

方兴未艾的传承

纪念童第周百年诞辰论文集

中国科学院海洋研究所 编
山 东 大 学

海洋出版社

2002年·北京

内 容 提 要

本论文集是为纪念中国科学院原副院长、生物学家童第周先生而出版。本书收录了童先生第一、二、三代学生及童先生的合作者的论文数十篇。书中无论是阐述科学研究前沿课题的学术论文,或是深情缅怀童先生生平事迹的追忆文字,都表达了对童先生热爱祖国、献身科学、勤奋刻苦、严谨治学的精神的由衷敬佩与景仰。

本书收录了生物科学方面最新的研究成果,适合广大生物科学工作者、海洋科学工作者阅读。

图书在版编目(CIP)数据

方兴未艾的传承:纪念童第周百年诞辰论文集/中国科学院海洋研究所,山东大学编.
—北京:海洋出版社,2002.5

ISBN 7-5027-5564-0

I. 方… II. ①中…②山… III. 童第周-纪念文集 IV. K826.15

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 030039 号

责任编辑:赵 觅

责任印制:严国晋

海洋出版社 出版发行

<http://www.oceanpress.com.cn>

(100081 北京市海淀区大慧寺路 8 号)

北京蓝空印刷厂印刷 新华书店发行所经销

2002 年 5 月第 1 版 2002 年 5 月北京第 1 次印刷

开本:787×1092mm 1/16 印张:16.25

字数:400 千字 印数:1~1200 册

定价:55.00 元

海洋版图书印、装错误可随时退换

本书的出版,得到下列单位的大力支持,深表谢意!

浙江省宁波市鄞州区人民政府

中国科学院动物研究所

中国科学院遗传研究所

青岛海洋大学

《方兴未艾的传承——纪念童第周 百年诞辰论文集》编委会成员

名誉主任 曾呈奎

主 任 相建海

副 主 任 朱作言 郑晓林 曲音波

委 员 (按姓氏笔划为序)

冯静仪 朱作言 安立国 曲音波 李嘉泳 杜 森

陈大元 张士瑾 张培军 张红卫 郑晓林 相建海

娄康后 秦鹏春 阎淑珍 曾弥白

编 辑 徐鸿儒



童 第 周

紀念董第周先生誕辰一百周年

克隆先驅

路甬祥

二〇〇二年三月



路甬祥，中国科学院院长

序

2002年5月28日，是著名生物学家童第周先生诞辰一百周年纪念日。

童第周先生是中国科学院海洋研究所的主要创建者之一，他长期担任我们研究所的所长，直到他逝世的前一年——1978年。但是，我所很少有人称呼他童所长，大家都称呼他童先生，即使是他以后相继担任了山东大学副校长、中国科学院副院长、全国政协副主席，并没有人改变称呼，大家仍然称呼他童先生。大家觉得这样称呼亲切，并且能够表示对他的爱戴和尊敬。他的确是我们的先生，他和蔼的态度、高尚的品德、勤奋的精神，求是的执著、严谨的学风，在海洋研究所永远都是典范，在全国学术界也产生了深远的影响。他对我们研究所整个风格的熔铸作用，正像北京大学老校长蔡元培先生之于北大，清华大学老校长梅贻琦先生之于清华。

清华大学老校长梅贻琦先生曾经说过：“所谓大学者，非谓有大楼之谓也，有大师之谓也。”这句话几乎成了很多人常常引用的箴言。其实，研究所也应当是这样：“所谓研究所者，非谓有研究楼之谓也，有大科学家之谓也。”我们的老所长童第周先生就是大科学家，是大师级的科学家。我们研究所就是因为有以童第周先生为代表的一批科学家，在他们的带领下，才使得我们研究所50多年来取得了一系列辉煌的成就，为我们国家的海洋科学事业做出了重大的贡献。

童第周，字慰孙，1902年5月28日出生于浙江省宁波市鄞州区溪童村一个贫苦农民家庭。由于贫穷，幼年的童第周没有上过学，只是在家里一边帮着家里做农活，一边在本村父亲的私塾里念点书。他13岁丧父，靠兄长抚养，直到16岁才考进宁波师范学校，17岁又转效实中学。尽管他开始学习时文化基础差，但由于他学习勤奋，1922年以优异成绩毕业并考入复旦大学，攻读生理学专业。1927年大学毕业后，担任中央大学生物系助教。三年后童第周得到亲友的资助，赴比利时布鲁塞尔大学留学，师从A. Brachet教授，1934年获博士学位。

童第周先生获得博士学位后，不顾战乱危险毅然回到祖国，先后在山东大学、中央大学、同济大学、复旦大学任教，同时开展科学研究。1948年当选为

中央研究院院士，同年赴美国耶鲁大学做客座研究员，1949年回到山东大学。中华人民共和国成立后，他担任过中国科学院实验生物研究所副所长，山东大学副校长，中国科学院学部委员（即现在所谓的院士），中国科学院海洋研究所、动物研究所所长，中国科学院生物学部主任、副院长，全国政协副主席。1978年，童第周加入中国共产党。1979年3月30日童第周先生因心脏病医治无效，不幸逝世，享年77岁。

童第周先生热爱祖国，热爱科学，他既是卓越的科学家、教育家，又是国家、科学院、研究所和蔼可亲的领导人。为了继承和发扬童第周先生的高尚品德和宝贵的学术思想，在今年5月28日童第周先生百年寿诞日，全国政协、中国科学院、中国科学院海洋研究所、山东大学、青岛海洋大学、童第周先生的家乡浙江省宁波市将举行一系列隆重纪念活动。作为纪念活动中的一项，山东大学和我所编辑这本学术论文集出版，用以纪念作为科学家的童第周先生，更具有特殊的意义。

童第周先生是国际卓越的生物学家，是我国实验胚胎学的创始人之一。他通过严密的科学实验，证明了卵子对称面不完全决定于第一次分裂面，而是决定于卵质的结构状态；证明了在未受精的卵子中已经存在着器官形成物质，精子的进入对此没有决定性的影响；证明了卵质对个体发育的重要作用。

童第周先生与他的合作者揭示了胚胎发育的极性现象。他们在两栖类胚胎发育的研究中，发现纤毛运动方向的决定时间在原肠期和神经板初期，证明外胚层纤毛运动的方向决定于中胚层和内胚层，而且这种感应能力在个体发育中是沿着胚胎的前后轴从头到尾逐渐减弱的，表明了胚胎发育的极性现象。他们还证明这种感应能力是由一种未知的化学物质引起的，这种化学物质通过细胞间的渗透作用，诱导了胚胎纤毛的运动方向。

童第周先生及其合作者对脊索动物文昌鱼的系统研究，对文昌鱼的个体发育产生了全新的认识。他们对细胞核和细胞质的关系进行了开创性的研究，他们在鱼类中用细胞核移植的手段探讨核质关系，证明了核质杂种鱼中性状的出现不是完全受细胞核的控制，细胞质也有一定的作用。细胞核在异种的细胞质内，经过多次分裂和复制后，在生理上和性质上有可能发生变化。这一理论在国内外学术界产生了深远的影响。中国科学院院长路甬祥为我们纪念童第周先生百年诞辰活动的题词是“克隆先驱”，这是非常恰当的评价。

现在,全世界都公认 21 世纪是海洋世纪,海洋研究和开发对人类的生存和发展将有巨大的决定性的影响。童第周先生很早就认识到海洋科学研究的重要性,并且早就积极投入到创建和发展中国的海洋科学的事业中,做出了不可磨灭的贡献。

1946 年童第周先生首先聘请在美国加州大学斯克里普斯海洋研究所学成的海洋生物学家曾呈奎来山东大学任教,并且与曾呈奎先生共同创建了山东大学海洋研究所,童第周任所长,曾呈奎任副所长。1948 年,他们征得学校同意,聘请在美国的物理海洋学家赫崇本担任山东大学海洋学教授,为山东大学海洋系以及后来的山东海洋学院和现在的青岛海洋大学的成立和发展创造了条件。1946 年,他们利用山东大学海洋研究所的经费聘请在英国阿伯丁大学和牛津大学任教的海洋生物学家郑重回山东大学任教,后因战争影响郑重到了厦门大学任教,对厦门大学海洋学的发展起了重要的推动作用。

1949 年 10 月,童第周、曾呈奎联名写信给中国科学院建议在青岛成立全国性海洋研究所,被中国科学院采纳。1950 年 8 月 1 日,中国科学院在青岛成立了中国科学院海洋研究所的前身——中国科学院水生生物研究所青岛海洋生物研究室,主任童第周,副主任曾呈奎、张玺。这标志着中国现代海洋科学全面、系统、规模化发展的开端。迄至 1978 年,童第周先生一直是这个研究机构的主要领导。

童第周先生参与了 1956 ~ 1967 年国家科学技术发展远景规划和 1963 ~ 1972 年国家科技十年规划以及基础学科长远规划的制订,其中他参与领导了有关生物学规划的编制工作。在生物学规划中,包含了海洋生物学的内容,强调了海洋生物学的重要性,为海洋生物学的发展指明了方向。

要发展中国的科学事业,需要大量科学人才。童第周先生特别重视教育事业,用以培养科学人才。他曾在多所大学任教,教授过普通动物学、细胞学、比较解剖学、遗传学、胚胎学和实验胚胎学等课程,培养出一大批优秀的学生;同时,童第周先生还非常重视通过科研实践培养学生,亲自带出一批知名科学家。现在,童第周先生的学生以及他学生的学生,第三代、第四代学生,遍布世界各地。由于他的言传身教,他培养的后起之秀不少已成为成就斐然的科学家。在这次纪念活动中,许多师承童先生的优秀科学家和教育家,拿出他们的学术论文,向导师童第周先生汇报,这从一个方面说明童第周先生开创的科学

事业正在蓬勃发展，方兴未艾。

本论文集的作者主要是童第周先生的学生及其合作者，尽管不完全是童第周先生直接教授过的学生，但是他们大多在学术上或工作上与童第周先生存在着师承或渊源关系。另外，童第周先生桃李满天下，分布在世界各地，难以都能通知到，即便是通知到的，有的也由于时间紧促来不及写出论文（我们要求必须是未发表过的论文）。加之篇幅所限，只能从大量来稿中选择部分论文刊登。所以，本论文集只能说是选录了童第周先生部分学生及其合作者的部分论文。因时间紧迫，我们来不及请许多专家对所选论文一一审阅，我们也未能对每篇稿件进行过细编辑。敬请读者诸君见谅。

本论文集分中文部分和英文部分，中文部分在前，英文部分在后。两部分都以收稿先后排序。

童第周先生热爱祖国，献身科学，勤奋刻苦，严谨治学的精神永存！

相建海

目 次

MAP 激酶信号通路在卵母细胞减数分裂中的作用	范衡宇 孙青原 秦鹏春 (1)
一个新鸡贫血病毒 (CAV) 衣壳蛋白基因的克隆与比较	张 刚 何成强 李云龙 (8)
鸡贫血病毒的致病机理、检测及疫苗研究进展	张 刚 李云龙 (13)
鸡贫血病毒的分子生物学研究进展	张 刚 李云龙 (18)
鸡贫血病毒 (CAV) 衣壳蛋白基因的原核表达	张 刚 李云龙 (23)
中国部分家鹅分子系统发育关系的研究	潘庆杰 李云龙 沈 伟 曲娟娟 (27)
哺乳动物的显微授精	谭景和 (33)
核酸对机体 SOD 活性和 LPO 含量影响的初步探讨	王 龙 朱 雯 孙洪涛 章君照 (39)
兔和鼠初级卵母细胞生发泡移植	李光鹏 廉 莉 陈大元 孙青原 (41)
对虾抗菌肽与昆虫防御素类抗菌肽的系统发育分析	王金星 康翠洁 赵小凡 相建海 (50)
国内核酸研究概况	王 龙 董再珍 (57)
海鞘生物活性物质的研究进展	耿 越 赵相轩 张 薛 (61)
鱼类粘液性免疫的研究进展	安利国 尹 苗 (68)
生命科学中高科技的研究	陈大元 郑瑞珍 (73)
利用牛胎儿皮肤上皮细胞生产体细胞克隆牛的研究	董雅娟 柏学进 M. D. Varisanga 李建栋 李云龙 铃木达行 (79)
黄海太平洋鲱鱼卵与早期胚胎卵壳的动态变化	阎淑珍 (90)
克隆小鼠胚胎体外发育的核质相互作用	孟 励 秦鹏春 (96)
胚胎着床过程中白血病抑制因子、Basigin 及前列腺素 E 合成酶在子宫中的表达与 调节	杨增明 秦鹏春 (104)
童第周的学术思想	曾弥白 (108)
童第周科研和科研教育的影响	王衡文 (112)
童第周与中国海洋科学	徐鸿儒 (114)
短盖巨脂鲤三倍体诱导的研究	魏 光 刘友清 付佩胜 (119)
文昌鱼内胚层分化相关新基因的克隆及其在早期发育中的表达	张燕君 毛炳宇 梁恺龙 张红卫 (125)
青岛文昌鱼 <i>profilin</i> 基因的克隆与同源性分析	张晓辉 陈忠科 林浴霜 李 琳 杨焕明 张红卫 (131)
三崎柱头虫的初步研究	张 伟 李忻怡 扬永洁 王 秋 张红卫 (138)
青岛文昌鱼 <i>AmphiCKS 1</i> 样蛋白基因的克隆和同源性分析	杨 卉 陈忠科 黄向炜 韩 华 杨焕明 张红卫 (143)

青岛文昌鱼 NADH 脱氢酶亚基 I 基因片段的克隆	梁恺龙 张晓辉 张红卫 (147)
青岛文昌鱼核糖体蛋白 <i>AmphiL37a</i> 基因的克隆和同源性分析	陈忠科 李 琳 张燕君 王学刚 黄向炜 韩 华 张红卫 (151)
青岛文昌鱼硫氧还蛋白基因的克隆及同源性分析	黄向炜 陈忠科 韩 华 王雪飞 杨焕明 张红卫 (156)
青岛文昌鱼 <i>Sec61γ</i> 基因的克隆与同源性分析	林浴霜 陈忠科 张晓辉 李 琳 张红卫 (161)
青岛文昌鱼核糖体蛋白 <i>AmphiL11</i> 基因的克隆和同源性分析	陈忠科 王学刚 张燕君 王 晋 梁恺龙 张红卫 (165)
皮层蛋白和 Arp2/3 蛋白复合物在文昌鱼原肠期胚胎表达图式的分析	张培军 喻 丹 (170)
文昌鱼 LIM 同源框基因 <i>Bhlh3</i> (<i>Bblim3</i>) 的克隆与胚胎表达	王 勇 张培军 安井今也 西驾秀俊 (175)
神经肽与孕卵发育和胚泡着床的关系	张崇理 (179)
中国对虾精子顶体反应的超微结构和蛋白成分变化的研究	吴 闯 吴长功 相建海 (184)
The maturation of oocytes in amphioxus (<i>Branchiostoma helcheri</i>) as seen by light microscopy and transmission electron microscopy	Per R. Flood Song Yuchang Wu Shangqin (190)
The <i>c-kit</i> receptor and its function in human spermatozoa	Huai Liang Feng Jay I. Sandlow Peng C. Qin (204)
Embryonic Stem Cells	Xia Ping Qin Pengchun (216)
Molecular mechanism of skeletal muscle differentiation in Zebrafish	Du Shaojun (221)
MyoD muscle-specific expression is evolutionary conserved between Amphioxus and Zebrafish	Tan Xungang Zhang Peijun Du Shaojun (223)
Genetic Determination and Exogenous influence in Sex Differentiation in Crustacea	Wu Changgong Xiang Jianhai (231)

MAP 激酶信号通路在卵母细胞减数分裂中的作用

范衡宇¹, 孙青原¹, 秦鹏春²

(1. 中国科学院动物研究所生殖生物学国家重点实验室, 北京 100080; 2. 东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨 150030)

哺乳动物卵母细胞在卵巢中停滞在减数第一次分裂前期的双线期, 也称生发泡 (germinal vesicle, GV) 期。当卵母细胞生长并受到适宜信号刺激 (在哺乳动物中为促性腺激素) 后, 恢复减数分裂, 生发泡破裂 (germinal vesicle breakdown, GVBD) 染色质凝集、纺锤体组装、排出第一极体 (polar body 1, PB1) 并发育到 MII 期, 此时卵母细胞的发育再次阻滞 (陈大元, 2000)。受精或孤雌活化以后, 卵子恢复第二次减数分裂并最终排出第二极体。由蛋白激酶和蛋白磷酸酶调节的蛋白质磷酸化和去磷酸化, 在减数分裂细胞周期控制中发挥关键作用。

丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 也叫胞外调节激酶 (extracellular-regulated kinase, ERK), 是一类广泛存在于真核细胞中的 Ser/Thr 蛋白激酶, 其激活依赖于 Thr 和 Tyr 两个位点的磷酸化。在 MAPK 家族中分布最广的是 44-kDa (ERK1) 和 42-kDa (ERK2) 两种亚型, 它们是卵母细胞减数分裂的重要调节激酶。我们实验室以小鼠、大鼠、兔和猪为实验材料, 对 MAPK 信号通路在哺乳动物减数分裂和受精中的作用进行了一系列研究。以下就结合我们的工作, 对该领域的研究做一评价和展望。

1 Mos/MEK/MAPK/p90^{rsk} 信号级联

MAPK 信号系统的核心是几种蛋白激酶的顺序磷酸化激活。MAPK 激酶 (MAPKK, 也叫 MEK), 是 MAPK 的直接激活分子, 催化 MAPK 的 Tyr 和 Thr 残基双特异性磷酸化。MEK 也是通过磷酸化而被激活, 其上游激酶称作 MAPKKK, 目前已经发现多种。Mos 是一个 39kDa 的丝/苏氨酸蛋白激酶, 由 c-mos 原癌基因编码, 是脊椎动物生殖细胞中独有的 MAPK 上游激酶。c-mos mRNA 是卵母细胞生长时贮存的母源性信息, 在成熟过程中被翻译, 引发 MAPK 的级联活化 (Sun QY 等, 1999)。

p90^{rsk} (ribosome S6 kinase) 是最早发现的 MAPK 生理底物, 分子量 90kDa。p90^{rsk} 的激活涉及一系列丝/苏氨酸位点的磷酸化, 目前已知 p90^{rsk} 在非洲爪蟾、海星、小鼠和大鼠等动物的卵母细胞成熟过程中的激活都依赖于 MAPK1/2 的活性 (Kalab P 等, 1996)。在大鼠卵母细胞中我们发现, 如果阻止 GVBD 和 MAPK 激活, p90^{rsk} 也不能被磷酸化, 在卵受精或孤雌活化之后, p90^{rsk} 随 MAPK 失活而发生去磷酸化 (Ton X 等, 2001)。这些结果都暗示着 MAPK 对 p90^{rsk} 活性有关键性调节作用。根据最新资料, p90^{rsk} 基因敲除的小鼠仍然可育, 说明缺失

* 范衡宇是孙青原的博士研究生, 孙青原是秦鹏春教授的研究生, 秦鹏春是童第周先生的学生

p90^{nk}还不足以完全阻止卵子的发育和受精 (Dufresne SD 等, 2001)。笔者认为, 动物体内很多重要的生化过程都存在替代途径, 对基因敲除的结果还需做出详细分析, 而且敲除 p90^{nk} 基因的研究组对基因敲除鼠的详细报道仅限于能量代谢方面, 这种小鼠的卵母细胞减数分裂过程还有待于深入研究, 因为“可育”并不意味着一切正常。

2 MAPK 与减数分裂启动

MAPK 在减数分裂的 G2/M 转化期被激活, 而在有丝分裂中却没有这一现象。哺乳动物卵母细胞中, MAPK 在 GVBD 到 MI 期之间活化, MAPK 活性不是 MPF 激活和 GVBD 所必需的, 因为 MAPK 的活化发生在 GVBD 之后或与 GVBD 同时发生, 目前研究过的物种包括小鼠、大鼠、猪、牛、山羊和马, 结果无一例外。但是在其他物种中, 如爪蟾, MAPK 的激活发生在 GVBD 以前并且是 GVBD 所必需的, MAPK 上游激酶 Mos 是决定爪蟾卵母细胞启动成熟分裂的关键因子。MAPK 在 G2-M 转化中的功能之一是阻止 Cdc2 的抑制性磷酸化。在爪蟾卵母细胞中, 由 Myt1 激酶负责 Cdc2 的抑制性磷酸化。向未成熟卵母细胞中注射活性 MPF, 由于 Myt1 的抑制作用, 并不能引发 GVBD, 但是如果事先使 MAPK 途径活化, 注入的 MPF 就可以引发自身的正反馈激活。这是因为 Myt1 的 C 末端结构域可与 MAPK 的下游激酶 p90^{nk} 特异性结合, 后者被 MAPK 磷酸化并激活后再磷酸化抑制 Myt1, 下调 G2 期卵母细胞中对 MPF 的抑制机制 (Palmer A 等, 1998)。

在所有研究过的动物 (蛤、海星、小鼠和爪蟾) 中, MAPK 活性与 cyclin B 合成在时间上高度一致。在 MAPK 激活后, cyclin B mRNA 的翻译立即增加。在爪蟾中, 如果在 GVBD 时抑制 Mos 的合成或活性, MPF 的活性在减数第一次分裂后保持低水平, 卵母细胞不能进入第二次减数分裂。从 G2 期阻滞中释放出来的卵母细胞中 cyclin B 的翻译速率之所以增加, 可能是由于其 mRNA 的翻译屏蔽被解除, 该过程依赖于其 3' 端不转录区的胞质 Poly A 成分 (cytoplasmic polyadenylation element, CPE)。在未成熟卵母细胞中, CPE 是 cyclin B mRNA 的翻译屏蔽因子, MAPK 的作用在于解除 CPE 对 cyclin B 翻译的屏蔽作用 (Howard EL 等, 1999)。

在整个动物界中, MAPK 对 cyclin B 的翻译发挥正反馈刺激作用, 帮助卵母细胞突破 G2 期阻滞, 这是 MAPK 参与 MPF 激活的一个明确机制。虽然这一机制不是所有卵母细胞 GVBD 所必需的, 但却对后续减数分裂事件至关重要。我们在猪卵母细胞体外成熟的实验中也发现, 在那些不具备成熟能力的卵母细胞中, 体外培养后胞质 MAPK 的活性很低, 说明获得激活 MAPK 的能力是卵胞质成熟的指标之一 (Sun QY 等, 2001)。

在探讨 MAPK 与减数分裂启动的关系时, 笔者认为有三个重要思想应贯穿始终: 首先, 在小鼠和爪蟾这两种模式动物中, Mos 发挥作用的时间不同。在哺乳动物中, Mos 在 GVBD 之后合成, 其作用主要是维持 MII 期阻滞, 而不是像爪蟾那样启动 GVBD。但是缺失 c-mos 的小鼠卵母细胞常不能发育至 MII 期, 而且 PB1 的排放被延迟, 说明在哺乳动物中, 第一次减数分裂虽然可以不依赖于 Mos 而进行, 但正常情况下 Mos 仍然在 MI/II 转化期发挥一定作用。

其次, 虽然我们 (Li G P 等, 2001) 和其他人的实验都证明 MPF 的作用没有种属特异性, 但在不同物种间, 甚至同一物种的不同品系间, 卵母细胞中 MPF 的贮存量不同, 其活化对 MAPK 的依赖性也可能不同, 因此在有些情况下 MAPK 通过抑制 Cdc2 抑制激酶或促进

cyclin 合成而产生出足够的 Cdc2 激酶活性, 完成 G2 - M 转化, 而在另一些动物卵母细胞中则不需要上述机制。

MAPK 与 MPF 的作用是相互的。在所有物种的卵母细胞中, 只有当 Cdc2 活化以后 MAPK 才能被充分激活。Cdc2 可能直接或间接地激活 MAPK 的上游活化分子 Mos。在爪蟾的 Mos 分子中, Ser3 残基的磷酸化为 Mos 活性所必需, 还可以增强 Mos 对蛋白水解的抗性。MPF 可能介导着该磷酸化。一个可能的模式是: MAPK 在成熟早期通过不依赖于 MPF 的途径活化, 而 MPF 在 GVBD 时通过激活 Mos, 促进 MAPK 大量活化。

3 MAPK 与纺锤体组装

在卵母细胞减数分裂启动后产生广泛的微管重构, 细胞质中的游离微管组装成中期纺锤体。细胞的微管组织中心成分发生磷酸化, 使 MTOC 的微管聚合能力增强。MAPK 对这些过程具有重要的调节作用。在小鼠卵母细胞中, MAPK 分布在微管组织中心和减数分裂纺锤体的两极, 并且减数分裂期的微管和染色质行为受 MAPK 调控。即使在 MPF 活性被抑制的条件下, MAPK 也能诱导卵母细胞的染色质凝集和纺锤体形成 (Verlhac MH 等, 1993; Verlhac MH 等, 1994)。我们在猪卵母细胞中发现, MAPK 在 GVBD 时发生磷酸化, GVBD 以后活性 MAPK 聚集在凝集的染色体周围; 在中期纺锤体上, MAPK 主要位于两极, 在分裂末期迁移到中体区, 最后当中体排出时 MAPK 存在于细胞分裂环上。用 U0126 抑制 MAPK 活性后, 染色体分离、第一极体排放和 MII 期纺锤体的形成都被抑制 (Lee J 等, 2000)。我们也发现用促进微管组装的药物紫杉醇 (taxol) 处理猪 MII 期卵母细胞, 可以诱导出现多个 MTOC, 在这些多余的 MTOC 中也有 MAPK 的聚集 (Sun QY 等, 2002)。牛卵母细胞 GVBD 前 MAPK 向核内迁移, 如向生发泡中注射 MAPK 特异性磷酸酶 MKP - 1 的 mRNA, 可以阻止 MAPK 的激活。注射过的卵母细胞仍能进行减数分裂, 但纺锤体畸形、染色体不能很好地排列在赤道板上, 而且自动进行孤雌活化 (Gordo AC 等, 2001)。以上实验都表明 MAPK 参与了中期纺锤体的组装和维持。

多细胞动物卵母细胞的减数分裂是不对称的, 这是由分裂前纺锤体的不对称定位所导致的。纺锤体的运动取决于纺锤体星体和细胞皮质的相互作用。在野生型小鼠卵母细胞中, 纺锤体在细胞中部形成, 并在排放第一极体之前迁移到皮质。在后期, 纺锤体不再伸长; 但在 $mos^{-/-}$ 的卵母细胞中, 纺锤体在细胞中部形成以后不再迁移, 并且在后期纺锤体极度伸长, 结果排出一个异常大的第一极体。已知卵母细胞中纺锤体的迁移不受微管活动调节, 而与微丝网络的活动有关 (Chen DY 等, 2000), 这说明 Mos - MAPK 途径也调节着减数分裂中微丝网络的活动, 而且对于维持纺锤体和 PB1 的正常形态至关重要。

虽然 MAPK 对纺锤体组装有重要调节作用, 但对于纺锤体上的 MAPK 靶分子还所知甚少。Polo - like 激酶 (PLK) 是另一类调节真核生物纺锤体组装的蛋白激酶, 它在 M 期早期集中在纺锤体两极, 在中 - 后期转化时向纺锤体中部迁移 (Tong C 等, 2002)。我们发现, MEK 抑制剂 U0126 可以阻止小鼠 MII 期卵母细胞中 PLK 由纺锤体两极向中部迁移, 暗示 PLK 可能是 MAPK 途径的功能性靶分子。

近年来的研究表明, 在细胞中存在纺锤体组装检验点, 在细胞分裂期末正确组装的纺锤体可通过某种机制维持 MPF 活性, 使细胞不进入分裂后期。既然 MAPK 是调节减数分裂纺

锤体组装的重要分子, 那它的活性是否也受到纺锤体组装的反馈调节? 目前这方面的报道还很少, 我们发现, 在猪卵母细胞中用秋水仙素破坏纺锤体、用 taxol 诱导微管组装, 或用细胞松弛素 B 解聚微丝, MAPK 的活性都不受影响, 说明 MAPK 活性不受纺锤体组装的直接调控。MAPK 在纺锤体组装检验点中的作用还有待深入研究。

4 MAPK 途径与 MII 期阻滞

Cyclin B 的降解是细胞退出 M 期所必需的, MPF 负反馈激活后期促进复合体 (anaphase promoting complex, APC), APC 使 cyclin 泛素化后, 再由 26S 蛋白酶体降解 cyclin。在脊椎动物卵母细胞中存在细胞静止因子 (cytostatic factor, CSF), 使卵母细胞的减数分裂阻滞在 MII 期。目前认为 CSF 不是单一因子, 而是多种蛋白激酶的组合。虽然对 CSF 的本质还未完全认识, 但已知 Mos - MAPK - p90rsk 通路是其关键成分。向蛙卵裂球中注射 Mos mRNA、活化的 MAPK 或 p90rsk, 都能阻止其进一步卵裂。c - mos 基因敲除的小鼠卵母细胞在排卵后不发生 MII 期阻滞, 而是自发地孤雌活化。MEK 抑制剂 U0126 能诱导猪卵母细胞突破 MII 期阻滞。以上结果都表明 MAPK 通路在 MII 期能够阻止 APC 依赖的 cyclin 降解和染色体分离过程。但笔者认为 CSF 不会仅仅由 MAPK 通路组成, 它一定还包含未知的重要分子, 因为 MAPK 途径在 MI 期已被完全激活, 但减数分裂并不阻滞在 MI 期, 说明在 MI 期与 MII 期之间某个未知因子的出现才使卵母细胞具有完全的 CSF 成分。

在卵母细胞中, cyclin B 处在合成与降解的动态平衡之中, CSF 的作用机制可能在于阻止 APC 对其底物的泛素化, 或者使 MAPK 依赖的蛋白合成水平超过泛素依赖的蛋白降解水平。有趣的是, 虽然 CSF 导致了 MII 阻滞, 但卵母细胞在受精后突破 MII 阻滞却不需要 MAPK 或 CSF 失活。在生理条件下, 卵母细胞突破 MII 期阻滞是由 Ca^{2+} /钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II (calmodulin - dependent kinase II, CaMK II) 介导的。CaMKII 使 M 期 cyclin 降解, 姊妹染色单体分离 (Descombes P 等, 1998)。就是说, 如果 MAPK 抑制 cyclin 降解, CaMKII 则可以克服这个抑制作用。这就可以解释为什么在那些受精发生在 MII 期以前的无脊椎动物卵母细胞中, 即使 MAPK 仍处于活化状态, 减数分裂也不阻滞在 MII 期: 因为突破减数分裂阻滞的因素 (CaMKII) 已经被启动了。但是, 怎样的机制在第一次减数分裂中推动中 - 后期转换, 又是何种机制阻止其中 MII 期继续发挥作用? 这些机制又与 MPF、MAPK 有怎样的关系? 到目前为止这些问题还无法回答。

5 MAPK 在受精后的作用

受精是诱导卵母细胞突破 MII 期阻滞的生理刺激因素。受精后卵母细胞发生一系列重要代谢转变, 包括胞质钙离子增加、细胞骨架重组和活性线粒体迁移等。

在整个动物界, 受精后 MPF 的活性迅速降低, 这是卵母细胞突破 MII 期阻滞所必需的, 但 MAPK 在第二次减数分裂过程中维持高活性, 一直到原核形成稍前, 即第一次有丝分裂周期的 DNA 合成之前不久, MAPK 活性才降低, 并且在其后的细胞周期中不再出现。显然 MPF 和 MAPK 的失活是通过不同机制实现的。MAPK 在第一次胚胎细胞周期中的作用还所知甚少, 特别有待研究的是卵活化后 MAPK 的延迟失活对 M 期 - 间期转化有何重要意义。最近有人发现, 在海胆、海星、蛤等海洋无脊椎动物中, 抑制卵母细胞中的 MAPK 活性, 受精后