

多面向發展的模式生物—— 爪蟾(*Xenopus*)



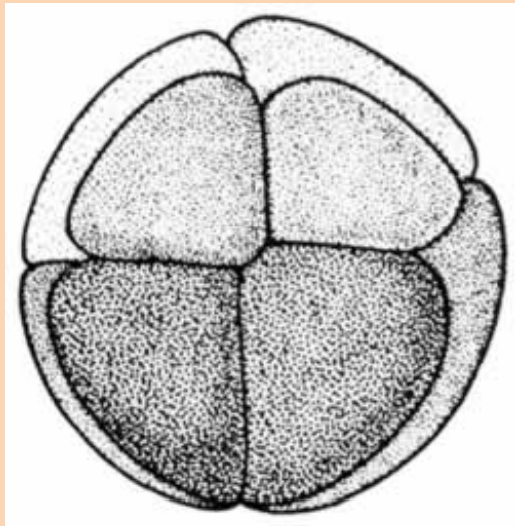
行政院衛生署食品藥物管理局
曾綉婷研究技師

爪蟾 (*Xenopus*) 拉丁文原意為奇特的足部 (*xeno: strange, pou: foot*)，因為爪蟾的足部型態與其他青蛙不同，後足雖似青蛙有蹼卻又生有爪子之故(圖一)。爪蟾為高度水生，原棲於撒哈拉以南非洲地區，雖然名為爪“蟾”，但其實是歸類為青蛙的一個屬(*genus*)；爪蟾屬總共有18個種(*species*)，統稱為非洲爪蟾 (*African clawed frogs*)。在1930年代，科學家發現如果以懷孕婦女的尿液(內含絨毛膜激素)注射*Xenopus laevis*的雌蛙，可讓其在隔天產下大量的卵，並且無季節性之分，因此*X. laevis*被運用作為當時的驗孕試劑，而該項可受荷爾蒙引發排卵的特性也是促使*X. laevis*成為古典胚胎發育研究模式動物的原因之一 (Nieuwkoop and Faber, 1994)。



圖一 *Xenopus laevis*的成體雌蛙。
(擷取自網站<http://www.xenopus.com>)

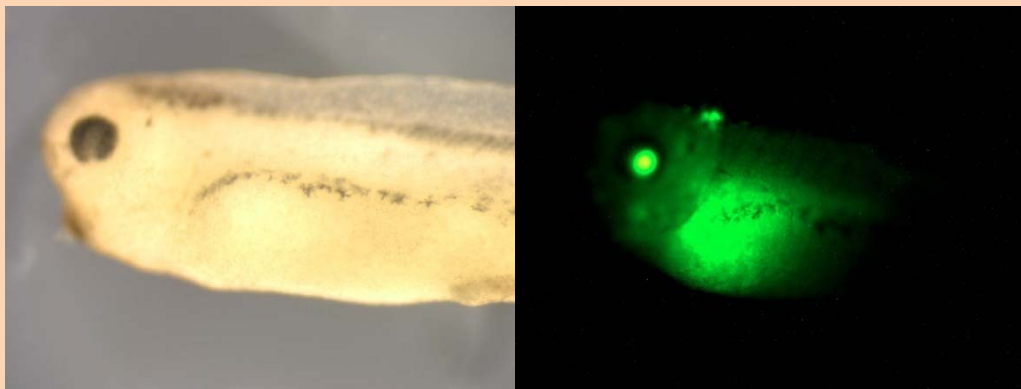
*X. laevis*的成體易於繁殖飼養，對環境的耐受性高；其胚胎具有許多優點：像是胚胎為體外發育，可在實驗室裡輕易的培養；大小直徑有1公厘，利於在胚胎上做移殖手術並觀察移殖對胚胎發育的影響 (Sive, 2000)；胚胎細胞分裂球(blastomere)容易辨識(圖二)，奠定了科學家對胚育圖(fate map) (Dale and Slack, 1987)、早期胚胎發育模式 (Harland and Gerhart, 1997) 及晚期器官發生研究的基礎 (Tseng et al, 2004; Zhang et al., 2001)。



圖二 *Xenopus laevis* 胚胎八細胞時期的示意圖(左圖)及照片(右圖，比例尺為1公厘)，顯示容易辨識及進行胚育圖研究的細胞分裂球(blastomere)。(擷取自網站

<http://www.bio.davidson.edu/people/balom/StagingTable/xenopusome.html>)

X. laevis 除了在古典發育生物學上的卓越貢獻之外，在現今分子生物技術的發展下，也成為生物醫學的模式動物之一。無論是以核糖核酸(RNA)、轉殖基因(transgene)或morpholino oligo皆可作胚胎顯微注射，產生過度表現、基因轉殖(圖三)或基因功能減弱(gene knockdown)的胚體或青蛙，藉此研究基因在發育過程中所扮演的角色 (Wallingford, 1999; Heasman, 2002; Kroll and Amaya, 1996)。因為胚胎材料能夠大量取得並且易於施作顯微注射，研究人員可以在一天內製造數以百計的基因轉殖蛙，而且基因轉殖蛙所需的研究經費相對於基因轉殖鼠而言少很多，是作為基因啟動子片段或藥物預先篩選的極佳模式動物之一 (Zhang et al., 2003)。自2006年崛起的誘導式多能性幹細胞(induced pluripotent stem cell, iPS)之相關研究 (Takahashi and Yamanaka, 2006; Belmonte et al., 2009)，與1960年代以體細胞核轉殖完成爪蟾複製(cloning) (Gurdon, 1962; Gilbert, 2003)之概念實為核重編碼(nuclear reprogramming)的一體兩面，因此兩位分別進行上述研究的學者—日本的Shinya Yamanaka及英國的John Gurdon，於2009年共同獲得拉斯克基礎醫學研究獎 (Albert Lasker Basic Medical Research Award)的殊榮。



圖三 組織特異GFP報導基因轉殖爪蟾蝌蚪分別於眼睛及中胚層表現綠色螢光蛋白。(由曾綉婷博士提供)

由於*X. laevis*仍有發育週期過長及染色體組為四倍體(tetraploid)的缺點，為使爪蟾能擴充其在後基因時代裡作功能性基因組(functional genomics)研究的潛力，學者自1990年代後期，引進了*X. laevis*的近親—*Xenopus tropicalis*，其染色體組為雙倍體(diploid)，外型與*X. laevis*類似，但體型約只有一半，發育週期約需4個月(表一)，而研究報告證明幾乎所有使用在*X. laevis*的分子生物研究技術，都可以應用在*X. tropicalis*上(Amaya et al., 1999; Khokha et al., 2002)。 *X. tropicalis*的完整基因組解碼亦於2010年完成，期望*X. tropicalis*不僅能延續爪蟾在發育生物研究的既有優勢，並應用其在功能性基因組的研究上。

表一 *Xenopus laevis*與 *Xenopus tropicalis*之特性比較。

種名	<i>Xenopus laevis</i>	<i>Xenopus tropicalis</i>
基因組	四倍體(tetraploid)	雙倍體(diploid)
基因組大小	3.1x10 ⁹ bp	1.7x10 ⁹ bp
染色體數目	18	10
世代週期	1-2年	4個月
最適生長溫度	16	25
成體體型	10公分	4-5公分
卵大小	1-1.3公厘	0.7-0.8公厘
產卵數目	300-1000個	1000-3000個

另外，爪蟾兩棲類模式動物也是保育研究及科學教育的絕佳教材。由於兩棲類對於氣候環境變遷及污染的高度敏感性，長久以來，科學家常運用兩棲類胚胎評估自然環境中之毒物及突變致癌物之效應，以做為人類與大自然環境交互作用之調查。其中 *X. laevis* 有記載非常詳盡的胚胎發育階段，因而用於調查可能的毒素及致畸物 (teratogens) 對發育中胚胎的影響，此檢驗法稱之為爪蟾胚胎致畸檢驗 (**f**rog **e**mbr**y**o **t**eratogenesis **a**ssay: **X**enopus; **F**ETAX) (O'Rourke, 2007)。近年來，*X. laevis* 更成為評估環境污染物中內分泌干擾物 (endocrine disruptors) 及其他化合物效應的常用模式動物 (Balch et al., 2006; Kloas, 2002; Lutz and Kloas, 1999)。如能配合一般所使用的物理及化學監測方法，以爪蟾建立環境污染物生物指標之模式，協助監測環境污染，及早預知並做有效之預防，將是促進全球永續發展的重要課題。

參考文獻

- Amaya, E., Offield, M.F., and Grainger, R.M. (1999). [Frog genetics: *Xenopus tropicalis* jumps into the future.](#) Trends Genet *14*(7):253-5.
- Balch, G.C., Velez-Espino, L.A., Sweet, C., Alaei, M., and Metcalfe, C.D. (2006). Inhibition of metamorphosis in tadpoles of *Xenopus laevis* exposed to polybrominated diphenyl ethers (PBDEs). Chemosphere *64*, 328-338.
- Belmonte, J.C., Ellis, J., Hochedlinger, K., and Yamanaka, S. (2009). [Induced pluripotent stem cells and reprogramming: seeing the science through the hype.](#) Nat Rev Genet *10*(12):878-83.
- Dale, L., and Slack, J. M. (1987). Fate map for the 32-cell stage of *Xenopus laevis*, Development *99*, 527-51.
- Gilbert, S.F. (2003). Developmental Biology 7th edition. Sinauer Associates Inc. pg. 81-87; 305-337.
- Gurdon, J.B. (1962). [The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles.](#) J Embryol Exp Morphol *10*:622-40.
- Harland, R., and Gerhart, J. (1997). Formation and function of Spemann's organizer. Annu Rev Cell Dev Biol *13*, 611-67.
- Heasman, J. (2002). Morpholino oligos: making sense of antisense? Dev Biol *243*, 209-14.
- Khokha, M.K., Chung, C., Bustamante E.L., Gaw, L.W., Trott, K.A., Yeh, J., Lim, N., Lin, J.C., Taverner, N., Amaya, E., Papalopulu, N., Smith, J.C., Zorn, A.M., Harland, R.M., and Grammer, T.C. (2002). [Techniques and probes for the study of *Xenopus tropicalis* development.](#) Dev Dyn *225*(4):499-510.
- Kloas, W. (2002). Amphibians as a model for the study of endocrine disruptors. Int Rev Cytol *216*, 1-57.
- Kroll, K. L., and Amaya, E. (1996). Transgenic *Xenopus* embryos from sperm nuclear transplantations reveal FGF signaling requirements during gastrulation, Development *122*, 3173-83.

- Lutz, I., and Kloas, W. (1999). Amphibians as a model to study endocrine disruptors: I. Environmental pollution and estrogen receptor binding. *Sci Total Environ* 225, 49-57.
- Nieuwkoop, P.D., and Faber, J. (1994). Normal table of *Xenopus laevis* (daudin). Garland Publishing. Inc., New York and London.
- O'Rourke, D.P. (2007). Amphibians used in research and teaching. *ILAR J* 48, 183-187.
- Sive, H. L. (2000). Early Development of *Xenopus laevis*: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Takahashi, K., and Yamanaka, S. (2006). [Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors](#). *Cell* 126(4):663-76.
- Tseng, H.T., Shah, R., and Jamrich, M. (2004). Function and regulation of *FoxF1* during *Xenopus* gut development. *Development* 131(15):3637-47.
- Wallingford, J. B. (1999). Tumors in tadpoles: the *Xenopus* embryo as a model system for the study of tumorigenesis, *Trends Genet* 15, 385-8.
- Zhang, J., Rosenthal, A., de Sauvage, F. J., and Shivdasani, R. A. (2001). Downregulation of Hedgehog signaling is required for organogenesis of the small intestine in *Xenopus*, *Dev Biol* 229, 188-202.
- Zhang, L., El-Hodiri, H. M., Ma, H. F., Zhang, X., Servetnick, M., Wensel, T. G., and Jamrich, M. (2003). Targeted expression of the dominant-negative FGFR4a in the eye using Xrx1A regulatory sequences interferes with normal retinal development, *Development* 130, 4177-86.