

附睾功能基因组研究进展*

张永莲

(生物化学与细胞生物研究所 上海 200031)

摘要 精子的成熟不是靠自身来完成,而是通过与附睾腔中微环境的相互作用而取得的。关于附睾这种对精子的成熟、储存和保护的作用,人们已取得共识,认为它是男性避孕药的一个靶点。我们最近在大鼠和猴附睾特异表达的新基因研究中已发现 13 个全长 cDNA 克隆,其中 2 个在大鼠附睾头部、4 个在猴附睾头部、4 个在猴附睾体部、3 个在猴附睾尾部。目前正对这些新基因的功能进行研究。最近在对其中的一个新基因——大鼠 Bin1b 进行较多的研究后发现,它是一个天然抗菌肽,并在生育期表达最高,因而可能与生育有关,可能与精子成熟及附睾自身防御系统相关。研究结果发表在 *Science* 上。

关键词 功能基因组,精子成熟,附睾,抗菌肽,男性避孕

人类基因组全顺序的阐明会绘出一篇密码图谱,随后需要了解哪一段顺序编码哪一个基因?这一基因在体内的功能是什么?一个生物学功能需要哪几个基因的协同作用?它们又是如何协调控制生命的正常活动?哪些错误会导致各种病理现象的产生?这一系列艰巨的、极富挑战性的、能直接为人类造福、也能产生巨大经济效益的解码工作,已促使我们进入功能基因组研究时代。由于分子生物学技术的飞速发展,各国科学家均或多或少地克隆到一些新基因。然而,选择哪些基因并深入研究它们的功能不仅关系到研究的难易,而且会直接影响成果的意义和应用价值。因此,我们从人口与健康的重大需求出发,选择功能较为明确、所涉及基因数量又相对较少的性器官——附睾作为研究系统,开展该项前沿性基础研究。

众所周知,控制人口的质与量是我国国计民生的大事,是我们的基本国策。目前我国所采用的避孕措施主要以女性为主,有关的避孕药还不完善,

有这样或那样的副作用,其遗传后果还有待进一步评估。安全的绝育措施也多以女性为主,男性避孕措施只有体外射精、阴茎套和输精管结扎三种。实际上,避孕男女双方均有责任,而且由于:(1)健康男性的生育期较长,每天产生 1 亿个精子,而女性生育期较短,每个月才排出 1 个成熟卵;(2)精子容易受环境影响而产生突变;(3)50 年来,精子数量和质量都有下降趋势;(4)45 岁以下的男性原发性不育者占 5%—10% 等原因,男性生殖健康研究更迫在眉睫。

目前已知,精祖细胞在睾丸中通过有丝分裂、减数分裂和形态学变化成为分化完全的精子细胞后,进入附睾,在其头部和体部逐渐达到成熟,然后在尾部储存,等待射精。而精子运动能力的形成、顶体功能的完善、代谢类型的转变、精卵的识别和融合等一系列程序化的成熟功能的获得并非靠其自身完成,而是在其通过附睾的过程中,与附睾微环境相互作用中按其特定的程序逐渐成熟的^[1]。附

* 收稿日期:2001 年 12 月 11 日

睾是一根连接睾丸和输精管的盘曲的细长管道。但不同部位的附睾细胞表达不同的基因,分泌种类各异的蛋白质,每一段管道中,有不同的腔液组成、离子强度和酸碱度等形成不断变化着的管腔微环境,与精子相互作用,使精子表面蛋白质的成分得以部分改变,或已有的蛋白质得以部分修饰(如磷酸化或去磷酸化,酯化或脱酯化,酰化或脱酰化,羧基化或脱羧基化,糖基化或去糖基化等)而被激活或抑制,从而逐步获得成熟时所具备的功能及免疫防御能力,保护其自身能在附睾中储存及通过女性生殖道直至与卵结合。附睾的这种对精子成熟、储存和保护的作用,因具有以下两个最重要的特点而早已被认同,并被视作进行抗生育的一个理想的靶器官:(1)功能较为单一,干扰其功能的药物不致引起严重的副反应。(2)精子在进入附睾前已分化完全,基因转录已停止,其成熟功能的获得一般与蛋白质的修饰有关,不涉及DNA复制机能。因此,干扰其中某些蛋白质修饰的药物的作用不可能引起DNA改变的遗传病。另外,值得指出的是,附睾的研究尚未引起人们的足够重视,因此是一个未被开垦的处女地,大有用武之地。目前,对于这种与精子成熟相关的附睾特异基因表达的启动与程序还知之甚少。从功能基因组研究的角度来看,由于附睾生物功能单一,涉及的基因数量相对较少,不超过200,是一个较理想的功能基因组和蛋白质组研究切入点,较容易获得突破。因此,集中克隆附睾特异表达的基因,建立一个研究精子成熟功能的测试平台去研究这些基因在精子成熟中的作用,不仅有助于揭示精子在附睾中成熟的分子机理,而且能解读附睾中基因组密码,为解决精子成熟异常所引起的不孕症提供分子水平的信息,也为开发一些阻断精子成熟的男性避孕药研制提供新的设计思路,并为男性不育症的诊断和治疗、性传播疾病的防治等方面提供一系列新的药靶位点。

我们选择了猴和大鼠两种动物模型进行实验。因为猴和人较为接近,从猴的研究过渡到临床较为容易,特别是人类基因组顺序研究工作的进展大大促进了在人类中的同源基因的获得,使得这一过渡

更为容易;大鼠动物模型不仅容易进行实验操作,而且较易获得在小鼠中的同源基因,十分有利于通过基因剔除或转基因鼠等技术来研究探索其功能。利用mRNA的差异显示分析及差减杂交库分析,我们分别对大鼠和猴附睾不同部位特异表达的基因作了筛选(猴方面的工作与美国北卡罗莱纳大学合作),不仅鉴定出那些已被发现并报道的特异基因,而且还获得一系列特异的新基因的全长cDNA克隆,到目前为止,我们已发现13个,其中2个在大鼠附睾头部、4个在猴附睾头部、4个在猴附睾体部、3个在猴附睾尾部(迄今为止,世界上已发表的附睾特异蛋白的全长cDNA只有16个)^[2]。另外,我们还有21个新基因的全长cDNA正在克隆中。这些结果为该研究项目奠定了坚实的基础。目前正在对这些新基因的功能进行研究。最近,在对其中的一个新基因——大鼠Bin1b进行了较多的研究后,我们发现它在附睾头部上皮细胞特异表达,在生育期表达最高,因而可能与生育有关,并与香港中文大学陈小章教授合作鉴定到它所编码的蛋白质具有天然抗菌作用,因而有望发展为抗生殖道感染的药物。这一研究结果已发表在2001年3月2日的*Science*上^[3]。国内外反响强烈。*Science*编委为此文发表了短评,认为这一研究预示出今后发展一种既能避孕又能防止性传播感染药物的可能性。英、美、法、德、加等国的媒体也都作了报道和评论。我们现在正与国内有关专家合作研究,通过优势互补,再接再厉,再创辉煌,为全世界的人口健康发展做出应有的贡献。

参考文献

- 1 Russell C J et al. The epididymis: cellular and molecular aspects. General of reproduction and fertility, 1998.
- 2 Liu Q et al. Primate epididymis-specific proteins: Characterization of ESC42, a novel protein containing a trefol-like motif in monkey and human. *Endocrinology*, 2001, 142(10): 4 529- 4 539.
- 3 Li P et al. An antimicrobial peptide gene found in the male reproductive system of rats. *Science*, 2001, 291: 1 783- 1 785.

Progress of Functional Genome Studies in Epididymis

Zhang Yonglian

(Institute of Biochemistry and Cell Biology, CAS, 200031 Shanghai)

It is well established that sperm maturation is not intrinsic to sperm themselves but acquired during their transit in the epididymis. The unique role of the epididymis in sperm maturation, storage and protection has long been recognized and led to the proposal of the epididymis as a target for contraceptives. We have currently investigated the region-specific gene expression pattern in rat and monkey epididymis (works for monkey were collaborated with Dr. FS French's lab in the University of North Carolina at Chapel Hill). We have obtained 13 epididymis-specific novel full-length cDNA clones so far (2 in the rat caput region, 4 in monkey caput region, 4 in monkey corpus region and 3 in the monkey cauda region). Further studies of their roles are on the way. Recently, we found that one rat gene, named Bin1b had certain antimicrobial activity and expressed in a high level during the fertile active period of the animal. These results implied that it might be important in sperm maturation and the innate host defense system in epididymis. The results have been published on the top journal *Science*.

张永莲 女, 中国科学院院士, 上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所研究员。1957年毕业于复旦大学化学系。长期从事雄激素对基因表达调控的研究。曾先后在英国 ICRF、美国芝加哥大学和威斯康星大学、荷兰 ERUSMUS 大学、美国北卡罗莱纳大学、澳大利亚悉尼大学进行合作研究。1993年获中国科学院自然科学奖一等奖, 1997年获国家自然科学奖三等奖, 1998年获上海市科技成果奖二等奖, 2000年获生物化学、生物物理学和分子生物学杰出研究论文奖。并获得上海市劳动模范、上海市“三八”红旗手标兵、上海市巾帼科技精英等荣誉。

*

*

*

(接 44 页)

有重要贡献。对小麦穗部器官的研究表明, 芒、颖片、内稃和外稃等非叶光合器官均具有完整的光合结构与功能。

在光合效率的常规育种和基因工程研究方面, 在多年研究的基础上, 育出几个较目前常规大豆品种的光合效率和产量都高的新品种。对成功将玉米 PEPC 基因转入水稻的工程植株的光合特性进行了全面的研究。发现转基因水稻有明显的 C_4 植物光合特性。

首次从水稻和小麦中克隆了 *vde* 基因, 获得了大量转基因烟草植株, 为进一步研究叶黄素循环的机制提供了新途径。该项目组已有效、成功地把跨度大的一级学科——生物学、物理学、化学、农学等

研究力量有机地组织起来, 开展光合作用机理和作物光合特性及其提高作物光能利用效率的研究。并在国际竞争激烈、难度相当大的前沿领域, 取得了一些基础性、前瞻性的进展。

二年来共完成学术论文 227 篇, 其中在国内外 *SCI* 和 *SCI Search* 上发表论文 179 篇, 同时, 结合光合作用的光能转换机理及其提高作物光合效率的研究, 建立了与国际先进水平可比的技术平台, 建立了适合生物样品测试的时间分辨超快光谱、时间分辨的波谱技术、当代生化及分子生物学、基因工程等方面的研究技术。更主要的是在前期工作的基础上, 找出了进一步研究的焦点, 有望在 5—10 年内取得大的突破。