

Number 31, 2013.08.01

**臺灣大學「發育生物學與再生醫學研究中心」電子報**

Research Center for Developmental Biology and  
Regenerative Medicine Newsletter

**中心網頁：** <http://homepage.ntu.edu.tw/~ntucdbrm622/>

**Facebook:** **NTU Research Center for Developmental Biology &  
Regenerative Medicine.**

中心主任：楊偉勛 教授  
榮譽主任：鍾正明 院士

總編輯：謝豐舟教授  
副總編輯：吳益群教授  
編輯顧問：孫以瀚研究員

編輯幹事： 陳敏慧教授、徐善慧教授、黃敏銓教授、  
丁照棣教授、陳思原教授、李士傑副教授  
曹伯年副教授、王弘毅副教授、林頌然副教授  
楊宗霖副教授、劉逸軒助理教授、陳佑宗助理教授  
林泰元助理教授、 陳沛隆助理教授

美編製作：劉麗芳

NTU  
C.D.B.R.M

# 本次主題

1. 重要消息
2. 專題演講預告  
2013年09月 16日  
類固醇與胚胎發育 / (Steroids and Embryo Development)  
鍾邦柱研究員/中央研究院分子生物研究所
3. 專題演講預告  
2013年11月 04日  
**Howard Y. Chang, M.D., Ph.D.**  
**Stanford University School of Medicine**  
**Howard Hughes Medical Institute**
4. 發生生物學實驗課期末報告  
李士傑副教授/臺大動物所
5. 調控中腦多巴胺神經細胞發育之相關分子機制探討  
食品科技研究所 博士生 謝雯婷
6. 從玉米探索基因體的奧秘—Barbara McClintock  
(跳躍基因的發現者)  
臺大醫學院 /謝豐舟教授

# 重要消息

臨床醫學研究所楊偉勛教授正式續聘為本中心主任，聘期自102年7月1日起至105年6月30日止。

## 1. 主要成員: 9人

榮譽主任: 鍾正明院士

中心主任: 楊偉勛教授

顧問: 謝豐舟教授

副主任: 陳思原教授

執行長: 曹伯年醫師

副執行長: 楊宗霖醫師

副執行長: 林頌然醫師

副執行長: 李士傑副教授(2013新成員)

秘書: 劉麗芳小姐

## 2. 主要業務

(a) 促進國內外發育再生相關學術單位合作。

(b) 培育發育再生領域相關人才。

## 3. 執行成果: 99年-102年

(a) 國際研討會議: 主辦6場、協辦3場。

(b) 校區生科院、醫學院-學術討論專題演講約有52場，邀請國外學者約33人

(c) 本中心發表國際論文共30篇，其中有2篇*Science*，是由鍾正明院士研究團隊發表。

(d) 中心網頁和Facebook:

中心電子報: 出刊第31期(2013.08.01)、研究快報、專題演講錄影檔等等。

(e) 今年開設發育實驗課: 由中心申請，目前由李士傑副教授負責。

## 4. 未來發展方向

(a) 將校區和醫學院之發育再生課程整合作研究教學發展。

(b) 南加大與臺大校總區、醫學院、醫院之間的國際研究合作計畫。

## 102年5月20日-101學年度第2學期諮詢委員會各委員對中心之重要建議如下:

- 1.本中心在楊主任及團隊努力下，以有限的經費，2-3年內與國內外的發育再生學術單位間有良好且頻繁的交流聯繫，對發展學術教育的成果有目共睹，與會委員均肯定本中心之貢獻及所具重要性。
- 2.亞太地區發育再生發展快速，處於此競爭激烈的時代，應藉由鼓勵本中心與臺大校總區、醫學院區、附設醫院，以及中研院等學術單位緊密配合，發揮臺灣再生醫學與幹細胞的發展優勢。除加強團隊合作外，更應廣拓領域，細胞及型態生成等都是重要的關鍵研究，希望藉由本中心推動整合性的研究計畫。
- 3.有關學程部分，醫學院幹細胞學程恰於今年結束，本中心或可考慮承接，以向教育部申請補助，預估3-4年可有450-500萬經費，但需辦理補助全國夥伴大學相關之諸多課程與活動。臺大本即教育核心，若本中心能承接現有的學程，將能事半功倍，並可藉以整合發育再生教育學程中心，訓練人才。此外，亦可考量設立學分學程。
- 4.因國科會IRIS計畫宣告中止，建議可申請其他國科會自由型卓越學研試辦計畫等大型整合計畫，以整合國內再生、發育人才。
- 5.延攬與招募新的年輕教授對中心未來發展也非常重要，可發掘新的研究方向和訊息，並開展不同思考方向，例如IPS和Stem Cell等。目前校內資源不足，若能支持這些新的老師做出好的研究，在教育和學術有所發揮，必能成為未來中心之中堅人員。
- 6.藉由鍾正明院士的國際學術影響力，除與南加大之合作外，應多進行與日本或其他亞洲國家的再生醫學、器官移植或組織再生工程等之交流，並標訂出具體目標。
- 7.中心電子報應有英文版本，以與國際相關研究單位有所交流，並應適時加入影音檔，影音檔之製作，可尋求臺大科教中心協助。
- 8.近期地質系將邀請季強博士進行一年訪問，其為中國大陸研究恐龍發展到鳥類之翹楚，本中心或可邀請之加入中心研究團隊。

# 專題演講預告

演講人：鍾邦柱研究員  
中央研究院分子生物研究所



題目：類固醇與胚胎發育  
(Steroids and Embryo Development)

時間：2013年09月16日 星期一  
10:30AM~12:00PM

地點：台大醫學院202教室

研究方向：

類固醇荷爾蒙的功能與調控

- I. 用突變鼠研究類固醇的調控與功能
- II. 斑馬魚的發育
- III. 類固醇合成基因的調控機制

## 專題演講預告：11月4日



**Howard Y. Chang, M.D., Ph.D.**  
(張元豪博士)  
Stanford University School of Medicine  
Howard Hughes Medical Institute

**“DR. Howard Chang is from Taiwan but educated in US with MD from Harvard and PHD from MIT, mentored by Dr. David Baltimore. He did clinical training in Stanford dermatology. He is now a professor in Stanford University and junior investigator of Howard Hughes Medical Institute. Dr. Chang is distinguished for his pioneer work in long noncoding RNA, which is found to play important roles in epigenetic regulation during development, aging, cancer, etc. Dr. Chang will be in Taipei for Annual Conference of Asia Epigenome Alliance meeting. I am glad he is willing to visit our Research Center for Developmental Biology and Regenerative Medicine in Taiwan University and interact with our faculties. In addition to outstanding research, he is an inspiration to our young physician scientists and medical students. You can find more about him in <http://changlab.stanford.edu> “**

**by Cheng Ming Chuong**



# 發生生物學實驗課 期末報告

李士傑副教授  
臺大動物所

發生生物學為研究多細胞生物發育過程之科學，傳統上胚胎發育是其研究主軸，而近年來醫學研究相關問題如幹細胞、再生及老化也都納入其中。在臺大由黃火鍊老師所主授之發生生物學多年來深受學生喜歡，也引導了許多學子踏入發生生物學之領域。發生生物學為大學部之進階課程，以多種生物學知識為背景。而胚胎發育更是一個動態立體空間變化的過程，非親眼觀察操作無法一窺其奧密，因此實驗課程有其必要性。然因各種動植物胚胎發育時間的限制、樣本處理繁複、高階儀器之需求及耗材成本等限制，臺大雖有多位發生生物學相關教師，但多年來發生生物學實驗課卻遲遲無法開課！

其實開設發生生物學實驗課之念頭已在我腦中盤旋多年，也曾與生科院吳益群及丁照棟老師有過多次的討論，但卻一直未付諸行動！在**2010**年本人奉命將實驗室由漁業科學館搬遷至生命科學館，同時受命籌建發生生物學核心實驗室(位於生科館**6樓615室**)，納入生科院共儀TechComm管理。該實驗室除協助發生生物學研究外，支援教學亦是既定目標之一。在**2012**年底該核心實驗室硬體結構完成，配合同時成立之生科院斑馬魚核心設施，加上吳老師及丁老師所分別主持之國科會線蟲及果蠅生物資源中心，發生生物學實驗課之開設似乎應可進行！

在與多位發生生物學相關教師討論計劃後，受到熱烈的支持，多人表達參與授課之意願，也產生了另一個問題，我們有了太多的模式生物而上課時數過少，這是始料未及的事，但也給足了我充足的信心，這門課開定了！

剛好生科系郭典翰應其主任要求下寫了一份發生生物學教學改善計劃，我乃依其版本加上原本之規劃完成課程計劃書，課程規劃由十位教師(見表一) 針對植物(阿拉伯芥及大岩桐)、陸生無脊椎動物(果蠅、線蟲及蚜蟲)、水生無脊椎動物(海膽、文昌魚及水蛭)及脊椎動物(小鼠及斑馬魚)，大致涵蓋目前發生生物學研究常用物種，如附圖一。

表一：授課師資與研究領域

	姓名	單位	領域
1	丁照棟	台大生科系	果蠅遺傳演化
2	王俊能	台大生科系	花對稱性與傳粉性狀 演化
3	李士傑	台大動物所	斑馬魚胚胎發育
4	吳益群	台大分細所	線蟲胚發育
5	郭典翰	台大生科系	水蛭胚發生及演化
6	陳佑宗	台大基因體暨蛋白質體所	小鼠胚胎幹細胞
7	張俊哲	台大昆蟲系	蚜蟲胚胎發育
8	游智凱	中研院細生所	文昌魚胚發生及演化
9	謝旭亮	台大植科所	阿拉伯芥發育 訊息傳遞
10	蘇怡璇	中研院細生所	海膽胚發育基因網路



# 附圖一：發生生物學實驗課教師及生物模式

## Plants



## Terrestrial Invertebrates



## Aquatic Invertebrates



## Vertebrates



此一規劃書得到生科系、生科院及發育再生中心之經費支持，也在發育再生中心支持下獲得校教學改善計劃，讓此課程在人力及物力均不虞缺乏之情況之下順利開設，也如夢幻般地完成了！

以下為一些上課時的照片：

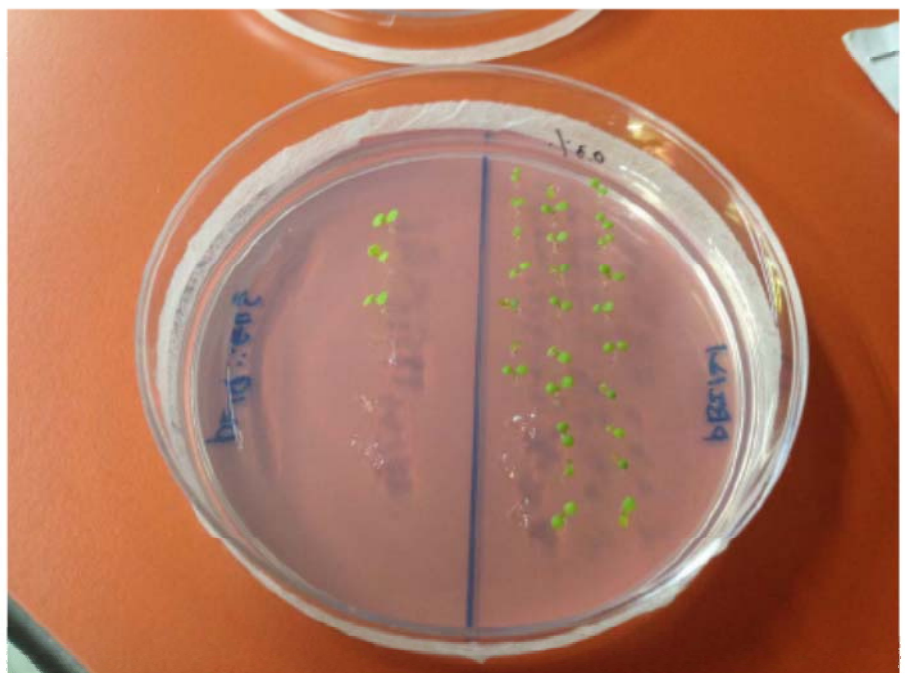
## First Class



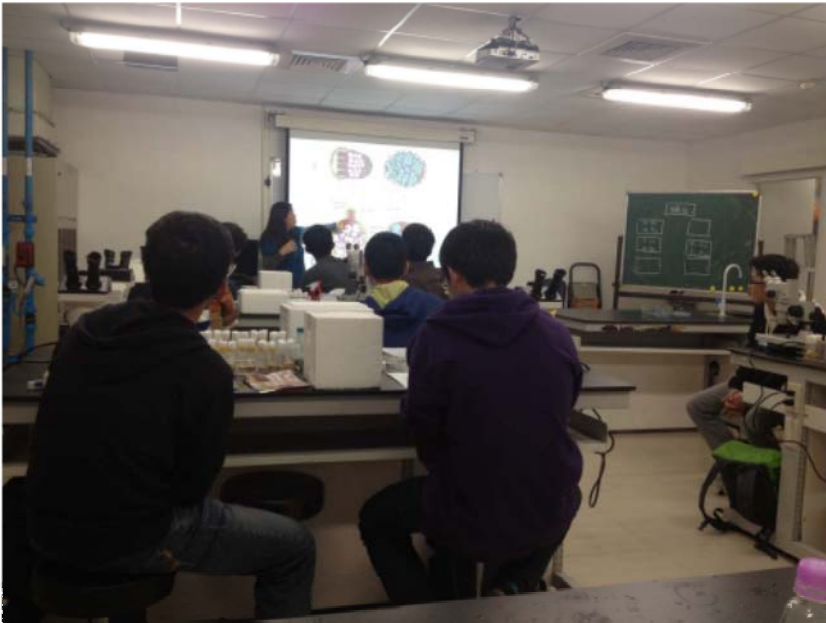
# 大岩桐\_王俊能老師



# 阿拉伯芥\_幼苗



## 果蠅\_丁照棣老師



## 果蠅幼蟲\_丁照棣老師

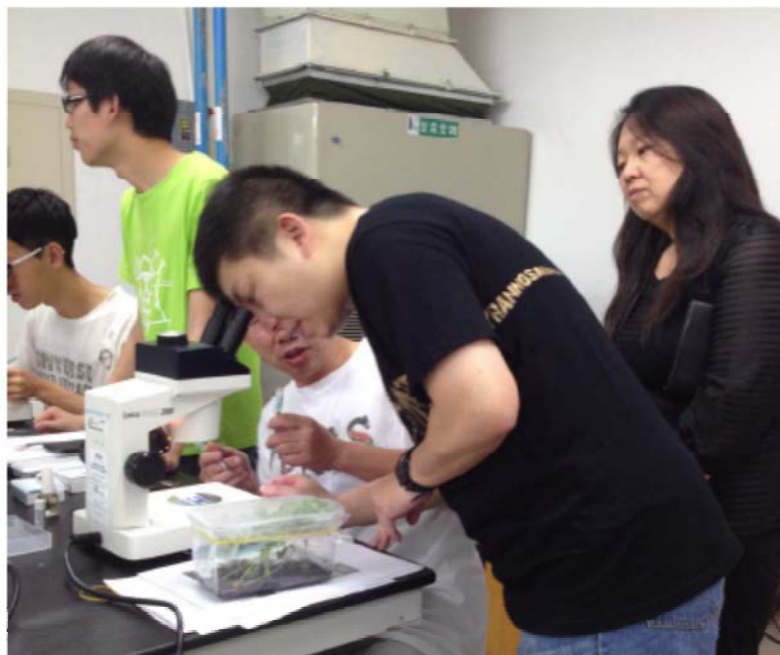




# 蚜蟲胚胎 \_張俊哲老師



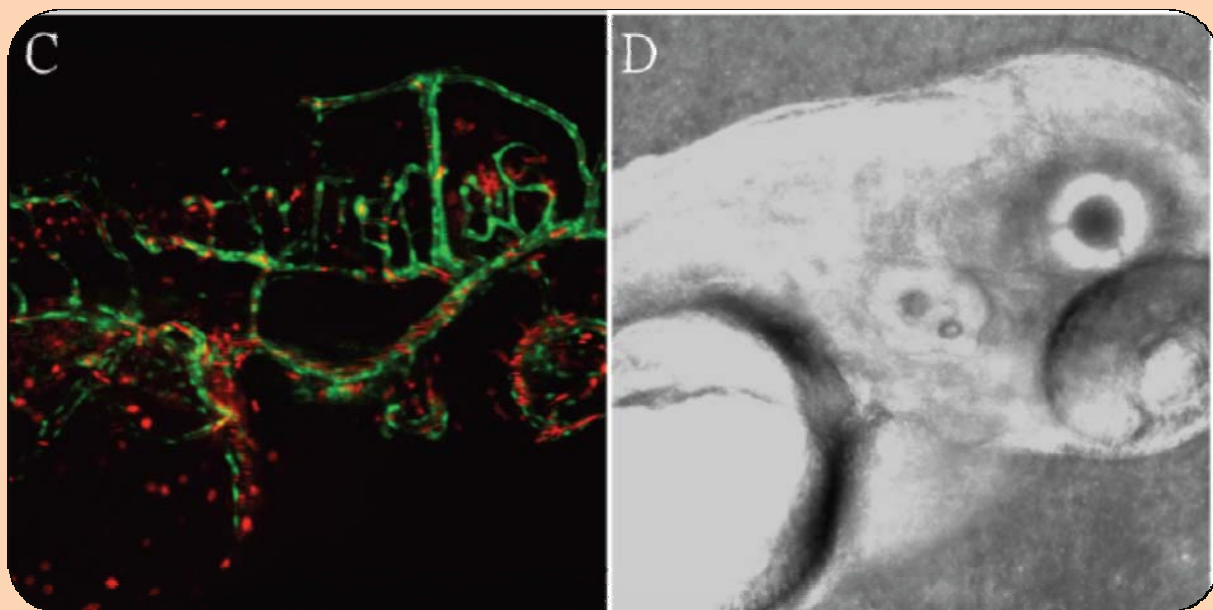
## 老師們搶著玩實驗





在六月五日我們上完了最後一堂斑馬魚實驗課，非常罕見地我們”相對準時”完成了對斑馬魚心血管及神經之觀察及實驗(如下圖)。

### 斑馬魚血管(綠螢光)及血球(紅螢光)造影

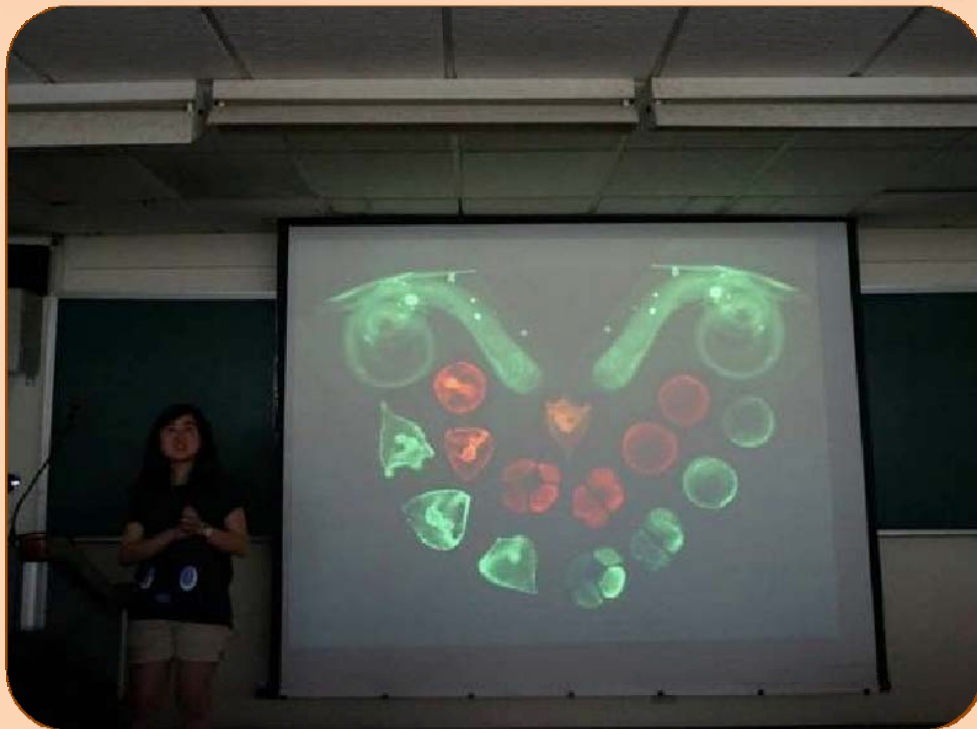


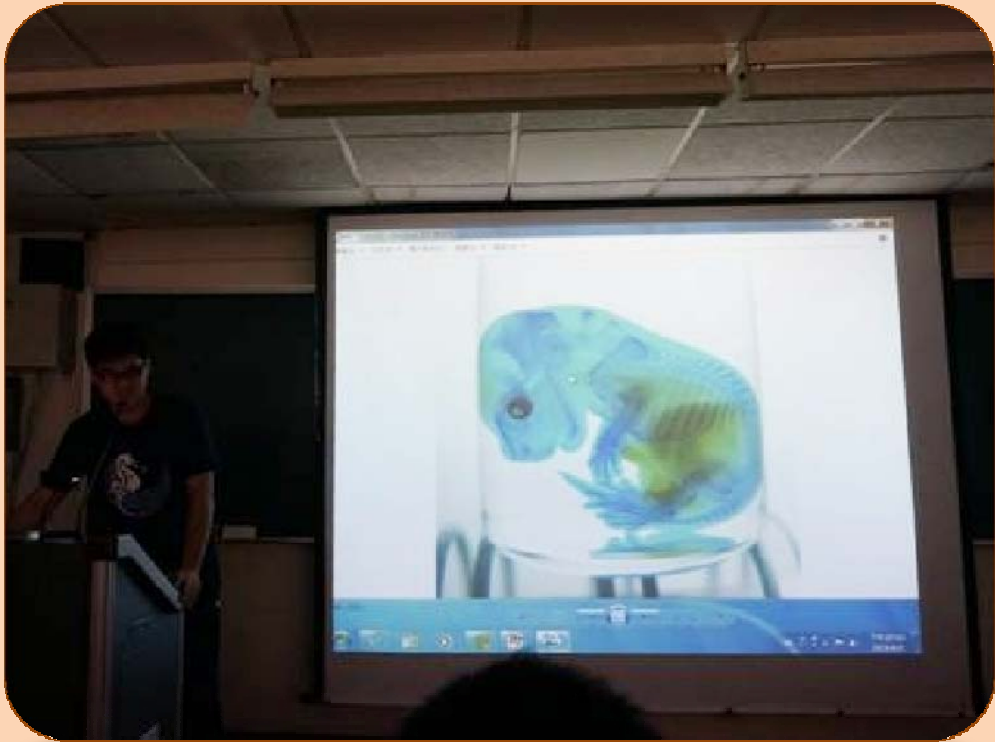
於六點半開始我們開始了課後聚餐及討論會，除學生外，郭典翰老師，蘇怡璇及游智凱和他們一對可愛的兒女也都蒞臨。

餐會中，學生分享了在一整個學期上課之感想及在實驗課中所拍攝之影像如下各圖。



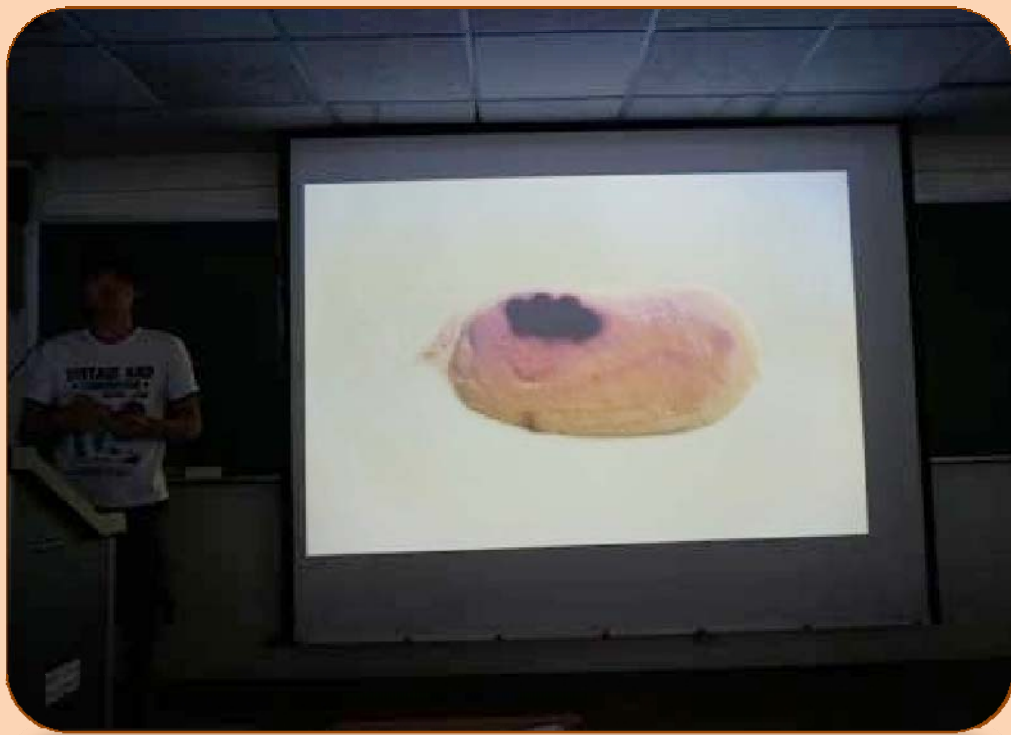
同學分享成果





同學分享成果





報告中學生們都很珍惜這次難得的機會，可以在單一課程中有十種不同物種發生生物學實驗親身的體驗，更有機會接觸到包括共軛對焦顯微鏡之類的高階儀器，這是他們在其他實驗課中難以接觸的。當然因實驗時間之不足及物種過多導致無法接觸實驗之全貌，也多有遺憾！

總體而言，結合了所有老師、助教及同學們的努力，我們為一門臺大前所未有的發生生物學實驗課畫下了完美的句點!最後當然必須再次感謝教務處，生科院、生科系及發育再生中心的支持，讓我們無後顧之憂，順利完成這個課程!十分感恩!



# 调控中腦多巴胺神經細胞發育之相關分子機制探討

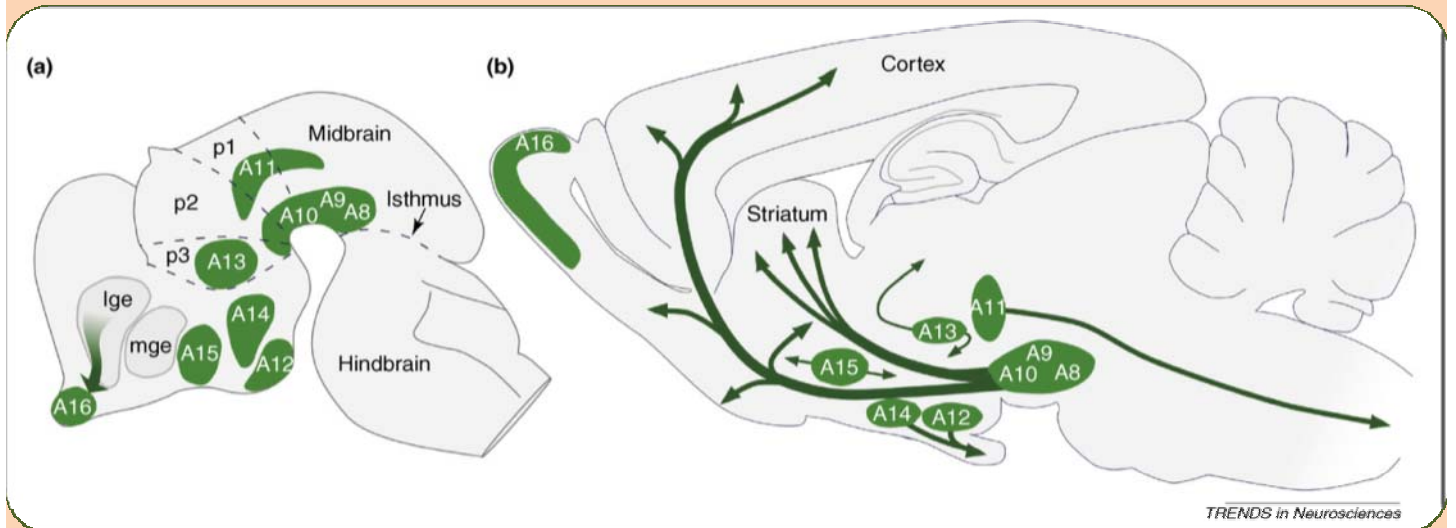
食品科技研究所 博士生 謝雯婷

## 前言

哺乳類腦部的多巴胺神經細胞 (dopaminergic neuron, DA neuron) 依其在解剖結構位置上的相異，可分成A8-A16九種分型 (圖1) (Björklund and Dunnett, 2007)，其皆表現tyrosine hydroxylase (TH) 故能產生並釋放多巴胺 (dopamine, DA)，但在空間分布與分子特徵上各不相同。在成體中央神經系統 (central nerve system, CNS) 中，約有75%的DA神經細胞位於中腦腹側 (ventral midbrain, VM)，而此區的DA神經細胞經研究發現是源自胚胎期之中腦 (mesencephalon) 的底板 (floor plate, FP) 區域 (Ono et al., 2007)，並分別在其後形成A8、A9和A10此三群DA神經細胞。其中，A9群會形成黑質緻密部 (substantia nigra pars compacta, SNpc)，其會透過黑質紋狀體路徑 (nigrostriatal pathway) 投射至紋狀體 (striatum) 的背側方，這類細胞與自主運動的控制有關。缺乏A9群即是帕金森氏症 (Parkinson's disease, PD) 的病理性特徵，PD即為一種以病患產生震顫 (tremor)、僵硬 (rigid)、步伐困難 (gait difficulty) 及動作遲緩 (bradykinesia) 等動作障礙 (Goetz et al., 2001) 為主要症狀的神經退化性疾病。另一方面，A10與A8群則會分別形成腹側被蓋區 (ventral tegmental area, VTA) 和紅核後區 (retrobulbar field, RRF)，其會透過中腦皮質邊緣系統 (mesocorticolimbic system) 透射至紋狀體背側方與前額葉皮質 (prefrontal cortex)，並分別與情感调控以及預期獎勵心態有關 (Tzschentke and Schmidt, 2000)，此區細胞若產生異常可能會導致精神分裂症、藥物上癮與心理沮喪等現象。相較於其他群的DA神經細胞，跟PD衰退相關的A9群細胞具有特別易導致細胞死亡的特性，因此顯示出自胚胎發育初期的些微差異，導致後續多巴胺神經細胞無論是在解剖結構上、功能性上以及細胞敏感性上皆具有不同的特性，故牽涉其中相關的細胞與分子機制便值得進一步去探討與瞭解，此可有助於後續PD潛力性療法的開發與研究。



圖1 發育中(a)與成年(b)啮齒類的DA神經細胞分布圖(橫切面)。  
Abbreviations: lge, lateral ganglionic eminence; mge, medial ganglionic eminence; p1–p3, prosomeres 1–3

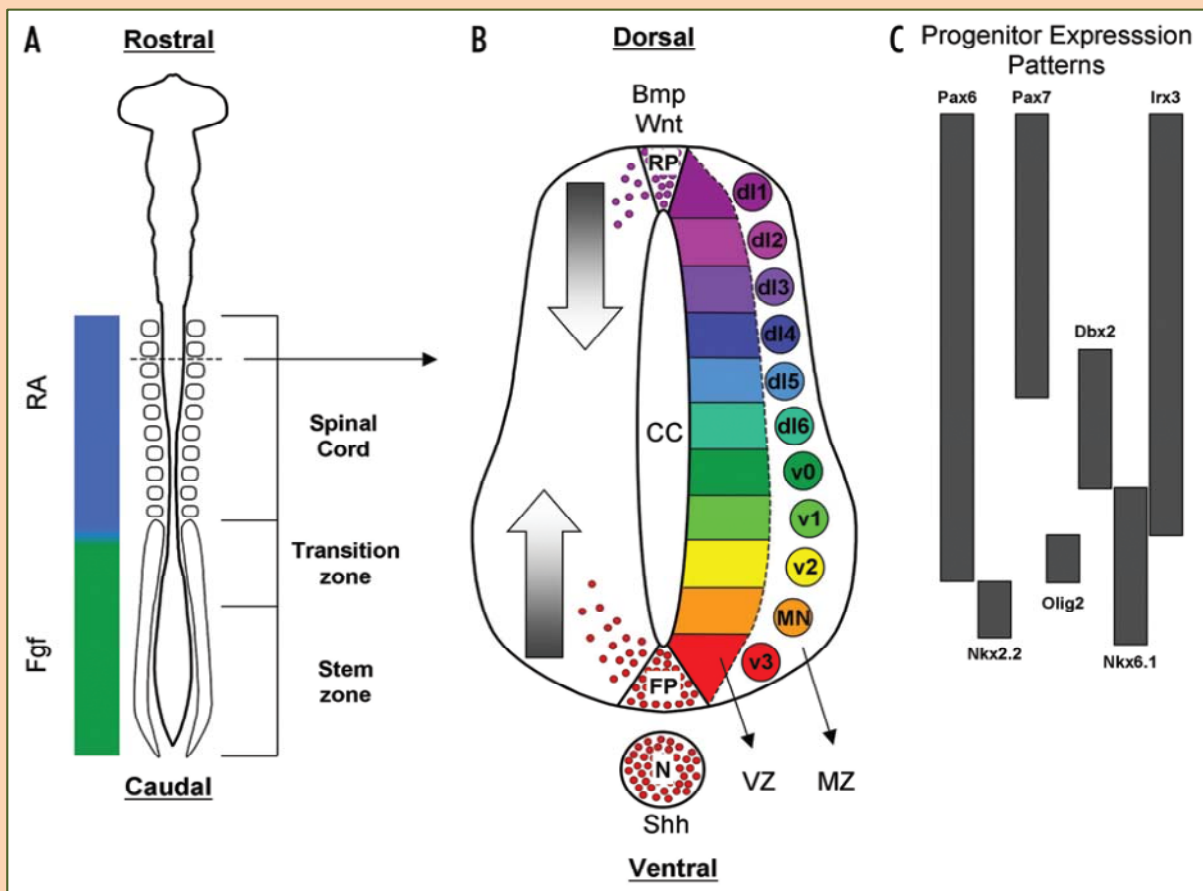


(Björklund and Dunnett, 2007)  
[Trends Neurosci.](#) 30(5):194-202.

## VM處的早期型態發育 Early patterning of ventral mesencephalon

在原腸腔形成（gastrulation）時，外胚層背側方的細胞即會受到來自Spemann organizer的相關信號調控如BMP（bone morphogen protein）、SHH（sonic hedgehog）的梯度分布，而使其後形成的神經管（neural tube）進一步地沿著AP軸（anterior-posterior axis）與DV軸（dorsal-ventral axis）形成特定的分區（圖2）（Ulloa and Briscoe, 2007），其中，FP以及isthmus organizer此兩區域即與VM發育密切相關。

圖2 脊髓的結構示意圖：(A)早期神經管的背側方示意圖；(B)脊髓區的橫切面示意圖；(C)DV軸與調控神經細胞種類相關的轉錄因子表現分布圖。Abbreviations: RA, retinoic acid; CC, central canal; VZ, ventricular zone; MZ, mantle zone; N, notochord; RP, roof plate; FP, roof plate



(Ulloa and Briscoe, 2007)  
[Cell Cycle](#). 6(21):2640-9.

FP自小鼠胚胎E8.5 (embryonic day 8.5) 起便會開始分泌Shh蛋白，Joksimovic等人 (2009) 則利用GIFM (genetic inducible fate mapping) 技術去追蹤不同時期細胞的發育情形，結果發現VM區的*Shh*表現具有空間和時間上的差異性，此差異性又與不同類型的中腦DA神經細胞之產生有關。早期medial區的*Shh*<sup>+</sup>前驅細胞主要形成VTA區以及少數SNpc區的DA神經細胞，而後期intermediate區的*Shh*<sup>+</sup>前驅細胞則皆會形成三種DA神經細胞，但以SNpc區的DA神經細胞群占多數 (圖3)。

另一方面，isthmus organizer是一位於中腦和後腦之分界點的重要信號中心，而其位於MHB (midbrain-hindbrain boundary) 的正確定位有賴*Otx2* (orthodenticle homolog 2) 和*Gbx2* (gastrulation brain homeobox 2) 此兩基因進行調控。*Otx2*主要表現於發育中神經管前端的前腦和中腦，而*Gbx2*則表現在後腦前端的偏尾側，*Gbx2*表現的末端界線會限制*Otx2*的表現，藉此創造出一介於中腦和後腦間的明顯分界 (圖4) (Millet et al., 1999)。此外，*Otx2*和*Gbx2*之MHB的定位決定也與正常的DA神經細胞量相關，當在後腦處異位表現*Otx2*時，isthmus organizer會往尾端移動，而VM的DA神經細胞數量會增加，反之，當剷除*Otx2*表現時，isthmus organizer會往前端移動，VM的DA神經細胞數量會減少 (Brodski et al., 2003)。一旦*Otx2*與*Gbx2*交互作用決定好MHB的位置後，後續一連串的轉錄因子便會接續在此處表現 (Rhinn and Brand, 2001) (圖5)，其中，*Pax2* (paired box 2) 會誘發*FGF8* (fibroblast growth factor 8) 的表現，而*Otx2*和*Gbx2*則會透過對*Grg4* (Groucho-related gene-4) 的拮抗性調控以及誘發*Wnt1* (wingless-related MMTV integration site 1) 之表現而進一步穩定*FGF8*的表現位置和表現情況；*En* (engrailed gene) 由中胚層誘發產生，後續則由*Wnt1*維持其表現，其可支持*Pax2*去誘發*FGF8*的表現 (Ye et al., 2001)。當*FGF8*被誘發表現後，*En2*和*Pax5*會開始在MHB處表現。

圖3 源自不同時期與不同區域之*Shh*<sup>+</sup>前驅細胞的中腦神經細胞示意圖：(A-C) 中腦發育過程中之*Shh*<sup>+</sup>區域示意圖；(D)成體中腦處神經細胞之組成與其胚胎發育起源處的對照圖。

該研究利用*Shh::CreER<sup>T2</sup>* strain與R26 reporter(*ROSA loxP-STOP-loxP-beta-gal*)的雜合小鼠進行實驗，當施以實驗動物TAM時，TAM會與滯留於細胞質中由*Shh*表現情形調控的CreER結合，接著此複合物進入細胞核，Cre會截切R26 locus上的loxP位，活化後續的reporter gene，而表現beta-galactosidase蛋白，因為TAM的穩定性僅維持24-36小時，且在餵食TAM約6小時後，Cre-ER-TAM會入核，其穩定度約維持24小時，故能利用此技術做特定時間的細胞標定，而可追蹤其後的發育情況(Alvarez-Bolado et al., 2012)，該實驗則藉此可用來標示不同時間與不同位置的*Shh*<sup>+</sup>前驅細胞。

Abbreviations: TAM: tamoxifen; RLi, rostral linear nucleus; VTA: ventral tegmental area; IF, interfascicular nucleus; SNpc, substantia nigra pars compacta; EW, Edinger Westphal nucleus; RN, red nucleus; SNpr, substantia nigra pars reticulata; mb, mammillary body; Dk, nucleus of Darkschewitsch; Inc, interstitial nucleus of Cajal; IPF, interpeduncular fossa

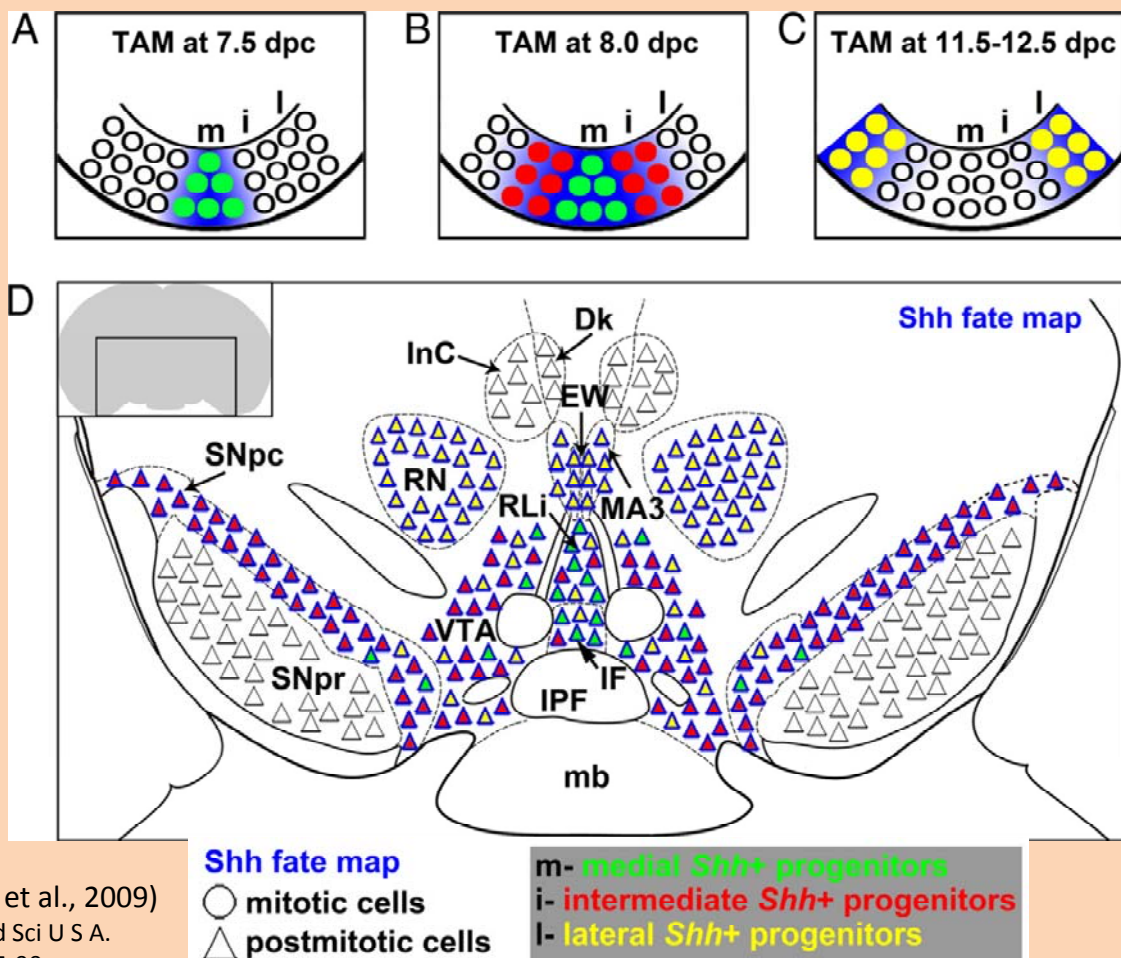




圖4 *Otx2*與*Gbx2*的相互抑制形成MHB分界：(A)在ESS(early somite stage)期，將*Gbx2*剔除會導致*Otx2*的表現往尾端自MHB擴展至r3/4處(a-d)，但並未形成明顯的分界，*Fgf8*與*Wnt1*也往尾端擴展，顯示*Gbx2*可能透過抑制*Otx2*而形成正確的分界，因此；接著在(B)*Wnt1*作為enhancer的*Gbx2*轉基因鼠胚中進行驗證，發現*Otx2*的表現確實往前端擴展，且形成明顯分界，同時，*Fgf8*和*Wnt1*的表現也往前端擴展，其相對位置與梯度表現量也較為正常；(C)*Otx2*與*Gbx2*調控MHB定位之示意圖。

Abbreviations: r3/4, rhombomere 3/4 boundary; d/m, mes/diencephalic boundary

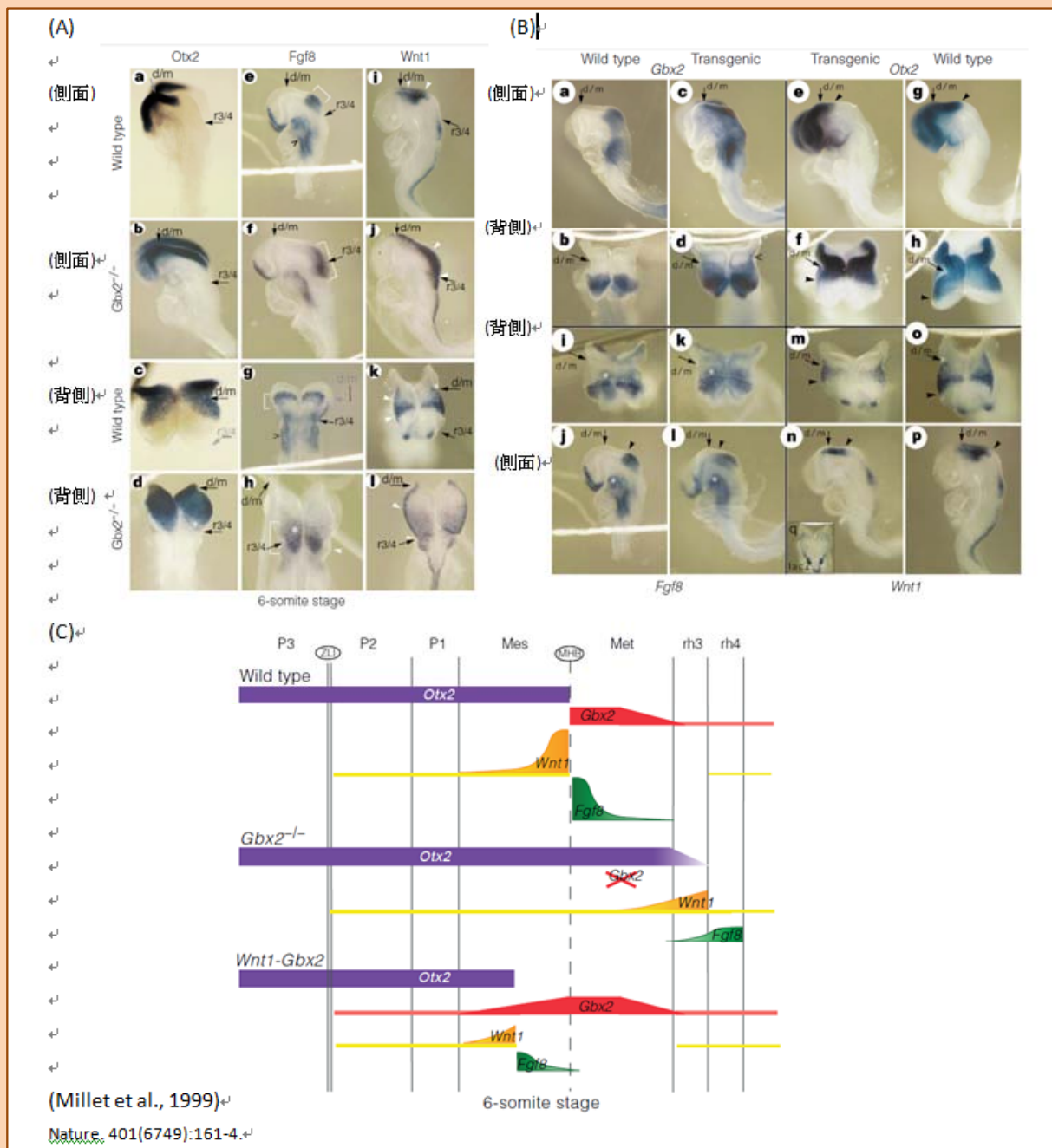
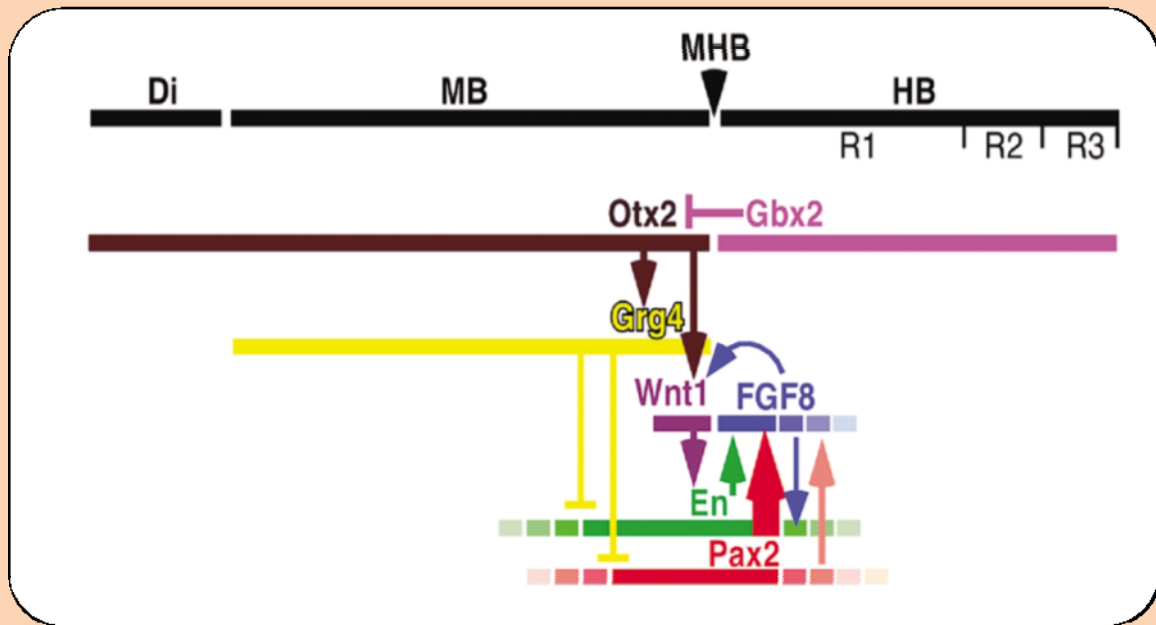




圖5 MHB處與調控Fgf8表現相關的正、負向調控關係示意圖。



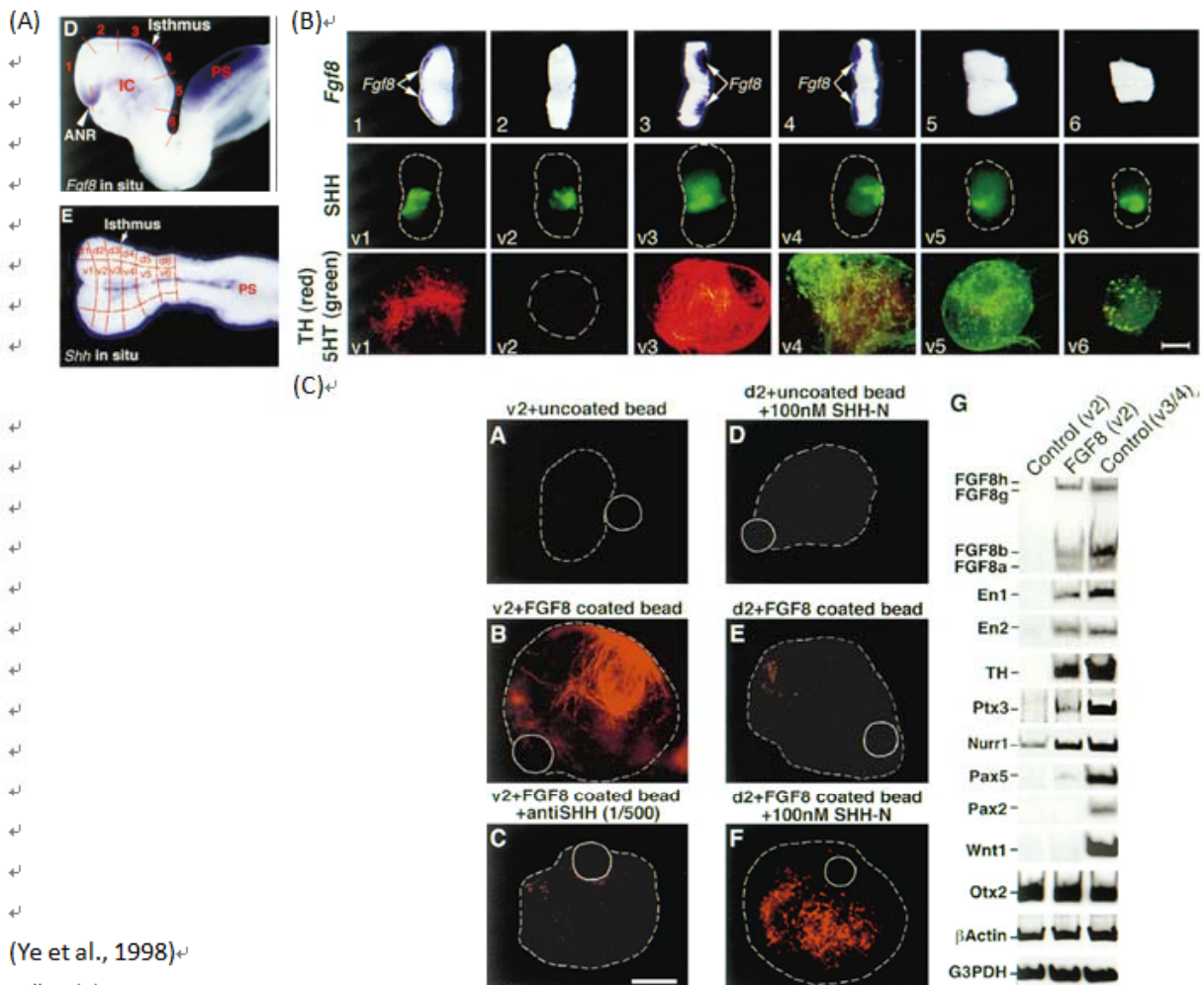
(Ye et al., 2001)  
Nat Neurosci. 4(12):1175-81.

## VM處的DA神經細胞型態之誘發產生 Induction of a VM DA phenotype

除了與VM處的DA神經細胞的型態發育相關之外，FP和isthmus organizer在DA神經細胞的誘發中同樣扮演重要的角色（圖6），VM處之DA神經細胞的誘發與FP分泌的Shh以及isthmus organizer分泌的FGF8之間的交互作用有關（Ye et al., 1998），然而，FGF8與VM的DA神經細胞發育相關的機制目前還不清楚，但研究發現一旦喪失FGF受器，會導致VM的型態發育產生改變，也會造成VM之DA神經細胞在發育成熟的過程中產生錯誤（Lahti et al., 2012）。而Shh的存在則會進一步地誘發後續與DA神經細胞型態決定相關的基因表現，包含 *Lmx1a*（LIM homeobox transcription factor 1, alpha）、*Msx1*（msh homeobox 1）與 *FoxA2*（forkhead box protein A2）等。

圖 6 Fgf8 及 Shh 的交互作用對 DA 神經細胞之調控作用：(A)E14 期的大鼠胚胎之 Fgf8 與 Shh 的表現情況；(B)依(A)圖之劃分取各處的 explant 培養至 E9 期時之 Fgf8、SHH 以及 TH 的表現情形；(C)Fgf8 的存在下，原本不產生 DA 神經細胞(TH+)的 v2 explant 產生 DA 神經細胞，且此誘發需要 SHH 的存在。

Abbreviations: PS, primitive streak; ANR, anterior neural ridge; IC, intraembryonic coelom

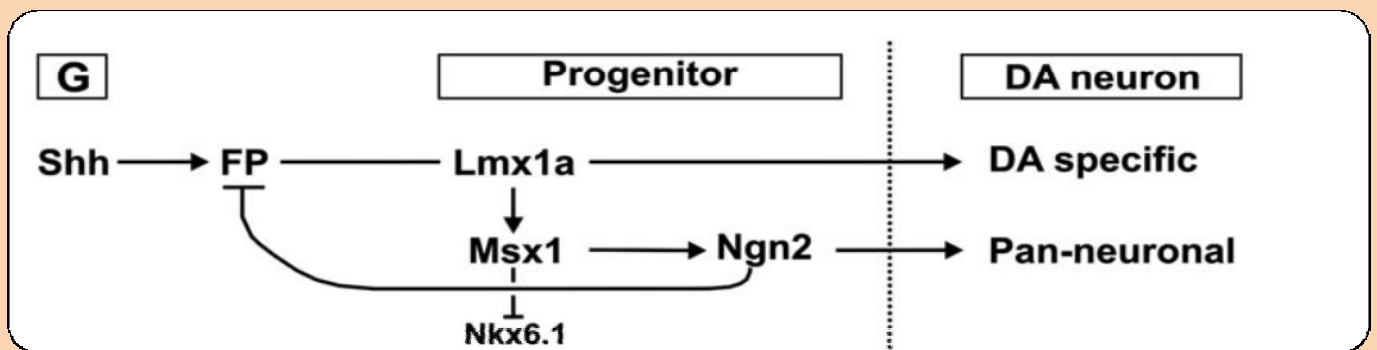


(Ye et al., 1998)

Cell, 93(5):755-66.

VM處的神經前驅細胞（neural progenitor, NP）之所以能往DA神經細胞進行發育的首要訊息取決於*Lmx1a*與*Msx1*的表現，兩者約在小鼠的E9期開始表現。Andersson等人（2006）發現Shh首先會先誘發*Lmx1a*的產生，接著誘發其下游*Msx1*的表現，其中，*Lmx1a*的表現為誘發DA神經細胞之產生所必須，而*Msx1*則會抑制*Nkx6.1*表現，*Nkx6.1*為產生運動神經與脊髓所需，顯示*Msx1*有抑制DA前驅細胞往其他細胞分化的潛力（圖7）。

圖7 與DA神經細胞之決定相關的分子機制示意圖。

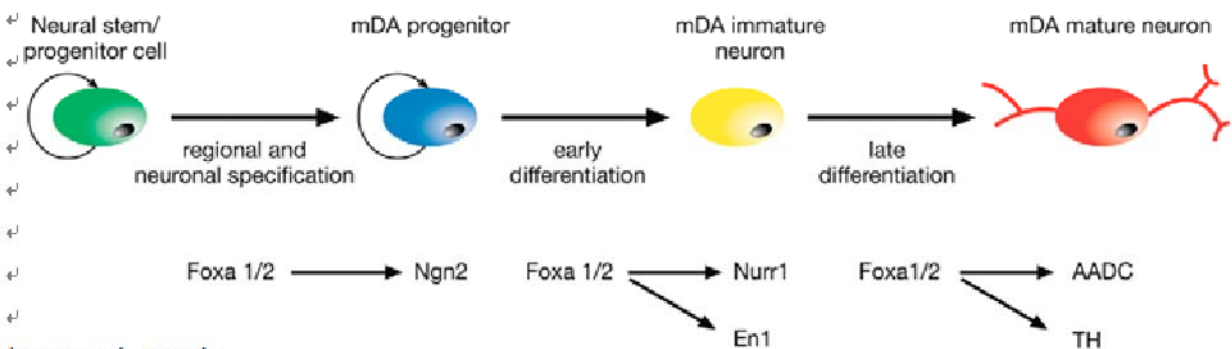


(Andersson et al., 2006)  
Cell. 124(2):393-405.

此外，*Msx1*也會透過誘發*Ngn2* (neurogenin 2) 的表現，而促使神經分化得以對DA神經細胞的形成有所貢獻，同時此朝神經分化邁進的傾向會造成FP特性的喪失。另一方面，*Shh*之所以在扮演DA神經細胞上具有關鍵角色的原因之一是能調控*FoxA2*的表現，其主要是透過*Shh*信號傳遞的下游*Gli1*進行調控 (Hynes et al., 1997)。*FoxA2*與*FoxA1*可透過調控*Ngn2*的表現以及抑制*Nkx2.2* (與 oligodendrocyte 分化相關) 與*Hel* (與GABA神經細胞分化相關) 之表現而促使DA神經細胞的專一性分化，並同時可反過頭去誘發*Shh*的表現 (Ferri et al., 2007; Lin et al., 2009) (圖8)。

圖 8 *Foxa1/2* 在 DA 神經細胞發育過程中所扮演的角色。

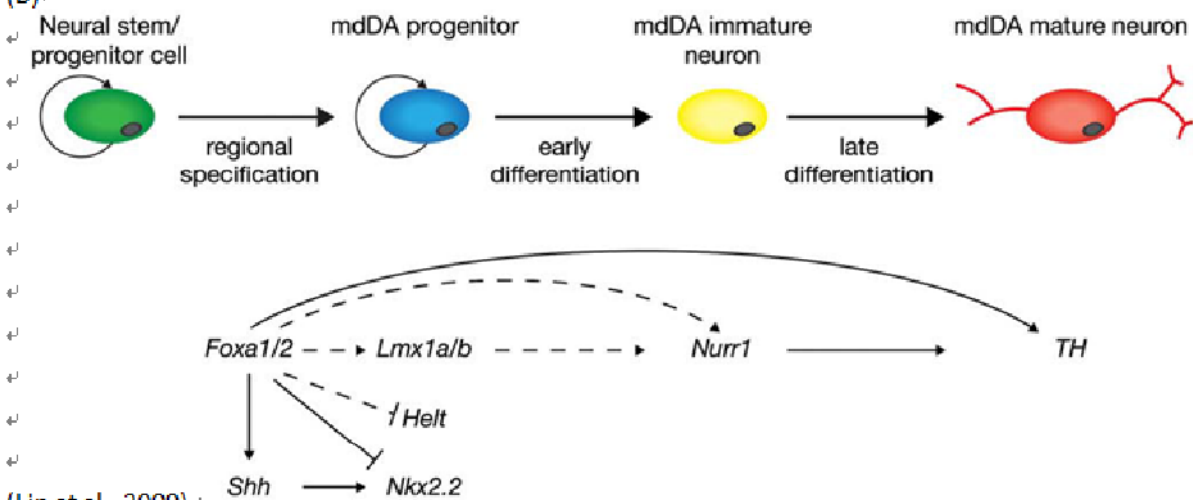
(A)



(Ferri et al., 2007)

Development, 134(15):2761-9.

(B)



(Lin et al., 2009)

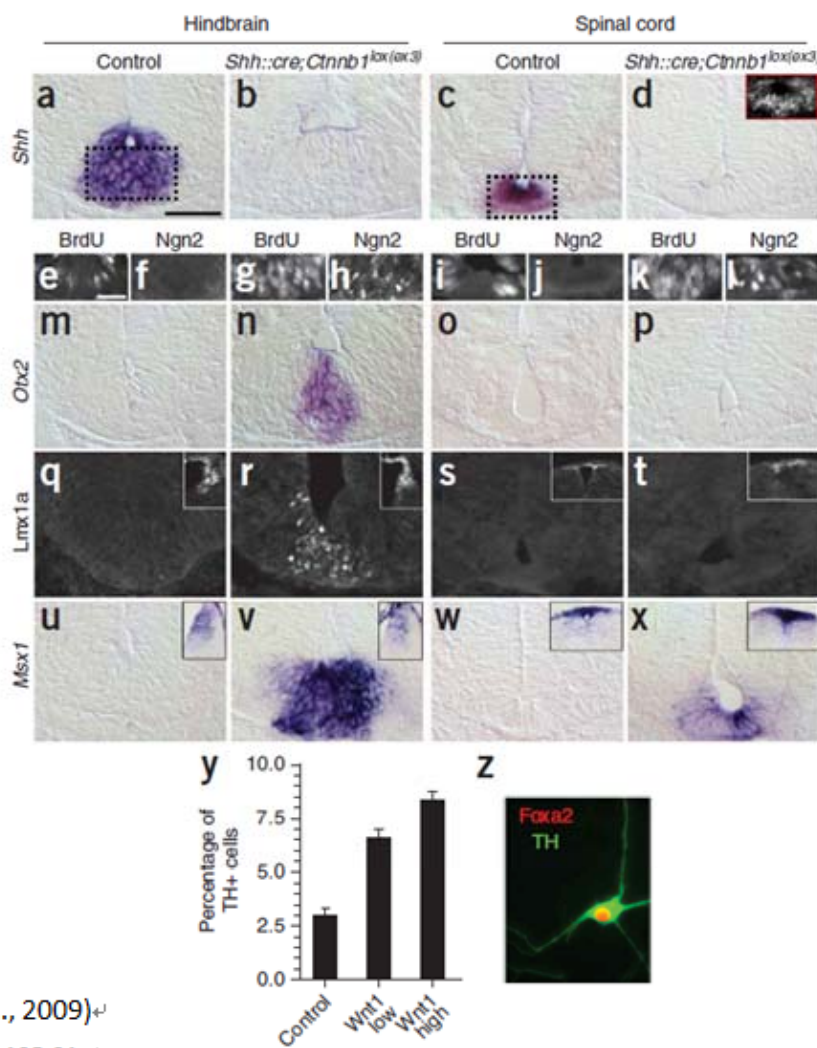
Dev Biol. 333(2):386-96.



除了Shh與FGF8之後，在小鼠E9.5期由isthmus organizer誘導表現的Wnt1也與誘發DA神經細胞相關，Wnt1透過beta-catenin (Brault et al., 2001)，使VM處的DA神經前驅細胞增生並進行後續的分化 (Castelo-Branco et al., 2003)，其亦可誘發Otx2與Lmx1a的表現。然而，Joksimovic等人 (2009) 發現雖然Shh為建立VM處的早期DA前驅細胞群所必須，但在其後便會抑制VM處的DA前驅細胞之增生與分化，Wnt/beta-catenin的信息會抑制FP處的Shh表現，進而促使DA神經細胞的生成 (圖9)。

圖9 Wnt/beta-catenin 信息可抑制 Shh 的表現而促使 DA 神經細胞的生成。

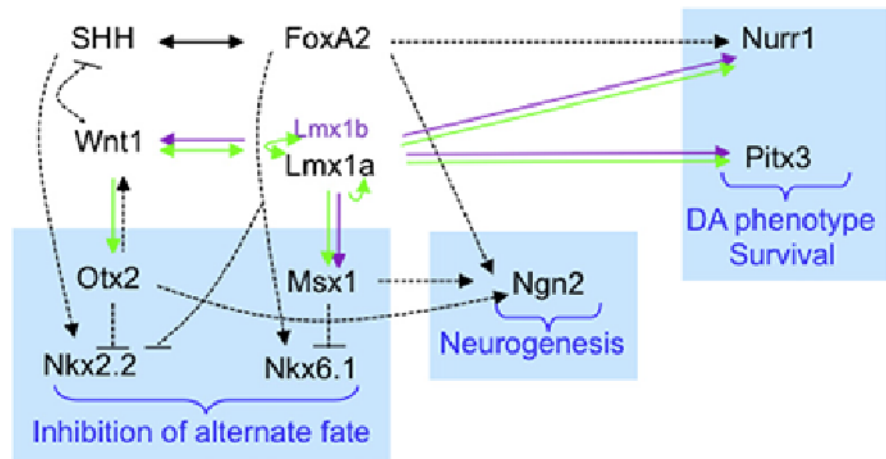
該研究利用 *Shh::cre;Ctnnb1<sup>lox(ex3)</sup>* 胚胎進行實驗，在此模式下，可使 beta-catenin 穩定於 FP 處，進而專一性地探討 FP 處的 Wnt/beta-catenin 信息對於 *Shh* 表現之影響。



(Joksimovic et al., 2009) Nat Neurosci. 12(2):125-31.

因此，Wnt-Lmx1a 調控迴路與 Shh-FoxA2 調控迴路此兩者間的拮抗作用，在 DA 神經細胞的誘發中扮演重要的角色（圖 10）  
 （Chung et al., 2009）。

圖 10 Wnt-Lmx1a 調控迴路與 Shh-FoxA2 調控迴路的拮抗作用。



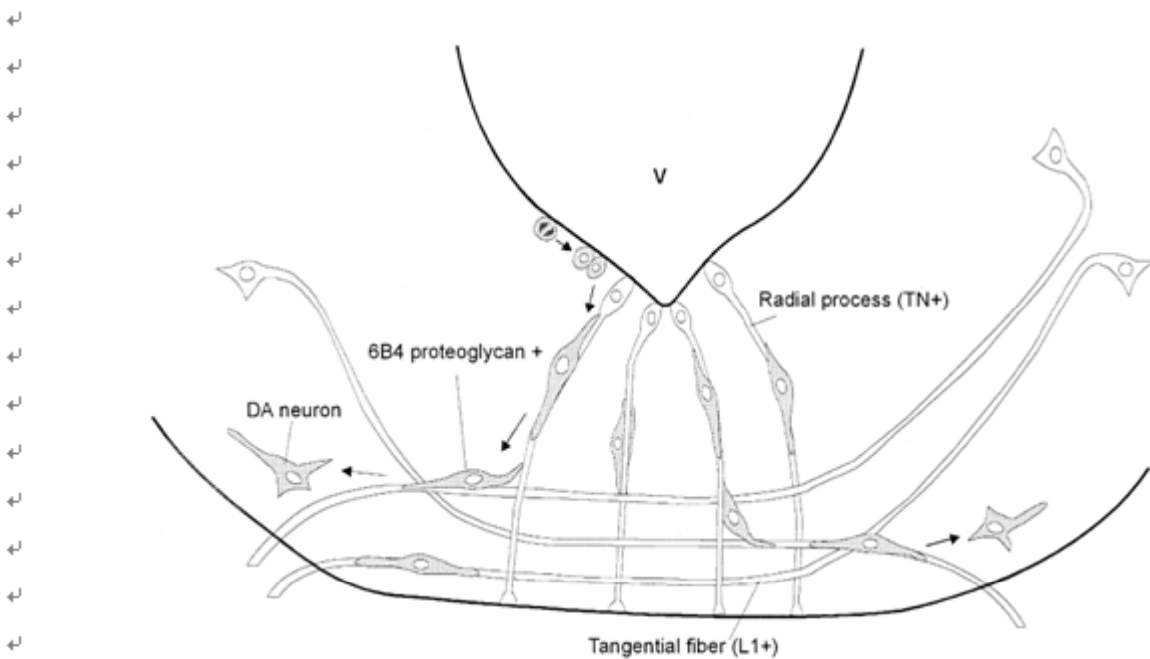
(Chung et al., 2009)

Cell Stem Cell. 4;5(6):646-58.

## VM處成熟DA神經細胞的生成 Development of post-mitotic ventral midbrain DA neurons

一旦位於VM處之FP中的DA神經前驅細胞特化成DA系神經細胞之後，其便會在小鼠胚胎E10至E14期轉變成不再分裂的成熟狀態，在這期間，只要當這些細胞遷移至最終定位處之後，其便會發生最後一次的mitosis，此時DA合成過程中的速率決定酵素TH即會開始表現，這便是細胞成為成熟DA神經細胞的最初信號。這些DA神經前驅細胞的遷移過程主要仰賴細胞黏著因子（cell adhesion molecule, CAM）的中介，此遷移過程包含兩個面向，分別是細胞會先沿著帶有tenascin（TN）表現的纖維進行垂直性的radial-glia過程移動至pial surface，接著再沿切線方向橫向移動形成VTA和SNpc（圖11）。其中，橫向移動的過程主要是有賴切線分布的纖維蛋白上具有神經細胞黏著因子L1，而VM處的DA神經細胞上具有帶chondroitin sulfate的醣蛋白6B4，此兩者間的疏水性交互作用可促使細胞遷移（Kawano et al., 1995; Ohyama et al., 1998）。除遷移至定位的過程為DA神經細胞成熟所必須之外，Lmx1b、Nurr1（nuclear receptor related 1）、Pitx3（paired-like homeodomain 3）、En1與En2都是牽涉其中的重要轉錄因子。

圖 11 VM 處 DA 前驅細胞遷移至最終位置的示意圖。



(Ohyama et al., 1998)

Dev Brain Res. 86(1-2):101-13.

*Lmx1b*會在小鼠胚胎E10.5期與*Lmx1a*與*Msx1*於VM處的DA神經前驅細胞中表現，然而，*Lmx1b*會在約莫E11.5期時消失，接著又在E16期的成熟DA神經細胞中與*Pitx3*及*TH*共同表現（Dai et al., 2008）。*Lmx1b*同時會調控*Pitx3*的表現（圖10），此外，*Wnt1*也是*Lmx1b*的下游基因，*Lmx1b*可透過維持*Wnt1*，而調節*Pitx3*的表現，而形成成熟的DA神經細胞（Prakash et al., 2006）。*Nurr1*同樣自小鼠胚胎E10.5期開始表現，*Nurr1*可誘發*TH*（Kim et al., 2003）與*DAT*（dopamine transporter）（Sacchetti et al., 2001）的表現，因此跟調節DA神經細胞的成熟以及DA的合成、傳遞與攝取相關。此外，*Nurr1*也會調節GDNF（glial cell derived neurotrophic factor）受器*cRet*的表現（Castillo et al., 1998），故與維持DA神經細胞的存活相關。*Pitx3*則自小鼠胚胎E11.5期開始表現，其會誘發SNpc處的DA神經細胞表現*TH*（Korotkova et al., 2005），同時也能誘發*VMAT2*（vesicular monoamine transporter 2）與*DAT*的表現（Huang et al., 2009），此外，*Pitx3*可誘發*BDNF*（brain derived neurotrophic factor）的表現，故同樣與維持DA神經細胞的存活有關（Peng et al., 2011）。*En1*與*En2*參與早期isthmus organizer的形成，而除此MHB處的相關表現外，DA神經細胞大約會在小鼠E11.5至E14期之間表現*En1*與*En2*，研究發現其與維持VM處多巴胺神經細胞的存活相關，缺乏*En1*與*En2*會導致細胞凋亡的發生（Alves dos Santos and Smidt, 2011）。

### 總結

綜觀以上可知，位於中腦的DA神經細胞來自於發育中VM處的FP，其後由*Otx2*與*Gbx2*調控isthmus organizer之正確定位，此定位對於DA神經細胞的型態決定非常關鍵，接著，FP與isthmus organizer各會分泌*Shh*與*FGF8*而影響後續一連串與誘發DA神經細胞產生相關的因子，而一旦DA神經細胞的命運被決定之後，其前驅細胞便會遷移至正確位置並逐步形成成熟的DA神經細胞。然而，事實上，DA神經細胞的發育過程是處於各因子間的動態性相互調節過程，因此其他牽涉其中的交互關係還有待其後研究加以確立。另一方面，瞭解並探討中腦DA神經細胞形成過程的機制也是未來進行相關研究的基礎，例如，由於傳統療法如藥物與手術之侷限性，透過刺激神經細胞新生而改善帕金森氏症之症狀為其潛力療法之一，而如何挑選具潛力的誘發物質以及如何驗證該誘發物質的效力等等之考量，皆需以中腦DA神經細胞形成過程之相關因子的表現與交互作用來進行佐證和評估。



## 參考文獻

- Alves dos Santos, M. T., Smidt, M. P. (2011). En1 and Wnt signaling in midbrain dopaminergic neuronal development. *Neural Dev* 6, 23.
- Alvarez-Bolado, G., Paul, F. A., and Blaess, S. (2012). Sonic hedgehog lineage in the mouse hypothalamus: from progenitor domains to hypothalamic regions. *Neural Dev* 7, 4.
- Andersson, E., Tryggvason, U., Deng, Q., Friling, S., Alekseenko, Z., Robert, B., Perlmann, T., and Ericson, J. (2006). Identification of intrinsic determinants of midbrain dopamine neurons. *Cell* 124, 393–405.
- Björklund, A., and Dunnett, S. B. 2007. Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends Neurosci* 30, 194–202.
- Brault, V., Moore, R., Kutsch, S., Ishibashi, M., Rowitch, D. H., McMahon, A. P., Sommer, L., Boussadia, O., and Kemler, R. (2001). Inactivation of the beta-catenin gene by Wnt1-Cre-mediated deletion results in dramatic brain malformation and failure of craniofacial development. *Development* 128, 1253–1264.
- Brodski, C., Weisenhorn, D. M., Signore, M., Sillaber, I., Oesterheld, M., Broccoli, V., Acampora, D., Simeone, A., and Wurst, W. (2003). Location and size of dopaminergic and serotonergic cell populations are controlled by the position of the midbrain-hindbrain organizer. *J. Neurosci* 23, 4199–4207.
- Castelo-Branco, G., Wagner, J., Rodriguez, F. J., Kele, J., Sousa, K., Rawal, N., Pasolli, H. A., Fuchs, E., Kitajewski, J., and Arenas, E. (2003). Differential regulation of midbrain dopaminergic neuron development by Wnt-1, Wnt-3a, and Wnt-5a. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 100, 12747–12752.
- Castillo, S. O., Baffi, J. S., Palkovits, M., Goldstein, D. S., Kopin, I. J., Witta, J., Magnuson, M. A., Nikodem, and V. M. (1998).
- Dopamine biosynthesis is selectively abolished in substantia nigra/ventral tegmental area but not in hypothalamic neurons in mice with targeted disruption of the Nurr1 gene. *Mol. Cell Neurosci* 11, 36–46.

## 參考文獻

- Chung, S., Leung, A., Han, B. S., Chang, M. Y., Moon, J. I., Kim, C. H., Hong, S., Pruzsak, J., Isacson, O., and Kim, K. S. (2009). Wnt1-lmx1a forms a novel autoregulatory loop and controls midbrain dopaminergic differentiation synergistically with the SHH-FoxA2 pathway. *Cell Stem Cell* 5, 646–658.
- Dai, J. X., Hu, Z. L., Shi, M., Guo, C., and Ding, Y. Q. (2008). Postnatal ontogeny of the transcription factor Lmx1b in the mouse central nervous system. *J. Comp. Neurol* 509, 341–355.
- Ferri, A. L., Lin, W., Mavromatakis, Y. E., Wang, J. C., Sasaki, H., Whitsett, J. A., and Ang, S. L. (2007). Foxa1 and Foxa2 regulate multiple phases of midbrain dopaminergic neuron development in a dosage-dependent manner. *Development* 134, 2761–2769.
- Goetz, C. G., Burke, P.E., Leurgans, S., Berry-Kravis, E., Blasucci, L. M., Raman, R., and Zhou, L. (2001). Genetic variation analysis in Parkinson's disease patients with and without hallucinations: case control study. *Arch. Neurol* 58, 209–213.
- Hwang, D. Y., Hong, S., Jeong, J. W., Choi, S., Kim, H., Kim, J., and Kim, K. S. (2009). Vesicular monoamine transporter 2 and dopamine transporter are molecular targets of Pitx3 in the ventral midbrain dopamine neurons. *J. Neurochem* 111, 1202–1212.
- Hynes, M., Stone, D. M., Dowd, M., Pitts-Meek, S., Goddard, A., Gurney, A., and Rosenthal, A. (1997). Control of cell pattern in the neural tube by the zinc finger transcription factor and oncogene Gli-1. *Neuron*. 19, 15–26.
- Joksimovic, M., Yun, B. A., Kittappa, R., Anderegg, A. M., Chang, W. W., Taketo, M. M., McKay, R. D., and Awatramani, R. B. (2009). Wnt antagonism of Shh facilitates midbrain floor plate neurogenesis. *Nat. Neurosci* 12, 125–31.
- Kawano, H., Ohyama, K., Kawamura, K., and Nagatsu, I. (1995). Migration of dopaminergic neurons in the embryonic mesencephalon of mice. *Dev. Brain Res* 86, 101–113.

## 參考文獻

- Kim, K. S., Kim, C. H., Hwang, D. Y., Seo, H., Chung, S., Hong, S. J., Lim, J. K., Anderson, T., and Isacson, O. (2003). Orphan nuclear receptor Nurr1 directly transactivates the promoter activity of the tyrosine hydroxylase gene in a cell-specific manner. *J. Neurochem* 85: 622–634.
- Korotkova, T. M., Ponomarenko, A. A., Haas, H. L., and Sergeeva, O. A. (2005). Differential expression of the homeobox gene Pitx3 in midbrain dopaminergic neurons. *Eur. J. Neurosci* 22, 1287–1293.
- Lahti, L., Peltopuro, P., Piepponen, T. P., and Partanen, J. (2012). Cell-autonomous FGF signaling regulates anteroposterior patterning and neuronal differentiation in the mesodiencephalic dopaminergic progenitor domain. *Development* 139, 894–905.
- Lin, W., Metzakopian, E., Mavromatakis, Y. E., Gao, N., Balaskas, N., Sasaki, H., Briscoe, J., Whitsett, J. A., Goulding, M., Kaestner, K. H., and Ang, S. L. (2009). Foxa1 and Foxa2 function both upstream of and cooperatively with Lmx1a and Lmx1b in a feedforward loop promoting mesodiencephalic dopaminergic neuron development. *Dev. Biol* 333, 386–96.
- Millet, S., Campbell, K., Epstein, D. J., Losos, K., Harris, E., and Joyner, A. L. (1999). A role for Gbx2 in repression of Otx2 and positioning the mid/hindbrain organizer. *Nature*. 401, 161–164.
- Ohyama, K., Kawano, H., Asou, H., Fukuda, T., Oohira, A., Uyemura, K., and Kawamura, K. (1998). Coordinate expression of L1 and 6B4 proteoglycan/phosphacan is correlated with the migration of mesencephalic dopaminergic neurons in mice. *Dev. Brain Res* 107, 219–226.
- Peng, C., Aron, L., Klein, R., Li, M., Wurst, W., Prakash, N., and Le, W. (2011). Pitx3 is a critical mediator of GDNF-induced BDNF expression in nigrostriatal dopaminergic neurons. *J. Neurosci* 31, 12802–12815.

## 參考文獻

- Prakash, N., Brodski, C., Naserke, T., Puellas, E., Gogoi, R., Hall, A., Panhuysen, M., Echevarria, D., Sussel, L., Weisenhorn, D. M., Martinez, S., Arenas, E., Simeone, A., and Wurst, W. (2006). A Wnt1-regulated genetic network controls the identity and fate of midbrain-dopaminergic progenitors in vivo. *Development* 133, 89–98.
- Rhinn, M., and Brand, M. (2001). The midbrain--hindbrain boundary organizer. *Curr. Opin. Neurobiol* 1, 34–42.
- Sacchetti, P., Mitchell, T. R., Granneman, J. G., and Bannon, M. J. (2001). Nurr1 enhances transcription of the human dopamine transporter gene through a novel mechanism. *J. Neurochem* 76, 1565–1572.
- Tzschentke, T.M., and Schmidt, W.J. (2000). Functional relationship among medial prefrontal cortex, nucleu saccumbens, and ventral tegmental area in locomotion and reward. *Crit. Rev. Neurobiol* 14, 131–142.
- Ulloa, F., and Briscoe, J. (2007). Morphogens and the Control of Cell Proliferation and Patterning in the Spinal Cord. *Cell Cycle* 6, 2640–2649.
- Ye, W., Bouchard, M., Stone, D., Liu, X., Vella, F., Lee, J., Nakamura, H., Ang, S. L., Busslinger, M., and Rosenthal, A. (2001). Distinct regulators control the expression of the mid-hindbrain organizer signal FGF8. *Nat. Neurosci* 4, 1175–1181.
- Ye, W., Shimamura, K., Rubenstein, J. L., Hynes, M. A., and Rosenthal, A. (1998). FGF and Shh signals control dopaminergic and serotonergic cell fate in the anterior neural plate. *Cell* 93, 755–766.



# 從玉米探索基因體的奧秘

## —Barbara McClintock (跳躍基因的發現者)

臺大醫學院 謝豐舟教授



謝豐舟教授畫作



圖一 Barbara McClintock女士

1983年諾貝爾生理及醫學獎頒給高齡81的Barbara McClintock女士(圖一)。在她發現基因體的轉位(transposition)之後32年,終於受到世人肯定。同一年,她所描述的「解離子」及「啟動子」(dissociator& activator)轉位因子也被真正分離出來,使她的學說更為具體化。在人類基因體定序完成的今日,我們知道人類基因體上有高達45%是所謂的轉位單元(transposable elements),而這些轉位單元在生物基因體的形塑與進化上扮演相當重要的角色。McClintock早在DNA的雙螺旋結構被揭曉前,就憑著對玉米仁顏色無比縝密的觀察提出基因轉位的觀念。雖然當時的學界幾乎無人理會,但時間終於證明這位「玉米田裡的先知」確實在全無分子生物學技術的協助之下,獨力揭開了基因體一項極其重要的秘密。

1902年McClintock出生於一個醫生的家庭。1919年她不顧父母的反對，進入康乃爾大學的農學院，時年17歲。她的大學生活充滿了樂趣（圖二），但是到大三快結束的時候，她就朝著專業科學家邁進。大三時她接觸到一門對她特別有興趣的課－遺傳學，修完之後教授鼓勵她更進一步去修讀研究所開的遺傳學，但是由於開設遺傳學的植物育種系不收女研究生，因此她只得到植物系的研究所註冊，主修細胞學（研究染色體）副修遺傳學及動物學。進入研究所之後，她在植物系細胞學教授沙普（Lester Sharp）的指導下，學會了細胞學的實驗技巧（其實是觀察染色體的方法學），也很快地可以獨立完成實驗。沙普教授認定她具有「研究頭腦」而全力支持她的研究工作，給她絕對的自由。（圖三）



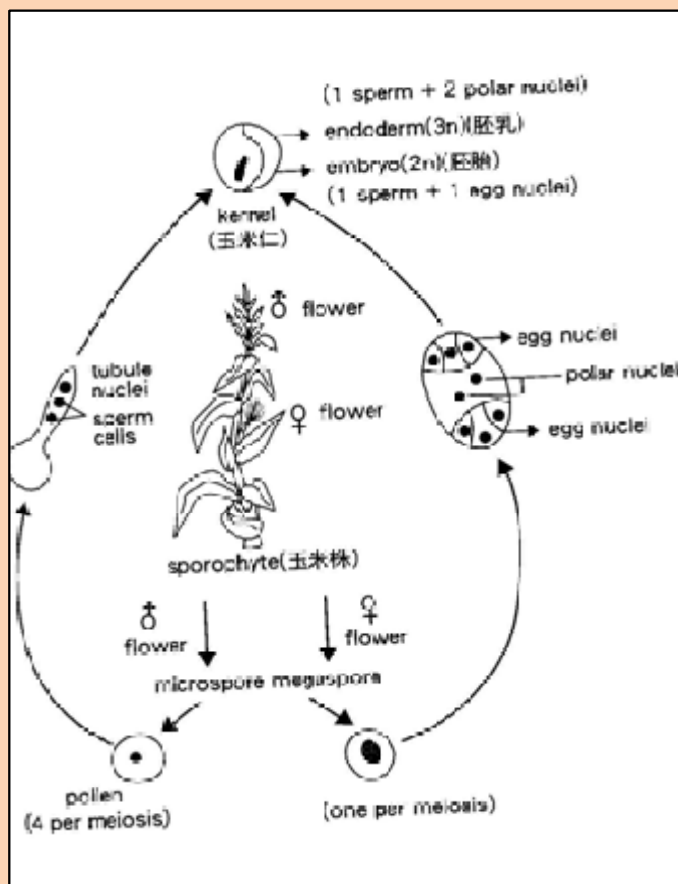
圖二  
1922 courtesy of Marjorie  
M. Bhavnani



圖三  
1923 研究生時期康乃爾大學



在唸研究所的第一年，她發明了一種玉米染色體的辨識方法，能夠分辨出玉米細胞的各個染色體。當時有人剛發展出一項新技術，大大地簡化了以顯微鏡觀察染色體的玻片準備手續，**McClintock**更將之作了種種的改進，使它的方法更適合玉米的研究工作。經過染色的玉米細胞在分裂及複製的周期中，各個染色體的動向很容易觀察。運用這些新技巧，她把玉米十條染色體依長度予以編號（最長的1號～最短的10號），同時她也辨認出各條染色體特殊的型態—包括長度、形狀與構造。更重要的是不同品系玉米其染色體形態差異很大，顯示有些染色體特徵可以用來標識不同玉米品系的遺傳特徵，例如某個品系的第九號染色體尾端，具有一個明顯而深色的結，辨認這些染色體上細微特徵的本事，成為她日後探索遺傳學領域的有力工具。而**McClintock**真的藉此在接下的幾年內，利用玉米進行其他生物都做不到的精密細胞遺傳學（**cytogenetics**）分析，陸續發表了許多開創性的論文，確立了她在細胞遺傳學界的重要地位。



圖四 玉米的生命週期

1927年，McClintock完成研究所學業，獲得植物學博士學位，並被聘為講師。接下來她的挑戰就是利用玉米研究當時已經在果蠅中發現的連鎖群（**linkage group**），也就是探究生物性狀的遺傳與染色體位置的關聯，亦即某個遺傳特徵是在哪一個染色體上？而老天幫忙，一位具備果蠅實驗經驗的遺傳學碩士－羅茲竟然想到康乃爾研究玉米，修讀遺傳學博士學位，他與McClintock一拍即合，加上另一位來自內布拉斯加州玉米田的研究生－畢多（**George Beadle 1903－1989**）形成了玉米細胞遺傳學的黃金組合，開闢了全新的領域。首先，她利用第九號染色體上帶有深色小結的玉米品系，證明了遺傳交換與染色體交換之間的關聯。1931年春季，遺傳學大師摩根（**Thomas Morgan**）到康乃爾訪問，得知McClintock對於遺傳交換與染色體交換的研究，當場就要來紙筆，寫了一封信給美國國家科學院期刊（**PNAS**）的主編，告訴他們兩周後會收到一篇論文，結果那篇論文於七月七日寄到，而於1931年8月刊出。要不是摩根的果斷推薦，這份榮譽可能被以果蠅進行相同研究的史特恩（**Curt Stein 1902－1981**）捷足先登。

儘管McClintock研究成果非常耀眼，但在30年代，女性還是在大學謀得正式的教職。因此1931年她就離開康乃爾，在美國國家研究委員會的贊助下在密蘇里大學，加州理工學院及康乃爾三地往返奔波從事研究（圖五）。



1947年 冷泉港時期  
courtesy of Marjorie M.  
Bhavnani



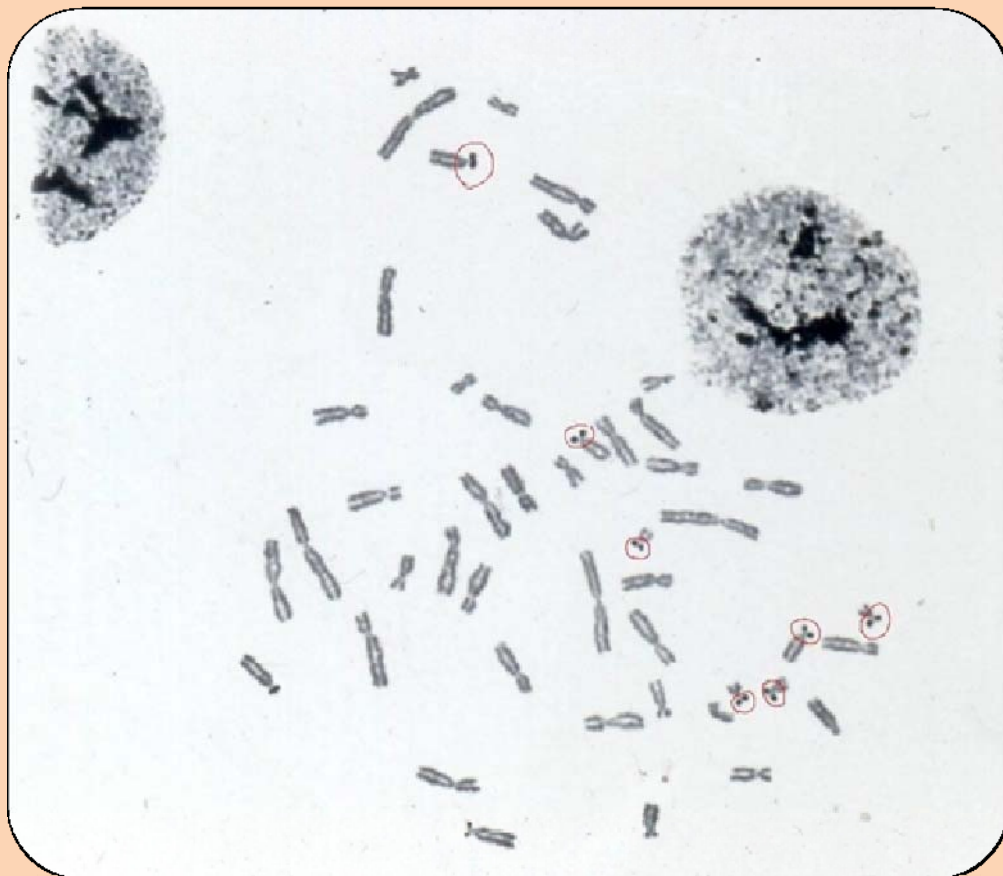
1927年馬勒發現X光誘導突變的效應。密蘇里大學的史塔德勒將它應用於玉米的遺傳研究，帶動了McClintock的興趣。由於X光大幅提高突變發生的機率與種類，加速了遺傳研究的進展，McClintock就以她豐富的染色體辨識技巧研究X光對玉米染色體的影響。結果她發現在減數分裂的過程中，正常的染色體與X光照射過的染色體進行交換之後會發生轉位（**translocation**）、倒置（**inversion**）及缺失（**deletion**）等種種的變化。這些精采的染色體變化使她興奮不已。

有一天，她在玉米田裡發現一些葉片帶有斑彩（**mosaicism**）（圖六）的玉米株，不久她看到一篇論文提到某條染色體的迷失，可能是斑彩的原因。她很直覺地就認為染色體的迷失與環狀染色體（**ring chromosome**）有關，於是她就請史塔德勒在密蘇里代為栽植可以產生彩斑的玉米品系。幾個月後玉米成熟，她親臨密蘇里加以檢驗，果不其然，這些玉米株的染色體居然真的有「環」（**ring**）。這種神乎其技的推理顯示她常年累積的對玉米性狀與染色體變化的觀察已經使她進入一種「直覺」的狀態，也就是看到一個玉米性狀的變化，腦裡面立刻浮現相對應的染色體變化。



圖六 帶有彩斑的玉米株

長久以來，她注意到第六號染色體尾端的一個小東西，它緊貼在六號染色體與核仁（nucleolus）連接的地方。當時學者對核仁的性質與功能仍一無所知。McClintock注意到這小東西總在核仁附近，推斷它與核仁必定有所關聯。後來在加州理工學院她注意到這個小東西分裂成兩半，一半留在原來位置，另一半卻和不同染色體連在一起。於是她再請人栽植同品系的玉米，隔年冬天再回來檢驗。在顯微鏡下，McClintock發現原來這個小東西會把原來就存在那裡的物質組織起來，變成核仁。因此她就稱之為核仁組成中心（Nucleolus Organizer Region；NOR），同時她推論，必須有NOR才能生成正常核仁（圖七）。這個推斷至今仍然成立。目前我們已知NOR其實是許多rRNA gene的集合體，但NOR如何組成核仁至今仍不甚清楚。



圖七 NOR:圓圈所圈的即是NOR

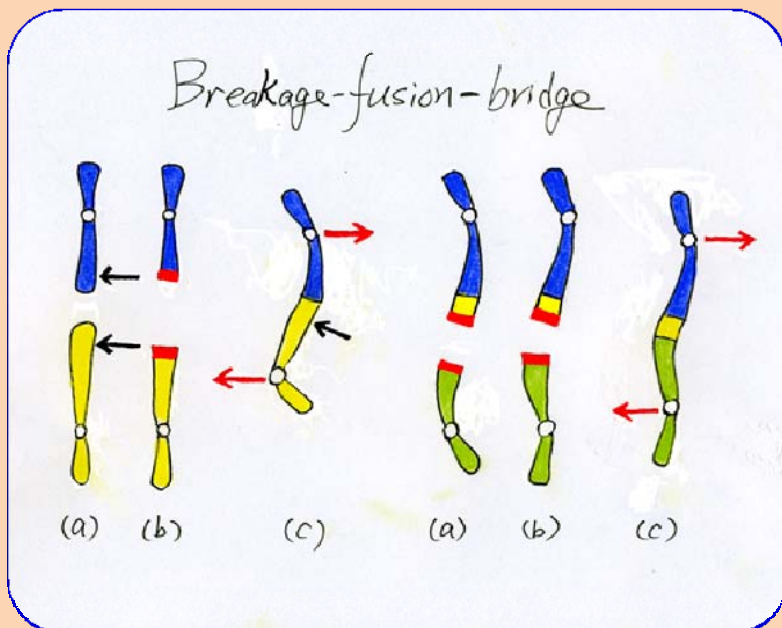
在分子生物學尚未萌芽的1930年代，McClintock就能對細胞核、染色體、核仁有這麼透徹的觀察實在令人驚奇。她自己說：「我每次在觀察一個細胞的時候，都會跑進那個細胞裡四處看看」。「四處看看」的結果，就是她把最基本的生物過程（biological process）描繪出來。1931—1933的這兩年半，對她而言，真是一段獨立自由而多產的好時光。她說「我每天早晨都巴不得快點起床，立刻開始工作，就像個小孩子早上等不及起床，想趕快去做自己愛做的事」。雖然McClintock表現傑出但卻仍然找不到固定的職務，1936年她終於在密蘇里大學獲得助理教授的職位。雖然她聲譽日隆，在1939年成為美國遺傳學會副會長，但她在大學裡卻過得不甚愉快，終於在1941年離開密蘇里大學，這可能與她勇於冒險、心不在焉，或者藐視權威的特質有關，尤其她那「心直口快」的特性更可能惹人嫌。她自己對學院生活感到心灰意冷，她說「像我這樣特立獨行的人，絕不可能在大學裡生存」，幸而研究工作已經有了它自己的生命，像一個生命體，能對她在情感及智能上所投下的心血加以回報，給她安慰與滿足，補償了種種不如意。就如愛因斯坦所說的「在狹隘，飄忽的私人經驗裡，永遠不可能找到的安祥與寧靜」。

1942年她開始任職於卡內基協會設於冷泉港（Cold Spring Harbor）的遺傳所，在那裡她有一份薪水，一塊玉米田，一個實驗室，還有一個家。遠離大學的紛紛擾擾，不用參與教學和行政。從此她可以在這個田園式的遁世環境進行自己的研究（圖八）。1944年，McClintock獲選為美國國家科學院院士，她是有史以來第三位獲得此項殊榮的女性。繼被選為國家科學院院士之後，1944年底McClintock當選美國遺傳學會會長—有史以來第一位女性會長。1940年代是分子生物學開始萌芽的時機，1944年愛弗里等人發現DNA是傳遞遺傳性狀的物質，這劃時代的發現當時也沒有引起太多的注意。其時，McClintock回到冷泉港實驗室，開始進行最後導致她發現「轉位」現象的一連串實驗。





圖八 Cold Spring Harbor 風光



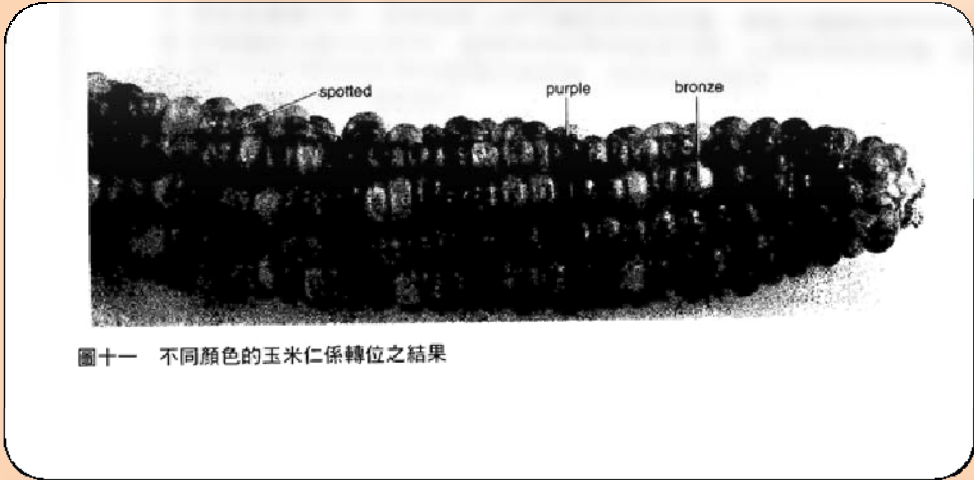
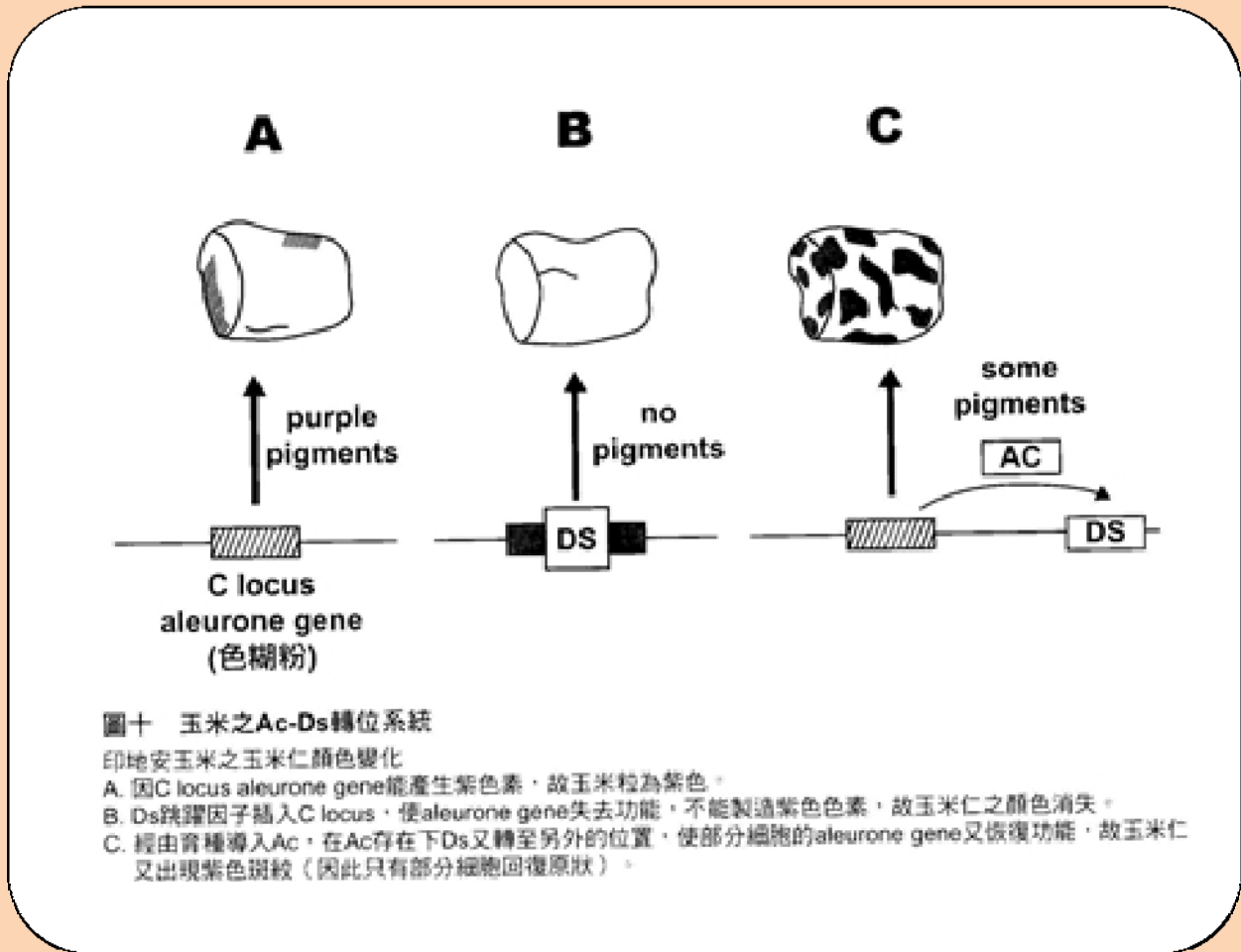
- (a) **breakage**: 黑色箭頭為染色體斷裂處。
- (b) **fusion**: 兩個染色體之斷端接合。
- (c) **bridge**: 接合後成為具有兩個中心體之染色體，叫作 **bridge**，在細胞分裂時 (**anaphase**)，兩個中心體分別被拉向細胞之兩極(紅色箭頭)，雙中心體之染色體又斷裂(黑色箭頭)，產生新斷端，此時若有另外之染色體斷裂，則兩者再接合成新雙中心體染色體，在細胞分裂時又會被拉斷，如此循環下去。

圖九 Breakage-fusion-bridge 示意圖



為了延續過去對玉米「斷裂—融合—形成橋」的研究，她利用一種第九號染色體斷裂的玉米株進行自體受精，結果在同一株幼株上，可以看到不同的條紋或斑點，也就是有所謂「斑彩」（**mosaicism**）（圖九）。

這些斑點反映的是遺傳的不穩定性，有人也稱之為可突變基因（**mutable gene**）。單位面積內斑點數目的多寡，可以作為幼株在該發育階段內發生突變頻率的指標，因為每一塊顏色代表從單一突變細胞繁殖出來的細胞群，突變發生得早，形成的細胞多，斑點也愈大，突變發生得晚，形成的斑點就小。每一株幼株都呈現特定的突變率，在它的生命週期內都不會改變，這意味有某種因素在決定個別幼株突變的頻率。**McClintock**進而注意到，有些斑點組織卻呈現與整個植株不同的突變率，亦即有些細胞群呈現出獨特的突變率，也就是其源起細胞具有與母株不同的突變率。這種現象也會成對出現。她自己的描述是「兩個毗鄰的區域在突變率上顯示相對的關係。一個區域的突變率大大增加，而其姊妹區的突變率大大減少，而這兩個相連區域是從同一生長點上的一對姊妹細胞所衍生出來。」她認為兩個姊妹細胞發育的分歧，可能與生物體組織分化的機轉有關。從這個起點開始，**McClintock**其實開始進入「發育遺傳學」的新天地。在其後兩年，她積極為這個現象尋求解釋，兩年的光陰終於讓她得到答案，原來這個突變率的分歧是一種染色體上受到控制的斷裂（亦稱解離**dissociation**）所致，也就是基因旁有一種成分，它會對另外一種因子所發出的訊號產生反應，造成自身的解離。她將這個系統定名為**Ds-Ac**系統，**Ds**代表解離子，**As**代表啟動子，這是在轉位研究的處女作。（圖十）



藉著反覆的育種實驗及染色體分析，她定位出解離染色體斷裂的位置－第九號染色體的短臂，離中心粒三分之二處，她將之命名為Ds基因座。接著她又發現Ds基因座只有在另一個顯性因子存在時，才會進行解離，她將該因子命名為Ac，因為它會啟動Ds，而Ac基因座位於第九號染色體的長臂，與Ds基因座相去甚遠。Ac基因座本身並無直接的表現型，必須透過它對Ds的作用才能辨識。它的表現就如一個單獨、獨立、顯性的基因座，更重要的是它的效應並非一般的「有或無」，而呈現劑量多寡的效應。利用玉米胚乳中的三套染色體（3n），她發現Ac劑量愈高，Ds突變發生的時間就愈晚（斑點愈小），她進而假設（1）Ac基因座是由幾個相同的單位，直線排列組合而成，（2）這些單位的數目會在染色體複製時，使一個染色體增加單位，而其姊妹染色體失去單位。根據這些觀察，她論述如下：「如果有兩個斷裂點分別發生在Ds基因座的兩端，則帶有Ds的染色體片段被釋放後，可以插入或接上任何一個也同時發生斷裂的染色體片段，透過這樣的機制，Ds便可以變換位置。Ac藉由引發Ds基因座在原地上發生斷裂而控制這類事件的發生」。McClintock在1948年公開發表這個「轉位」的名詞與觀念。1950年她在PNAS發表「玉米可突變基因座之起源及行為」，簡短地闡述了Ac與Ds轉位的現象（圖十一），她也提醒此一現象與果蠅實驗中發現的不穩定遺傳現象（包括著名的位置效應position effect）相似。



圖十二  
1963年 冷泉港實驗室  
courtesy of Marjorie M.  
Bhavnani



1951年夏天她首次在冷泉港研討會上發表「轉位」的演講，但現場反應一片死寂，似乎觀眾中沒人了解她在說什麼，接著會場中一片竊竊私語，還夾雜著偷笑聲。對著這個極端負面的反應，**McClintock**非常失望。六年來的心血，大家竟不屑一顧。1953年她在「遺傳學」發表的論文，只有兩個人來要抽印本，1956年她再次演說，反應更為冷淡。對一向在學術研究上備受推崇的她，簡直是天大的打擊，自己好像處在孤立狀態，甚至有人說她只是個在冷泉港混了好多年的老女人（圖十二）。

為什麼她的轉位理論無法引起共鳴呢？其原因不外：

1. 當時分子生物學才剛萌芽，1953年**Watson and Crick**才發表DNA雙螺旋結構，「遺傳」才開始獲得物理基礎（**physical basis**）**McClintock**就提出這麼複雜的觀念，幾乎走在時代之前30年，難怪就如「雞同鴨講」。
2. 當時的主流思想認為基因是固定的、不變的遺傳單位（**particulate gene**），**McClintock**居然說基因可以被調節、改變，簡直是「大逆不道」。
3. 玉米的育種實驗系統，在當時講求追求「單純」的研究理念下，既反潮流又複雜難懂，可以說有耐心，聽得懂玉米實驗資料的人「寥寥無幾」。
4. **McClintock**的實驗對象是玉米五花八門的性狀變化，以及顯微鏡下染色體形態及位置的仔細觀察，可以說是一種**visual evidence**相對物理學、化學的客觀實驗數據，大家覺得**McClintock**的實驗結果既難瞭解又欠客觀，當然對她的理論「敬而遠之」甚至「冷嘲熱諷」。
5. **McClintock**對玉米的研究已經臻於「天人合一」的境界，憑著長年累積的心得，她幾乎已經進入玉米細胞內，親身觀察玉米的染色體形態及活動。這種「心靈視野」往往是一般人不能理解的，類似的境界在發現原子的皮蘭（**Jean Perrin**）也可以看見原子，密立根（**Robert Millikan**）也看見了電子，愛因斯坦曾說數學本身是可以看見的。**McClintock**的研究是比較視覺的（**visual**），類似藝術作品，欣賞者若無共通的語言、共通的視野是難以體會其「精妙之處」。



然而，真理終究不會長久埋沒。60年代，學者致力於研究大腸桿菌操作元（operon）。他們發現了具有特殊插入序列（insertion sequence）的DNA片段會插入別的基因之中，而這些具有插入序列的DNA片段並非外來，而是源於細菌染色體的其他部位。接著，在沙門氏桿菌（*Salmonella typhimurium*）竟然也有類似的單位，可以自由在質體、染色體與噬菌體之間移動，並且傳遞抗藥性。研究人員注意到這些單位的兩側各有一段反向的反覆DNA序列，研究人員就將之命為「轉位子」（transposon）。至此，可移動遺傳因子或跳躍基因的存在引發了研究的熱潮。學者也注意到這種現象不僅在細菌（prokaryote原核生物）存在，其實高等生物也有，而McClintock早在30年前就已著手研究。1976年在冷泉港的會議上，終於有人直接引用McClintock的研究來佐證轉位因子的存在。其後在酵母菌、果蠅中都發現轉位因子的存在。至此McClintock的心血終於獲得接納。1983年她也獨得諾貝爾生理醫學獎，可謂遲來的肯定(圖十三)。



圖十三 1983年Barbara McClintock終於獲得諾貝爾獎的肯定。

走筆至此，讀者可能奇怪我何以長篇累牘地描述McClintock的研究生涯。也許是因為筆者從事遺傳學的工作，如同McClintock也是由染色體的觀察開始，McClintock與染色體對照的是玉米的性狀，筆者對照的是人的性狀。由於兩者都是形態的描述，在講求數字，追求分子生物學的大環境下，筆者也遭遇類似的困難，大家覺得從事「眼睛」看得見的染色體及人類性狀比不上去做「眼睛」看不見分子來得吃香，於是筆者決定「兩者」都來一既做眼睛看得見的染色體，人類性狀（其實就是病徵）也做眼睛看不見分子生物學、發育生物學。最近筆者在觀察染色體的時候，也開始能與基因連上關係。例如人類六號染色體的短臂有一處相當大的淺色帶（light band）就像一雙大眼睛，我們教學生辨認六號染色體的要領就是B group裡有大眼睛的那一條。

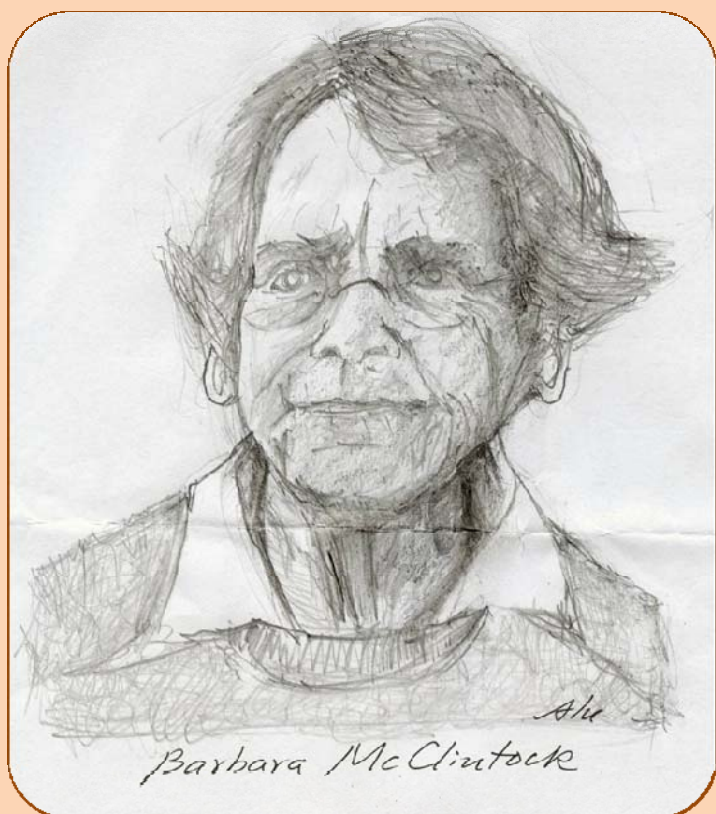
這對大眼睛其實就是6p21.3。此處是MHC（major histocompatibility complex）gene cluster所在之處。由於這個3.6Mb的區段內，基因密度高達43 gene/Mb（6號染色體平均度為9.2 gene/Mb），可說非常gene rich即G+C很高，因此，呈現出極明顯的淺色帶。此區段的HLA-B基因是人類基因體上最具多形性的區段（86 SNP/kb）。在Acrocentric Chromosome（13、14、15、21、22）的短臂頂端有所謂衛星（satellite），就像一個人頭上插了兩朵花，這些衛星其實就是ribosome gene cluster的所在。以這樣的眼光看染色體就像McClintock看到斑彩玉米株就看到環狀染色體。McClintock說「如果你仔細去觀察，每一個生物都會向你透露出她的秘密」。它會告訴你很多它為了調節基因表現而進化出來的機制。她告訴學生「多花時間、多看」。她要學生隨時注意看似一目了然的系統背後隱藏的複雜性（complexity）。

十九世紀末以前，生物學注重「觀察」。生物學家用紀錄及敘述來捕捉自然的奧秘，而不用理論。二十世紀初期，生物學漸漸轉型為一門實驗科學，但仍有像McClintock這樣的學者執著於對生物整體的興趣，重視自然界豐富的多元性。1940年代分子生物學崛起之後，生物學早期觀察「自然」的傳統幾乎斷絕。現代的生物學不再是研究活生生的「生物體」，甚至活機器的科學，而是探討生物體內分子活動的科學，至於生物本身性狀的變化則無人理會，這也許是解析主義（reductionism）的極致，但可能也失去了McClintock從玉米的斑彩變化探究出「轉位」現象的那種能力。現在很多實驗室專門用某些細胞株去研究某些細胞功能如proliferation, apoptosis, angiogenesis...的signaling pathway，但是從來沒有想過這些東西對生物性狀到底有什麼影響？不同的實驗往往只是不同的細胞，不同細胞功能，不同signaling pathway的組合，雖然產生不少論文及博士但往往牛角尖愈鑽愈深。我想這是臺灣生物醫學研究的危機。我常常告訴一些優秀的年輕學者，要從“small biology”進到“big biology”。什麼是big biology呢？我想McClintock對玉米的研究就是big biology，從生物體整體性狀，染色體變化到基因功能的全面關照就是big biology。說得具體一點，每個生物醫學研究者都該熟悉一種或多種的模式生物系統，從它的性狀（gross appearance）到染色體到基因功能可以嫻熟掌握，再以之印證實驗室中的某個概念，才是生物醫學研究可長可久之計，也就是遵循Krogh's principle。

至於臨床醫學更是如此，許多人言必稱基因，但卻不仔細觀察clinical phenotype及laboratory phenotype。每一個臨床表徵，每一個檢驗數據，每一張醫學影像其實是許多基因活動（gene activities）的組合，端視你有沒有能力去解析，所謂「內行看門道，外行看熱鬧」。臺大一位前輩病理教授－陳海青老師，在帶領我們看病理切片的時候，常說「我看病理切片，就像在看電影」。我們不可能「視病猶親」但絕對要「視病猶師」。



最後，我們要學習的可能是McClintock對玉米投下的深厚感情。這份感情化成一股動力，使她能面對漫長的工作，嚴酷的考驗；還有她對自然界深深敬意與關愛，這可以說是一種「宗教感」，也可以說是與「大自然的戀愛」。當然她對於自己不同於當時中心教條（**central dogma**—基因是固定不變的）的研究結果，勇於堅持，直言不諱的執著也是最難能可貴的。她認為所謂正規、熱門的科學方法，並不見得能帶來真理，也非追求知識的唯一途徑。這幾年複雜體系（**complex system**），複雜性（**complexity**），系統生物學（**systems biology**）等字眼漸漸地出現在科學期刊上，經過一個多世紀的解析主義（**reductionism**）之後，科學家終於意識到必須像McClintock一樣結合「巨觀與「微察」的追尋，才能揭開自然的奧秘。McClintock的故事也提示了在基因體研究上染色體的重要性，基因不是孤懸在空中，而是染色體的一部分。基因的功能有賴於染色體的調控，要了解基因必須先了解染色體。希望讀者也像McClintock一樣熟悉細胞遺傳學（**cytogenetics**）。最後，筆者要感謝「玉米田裡的先知」一書的譯者與出版者，能夠把這本相當冷門但對生物醫學研究者充滿莫大啟示的書呈現在臺灣人的面前。由於手中沒有原著，為了傳神，本文中許多地方直接引用了譯者的文句。不過讀者最好能自己仔細地閱讀全書，必然更能心領神會（圖十四）。



圖十四 此為謝豐舟教授之素描作品



## 取材文獻

1. Evelyn Fox Keller : *A feeling for the organism : The life and work of Barbara McClintock* W.H Freeman & Company 1983 ( ISBN 0-7167-1504-X )
2. 唐嘉慧：玉米田裡的先知—異類遺傳學家麥克林托克，台北，天下文化，1995。
3. Robert H. Tamarin : *Principle of genetics* , New York, McGraw Hill, p425, 2001.

