

作为幽门螺旋杆菌 CagA 蛋白 胞内靶点的 SHP-2 酪氨酸磷酸酶

Hideaki Higashi,¹ Ryouhei Tsutsumi,¹ Syuichi Muto,¹
Toshiro Sugiyama,² Takeshi Azuma,³ Masahiro Asaka,²
Masanori Hatakeyama^{*1}

幽门螺旋杆菌 CagA 蛋白与严重胃炎和胃癌有关。CagA 从附着的幽门螺旋杆菌注入宿主细胞，并发生酪氨酸磷酸化。野生型而非抗磷酸化的 CagA 能诱导胃上皮细胞产生类似生长因子的反应。此外，CagA 以磷酸化依赖的方式与含 SRC 同源 2 结构域 (SH2) 的酪氨酸磷酸酶 SHP-2 形成物理复合物，并刺激磷酸酶的活性。破坏 CagA-SHP-2 复合物会消除 CagA 依赖性细胞反应。相反，组成型活性 SHP-2 可再现 CagA 对细胞的影响。因此，CagA 在转位后会通过解除 SHP-2 的调节来扰乱细胞功能。

幽门螺旋杆菌感染了全球约 50% 的人口，会导致从胃炎到癌症的各种胃部疾病，已被列为 I 类致癌物。CagA 是 *cagA* 基因的产物，幽门螺旋杆菌的毒性 I 型菌株携带该基因。CagA 的表达与幽门螺旋杆菌毒力之间的相关性已得到充分证实 (1-4)。特别是，在感染了 *cagA*⁺ 幽门螺旋杆菌菌株的患者中，胃癌和 MALT (涎膜相关淋巴组织) 淋巴瘤的发病率增加，这表明 CagA 与胃癌风险的增加有关。然而，目前尚未发现 CagA 在发病机制或功能中的直接作用。

在 *cagA*⁺ 幽门螺旋杆菌附着到胃上皮细胞后，CagA 通过细菌 IV 型分泌系统直接从细菌进入细胞，并在宿主细胞中发生酪氨酸磷酸化 (5-9)。 *cagA*⁺ 幽门螺旋杆菌与宿主细胞的相互作用也会引发类似于生长因子诱导的形态变化 (5)。转移的 CagA

可能会导致宿主细胞功能失调，从而导致发病。

为了研究 CagA 蛋白在宿主细胞中的作用，从幽门螺旋杆菌标准菌株 NCTC11637 中分离出了 *cagA* 基因，并用血凝素 (HA) 对其进行 COOH 端标记。

酪氨酸磷酸化 (图 1A)。NCTC11637 衍生的 CagA 蛋白具有七个潜在的酪氨酸磷酸化位点 (残基 -117、-893、-912、-965、-999、-999、-999、-999)、-1033 和 -1100)。其中，残基 -893、-912、-965、-999 和 -1033 构成了 EPIYA 序列的五个共存体。值得注意的是，残基 -965、-999 和 -1033 是由三个重复的 "D1+D2+D3" 元素组成的 (12)。我们生成了一种 CagA 突变体，其中五份 Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala (EPIYA) 序列中的所有酪氨酸残基都被丙氨酸取代。突变体 CagA 在细胞中没有发生任何酪氨酸磷酸化 (图 1A)。因此，这些酪氨酸残基中的一个或几个显然是 CagA 的体内酪氨酸磷酸化位点。

与 *cagA*⁺ 幽门螺旋杆菌接触的 AGS 细胞会产生蜂鸟表型，其特征是细胞伸长和扩散 (5)。我们检测了转染 CagA 表达载体后 AGS 细胞的形态变化。转染 17 小时后，20% 至 30% 的细胞 (转染效率约为 40%) 表现出了 "蜂鸟表型"。

并克隆到 pSP65SRα 中。将表达载体转染到 AGS 人胃上皮细胞或猴 COS-7 细胞中，用 HA 抗体免疫印迹法确认 CagA 的表达 (图 1A) (10, 11)。用磷酸化酪氨酸抗体进行免疫印迹显示，表达的 CagA 未

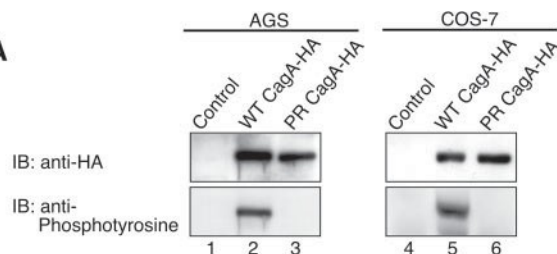
REPORT

蜂鸟表型（图 1B）。相反，抗磷酸化的 CagA 无法诱导 AGS 细胞发生任何形态变化。因此，CagA 是幽门螺杆菌蜂鸟表型的必要且足够的成分，而 CagA 的酪氨酸磷酸化是必需的。CagA

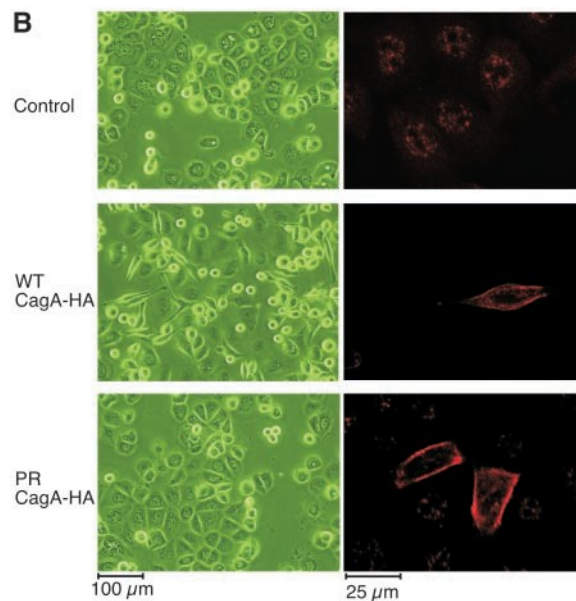
¹日本札幌 060-0815 北海道大学遗传医学研究所和理学研究生院分子肿瘤学部。²日本札幌 060-0815 北海道大学医学研究生院消化内科与血液科。³福井医科大学内科第二部，日本福井 910-1193。

* 通信收件人：电子邮件：mhata@imm.hokudai.ac.jp

A



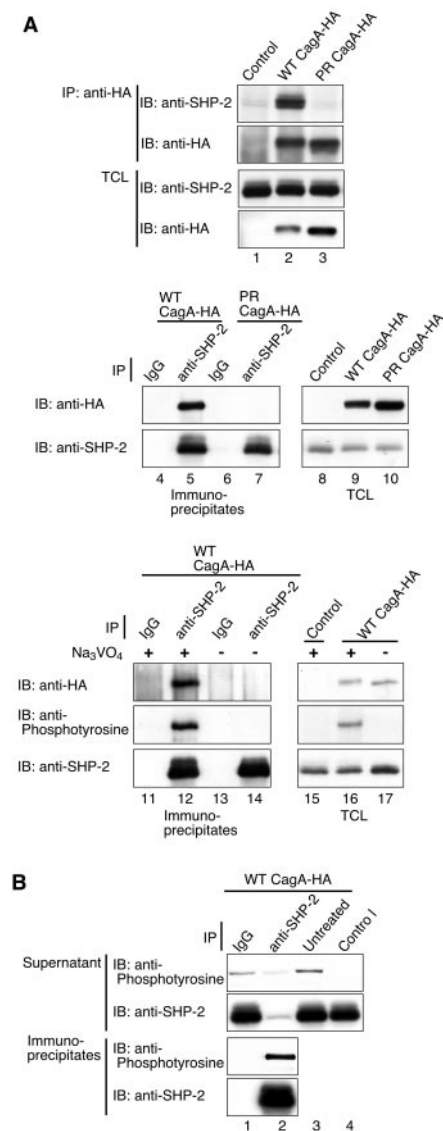
B



照）。用 HA 或磷酸化酪氨酸抗体对细胞液进行免疫印迹 (IB)。 (B) 转染 CagA 的 AGS 细胞在转染后 17 小时在显微镜下观察其形态（左图）。细胞用 HA 抗体染色（右图）。

但这种膜定位与酪氨酸磷酸化无关,在耐磷酸化的 CagA 中也观察到了这种定位 (图 1B)。

蜂鸟表型与暴露于肝细胞生长因子 (HGF) 引起的形态变化相似 (5)。其他研究结果表明, SHP-2 (14-16) 是一种细胞质酪氨酸磷酸酶, 含有两个串联的 SH2 结构域, 它的活化在蜂鸟表型中起着主要作用。



在 HGF 诱导的细胞形态变化中发挥作用 (17)。事实上, SHP-2 能积极调节多种活化受体酪氨酸激酶的信号转导事件 (14-16)。我们发现, SHP-2 在 AGS 细胞中表达, 而另一种含 SH2 的磷酸酶 SHP-1 几乎检测不到 (18)。由于 SH2 结构域是磷酸化酪氨酸结合模块 (19), 我们研究了 CagA 结合 SHP-2 的能力。在转染了 CagA 表达载体的 AGS 细胞裂解液中, CagA 与内源性 SHP-2 共免疫沉淀, 反之亦然 (图 2A)。相比之下, 磷酸化抗性 CagA 和 SHP-2 并不共沉淀。此外, SHP-2 也不能共沉淀未磷酸化的 CagA (图 2A)。因此, CagA 在胃上皮细胞中以酪氨酸磷酸化依赖的方式结合 SHP-2。此外, 从表达 CagA 的 AGS 细胞裂解液中免疫清除 SHP-2, 可同时清除裂解液中几乎所有 (如果不是全部) 的酪氨酸磷酸化 CagA (图 2B)。因此, 在这些细胞中, 酪氨酸磷酸化的 CagA 与 SHP-2 的结合是成比例的。

在 COS-7 细胞中, 酪氨酸磷酸化的 CagA 与 SHP-2 之间的物理相互作用也得到了证实 (图 3A)。利用 COS-7 细胞, 我们研究了 SHP-2 中 CagA 结合所需的区域。一个缺乏 SH2 结构域的 SHP-2 突变体 (SHP-2ΔSH2- Myc) 完全丧失了结合 CagA 的能力, 而另一个缺乏磷酸酶结构域的突变体 (SHP-2ΔPD-Myc) 则保留了结合 CagA 的活性 (图 3B) (20)。因此, 酪氨酸磷酸化的 CagA 似乎专门与 SHP-2 的 SH2 结构域相互作用。

磷酸酪氨酸肽与 SHP-2 的 SH2 结构域的结合被认为是 SHP-2 结构的重塑。

为了确定 CagA-SHP-2 的相互作用是否也属于这种情况, 我们在 COS-7 细胞中表达了有或无 CagA 的 Myc 标记 SHP-2, 并对其进行了免疫沉淀 (21-25)。为了确定 CagA-SHP-2 的相互作用是否也是这种情况, 我们在 COS-7 细胞中表达了存在或不存在 CagA 的 Myc 标记 SHP-2, 并用 Myc 抗体免疫沉淀了 SHP-2。然后对免疫复合物进行体外磷酸酶检测 (26)。当 SHP-2 与 CagA 形成复合物时, 它的磷酸酶活性被有效激发 (图 3C)。

我们接下来研究了 CagA-SHP-2 复合物是否参与了蜂鸟表型的诱导。CagA 与磷酸酶缺陷的 SHP-2ΔPD-Myc 一起表达 (SHP-2ΔPD-Myc 仍通过 SH2 结构域与 CagA 发生物理作用), 可显著减少蜂鸟表型的诱导 (图 4A)。为了排除 SHP-2ΔPD-Myc 竞争性地抑制 CagA 与 SHP-2 以外的含有 SH2- 的分子结合的可能性, 我们异位表达了野生型 SHP-2。尽管野生型 SHP-2 的水平比 SHP-2ΔPD-Myc 高出两倍, 但野生型 SHP-2 并没有通过 CagA 抑制蜂鸟的表型 (图 4A), 这证明此类分子并不存在。因此, CagA 和内源性 SHP-2 形成复合物是诱导 AGS 细胞出现蜂鸟表型的必要前提。此外, 用 SHP-2 特异性磷酸酶抑制剂钒泊平 (27) 处理表达 CagA 的 AGS 细胞, 可抑制蜂鸟表型的诱导 (图 4B), 表明形态变化需要 SHP-2 磷酸酶的活性。

图 2. CagA 与 SHP-2 之间的相互作用。(A) AGS 细胞转染 WT CagA-HA、PR CagA-HA 或对照空载体。在酪氨酸磷酸酶抑制剂 NaVO_4 存在或不存在的条件下, 从制备的溶液中免疫沉淀 WT CagA-HA 或 SHP-2。免疫沉淀物 (IP) 和总细胞裂解液 (TCL) 与所述抗体进行免疫印迹 (IB)。对照抗体为免疫前免 IgG。(B) 用 SHP-2 抗体或对照抗体进行免疫沉淀前后, 转染 WT CagA-HA 的 AGS 细胞上清液中酪氨酸-卵磷脂化的 CagA 数量。

REPORT

图

3

CagA

激活

SHP-2

2

用

行

抗

Myo

免疫

沉淀

的

检测

磷酸

酶

活性

和

表

达

载

体

共

同

转

染

C

O

S

-

7

细

胞

。

细

胞

裂

解

液

用

H

A

的

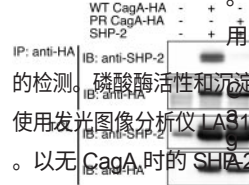
抗体进行免疫沉淀 (IP))。用指定的抗体对免疫沉淀物和细胞总裂解液 (TCL) 进行免疫印迹 (IB)。

(B) CagA-HA与Myc标记的野生型 (SHP-2-Myc) 或突变型 (Δ PD-Myc 和 Δ SH2-Myc) 共表达

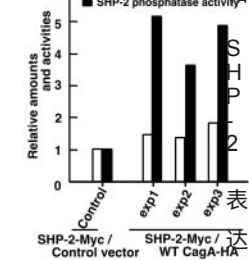
SHP-2。样品经 10% (1 至 9 号泳道) 或 13.5% (10 至 13 号泳道) SDS-PAGE 分馏。NS, 非特异性条带; Mr, 相对分子质量。(C) 用 SHP-2-

Myc 和 WT CagA-HA 或对照载体共转染 COS-7 细胞。将细胞裂解液进行抗 Myc 免疫沉淀

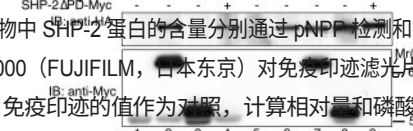
A



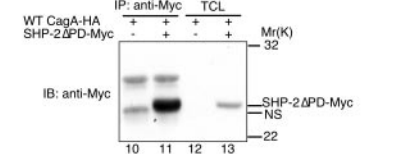
C



B



TCL



REPORT

最后, 我们研究了在没有 CagA 的情况下, SHP-2 是否能够诱导蜂鸟发生类似的形态变化。由于 CagA 与细胞膜相关 (图 1B), CagA 对 SHP-2 的招募可能是细胞质磷酸酶重新定位到细胞膜的一种机制。因此, 我们在缺乏SH2结构域的SHP-2突变体 (Myr-SHP- 2 Δ SH2-Myc) (20、23、24) 中加入了来自v-Src (28) 的膜定位信号, 从而产生了一种膜靶向的、具有组成型活性的SHP-2。在 AGS 细胞中异位表达 Myr-SHP- 2 Δ SH2-Myc 可引起细胞形态学变化, 与 CagA 诱导的蜂鸟嗜血杆菌不同 (图 4, C 和 D)。

(13)另一方面, 缺乏膜靶向信号的组成型活性 SHP-2 (SHP-2 Δ SH2-Myc) 无法诱导形态变化 (图 4C)。因此, 活化的 SHP-2 的膜拴系对于蜂鸟表型的诱导是必要且充分的。

我们在此证明, 幽门螺杆菌的病毒溃疡因子 CagA 可从细菌转运到胃上皮细胞中。

细胞 (5-9), 可通过与宿主细胞蛋白 SHP-2 发生物理作用来扰乱哺乳动物的信号转导机制并改变细胞功能。SHP-2 与果蝇同源物 Corkscrew 一样, 在连接受体酪氨酸激酶和 ras 的有丝分裂信号转导过程中发挥着重要的积极作用 (14、15)。此外, SHP-2 还积极参与细胞扩散、迁移和粘附的调控 (29-32)。CagA 对 SHP-2 的失调可能会诱发胃上皮细胞的异常增殖和移动, 促进细胞转化表型的获得。我们的研究结果为 CagA 对胃上皮细胞的病理作用提供了分子基础。

CagA 因其氨基酸序列在不同幽门螺杆菌菌株间的多样性而备受关注。EPIYA 基因的磷酸化位点位于 CagA 的重复区, 并通过复制得到扩展。因此, CagA 磷酸化位点的数量和序列的多态性可能会影响 CagA 与 SHP-2 的结合亲和力。

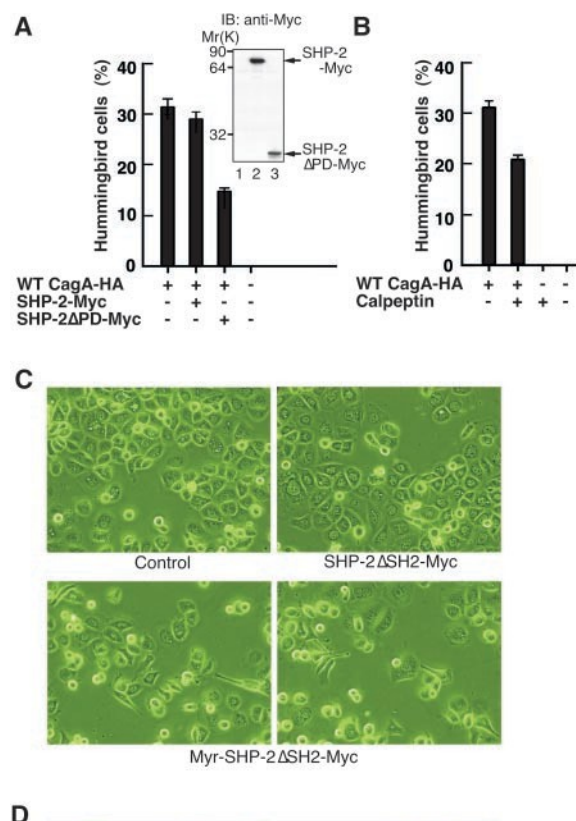
不同 cagA⁺ 幽门螺杆菌菌株感染临床结果的决定性变量。

参考资料和说明

1. A.Covacci, J. L. Telford, G. D. Giudice, J. Parsonnet, R. Rappuoli, *Science* **284**, 1328 (1999).
2. M.J. Blaser 等人, 《癌症研究》**55**, 2111 (1995年)。
3. E.E. J. Kuipers, G. I. Perez-Perez, S. G. Meuwissen, M. J. Blaser, *J. Natl. Cancer Inst.* **87**, 1777 (1995).
4. J. Parsonnet, G. D. Friedman, N. Orentreich, H. Vogelman, *Gut* **40**, 297 (1997).
5. E.E. D. Segal, J. Cha, J. Lo, S. Falkow, L. S. Tompkins, *Proc. Natl.* **96**, 14559 (1999).
6. M. Asahi 等人, *J. Exp. Med.* **191**, 593 (2000).
7. M. Stein, R. Rappuoli, A. Covacci, *Proc. Natl. Sci. U.S.A.* **97**, 1263 (2000).
8. S. Odenbreit 等人, 《科学》第**287**卷第1497期 (2000年)。
9. S. Backert 等人, *Cell. Microbiol.* **2**, 155 (2000).
10. 使用 Lipofectamine 2000 试剂 (Invitrogen, Carlsbad, CA) 将 30 μ g 质粒转染到 AGS 细胞 (1.8×10^6 个细胞) 中。用磷酸钙法将 20 μ g 质粒转染 COS-7 细胞 (1.5×10^6 个细胞)。转染后 36 小时收获细胞, 并在含有 2 mM Na_3VO_4 、2 mM 苯基磺酰氟 (PMSF)、10 μ g/ml 的利血平、10 μ g/ml 的胰蛋白酶抑制剂和 10 μ g/ml 的阿普罗宁的裂解缓冲液 (pH 7.5 的 Tris-HCl、100 mM NaCl、5 mM EDTA 和 1% Brij-35) 中裂解。用适当的抗体处理裂解液, 并将免疫复合物截留在蛋白 A 或蛋白 G Sepharose 微珠上。免疫沉淀物经 SDS 聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 检测。
11. 使用的抗体有抗 HA 抗体 Y-11 (Santa Cruz, Santa Cruz, CA) 和 12CA5、Myc 抗体 (抗体 9E10)、SHP-2 抗体 (抗体 C-18) (Santa Cruz) 和磷酸化酪氨酸抗体 (抗体 4G10) (Upstate Biotechnology, Lake Placid, NY)。
12. A. Covacci 等人, *Proc. Natl.* **90**, 5791 (1993).
13. 用 3% 多聚甲醛固定转染了 CagA-HA 或 SHP-2-Myc 的 AGS 细胞。然后用 HA 抗体 (Y-11) 或 Myc 抗体 (9E10) 处理细胞。一抗通过 Alexa Fluor 546-conjugated 抗兔抗体或 Alexa Fluor 488-conjugated 抗鼠抗体 (Molecular Probes, Eugene, OR) 定位。使用共聚焦显微镜系统 (Fluoview, 奥林巴斯, 日本东京) 获取图像。
14. G. S. Feng, C. C. Hui, T. Pawson, *Science* **259**, 1607 (1993).
15. R.M. Jr. Freeman, J. Plutzky, B. G. Neel, *Proc. Natl.* **89**, 11239 (1992).
16. S. Ahmad, D. Banville, Z. Zhao, E. H. Fischer, S. H. Shen, *Proc. Natl.* **90**, 2197 (1993).
17. A. Kodama 等人, *Mol. Biol. Cell* **11**, 2565 (2000).
18. H. Higashi 等人, 未发表数据。
19. Z. Songyang 等人, 《细胞》**72**, 767 (1993年)。
20. SHP-2 Δ PD-Myc 由氨基酸残基 1 至 2 组成。SHP-2-Myc 的 192 个氨基酸序列。SHP-2 Δ SH2-Myc 缺乏 SHP-2-Myc 33 至 191 之间的氨基酸序列。Myr-SHP-2 Δ SH2-Myc 是用 v-Src 的肉豆蔻酰化信号序列 (28) 取代 SHP-2 Δ SH2-Myc 的 NH_2 -terminal 32 个氨基酸制成的。DNA 被插入 pSP65SR α 载体。
21. R.J. Lechleider 等人, *J. Biol. Chem.* **268**, 21478 (1993).
22. S. Pluskey, T. J. Wandless, C. T. Walsh, S. E. Shoelson,

图 4. SHP-2 在诱导蜂鸟表型中的作用。

(A) AGS 细胞瞬时共转染 WT CagA-HA 和 SHP-2-Myc 或 SHP-2 Δ PD-Myc (n=3)。诱导蜂鸟表型以及转染 AGS 细胞中 SHP-2-Myc 和 SHP2 Δ PD-Myc 蛋白的表达。在三个培养皿中的每个培养皿的 10 个不同视野中对出现蜂鸟表型的细胞进行计数 (一个视野的面积为 0.25 mm^2)。 (B) 转染 CagA-HA 的细胞在分析前用 100 μ g/ml calpeptin 或载体处理 1 小时 (n=3)。 (C) 转染或不转染膜靶向序列 (Myr-) 的 SHP-2 Δ SH2-Myc 的 AGS 细胞在转染 15 小时后的形态。 (D) 用抗 Myc 抗体对表达 Myr-SHP- 2 Δ SH2-Myc 的细胞进行染色。



- J.Biol.Chem.***270**, 2897 (1995).
23. Z.Zhao, R. Larocque, W. T. Ho, E. H. Fischer, S. H. Shen, *J. Biol.Chem.***269**, 8780 (1994).
24. U.Deichert, M. Adam, K. W. Harder, I. Clark-Lewis, F. Jirik, *J. Biol.Chem.***269**, 5602 (1994).
25. P.Hof, S. Pluskey, S. Dhe-Paganon, M. J. Ech, S. E. Shoelson, *Cell***92**, 441 (1998).
26. 以对硝基苯磷酸酯 (pNPP) 为底物测定 SHP-2 磷酸酶活性。将 SHP-2 免疫沉淀物在含有 10 mM 磷酸酶的磷酸酶测定缓冲液 (100 mM 醋酸钠, pH 5.0 和 1.6 mM 二硫苏糖醇) 中孵育。

pNPP 在 30°C 下反应 1 小时。在 410 纳米波长处测量反应混合物的吸光度。

27. S.M. Schoenwaelder 等人, *Curr.***10**, 1523 (2000).
28. D.D. M. Spencer, T. J. Wandless, S. L. Schreiber, G. R. Crabtree, *Science* **262**, 1019 (1993).
29. T.T. M. Saxton 等人, 《*EMBO J.* **16**》, 2352 (1997 年)。
30. S. Manes 等人, *Mol. Cell.***19**, 3125 (1999).

31. E.S. Oh 等人, *Mol.***19**, 3205 (1999).
32. D.D. H. Yu, C. K. Qu, O. Henegariu, X. Lu, G. S. Feng, *J. Biol. Chem.***273**, 21125 (1998).
33. 我们感谢 R. A. Weinberg 阅读了手册。我们还要感谢 T. Matozaki 提供人类 SHP-2 cDNA。由日本教育、文化、体育、科学和技术部重点领域科学研究补助金资助。

日本勃林格殷格翰有限公司 (Nippon Boehringer Ingelheim Co., Ltd.) 的研究补助金。

2001 年 10 月 16 日; 2001 年 12 月 4 日接受

2001 年 12 月 13 日在线发表;
10.1126/science.1067147

在引用本文时, 请将此信息包括在内。

维持腹侧神经索组织所需的免疫球蛋白域蛋白

Oscar Aurelio,¹ David H. Hall,² Oliver Hobert *¹

在发育过程中, 神经元沿着确定的路线将轴突延伸到特定的靶细胞。我们的研究表明, 还有其他机制可以确保轴突在确定的轴突束中保持正确的定位。在终止轴突生长和目标识别后, 草履虫腹侧神经索 (VNC) 中的轴突需要一种特定的 VNC 神经元 PVT 的存在, 以维持其在 VNC 左右束中的正确定位。PVT 可能通过在时间上严格控制由 *zig* 基因编码的 2-免疫球蛋白 (Ig) 结构域蛋白的分泌来发挥其稳定功能。专用轴突维持机制可广泛用于确保功能性神经元回路的保存。

神经系统中轴突束的发育依赖于各细胞类型之间明确而严格调控的相互作用, 最终引导轴突到达其特定靶点。在线虫 *C. elegans* 中, PVT 神经间质在腹侧神经索 (

VNC) 的发育过程中发挥着重要作用。PVT 的细胞体位于 VNC 的后端, 其轴突是最早进入 VNC 的轴突之一 (1), 沿着右侧 VNC 的整个长度从动物的后部延伸到位于前部的神经环 (2)。PVT 在胚胎发育期间瞬时表达 *unc-6/netrin* 引导线索 (3), PVT 的胚胎消减以及 *unc-6/netrin* 的突变会导致背腹轴突吸引进入 VNC 的缺陷 (4)。

轴突寻路和焦油识别的各个方面受免疫球蛋白超家族 (IgSF) 分泌蛋白和细胞表面结合蛋白 (5) 的调控。在对 *优雅子* 中 IgSF 蛋白的外压模式进行的一项综合性全基因组分析 (6) 中, 我们注意到一个新

的分泌型 2-Ig 结构域蛋白家族的六个成员, 即 *zig-1*、*zig-2*、*zig-3*、*zig-4*、*zig-5* 和 *zig-8* (图 1A), 在 *优雅子* 的 PVT 神经元中共同表达。

¹美国纽约 10032 号哥伦比亚大学内外科医学院生物化学与分子生物学系、神经生物学与行为中心。²美国纽约州布朗克斯 10461 号阿尔伯特-爱因斯坦医学院神经科学系 *elegans* Anato-my 中心。

* 通信收件人: 电子邮件: or38@columbia.edu

PVT 需要在狭义的时间窗口内发挥其维持功能。激光消融 L1、L2 和成虫阶段的 PVT 发现, 只有在 L1 阶段才需要 PVT 功能 (图 2D)。此外, 在 L1 阶段之后的任何阶段被评分为 "野生型" 或 "缺陷型" 的 PVT 消融动物, 在首次评分两天后进行评分时仍显示出相同的表型 ($n = 14$)。因此, 在 L1 阶段漂移的轴突将保持在不适当的轨道上, 而设法保持在正确位置的轴突在后期阶段不会翻转。表型在 L1 阶段之后保持稳定的一种解释是, 下皮脊形成的物理屏障在幼虫发育过程中显著增大 (8)。表型稳定的另一个并不相互排斥的可能性是, 漂移的轴突通过与其同源轴突的嗜同性相互作用被保留在对侧脊髓中。

图 1, B 和 C)。鉴于之前已确定 PVT 在胚胎中期轴突导向中的作用, 我们很好奇地发现, 所有六种 PVT 表达的 *zig* 再搬运工基因构建体的表达开始时间都明显晚于胚胎 VNC 轴突生长的阶段; 这一点在 *zig-1::gfp*、*zig-2::gfp*、*zig-3::gfp*、*zig-4::gfp* 和 *zig-4::gfp* 中尤为明显: *gfp*、*zig-2::gfp*、*zig-3::gfp*、*zig-4::gfp* 和 *zig-8::gfp*, 它们的表达在胚后第一幼虫 (L1) 阶段被激活 (图 1, D 和 E)。1, D 和 E)。这种表达谱促使我们通过评估在 L1 阶段用显微手术切除 PVT 的效果来研究 PVT 在胚后的潜在作用。利用标记完整 VNC 的报告基因, 我们现在在 L1 阶段用激光消融 PVT 的动物中有 30% 的轴突异常地横跨腹中线 (图 2, B 至 D)。在用 *gfp* 标记 VNC 中不同神经元亚群 (7) 的动物的 L1 阶段消融 PVT, 我们确定错位轴突来自 AVKL/R、PVQL/R、

HSNL/R 和 RMEV 神经元类别 (图 2, A、C 和 D)。除 HSNL/R 外, 所有这些神经元类的轴突都在胚胎中后期完成了向外生长, 即早在我们在第一幼虫期消融 PVT 之前。因此, 在 L1 阶段消融 PVT 会破坏胚胎期产生的轴突的正确定位, 这一观察结果揭示了神经元在维持 VNC 结构方面的非自主性作用, 这种作用超出了神经元最初的模式化阶段。

三侧类似物 (9)。双激光消融再次证明了这一点。在没有 PVT 的情况下, 如果消融 PVQR, PVQL 向右侧 VNC 的异常轴突翻转将被抑制 (图 2D)。

我们还考虑了这样一种可能性, 即在正弦运动过程中, 动物沿其长轴持续弯曲所提供的机械力可能会促进轴突翻转到 PVT 受损动物的对侧筋束。我们通过在含有胆碱能激动剂左旋咪唑的平板上培养 PVT 截断的 L1 动物来验证这一假设, 左旋咪唑可使动物因体壁肌肉过度牵引而固定不动 (10)。在一种独立的方法中, 我们消融了肌肉缺陷的 *unc-97* 动物的 PVT (11)。两种固定方案都能完全抑制 PVT 消融后的轴突翻转表型 (图 2D), 这表明运动和机械力是轴突翻转的一个促成因素。

总之, 我们的数据表明, 特别是在 L1 阶段, 左侧和右侧 VNC 本身就是不稳定的结构, 需要特定神经元的存在来维持单个轴突束的完整性 (图 2E)。据推测, PVT 可提供稳定线索, 防止轴突漂移到对侧筋膜中, 这种漂移可通过机械力和对侧筋膜中双侧类似轴突的嗜同性吸引来实现。PVT 提供的稳定线索可直接帮助将轴突锚定在左侧或右侧筋束中。



编辑摘要

**SHP-2酪氨酸磷酸酶是《细胞生物学》的细胞内靶标
幽门螺杆菌 CagA 蛋白**

Hideaki Higashi、Ryouhei Tsutsumi、Syuichi Muto、Toshiro Sugiyama
、 Takeshi Azuma、 Masahiro Asaka 和 Masanori Hatakeyama (2001 年
12 月 13 日)
科学》 **295** (5555), 683-686。 [doi: 10.1126/science.1067147] 原文
2001 年 12 月 13 日在线发表

此副本仅供您个人使用，不得用于商业用途。

文章工具

访问本文的在线版本，使用个性化和文章工具：
<http://science.sciencemag.org/content/295/5555/683>

权限

获取有关转载本文的信息：<http://www.sciencemag.org/about/permissions.dtl>

科学》（印刷版 ISSN 0036-8075；网络版 ISSN 1095-9203）由美国科学促进会（American Association for the Advancement of Science）出版，每周一期，12 月最后一周除外，地址为 1200 New York Avenue NW, Washington, DC 20005。美国科学促进会 2016 年版权所有；保留所有权利。标题“科学”是美国科学促进会的注册商标。