惧反应的关键神经元,为深入理解恐惧反应的细胞机制以及 PTSD 的发病机理奠定了重要基础。

转录因子 COUP-TFI 和 COUP-TFII 是小鼠嗅球颗粒细胞产生所必需的 神经干细胞存在于成体哺乳动物侧脑室的室管膜下层(Subventricular zone, SVZ)。原始神经干细胞产生快速分裂的中间前体细胞,进而形成神经母细胞并沿着喙侧迁移流(Rostral migratory stream, RMS)迁移至嗅球。复旦大学杨振纲课题组研究了核孤儿受体转录因子 COUP-TFI 和 COUP-TFII 在嗅球中间神经元发育过程中的作用,并发现它们是小鼠嗅球颗粒细胞产生所必需的。他们发现,在出生后小鼠的室管膜下层神经干细胞中,COUP-TFI 的表达从前端至尾端梯度升高。COUP-TFI 在成年小鼠 SVZ-RMS-OB 系统中迁移的神经母细胞和成熟的中间神经元均有表达。相比之下,只有少部分 COUP-TFII 阳性细胞存在于 SVZ-RMS-OB 系统中。在 SVZ 区神经干细胞中特异性敲除 COUP-TFI 导致嗅球球旁细胞的酪氨酸羟化酶表达下降,并上调 COUP-TFII 在 SVZ、RMS 和嗅球深处颗粒细胞层的表达。在 COUP-TFI/COUP-TFII 双基因敲除的 SVZ 中,原神经基因 *Ascl1* 表达上调并导致细胞增殖增加。此外,COUP-TFI/II 缺失的神经母细胞迁移受损,导致钙网膜蛋白阳性(CR⁺)和神经元特异性核蛋白阳性(NeuN⁺)的细胞异常累积,同时导致 SVZ 区细胞凋亡增加。最终发现嗅球中大部分 Pax6⁺

和部分 CR⁺颗粒细胞消失^[110]。该研究揭示了 SVZ 区神经干细胞 COUP-TFI 和 COUP-TFII 在嗅球颗粒细胞产生过程中的作用,提示 SVZ 区的缺陷可能特异性地影响嗅球颗粒细胞的祖细胞。

β -Arrestin 偏好的信号通路介导记忆再巩固 β -肾上腺素受体(β -adrenergic receptor, β -AR)是一种重要的激素和神经递质受体。长期以来人们一直认为, β -肾上腺素在神经系统中的功能(例如记忆再巩固)是由 G 蛋白偶联的信号通路介导的。复旦大学马兰课题组发现介导记忆再巩固的其实是 β -Arrestin 依赖的 β -肾上腺素信号通路。他们发现记忆提取(重新激活)会使 β 1-AR/ β -Arrestin2/ERK 通路在不同的大脑区域激活,刺激蛋白质从头合成并诱导记忆提取后的稳定性重建。而 *β -arrestin2* 基因敲除小鼠在物体识别、Morris 水迷宫等试验中的记忆再巩固受到干扰。在记忆重新激活之后,同时阻断 β -肾上腺素的 G 蛋白通路和 β -Arrestin 通路,结果破坏了记忆再巩固。但选择性地阻断 G 蛋白/cAMP/PKA 信号通路而非 β -Arrestin/ERK 信号通路,并不会抑制记忆再巩固。进一步研究表明,在 *β -arrestin2* 基因敲除小鼠的内嗅皮层中表达 *β -arrestin2*,可以恢复 β 1 肾上腺素的 ERK 信号转导和记忆再巩固,这一过程不依赖于 G 蛋白通路^[111]。该研究对 β -肾上腺素在记忆再巩固中的功能由 G 蛋白偶联的信号通路介导这一传统观点提出了挑战,也提示 β -Arrestin 偏爱性配体可能在记忆相关疾病治疗中具有潜在的应用前景。

神经活性诱导的 GluN2A-NMDAR 突触递送依赖内质网伴侣蛋白 Bip, 而且与恐惧记忆有关 N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)是大脑最重要的受体之一,它参与大脑发育和可塑性调节。正因如此,NMDAR 受到严谨的调控,其活性异常与阿尔茨海默症、帕金森症、抑郁症、精神分裂症和癫痫等神经疾病有关。NMDAR 主要由亚单位 GluN1、GluN2A 或 GluN2B 组成。突触表达的不同 NMDAR 类型和相对数量对于钙离子依赖的信号转导和突触可塑性非常关键。此前有研究表明,不同 NMDAR 亚型的突触转运受到差异性的调控,但人们还不了解其中的分子机制。浙江大学医学院罗建红研究组发现,神经活性诱导的 GluN2A-NMDAR 突触递送,依赖内质网伴侣蛋白 Bip,而且与恐惧记忆有关。他们发

现 Bip 能够选择性地与 GluN2A 相互作用,介导 GluN2A-NMDAR 的组装和转运。用多肽干扰 Bip 和 GluN2A 的相互作用,可以有效阻断特异性的 GluN2A 突触转运。值得注意的是,事先将干扰性多肽注射到小鼠腹腔,会影响小鼠的恐惧条件反射^[112]。这项研究揭示了 Bip 介导的神经活性依赖的 GluN2A-NMDAR 供给机制,及其与恐惧记忆形成之间的相关性。

动物磁感应遗传机制研究的重大突破——首次报道 MagR 的磁感应功能 人们很早就知道,许多动物具有磁感应(Magnetic sensing,或称为 magnetoreception)能力,即能够感知地球的磁场,并据此完成定向、长途迁徙等重要生命活动。然而,动物如何感知磁场长期以来一直是一个未解之谜。北京大学谢灿团队与他人合作,通过理论假设结合遗传筛选,首次报道了一个潜在的磁受体(Magnetic receptor或 magnetoreceptor) MagR。MagR 本身是一种含有铁-硫簇(Fe-S cluster)的蛋白,能够与光敏隐花色素(Cryptochrome, Cry)相互作用,形成一种杆状的含铁元素的蛋白多聚体(Cry/MagR,他们称之为磁感应复合物, magnetosensor),从而对磁场做出反应。该复合体从昆虫到人都是保守的。这两个基因在鸽子的视网膜中共表达并且共定位。他们通过细胞、生化、结构、生物物理等多种手段证明,该蛋白复合体具备内源磁性,能识别外界磁场(包括地磁场)并自动顺应磁场方向排列^[113]。该成果不仅为磁感应遗传与分子机制的研究带来了该领域盼望已久的突破,而且必将为这一神秘现象在生物大分子的分离纯化、新型磁性生物材料、磁遗传学(Magnetogenetics)等多种领域的潜在应用带来革命性的发展。该工作入选了中国科协生命科学学会联合体首次评选的 2015 年度“中国生命科学领域十大进展”。

致谢:

感谢李振华、李修彬、刘澜涛、张翀、王燕晓、朱良、余振洋、崔亚雄、唐玉玲、林景亭、杨桂美、程振朝、李莲燕、鲁崇建、李文渊、张雨田、刘达、王一琰、王美文、石源、杨泽宇、陈成、张亚鸽、韩冰舟、白海鹏在本文撰写中给予的帮助。

参考文献(References):

- [1] Chen YC, Cui YQ, Shen B, Niu YY, Zhao XY, Wang L, Wang JY, Li W, Zhou Q, Ji WZ, Sha JH, Huang XX. Germline acquisition of Cas9/RNA-mediated gene modifications in monkeys. *Cell Res*, 2015, 25(2): 262–265.
- [2] Wan HF, Feng CJ, Teng F, Yang SH, Hu BY, Niu YY, Xiang AP, Fang WZ, Ji WZ, Li W, Zhao XY, Zhou Q. One-step generation of *p53* gene biallelic mutant *Cynomolgus* monkey via the CRISPR/Cas system. *Cell Res*, 2015, 25(2): 258–261.
- [3] Kang Y, Zheng B, Shen B, Chen YC, Wang L, Wang JY, Niu YY, Cui YQ, Zhou JK, Wang H, Guo XJ, Hu B, Zhou Q, Sha JH, Ji WZ, Huang XX. CRISPR/Cas9-mediated *Dax1* knockout in the monkey recapitulates human AHC-HH. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(25): 7255–7264.
- [4] Chen YC, Zheng YH, Kang Y, Yang WL, Niu YY, Guo XY, Tu ZC, Si CY, Wang H, Xing RX, Pu XQ, Yang SH, Li SH, Ji WZ, Li XJ. Functional disruption of the *dystrophin* gene in rhesus monkey using CRISPR/Cas9. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(13): 3764–3774.
- [5] Chen YC, Niu YY, Li YJ, Ai ZY, Kang Y, Shi H, Xiang Z, Yang ZH, Tan T, Si W, Li W, Xia XS, Zhou Q, Ji WZ, Li TQ. Generation of *Cynomolgus* monkey chimeric fetuses using embryonic stem cells. *Cell Stem Cell*, 2015, 17(1): 116–124.
- [6] Wu HB, Wang YS, Zhang Y, Yang MQ, Lv JX, Liu J, Zhang Y. TALE nickase-mediated *SP110* knockin endows cattle with increased resistance to tuberculosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(13): E1530–E1539.
- [7] Zou QJ, Wang XM, Liu YZ, Ouyang Z, Long HB, Wei S, Xin JG, Zhao BT, Lai SS, Shen J, Ni QC, Yang HQ, Zhong HL, Li L, Hu MH, Zhang QJ, Zhou ZD, He JX, Yan QM, Fan NN, Zhao Y, Liu ZM, Guo L, Huang J, Zhang GG, Ying J, Lai LX, Gao X. Generation of gene-target dogs using CRISPR/Cas9 system. *J Mol Cell Biol*, 2015, 7(6): 580–583.
- [8] Kou ZH, Wu Q, Kou XC, Yin CH, Wang H, Zuo ZT, Zhuo Y, Chen A, Gao SR, Wang XQ. CRISPR/Cas9-mediated genome engineering of the ferret. *Cell Res*, 2015, 25(12): 1372–1375.
- [9] Zhong CQ, Yin Q, Xie ZF, Bai MZ, Dong R, Tang W, Xing YH, Zhang HL, Yang SM, Chen LL, Bartolomei MS, Ferguson-Smith A, Li DS, Yang L, Wu YX, Li JS. CRISPR-Cas9-mediated genetic screening in mice with haploid embryonic stem cells carrying a guide RNA li-

- brary. *Cell Stem Cell*, 2015, 17(2): 221–232.
- [10] Wu YX, Zhou H, Fan XY, Zhang Y, Zhang M, Wang YH, Xie ZF, Bai MZ, Yin Q, Liang D, Tang W, Liao JY, Zhou CK, Liu WJ, Zhu P, Guo HS, Pan H, Wu CL, Shi HJ, Wu LG, Tang FC, Li JS. Correction of a genetic disease by CRISPR-Cas9-mediated gene editing in mouse spermatogonial stem cells. *Cell Res*, 2015, 25(1): 67–79.
- [11] Yuan Y, Zhou Q, Wan HF, Shen B, Wang XP, Wang M, Feng CJ, Xie MM, Gu TT, Zhou T, Fu R, Huang XX, Zhou Q, Sha JH, Zhao XY. Generation of fertile offspring from *Kit^w/Kit^{wv}* mice through differentiation of gene corrected nuclear transfer embryonic stem cells. *Cell Res*, 2015, 25(7): 851–863.
- [12] Li JH, Shou J, Guo Y, Tang YX, Wu YH, Jia ZL, Zhai Y, Chen ZF, Xu Q, Wu Q. Efficient inversions and duplications of mammalian regulatory DNA elements and gene clusters by CRISPR/Cas9. *J Mol Cell Biol*, 2015, 7(4): 284–298.
- [13] Li J, Zhang BB, Ren YG, Gu SY, Xiang YH, Du JL. Intron targeting-mediated and endogenous gene integrity-maintaining knockin in zebrafish using the CRISPR/Cas9 system. *Cell Res*, 2015, 25(5): 634–637.
- [14] Qin W, Liang F, Feng Y, Bai HP, Yan RB, Li S, Lin S. Expansion of CRISPR/Cas9 genome targeting sites in zebrafish by Csy4-based RNA processing. *Cell Res*, 2015, 25(9): 1074–1077.
- [15] Long LJ, Guo H, Yao D, Xiong K, Li YJ, Liu PP, Zhu ZY, Liu D. Regulation of transcriptionally active genes via the catalytically inactive Cas9 in *C. elegans* and *D. rerio*. *Cell Res*, 2015, 25(5): 638–641.
- [16] Du YN, Meng QZ, Zhang J, Sun M, Shen B, Jiang H, Kang NN, Gao JM, Huang XX, Liu JH. Functional annotation of cis-regulatory elements in human cells by dCas9/sgRNA. *Cell Res*, 2015, 25(7): 877–880.
- [17] Liang PP, Xu YW, Zhang XY, Ding CH, Huang R, Zhang Z, Lv J, Xie XW, Chen YX, Li YJ, Sun Y, Bai YF, Zhou SY, Ma WB, Zhou CQ, Huang JJ. CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human tripronuclear zygotes. *Protein Cell*, 2015, 6(5): 363–372.
- [18] Lu LZ, Chen Y, Wang Z, Li XF, Chen WH, Tao ZR, Shen JD, Tian Y, Wang DQ, Li GQ, Chen L, Chen F, Fang DM, Yu LL, Sun YD, Ma Y, Li JJ, Wang J. The goose genome sequence leads to insights into the evolution of waterfowl and susceptibility to fatty liver. *Genome Biol*, 2015, 16: 89.
- [19] Liu Y, Zhou Q, Wang YJ, Luo LH, Yang J, Yang LF, Liu M, Li YR, Qian TM, Zheng Y, Li MY, Li J, Gu Y, Han ZJ, Xu M, Wang YJ, Zhu CL, Yu B, Yang YM, Ding F, Jiang JP, Yang HM, Gu XS. *Gekko japonicus* genome reveals evolution of adhesive toe pads and tail regeneration. *Nat Commun*, 2015, 6: 10033.
- [20] Ao JQ, Mu YN, Xiang LX, Fan DD, Feng MJ, Zhang SC, Shi Q, Zhu LY, Li T, Ding Y, Nie L, Li QH, Dong WR, Jiang L, Sun B, Zhang XH, Li MY, Zhang HQ, Xie SB, Zhu YB, Jiang XT, Wang XH, Mu PF, Chen W, Yue Z, Wang Z, Wang J, Shao JZ, Chen XH. Genome sequencing of the Perciform fish *Larimichthys crocea* provides insights into molecular and genetic mechanisms of stress adaptation. *PLoS Genet*, 2015, 11(4): e1005118.
- [21] Wang YP, Lu Y, Zhang Y, Ning ZM, Li Y, Zhao Q, Lu HY, Huang R, Xia XQ, Feng Q, Liang XF, Liu KY, Zhang L, Lu TT, Huang T, Fan DL, Weng QJ, Zhu CR, Lu YQ, Li WJ, Wen ZR, Zhou CC, Tian QL, Kang XJ, Shi MJ, Zhang WT, Jang SH, Du FK, He S, Liao LJ, Li YM, Gui B, He HH, Ning Z, Yang C, He LB, Luo LF, Yang R, Luo Q, Liu XC, Li SS, Huang W, Xiao L, Lin HR, Han B, Zhu ZY. The draft genome of the grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) provides insights into its evolution and vegetarian adaptation. *Nat Genet*, 2015, 47(6): 625–631.
- [22] Ai HS, Fang XD, Yang B, Huang ZY, Chen H, Mao LK, Zhang F, Zhang L, Cui LL, He WM, Yang J, Yao XM, Zhou LS, Han LJ, Li J, Sun SL, Xie XH, Lai BX, Su Y, Lu Y, Yang H, Huang T, Deng WJ, Nielsen R, Ren J, Huang LS. Adaptation and possible ancient interspecies introgression in pigs identified by whole-genome sequencing. *Nat Genet*, 2015, 47(3): 217–225.
- [23] Li WJ, Yi PS, Ou GS. Somatic CRISPR-Cas9-induced mutations reveal roles of embryonically essential dynein chains in *Caenorhabditis elegans* cilia. *J Cell Biol*, 2015, 208(6): 683–692.
- [24] Cheng SY, Wang K, Zou W, Miao R, Huang YL, Wang HB, Wang XC. PtdIns(4,5)P₂ and PtdIns3P coordinate to regulate phagosomal sealing for apoptotic cell clearance. *J Cell Biol*, 2015, 210(3): 485–502.
- [25] Zhao XC, Yang H, Liu W, Duan XY, Shang WN, Xia DJ, Tong C. Sec22 regulates endoplasmic reticulum morphology but not autophagy and is required for eye development in *Drosophila*. *J Biol Chem*, 2015, 290(12): 7943–7951.
- [26] Ge WZ, Deng QN, Guo T, Hong X, Kugler JM, Yang XH, Cohen SM. Regulation of pattern formation and

- gene amplification during *Drosophila* oogenesis by the miR-318 microRNA. *Genetics*, 2015, 200(1): 255–265.
- [27] Yang F, Zhao R, Fang XF, Huang HW, Xuan Y, Ma YT, Chen HY, Cai T, Qi YJ, Xi RW. The RNA surveillance complex *Pelo-Hbs1* is required for transposon silencing in the *Drosophila* germline. *EMBO Rep*, 2015, 16(8): 965–974.
- [28] Lu TL, Wang S, Gao Y, Mao Y, Yang ZH, Liu LP, Song XQ, Ni JQ, Xie T. COP9-Hedgehog axis regulates the function of the germline stem cell progeny differentiation niche in the *Drosophila* ovary. *Development*, 2015, 142(24): 4242–4252.
- [29] Li CY, Kan LJ, Chen Y, Zheng XD, Li WN, Zhang WX, Cao L, Lin XH, Ji SM, Huang SJ, Zhang GQ, Liu XH, Tao Y, Wu SA, Chen DH. Ci antagonizes Hippo signaling in the somatic cells of the ovary to drive germline stem cell differentiation. *Cell Res*, 2015, 25(10): 1152–1170.
- [30] Sun J, Wei HM, Xu J, Chang JF, Yang ZH, Ren XJ, Lv WW, Liu LP, Pan LX, Wang X, Qiao HH, Zhu B, Ji JY, Yan D, Xie T, Sun FL, Ni JQ. Histone H1-mediated epigenetic regulation controls germline stem cell self-renewal by modulating H4K16 acetylation. *Nat Commun*, 2015, 6: 8856.
- [31] Wang CH, Guo XT, Dou K, Chen HY, Xi RW. Ttk69 acts as a master repressor of enteroendocrine cell specification in *Drosophila* intestinal stem cell lineages. *Development*, 2015, 142(19): 3321–3331.
- [32] Ren WY, Zhang Y, Li M, Wu LF, Wang GL, Baeg GH, You J, Li ZH, Lin XH. Windpipe controls *Drosophila* intestinal homeostasis by regulating JAK/STAT pathway via promoting receptor endocytosis and lysosomal degradation. *PLoS Genet*, 2015, 11(4): e1005180.
- [33] Wang C, Zhang WX, Yin MX, Hu LX, Li PX, Xu JJ, Huang HL, Wang SM, Lu Y, Wu WQ, Ho MS, Li L, Zhao Y, Zhang L. Suppressor of Deltex mediates Pez degradation and modulates *Drosophila* midgut homeostasis. *Nat Commun*, 2015, 6: 6607.
- [34] Zhang HT, Li CQ, Chen HQ, Wei CX, Dai F, Wu HG, Dui W, Deng WM, Jiao RJ. SCF^{Slimb} E3 ligase-mediated degradation of Expanded is inhibited by the Hippo pathway in *Drosophila*. *Cell Res*, 2015, 25(1): 93–109.
- [35] Ma XJ, Chen YJ, Xu WY, Wu NN, Li MQ, Cao Y, Wu SA, Li QT, Xue L. Impaired Hippo signaling promotes Rho1-JNK-dependent growth. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(4): 1065–1070.
- [36] Zhang GQ, Huang H, Liu D, Cheng Y, Liu XL, Zhang WX, Yin RC, Zhang DP, Zhang P, Liu JZ, Li CY, Liu BD, Luo YW, Zhu YX, Zhang N, He SM, He C, Wang HL, Chen DH. N⁶-methyladenine DNA modification in *Drosophila*. *Cell*, 2015, 161(4): 893–906.
- [37] Yang HW, He BZ, Ma HJ, Tsaur SC, Ma CY, Wu Y, Ting CT, Zhang YE. Expression profile and gene age jointly shaped the genome-wide distribution of premature termination codons in a *Drosophila melanogaster* population. *Mol Biol Evol*, 2015, 32(1): 216–228.
- [38] Bi Y, Ren XL, Yan C, Shao JF, Xie DY, Zhao ZY. A Genome-wide hybrid incompatibility landscape between *Caenorhabditis briggsae* and *C. nigoni*. *PLoS Genet*, 2015, 11(2): e1004993.
- [39] Zhao HQ, Zhang P, Gao H, He XD, Dou YM, Huang AY, Liu XM, Ye AY, Dong MQ, Wei LP. Profiling the RNA editomes of wild-type *C. elegans* and *ADAR* mutants. *Genome Res*, 2015, 25(1): 66–75.
- [40] Gao JL, Fan YJ, Wang XY, Zhang Y, Pu J, Li L, Shao W, Zhan S, Hao JJ, Xu YZ. A conserved intronic UI snRNP-binding sequence promotes trans-splicing in *Drosophila*. *Genes Dev*, 2015, 29(7): 760–771.
- [41] Mao H, Zhu CM, Zong DD, Weng CC, Yang XW, Huang H, Liu D, Feng XZ, Guang SH. The Nrde pathway mediates small-RNA-directed histone H3 lysine 27 trimethylation in *Caenorhabditis elegans*. *Curr Biol*, 2015, 25(18): 2398–2403.
- [42] Wu CX, Chen YJ, Wang F, Chen CY, Zhang SP, Li CJ, Li WZ, Wu SA, Xue L. Pelle modulates dFoxO-mediated cell death in *Drosophila*. *PLoS Genet*, 2015, 11(10): e1005589.
- [43] Xu HJ, Xue J, Lu B, Zhang XC, Zhuo JC, He SF, Ma XF, Jiang YQ, Fan HW, Xu JY, Ye YX, Pan PL, Li Q, Bao YY, Nijhout HF, Zhang CX. Two insulin receptors determine alternative wing morphs in planthoppers. *Nature*, 2015, 519(7544): 464–467.
- [44] Wen D, Rivera-Perez C, Abdou M, Jia QQ, He QY, Liu X, Zyaan O, Xu JJ, Bendena WG, Tobe SS, Noriega FG, Palli SR, Wang J, Li S. Methyl farnesoate plays a dual role in regulating *Drosophila* metamorphosis. *PLoS Genet*, 2015, 11(3): e1005038.
- [45] Ho VWS, Wong MK, An XM, Guan DG, Shao JF, Ng HCK, Ren XL, He K, Liao JY, Ang YJ, Chen L, Huang XT, Yan B, Xia YJ, Chan LLH, Chow KL, Yan H, Zhao ZY. Systems-level quantification of division timing reveals a common genetic architecture controlling asynchrony and fate asymmetry. *Mol Syst Biol*, 2015, 11(6): 814.

- [46] Tian XJ, Gala U, Zhang YP, Shang WN, Nagarkar Jaiswal S, di Ronza A, Jaiswal M, Yamamoto S, Sandoval H, Duraine L, Sardiello M, Sillitoe RV, Venkatachalam K, Fan HY, Bellen HJ, Tong C. A voltage-gated calcium channel regulates lysosomal fusion with endosomes and autophagosomes and is required for neuronal homeostasis. *PLoS Biol*, 2015, 13(3): e1002103.
- [47] Tian D, Diao M, Jiang YX, Sun LF, Zhang Y, Chen ZC, Huang SJ, Ou GS. Anillin regulates neuronal migration and neurite growth by linking RhoG to the actin cytoskeleton. *Curr Biol*, 2015, 25(9): 1135–1145.
- [48] Wang JB, Chitturi J, Ge QL, Laskova V, Wang W, Li X, Ding M, Zhen M, Huang X. The *C. elegans* COE transcription factor UNC-3 activates lineage-specific apoptosis and affects neurite growth in the RID lineage. *Development*, 2015, 142(8): 1447–1457.
- [49] Cheng YS, Wang JM, Wang Y, Ding M. Synaptotagmin 1 directs repetitive release by coupling vesicle exocytosis to the Rab3 cycle. *eLife*, 2015, 4: e05118.
- [50] Zhao GL, Wu YG, Du L, Li WH, Xiong Y, Yao AY, Wang QF, Zhang YQ. *Drosophila* S6 Kinase like inhibits neuromuscular junction growth by down-regulating the BMP receptor thickveins. *PLoS Genet*, 2015, 11(3): e1004984.
- [51] Guo M, Wu TH, Song YX, Ge MH, Su CM, Niu WP, Li LL, Xu ZJ, Ge CL, Al-Mhanawi MTH, Wu SP, Wu ZX. Reciprocal inhibition between sensory ASH and ASI neurons modulates nociception and avoidance in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Commun*, 2015, 6: 5655.
- [52] Luo JT, Xu ZF, Tan ZP, Zhang ZH, Ma L. Neuropeptide receptors NPR-1 and NPR-2 regulate *Caenorhabditis elegans* avoidance response to the plant stress hormone methyl salicylate. *Genetics*, 2015, 199(2): 523–531.
- [53] Chun L, Gong JK, Yuan FL, Zhang B, Liu HK, Zheng TL, Yu T, Xu XZS, Liu JF. Metabotropic GABA signalling modulates longevity in *C. elegans*. *Nat Commun*, 2015, 6: 8828.
- [54] Zhang Y, Li WN, Li LF, Li YB, Fu R, Zhu Y, Li J, Zhou YF, Xiong SD, Zhang HM. Structural damage in the *C. elegans* epidermis causes release of STA-2 and induction of an innate immune response. *Immunity*, 2015, 42(2): 309–320.
- [55] Pan LX, Xie WB, Li KL, Yang ZH, Xu J, Zhang WH, Liu LP, Ren XJ, He ZM, Wu JY, Sun J, Wei HM, Wang DL, Xie W, Li W, Ni JQ, Sun FL. Heterochromatin remodeling by CDK12 contributes to learning in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(45): 13988–13993.
- [56] Yang Z, Yu Y, Zhang V, Tian YJ, Qi W, Wang LM. Octopamine mediates starvation-induced hyperactivity in adult *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(16): 5219–5224.
- [57] Zhang PP, He QP, Chen DB, Liu WX, Wang L, Zhang CX, Ma DY, Li W, Liu B, Liu F. G protein-coupled receptor 183 facilitates endothelial-to-hematopoietic transition via Notch1 inhibition. *Cell Res*, 2015, 25(10): 1093–1107.
- [58] He QP, Zhang CX, Wang L, Zhang PP, Ma DY, Lv JH, Liu F. Inflammatory signaling regulates hematopoietic stem and progenitor cell emergence in vertebrates. *Blood*, 2015, 125(7): 1098–1106.
- [59] Gao L, Li DT, Ma K, Zhang WJ, Xu T, Fu C, Jing CB, Jia XE, Wu S, Sun X, Dong M, Deng M, Chen Y, Zhu WG, Peng JR, Wan FY, Zhou Y, Zon LI, Pan WJ. TopBP1 governs hematopoietic stem/progenitor cells survival in zebrafish definitive hematopoiesis. *PLoS Genet*, 2015, 11(7): e1005346.
- [60] Jia XE, Ma K, Xu T, Gao L, Wu S, Fu C, Zhang WJ, Wang ZZ, Liu KY, Dong M, Jing CB, Ren CG, Dong ZW, Chen Y, Jin Y, Huang QH, Chang X, Deng M, Li L, Luo LF, Zhu J, Dang YJ, Chang HC, Zon LI, Zhou Y, Chen SJ, Pan WJ. Mutation of *krill* causes definitive hematopoiesis failure via PERK-dependent excessive autophagy induction. *Cell Res*, 2015, 25(8): 946–962.
- [61] Shi XG, He BL, Ma ACH, Guo YH, Chi YL, Man CH, Zhang WQ, Zhang YY, Wen ZL, Cheng T, Leung AYH. Functions of *idh1* and its mutation in the regulation of developmental hematopoiesis in zebrafish. *Blood*, 2015, 125(19): 2974–2984.
- [62] Wang SF, He QP, Ma DY, Xue YY, Liu F. *Irf4* regulates the choice between T lymphoid-primed progenitor and myeloid lineage fates during embryogenesis. *Dev Cell*, 2015, 34(6): 621–631.
- [63] Xu J, Zhu L, He SC, Wu Y, Jin W, Yu T, Qu JY, Wen ZL. Temporal-spatial resolution fate mapping reveals distinct origins for embryonic and adult microglia in zebrafish. *Dev Cell*, 2015, 34(6): 632–641.
- [64] Tu T, Zhang CX, Yan HW, Luo YT, Kong RR, Wen PS, Ye ZD, Chen JN, Feng J, Liu F, Wu JY, Yan XY. CD146 acts as a novel receptor for netrin-1 in promoting angiogenesis and vascular development. *Cell Res*, 2015, 25(3): 275–287.
- [65] Zhou Y, Ge R, Wang R, Liu F, Huang YF, Liu H, Hao Y,

- Zhou Q, Wang C. UXT potentiates angiogenesis by attenuating Notch signaling. *Development*, 2015, 142(4): 774–786.
- [66] Ma WR, Zhang J. Jag1b is essential for patterning inner ear sensory cristae by regulating anterior morphogenetic tissue separation and preventing posterior cell death. *Development*, 2015, 142(4): 763–773.
- [67] Xing CC, Gong B, Xue Y, Han YC, Wang YX, Meng AM, Jia SJ. TGF β 1a regulates zebrafish posterior lateral line formation via Smad5 mediated pathway. *J Mol Cell Biol*, 2015, 7(1): 48–61.
- [68] Li MH, Sun YL, Zhao JE, Shi HJ, Zeng S, Ye K, Jiang DN, Zhou LY, Sun LN, Tao WJ, Nagahama Y, Kocher TD, Wang DS. A tandem duplicate of anti-Müllerian hormone with a missense SNP on the Y chromosome is essential for male sex determination in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *PLoS Genet*, 2015, 11(11): e1005678.
- [69] Gong L, Gong HJ, Pan X, Chang CQ, Ou Z, Ye SF, Yin L, Yang LN, Tao T, Zhang ZH, Liu C, Lane DP, Peng JR, Chen J. p53 isoform Δ 113p53/ Δ 133p53 promotes DNA double-strand break repair to protect cell from death and senescence in response to DNA damage. *Cell Res*, 2015, 25(3): 351–369.
- [70] Shi H, Tao T, Huang DL, Ou Z, Chen J, Peng JR. A naturally occurring 4-bp deletion in the intron 4 of p53 creates a spectrum of novel p53 isoforms with anti-apoptosis function. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(2): 1035–1043.
- [71] Hu P, Liu ML, Zhang D, Wang JF, Niu HB, Liu YM, Wu ZC, Han BS, Zhai WY, Shen Y, Chen LB. Global identification of the genetic networks and cis-regulatory elements of the cold response in zebrafish. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(19): 9198–9213.
- [72] Lu L, Gao Y, Zhang Z, Cao Q, Zhang XN, Zou JH, Cao Y. Kdm2a/b Lysine demethylases regulate canonical Wnt signaling by modulating the stability of nuclear β -catenin. *Dev Cell*, 2015, 33(6): 660–674.
- [73] Zhang XN, Gao Y, Lu L, Zhang Z, Gan SC, Xu LY, Lei AH, Cao Y. JmjC domain-containing protein 6 (Jmjd6) derepresses the transcriptional repressor transcription factor 7-like 1 (Tcf7l1) and is required for body axis patterning during *Xenopus* embryogenesis. *J Biol Chem*, 2015, 290(33): 20273–20283.
- [74] Sun GN, Hu ZR, Min ZY, Yan XH, Guan ZP, Su HX, Fu Y, Ma XP, Chen YG, Zhang MQ, Tao QH, Wu W. Small C-terminal Domain Phosphatase 3 dephosphorylates the linker sites of receptor-regulated Smads (R-Smads) to ensure transforming growth factor β (TGF β)-mediated germ layer induction in *Xenopus* embryos. *J Biol Chem*, 2015, 290(28): 17239–17249.
- [75] Wang CD, Kam RKT, Shi WL, Xia Y, Chen X, Cao Y, Sun JM, Du YZ, Lu G, Chen ZJ, Chan WY, Chan SO, Deng Y, Zhao H. The proto-oncogene transcription factor Ets1 regulates neural crest development through Histone Deacetylase 1 to mediate output of bone morphogenetic protein signaling. *J Biol Chem*, 2015, 290(36): 21925–21938.
- [76] Shi WL, Xu G, Wang CD, Sperber SM, Chen YL, Zhou Q, Deng Y, Zhao H. Heat shock 70-kDa protein 5 (Hspa5) is essential for pronephros formation by mediating retinoic acid signaling. *J Biol Chem*, 2015, 290(1): 577–589.
- [77] Fan XY, Zhang XN, Wu XL, Guo HS, Hu YQ, Tang FC, Huang YY. Single-cell RNA-seq transcriptome analysis of linear and circular RNAs in mouse preimplantation embryos. *Genome Biol*, 2015, 16: 148.
- [78] Liu N, Zhang ZQ, Wu H, Jiang YH, Meng LJ, Xiong J, Zhao ZD, Zhou XH, Li J, Li H, Zheng Y, Chen S, Cai T, Gao SR, Zhu B. Recognition of H3K9 methylation by GLP is required for efficient establishment of H3K9 methylation, rapid target gene repression, and mouse viability. *Genes Dev*, 2015, 29(4): 379–393.
- [79] Zi ZZ, Zhang ZZ, Li QR, An WW, Zeng LY, Gao DY, Yang Y, Zhu XL, Zeng R, Shum WW, Wu JR. CCNYL1, but not CCNY, cooperates with CDK16 to regulate spermatogenesis in mouse. *PLoS Genet*, 2015, 11(8): e1005485.
- [80] Huang B, Wang YK, Wang WH, Chen J, Lai PL, Liu ZY, Yan B, Xu S, Zhang ZM, Zeng C, Rong LM, Liu B, Cai DZ, Jin DD, Bai XC. mTORC1 prevents preosteoblast differentiation through the Notch signaling pathway. *PLoS Genet*, 2015, 11(8): e1005426.
- [81] Zhou GD, Jiang XC, Zhang H, Lu YZ, Liu AJ, Ma XH, Yang G, Yang R, Shen HX, Zheng JM, Hu YP, Yang X, Zhang WJ, Xie ZF. Zbtb20 regulates the terminal differentiation of hypertrophic chondrocytes via repression of Sox9. *Development*, 2015, 142(2): 385–393.
- [82] Zhu WQ, Yao X, Liang Y, Liang D, Song L, Jing NH, Li JS, Wang G. Mediator Med23 deficiency enhances neural differentiation of murine embryonic stem cells through modulating BMP signaling. *Development*, 2015, 142(3): 465–476.
- [83] Bian WJ, Miao WY, He SJ, Qiu ZL, Yu X. Coordinated spine pruning and maturation mediated by inter-spine competition for Cadherin/Catenin complexes. *Cell*, 2015,

- 162(4): 808–822.
- [84] Liu PY, Dou XY, Liu C, Wang LB, Xing C, Peng GD, Chen J, Yu F, Qiao YB, Song L, Wu YX, Yue CM, Li JS, Han JD, Tang K, Jing NH. Histone deacetylation promotes mouse neural induction by restricting Nodal-dependent mesendoderm fate. *Nat Commun*, 2015, 6: 6830.
- [85] Zhang Y, Chen Q, Zhang H, Wang Q, Li R, Jin YP, Wang HB, Ma TH, Qiao J, Duan EK. Aquaporin-dependent excessive intrauterine fluid accumulation is a major contributor in hyper-estrogen induced aberrant embryo implantation. *Cell Res*, 2015, 25(1): 139–142.
- [86] Xu DQ, Wang Z, Zhang YX, Jiang W, Pan Y, Song BL, Chen Y. PAQR3 modulates cholesterol homeostasis by anchoring Scap/SREBP complex to the Golgi apparatus. *Nat Commun*, 2015, 6: 8100.
- [87] Han JB, Li EW, Chen LQ, Zhang YY, Wei FC, Liu JY, Deng HT, Wang YG. The CREB coactivator CRTC2 controls hepatic lipid metabolism by regulating SREBP1. *Nature*, 2015, 524(7564): 243–246.
- [88] Qian H, Deng X, Huang ZW, Wei J, Ding CH, Feng RX, Zeng X, Chen YX, Ding J, Qiu L, Hu ZL, Zhang X, Wang HY, Zhang JP, Xie WF. An HNF1 α -regulated feedback circuit modulates hepatic fibrogenesis via the crosstalk between hepatocytes and hepatic stellate cells. *Cell Res*, 2015, 25(8): 930–945.
- [89] Hui XY, Gu P, Zhang JL, Nie T, Pan Y, Wu DH, Feng TS, Zhong C, Wang Y, Lam KS, Xu AM. Adiponectin enhances cold-induced browning of subcutaneous adipose tissue via promoting M2 macrophage proliferation. *Cell Metab*, 2015, 22(2): 279–290.
- [90] Liang Y, Fu Y, Qi RM, Wang ML, Yang N, He L, Yu F, Zhang J, Yun CH, Wang X, Liu JL, Kong W. Cartilage oligomeric matrix protein is a natural inhibitor of thrombin. *Blood*, 2015, 126(7): 905–914.
- [91] Cheng H, Hao S, Liu YF, Pang YK, Ma SH, Dong F, Xu J, Zheng GG, Li SG, Yuan WP, Cheng T. Leukemic marrow infiltration reveals a novel role for Egr3 as a potent inhibitor of normal hematopoietic stem cell proliferation. *Blood*, 2015, 126(11): 1302–1313.
- [92] Xiao Q, Jiang Y, Liu QB, Yue J, Liu CY, Zhao XT, Qiao YM, Ji HB, Chen JF, Ge GX. Minor Type IV Collagen $\alpha 5$ Chain promotes cancer progression through discoidin domain receptor-1. *PLoS Genet*, 2015, 11(5): e1005249.
- [93] Ma B, Chen Y, Chen L, Cheng HC, Mu CL, Li J, Gao RZ, Zhou CQ, Cao L, Liu JH, Zhu YS, Chen Q, Wu SA. Hypoxia regulates Hippo signalling through the SIAH2 ubiquitin E3 ligase. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(1): 95–103.
- [94] Li Y, Zheng QP, Bao CY, Li SY, Guo WJ, Zhao J, Chen D, Gu JR, He XH, Huang SL. Circular RNA is enriched and stable in exosomes: a promising biomarker for cancer diagnosis. *Cell Res*, 2015, 25(8): 981–984.
- [95] Chen WY, Qian W, Wu G, Chen WZ, Xian B, Chen XW, Cao YQ, Green CD, Zhao FH, Tang K, Han JD. Three-dimensional human facial morphologies as robust aging markers. *Cell Res*, 2015, 25(5): 574–587.
- [96] Zhang BY, Zhang TT, Wang GP, Wang G, Chi WF, Ji-ang Q, Zhang CM. GSK3 β -Dzip1-Rab8 cascade regulates ciliogenesis after mitosis. *PLoS Biol*, 2015, 13(4): e1002129.
- [97] Fu JY, Bian ML, Xin GW, Deng ZX, Luo J, Guo X, Chen H, Wang Y, Jiang Q, Zhang CM. TPX2 phosphorylation maintains metaphase spindle length by regulating microtubule flux. *J Cell Biol*, 2015, 210(3): 373–383.
- [98] Zhen YL, Li W. Impairment of autophagosome-lysosome fusion in the buff mutant mice with the VPS33A (D251E) mutation. *Autophagy*, 2015, 11(9): 1608–1622.
- [99] Yu C, Ji SY, Sha QQ, Sun QY, Fan HY. CRL4-DCAF1 ubiquitin E3 ligase directs protein phosphatase 2A degradation to control oocyte meiotic maturation. *Nat Commun*, 2015, 6: 8017.
- [100] Deng L, Jiang C, Chen L, Jin JL, Wei J, Zhao LL, Chen MH, Pan WJ, Xu Y, Chu HS, Wang XB, Ge X, Li DL, Liao LJ, Liu MY, Li L, Wang P. The ubiquitination of rag A GTPase by RNF152 negatively regulates mTORC1 activation. *Mol Cell*, 2015, 58(5): 804–818.
- [101] He KM, Yan XH, Li N, Dang S, Xu L, Zhao B, Li ZJ, Lv ZZ, Fang XH, Zhang YY, Chen YG. Internalization of the TGF- β type I receptor into caveolin-1 and EEA1 double-positive early endosomes. *Cell Res*, 2015, 25(6): 738–752.
- [102] Yan YQ, Jiang W, Liu L, Wang XQ, Ding C, Tian ZG, Zhou RB. Dopamine controls systemic inflammation through inhibition of NLRP3 inflammasome. *Cell*, 2015, 160(1–2): 62–73.
- [103] Shi JJ, Zhao Y, Wang K, Shi XY, Wang Y, Huang HW, Zhuang YH, Cai T, Wang FC, Shao F. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*, 2015, 526(7575): 660–665.
- [104] Li DR, Xu T, Cao Y, Wang HY, Li L, Chen S, Wang XD, Shen ZR. A cytosolic heat shock protein 90 and cochaperone CDC37 complex is required for RIP3 activation during necroptosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(16): 5017–5022.
- [105] Han CY, Nie Y, Lian H, Liu R, He F, Huang HH, Hu SS.

- Acute inflammation stimulates a regenerative response in the neonatal mouse heart. *Cell Res*, 2015, 25(10): 1137–1151.
- [106] Zhao B, Qi Z, Li YH, Wang CK, Fu W, Chen YG. The non-muscle-myosin-II heavy chain Myh9 mediates colitis-induced epithelium injury by restricting Lgr5+ stem cells. *Nat Commun*, 2015, 6: 7166.
- [107] Fu X, Xiao J, Wei YN, Li S, Liu Y, Yin J, Sun K, Sun H, Wang HT, Zhang ZK, Zhang BT, Sheng C, Wang HY, Hu P. Combination of inflammation-related cytokines promotes long-term muscle stem cell expansion. *Cell Res*, 2015, 25(6): 655–673.
- [108] Wang JX, Gao J, Ding SL, Wang K, Jiao JQ, Wang Y, Sun T, Zhou LY, Long B, Zhang XJ, Li Q, Liu JP, Feng C, Liu J, Gong Y, Zhou Z, Li PF. Oxidative modification of miR-184 enables it to target Bcl-xL and Bcl-w. *Mol Cell*, 2015, 59(1): 50–61.
- [109] Shang CP, Liu ZH, Chen ZJ, Shi YC, Wang Q, Liu S, Li DP, Cao P. A parvalbumin-positive excitatory visual pathway to trigger fear responses in mice. *Science*, 2015, 348(6242): 1472–1477.
- [110] Zhou X, Liu F, Tian M, Xu ZJ, Liang QF, Wang CY, Li JW, Liu ZD, Tang K, He M, Yang ZG. Transcription factors COUP-TFI and COUP-TFII are required for the production of granule cells in the mouse olfactory bulb. *Development*, 2015, 142(9): 1593–1605.
- [111] Liu X, Ma L, Li HH, Huang B, Li YX, Tao YZ, Ma L. β -Arrestin-biased signaling mediates memory reconsolidation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(14): 4483–4488.
- [112] Zhang XM, Yan XY, Zhang B, Yang Q, Ye M, Cao W, Qiang WB, Zhu LJ, Du YL, Xu XX, Wang JS, Xu F, Lu W, Qiu S, Yang W, Luo JH. Activity-induced synaptic delivery of the GluN2A-containing NMDA receptor is dependent on endoplasmic reticulum chaperone Bip and involved in fear memory. *Cell Res*, 2015, 25(7): 818–836.
- [113] Qin SY, Yin H, Yang CL, Dou YF, Liu ZM, Zhang P, Yu H, Huang YL, Feng J, Hao JF, Hao J, Deng LZ, Yan XY, Dong XL, Zhao ZX, Jiang TJ, Wang HW, Luo SJ, Xie C. A magnetic protein biocompass. *Nat Mater*, 2016, 15(2): 217–226.