

doi:10.3969/j.issn.1672-5565.2016.04.06

空间环境对秀丽线虫行为及生长发育研究进展

赵 苒¹,高振洪¹,卢卫红^{1,2*}

(1.哈尔滨工业大学化工与化学学院,哈尔滨 150090;

2.哈尔滨工业大学极端环境营养与防护研究所,哈尔滨 150090)

摘要:与秀丽线虫有关的研究开始于20世纪60年代,秀丽线虫作为模式生物是第一个完成基因测序的多细胞生物,普遍应用于各种环境对生理和行为学研究中。空间环境以微重力、强辐射作为特点,对秀丽线虫的生理及行为产生很大影响。本文总结了微重力和辐射引起秀丽线虫运动能力、寿命、能量代谢等方面基因表达变化的研究成果。秀丽线虫与人类的序列相似性高达40%,空间环境对秀丽线虫行为及生长发育的研究为空间环境对人类健康影响研究提供数据支持,也为空间损伤修复研究提供理论基础。

关键词:空间环境;微重力;辐射;秀丽线虫;生物学效应

中图分类号:Q693 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-5565(2016)04-230-05

Review on behavior and development of *Caenorhabditis elegans* in space environment

ZHAO Ran¹, GAO Zhenhong¹, LU Weihong^{1,2*}

(1.School of Chemistry and Chemical Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China;

2.Institute of Extreme Environmental Nutrition and Protection, Harbin 150090, China)

Abstract:The research related to *C. elegans* began from the 1960s. It's the first multicellular organisms with sequenced genome. As a model organism, *C. elegans* is widely used in physiological and behavioral researches about environmental changes. Microgravity and strong radiation are two characteristics of space environment which has a significant impact on the growth and development of *C. elegans*. We sum up the result of the research related to the growth and development of *C. elegans* and the results of the behavior, life-span and expression changes of several proteins in simulated microgravity and radiation environment. *C. elegans* can respond to environmental change very quickly, so it is common biological material used in the space environment study. According to the previous study, *C. elegans* had a sequence similarity of 40% with human, and the research on the behavior and the development of *C. elegans* provide data support for human's health and theoretical foundation for space damage repair.

Keywords:Space environment; Microgravity; Radiation; *C. elegans*; Biological effect

1949年美国空军航空医学院成立了航天医学系,人类利用火箭进行动物实验并进行了有关的航天医学的研究。随后在1961年,尤里·加加林进行了人类首次成功地太空飞行。空间环境一直以强辐射、微重力为主要特点,对进入外太空进行空间探索的宇航员的身体健康造成很大的损伤。所以有关空间环境引起的生物学效应的研究势在必行。秀丽线

虫以其结构简单、身体半透明、对环境要求低等优点,一直是生物学的热门模式生物。自2004年ICE-first的国际合作项目研究开始,有很多与空间飞行对线虫的细胞凋亡、个体发育、基因组稳定性研究的报道,揭示了空间飞行能够对线虫产生不同程度的影响。但是有关此方面的总结却少之又少。本文总结了近几年发表的空间环境中秀丽线虫生物学

收稿日期:2016-06-15;修回日期:2016-10-13.

基金项目:2013年哈尔滨市学科带头人项目(No.2013RFXXJ042);航天预先研究项目(No.040102);航天预先研究项目(No.01-1-08).

作者简介:赵苒,女,硕士研究生,研究方向:空间极端环境与营养;E-mail:18845090507@163.com.

*通信作者:卢卫红,女,教授,研究方向:空间极端环境与营养;E-mail:lwh@hit.edu.cn.

研究的文献,从微重力和辐射对秀丽线虫生物学影响两方面进行阐述。

1 秀丽线虫的生物学特征与研究进展

1.1 秀丽线虫的生物学特征

秀丽线虫是一类非常微小的生物,身体直径约70.0 μm ,体长可达1.0~1.5 mm,喜欢生活在湿润阴凉的土壤中的一种小杆总科(Rhabditoidea)、小杆目(Rhabditida)、小杆亚纲(Rhabditia)的线虫。秀丽线虫以大肠杆菌为食,经过约3天可从卵发育成成虫,其寿命为21天左右,身体半透明,方便在实验室观察^[1]。线虫一共有表皮索状组织四条和一个假体腔。线虫的主要结构为口、咽、肠、性腺和胶原蛋白角质层。N2野生型秀丽线虫是实验室比较常用种类,该种秀丽线虫中约99.95%是雌性同体及0.05%雄性线虫。雌雄同体个体产卵孵化后,经过L1,L2,L3和L4四个时期发育成成虫^[2]。L4时期经过一次蜕皮即进入成虫期进行产卵。如果周围环

境变得恶劣,线虫会进入休眠期(Dauer)停止生长。

2.2 秀丽线虫分子生物学的主要研究进展

20世纪60年代,Sydney Brenner最先将秀丽线虫作为模式生物进行分子生物学方面的研究,并对线虫的生存条件进行了研究,提出了较为合适的培养方法及保存方法^[3]。此后开启了秀丽线虫生物学研究的新篇章,主要的研究进展如表1所示。1974年,John E.Sulston完成了秀丽线虫细胞谱系的基本绘制工作,揭示了线虫从受精卵发育成成虫的全部细胞的代谢状况^[4]。1998年,科学家完成了99%的有关秀丽线虫的基因测序工作,该基因组大小为100 Mb,分布于6条染色体,预测有19 099个基因^[5]。同一年内Fire和Mello发现了线虫体内存在RNA干扰现象,除了显微注射甚至将线虫浸泡在双链RNA溶液中将双链RNA菌作为秀丽线虫的食物都能完成RNA干扰作用,降解mRNA^[6]。2002年,秀丽线虫成为第一个基因测序工作全部完成的多细胞生物,与人类的同源性高达40%。是生物学研究一种良好的模式生物。

表1 秀丽线虫生命过程的主要研究进展

Table 1 The research on development of *C.elegans* life processes

时间/年	研究进展
1965	Sydney Brenner最先将秀丽线虫作为模式生物进行分子生物学方面的研究 ^[3]
1976	Sulston等描述了线虫的细胞谱系 ^[7]
1983	Hedgecock等发现导致细胞异常凋亡基因(ced-1)的真正的突变体 ^[8]
1998	Sulston与Yuan等共同发现了参与程序性细胞死亡的早期基因突变 ^[7,9]
1998	Fire和Mello发现了线虫体内存在RNA干扰现象 ^[6]
2002	基因测序工作全部完成
2002	Horvitz等率先获得了细胞凋亡基因的突变体,并发现了控制细胞程序性死亡调控途径 ^[10]
2004	利用高通量酵母双杂交方法绘制秀丽隐杆线虫超过4000种蛋白质互作图 ^[11]

正是由于秀丽线虫的生长发育规律研究取得了巨大的成就,秀丽线虫被广泛应用于各研究方向的模型建立。最近在线虫的神经元模型的建立、不同环境下寿命模型的建立、环境毒性评估模型的建立,以及microRNA调节等方面取得很大的成就。

2 空间环境对秀丽线虫的影响

2.1 微重力引起的秀丽线虫的生物学变化

人类在空间活动生理和行为上的主要障碍是微重力状态。会引起宇航员内流体的重新分布,增加肾脏过滤的能力,感觉传输的改变,心血管功能失调,骨质恶化,肌肉萎缩,免疫系统损伤等等^[12]。微重力环境会对秀丽线虫多方面产生影响,导致线虫的约1 000多基因的表达发生变化^[13],其中主要集中在运动、寿

命、能量代谢以及TGF- β 信号通路等方面。

2.1.1 微重力对秀丽线虫运动能力的影响

通过地面模拟实验可知空间环境对秀丽线虫运动产生很大的主要因素是微重力条件。Akira Higashibata等人发现在微重力条件下线虫泳动的波长没有较大的变化,频率却明显降低,脂肪堆积减小^[14]。这表明线虫运动能力减弱。这是因为微重力条件会使线虫控制肌蛋白合成的基因表达表达下降,与之相关的转录因子的合成受阻^[15],从而使线虫的肌纤维面积减少,造成肌肉萎缩。例如:重链肌球蛋白(MHC)的表达降低。秀丽线虫的重链肌球蛋白分为四类,其中与线虫的运动有关的重链肌球蛋白A和B存在于体壁细胞粗肌丝中,由myo-3和unc-54编码。与线虫的进食有关重链肌球蛋白C和D位于咽泵肌肉细胞中由myo-2和myo-1b编码,空

间环境中它们的基因转录均受到影响^[13]。微重力还会引起抗肌萎缩蛋白(MyoD)的减少^[16],它是一种重要的肌肉萎缩退化发生的信号。除此之外转录因子 hlh-1、peb-1、ceh-22 和 pha-4 的表达量均减少^[17]。

微重力环境会使基因 atn-1、deb-1、anc-1 等的表达减少,导致秀丽线虫的肌细胞骨架变化^[14]。atn-1 的表达减少影响线虫胚胎阶段的肌节和致密体组装,是肌节的稳定性变弱。编码细胞纽带蛋白的 deb-1 基因,在致密体的组装方面有重要作用,deb-1 基因缺失会在在线虫胚胎早期引起瘫痪以及肌肉紊乱^[18]。与 anc-1 为同源物的 Syne-1、Nesprin-1 和 Nesprin-2 被证明与哺乳动物的肌营养不良症的发病机制有关^[19],这说明空间飞行环境可能是肌营养不良症的发病诱因。

2.1.2 微重力对秀丽线虫寿命的影响

微重力的空间环境条件会延长秀丽线虫的寿命。一方面,Yoko Honda, Akira Higashibata 等于 2012 年提出空间飞行会减少秀丽线虫转基因表达的多聚谷氨酰胺聚集体的形成量,而此聚集体会随着线虫生长成熟而堆积,是一种衰老的信号因子^[20]。另一方面,在空间飞行中有七个与寿命相关的基因被发现表达下调了^[21]。这七个基因的灭活或突变会导致寿命的延长。这些基因编码的蛋白质可能与神经或内分泌信号:乙酰胆碱受体,乙酰胆碱转运体,胆碱乙酰转移酶,视紫红质受体、谷氨酸闸门氯离子通道家族,振动筛钾通道和胰岛素肽。它们通过调节长寿的关键转录因子 DAF-16 和 SKN-1 或通过影响饮食限制的信号来对寿命发挥作用^[22]。航天飞行过程中秀丽线虫的老化将减慢,但是空间环境影响这些基因及多聚谷氨酰胺聚集体的机制还有待研究。

2.1.3 微重力引起线虫生长发育的变化

微重力会导致宇航员的新陈代谢减弱,从而线虫的生长发育速度减慢。线虫对微重力的应激反应与宇航员相似。2011 年,Jamal 等人发现微重力空间环境会造成头转录因子 daf-16 的下游效应分子基因上调。daf-16 调节胰岛素 TGF- β 信号通路,胰岛素和 TGF- β 信号通路可以影响秀丽线虫的新陈代谢,加强了秀丽线虫对微重力环境的抗胁迫能力。

微重力会影响秀丽线虫乙酰化酶、下游的目标蛋白及一些主要的三羧酸循环的酶类的表达。在秀丽线虫的空间试验中,去乙酰化酶 sirt-1 的表达量增加^[17]。sirt-1 在哺乳动物肌肉的线粒体能量转换及生物合成中有重要作用^[23-24]。动物不同肌肉纤维的氧化能力与 sirt-1 蛋白质含量呈负相关关

系^[25]。在微重力条件下三羧酸循环过程中有关的酶类表达下调。综上,在空间环境中,线虫的新陈代谢过程减慢,从而生长发育速率减慢,寿命增加,这是线虫一种在新环境下的自我调节适应过程。

2.2 辐射引起的秀丽线虫的生物学变化

载人航天飞船的辐射对人体的伤害很大,包括质子、阿尔法粒子等都对生物体有严重影响^[26],比如细胞的凋亡,基因的变异,氧化应激性以及行为变化。Nelson 等发现航天飞行过程中的高能辐射粒子轰击会增加秀丽线虫的突变率^[27]。该方面的研究是医学领域一项非常严峻的挑战。空间辐射有多种粒子,且辐射粒子的能量也具有不确定性,目前无法在地面准确模拟辐射环境,但是地面的辐射研究对线虫的空间生物学效应也是很有价值的。

2.2.1 辐射对秀丽线虫寿命的影响

有研究表明,当 X 射线在 100 Gy-300 Gy 强度内时,可以有效的提高秀丽线虫的寿命,当强度达到 500 Gy 时,这种效果就消失了。这种效应与 X 射线诱导 DNA 修复有关^[28]。X 射线之所以延长秀丽线虫的寿命,是由于某些有保护作用的酶,特别是一些超氧化物歧化酶,它们可以保护自身的转录调节不被氧化应激干扰。对线虫寿命有调节作用的紫外照射后,秀丽线虫的平均寿命均缩短,且随着辐照剂量增大死亡率增大,大剂量照射紫外后,线虫体内的活性氧 ROS 含量也有增高。ROS 能自发的氧化,损伤大分子如蛋白质,脂类和核酸,有猜测这时辐射造成线虫寿命降低的原因。

2.2.2 辐射对秀丽线虫细胞凋亡水平的影响

线虫的生长发育与其细胞的发育和凋亡密切相关。有研究表明,碳离子辐射可以显著增加线虫细胞的凋亡水平,并体现出一定的辐射区域和剂量的依赖性^[29]。红外线诱导后线虫的与生殖细胞凋亡相关的基因也表达上调,如 ced-13。细胞凋亡是多细胞动物为维持自身细胞数动态平衡的一种主动性的自我保护机制。细胞凋亡可清除 DNA 损伤细胞,以免发生癌变;或者通过清除某些有遗传缺陷的生殖细胞,以防后代发生遗传性疾病。

3 结论

空间环境的生物学效应是人类入驻太空必须解决的一项难题,航天技术的发展为我们提供了更好的科研平台。本文分别从模拟微重力和辐射条件两方面总结了秀丽线虫空间环境生物学效应,为进一步进行还不明确的分子层面的机制研究指明方向。线虫生长周期短,给药迅速,易于观察构建模型,用

线虫构建模型,进行空间防护的研究是未来一个很好的研究方向。秀丽线虫在空间生物学效应方面的研究将会日趋成熟。

参考文献(References)

- [1] RIDDLE D L, BLUMENTHAL T, MEYER B J, et al. 1 Introduction to *C.elegans* [J]. Cold Spring Harbor Monograph Archive, 1997(2), 33: 1-22. DOI: 10.1101/087969532. 33.1.
- [2] JORGENSEN E M, MANGO S E. The art and design of genetic screens: *Caenorhabditis elegans* [J]. Nature Reviews Genetics, 2002, 3(5): 356-369. DOI: 10.1038/nrg794.
- [3] BRENNER S. The genetics of *Caenorhabditis elegans* [J]. Genetics, 1974, 77(1): 71-94.
- [4] WATERSTON R. Genome sequence of the nematode *C.elegans*: a platform for investigating biology. The *C.elegans* Sequencing Consortium [J]. Science, 1998, 282(5396): 2012-2018. DOI: 10.1126/science.282.5396.2012.
- [6] FIRE A, XU S, MONTGOMERY M K, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans* [J]. Nature, 1998, 391(6669): 806-811. DOI: 10.1038/35888.
- [7] SULSTON J E. Neuronal cell lineages in the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 1983, 48(2): 443-452. DOI: 10.1101/SQB.1983.048.01.049.
- [8] SULSTON J E, SCHIERENBERG E, WHITE J G, et al. The embryonic cell lineage of the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Developmental Biology, 1983, 100(1): 64-119. DOI: 10.1016/0012-1606(83)90201-4.
- [9] YUAN J, SHAHAM S, LEDOUX S, et al. The *C.elegans* cell death gene *ced-3* encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 β -converting enzyme [J]. Cell, 1993, 75(4): 641-652. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90485-9.
- [10] HORVITZ H R. Worms, life, and death (Nobel lecture) [J]. Chembiochem, 2003, 4(8): 697-711. DOI: 10.1002/cbic.200300614.
- [11] LI S, ARMSTRONG C M, BERTIN N, et al. A map of the interactome network of the metazoan *C.elegans* [J]. Science, 2004, 303(5657): 540-543. DOI: 10.1126/science.1091403.
- [12] BLABER E, MARÇAL H, BURNS B P. Bioastronautics: the influence of microgravity on astronaut health [J]. Astrobiology, 2010, 10(5): 463-473. DOI: 10.1089/ast.2009.0415.
- [13] JAMAL R, NURUL-FAIZAH J, THEN S, et al. Gene expression changes in space flown *Caenorhabditis elegans* exposed to a long period of microgravity [J]. Gravitational and Space Research, 2011, 23(2): 85-86.
- [14] HIGASHIBATA A, HASHIZUME T, NEMOTO K, et al. Microgravity elicits reproducible alterations in cytoskeletal and metabolic gene and protein expression in space-flown *Caenorhabditis elegans* [J]. Microgravity, 2016, 2(4): 15-22. DOI: 10.1038/npjmgrav.2015.22.
- [15] 高英, 徐丹, 孙野青. 空间生物学中应用秀丽隐杆线虫的研究进展 [J]. 载人航天, 2013, 19(6): 69-75. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5825.2013.06.013.
GAO Ying, XU Dan, SUN yeqing. Research advancement of application of *Caenorhabditis elegans* in space biology [J]. Manned Space Flight, 2013, 19(6): 69-75. DOI: 10.3969/j.issn.1674-5825.2013.06.013.
- [16] XU D, SUN Y, GAO Y, et al. The effect of dys-1 mutation on miRNA expression profile in *Caenorhabditis elegans* during Shenzhou-8 mission [J]. Cospar Scientific Assembly Held August, 2014, 34(1): 23-34.
- [17] GAO Y, XU D, ZHAO L, et al. Effects of microgravity on DNA damage response in *Caenorhabditis elegans* during Shenzhou-8 spaceflight [J]. International Journal of Radiation Biology, 2015, 91(7): 531-539. DOI: 10.3109/09553002.2015.1043754.
- [18] BARSTEAD R J, WATERSTON R H. Vinculin is essential for muscle function in the nematode [J]. The Journal of Cell Biology, 1991, 114(4): 715-724. DOI: 10.1083/jcb.114.4.715.
- [19] ZHANG Q, BETHMANN C, WORTH N F, et al. Nesprin-1 and-2 are involved in the pathogenesis of Emery-Dreifuss muscular dystrophy and are critical for nuclear envelope integrity [J]. Human Molecular Genetics, 2007, 16(23): 2816-2833. DOI: 10.1093/hmg/ddm238.
- [20] HONDA Y, HIGASHIBATA A, MATSUNAGA Y, et al. Genes down-regulated in spaceflight are involved in the control of longevity in *Caenorhabditis elegans* [J]. Scientific Reports, 2012, 2(487): 1-7. DOI: 10.1038/srep00487.
- [21] HONDA Y, HONDA S, NARICI M, et al. Spaceflight and ageing: reflecting on *Caenorhabditis elegans* in space [J]. Gerontology, 2014, 60(2): 138-142. DOI: 10.1159/000354772.
- [22] LAPIERRE L R, HANSEN M. Lessons from *C.elegans*: signaling pathways for longevity [J]. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2012, 23(12): 637-644. DOI: 10.1016/j.tem.2012.07.007.
- [23] MENZIES K J, HOOD D A. The role of SirT1 in muscle mitochondrial turnover [J]. Mitochondrion, 2012, 12(1): 5-13. DOI: 10.1016/j.mito.2011.03.001.
- [24] GURD B J, LITTLE J P, PERRY C G. Does SIRT1 determine exercise-induced skeletal muscle mitochondrial biogenesis: differences between in vitro and in vivo experiments? [J]. Journal of Applied Physiology, 2012, 112(5): 926-928. DOI: 10.1152/jappphysiol.01262.2011.
- [25] GURD B J, YOSHIDA Y, LALLY J, et al. The deacetylase

- enzyme SIRT1 is not associated with oxidative capacity in rat heart and skeletal muscle and its overexpression reduces mitochondrial biogenesis [J]. *The Journal of Physiology*, 2009, 587 (8) : 1817 – 1828. DOI: 10.1113/jphysiol.2008.168096.
- [26] KAVANAGH J, CURRELL F, TIMSON D, et al. Antiproton induced DNA damage: proton like in flight, carbon-ion like near rest[J]. *Scientific Reports*, 2013, 3(95):23–45. DOI:10.1038/srep01770.
- [27] NELSON G, SCHUBERT W, KAZARIANS G, et al. Radiation effects in nematodes: results from IML-1 experiments [J]. *Advances in Space Research*, 1994, 14(10): 87–91. DOI:10.1016/0273-1177(94)90455-3.
- [28] OLENDROWITZ C, BARTELS M, KRENKEL M, et al. Phase-contrast x-ray imaging and tomography of the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Physics in Medicine and Biology*, 2012, 57 (16) : 53 – 59. DOI: 10.1088/0031-9155/57/16/5309.
- [29] 刘家炉, 郭肖颖, 黎青青, 等. 碳离子辐射诱导秀丽隐杆线虫生殖细胞凋亡研究[J]. *原子核物理评论*, 2015, 32(1): 105–109. DOI:10.11804/NuclPhysRev.32.01.105.
- LIU Jialu, GUO Xiaoying, LI Qingqing, et al. Effects of carbon ion irradiation on the germ cell apoptosis in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nuclear Physics Review*, 2015, 32 (1) : 105–109. DOI: 10.11804/NuclPhysRev.32.01.105.