Wolbachia 与昆虫精卵细胞质不亲和*

袁林玲 刘 晨 郑 雅 王玉凤**

(华中师范大学生命科学学院 武汉 430079)

摘 要 *Wolbachia* 是广泛分布在昆虫体内的一类共生菌,能通过多种机制调节宿主的生殖方式,包括诱导宿主精卵细胞质不亲和(CI)、孤雌生殖、雌性化、杀雄等,其中细胞质不亲和为最普遍的表型,即感染 *Wolbachia* 的雄性和未感染或感染不同品系 *Wolbachia* 的雌性宿主交配后,受精卵不能正常发育,在胚胎期死亡。多数 CI 胚胎在第 1 次分裂时,来自父本的染色质浓缩缺陷,导致父本遗传物质无法正常分配到子细胞中,因而引起胚胎死亡。守门员模型认为,产生 CI 可能需要有两种因子,其中之一使得精子发生修饰改变,导致受精后雄性原核发育滞后。第 2 种因子可能与 *Wolbachia* 的原噬菌体有关,在胚胎发育后期导致胚胎死亡。近期的研究已发现,在 *Wolbachia* 感染的宿主中,一些与生殖细胞发生和繁殖相关基因的表达发生了显著改变,*Wolbachia* 可能因此对宿主的生殖产生重大影响,进而导致 CI 的产生。本文主要综述了 CI 的细胞学表型、解释 CI 的模型及其分子机理,向读者展示一个小小的细菌是如何通过精妙的策略影响昆虫宿主的繁殖,从而实现其自身的生存和传播的。

关键词 *Wolbachia*, 细胞质不亲和, 雄性原核, 守门员模型, *Hira* 基因

Wolbachia induced cytoplasmic incompatibility in insects

YUAN Lin-Ling LIU Chen ZHENG Ya WANG Yu-Feng**

(College of Life Science, Central China Normal University, Wuhan 430079, China)

Abstract *Wolbachia* are endosymbionts that infect the majority of insect species. Their successful spread is in large part attributed to their ability to manipulate reproduction in their hosts by such means as inducing sperm – egg cytoplasmic incompatibility(CI), parthogenesis, feminization and male killing. CI is the most common phenotype, which is expressed as embryonic lethality when *Wolbachia* – infected males mate with uninfected females or with females infected with a different *Wolbachia* strain. Most CI embryos show defects in paternal chromosome condensation, resulting in paternal "diffused chromatin" next to properly condensed female chromosomes during metaphase of the first mitotic division. The embryos die due to abnormal segregation of paternal chromatin during the first mitosis producing aneuploid daughter nuclei. Based on the new goalkeeper – model, two factors are involved in the differential generation of CI in crosses between and among infected and uninfected mating partners. One involves the mistiming of cell cycle events and the other is likely related to the *Wolbachia* prophage and late stage embryonic lethality. Recent studies have shown that *Wolbachia* infection significantly changes the expression of a series of genes. Some of these are associated with gametogenesis and reproduction, probably thus leading to CI occurrence. Here we present an overview of the cytological phenotypes in CI embryos, the models for explaining CI and the molecular mechanisms underlying CI.

Key words *Wolbachia*, cytoplasmic incompatibility, male pronucleus, goalkeeper model, *Hira* gene

1924 年,Hertig 和 Wolbach 在尖音库蚊 *Culex pipiens* 的卵巢中首次发现细胞内细菌,Hertig 为了纪念他的合作者 Wolbach,1936 年将这种立克次氏体正式定名为 *Wolbachia pipientis* (Hertig, 1936)。*Wolbachia* 属于变形菌纲 Proteobacteria 的 α 亚群,立克次体科 Rickettsiaceae,沃尔巴克氏体属 *Wolbachia*,为格兰氏阴性细菌(Werren, 1997)。近年的研究已证实,*Wolbachia* 在 66% 以上的昆虫中都有分布(Hilgenboecker *et al.*, 2008)。除昆虫外,*Wolbachia* 还普遍存在于蛛形纲蜘蛛目(Wang

* 资助项目:国家自然科学基金(30970405)、教育部科学技术研究重点项目(109118)。

**通讯作者, E-mail: yfengw@ mail. ccnu. edu. cn

收稿日期:2011-10-25,接受日期:2011-12-02

et al., 2010)、蜱螨目(Ros *et al.*, 2009)、陆生等足动物(Sicard *et al.*, 2010)和丝状线虫(Neary *et al.*, 2010)中,因此 *Wolbachia* 可能是目前分布最广、丰度最大的共生微生物类群。

Wolbachia 能够通过多种机制调节宿主的生殖方式,如细胞质不亲和(cytoplasmic incompatibility, CI)、孤雌生殖、雌性化和杀雄等,可能正是通过这些机制使其在宿主种群内广泛传播(Serbus *et al.*, 2008;Werren *et al.*, 2008)。此外,*Wolbachia* 也能影响宿主的嗅觉、寿命、免疫、生殖力和发育历期等(潘雪红等,2007;杨克冬等,2008;Peng and Wang,2009;Sicard *et al.*, 2010)。因此,*Wolbachia* 的可被用于农业害虫及媒介昆虫的生物防治,如可利用引起双向 CI 的 *Wolbachia* 品系来实现种群替换,即以一种类似释放不育雄性的方法,建立 CI 侵染种群,将大大降低有害昆虫种群的生殖功能(Bourtzis,2008)。已有研究发现,将能缩短宿主寿命的 *Wolbachia* 转进埃及伊蚊中,能大大缩短蚊子的寿命,并且能抑制登革热病毒的增殖,这为控制由蚊虫传播的疾病提供了一条新的思路(McMeniman *et al.*, 2009;Iturbe-Ormaetxe *et al.*, 2011)。

CI 是 *Wolbachia* 引起的最普遍的表型,即感染 *Wolbachia* 的雄性和未感染的雌性或感染不同品系 *Wolbachia* 的雌性宿交配后,受精卵不能正常发育,于胚胎期死亡(Stouthamer,1999)。细胞质不亲和分单向不亲和与双向不亲和 2 种,当感染 *Wolbachia* 的雄性和未感染的雌性交配后,受精卵不能正常孵化,因此不能或产生极少后代,此为单向不亲和。然而,未感染 *Wolbachia* 的雄性和感染的雌性交配时则是亲和的,感染同种 *Wolbachia* 的雌雄宿主交配后胚胎也能正常发育,产生同样感染 *Wolbachia* 的后代。因此,与未感染雌性相比,感染 *Wolbachia* 的雌性更具有繁殖优势。*Wolbachia* 也通过诱导宿主精卵细胞质不亲和使自身迅速扩展到整个种群。双向不亲和是指,感染不同品系 *Wolbachia* 的雄性和雌性个体交配时,子代不能正常发育,在胚胎期死亡。

1　CI 胚胎中的细胞学表型

感染 *Wolbachia* 的雄性宿主与未感染的雌性宿主交配后,为什么会引起胚胎(称为 CI 胚胎)不能正常发育呢?在这些胚胎中发生了什么事件导致其无法继续发育?感染了同种 *Wolbachia* 的雌雄宿主交配后,胚胎为什么能够正常发育?要研究这些问题,首先要知道这些胚胎中到底有哪些异常表型。

1.1　雄性原核核膜破裂滞后

细胞学研究发现,在寄生蜂 *Nasonia vitripennis* 的 CI 胚胎中,雄性原核核膜破裂延迟,其中 80% 的胚胎中雄性原核核膜破裂的时间比雌性原核晚 31 ~ 90 s,另外 20% 的胚胎要晚 90 s 以上。这样就使得雄性原核和雌性原核发育不同步,导致父本染色体在第 1 次分裂后期形成细胞质间桥(Tram and Sullivan, 2002),子代细胞包含非整倍的染色体组,因此胚胎无法继续正常发育。

1.2　第 1 次分裂前父本染色质浓缩缺陷

其实,早在 1968 年,对寄生蜂的研究就已经发现,在 CI 胚胎的第 1 次有丝分裂时,在正常浓缩的母本染色体旁,父本染色质仍然呈现异常凝集状态(Ryan and Saul,1968)。其他的研究也验证了这种现象,并称之为父本染色质浓缩缺陷(Breeuwer and Werren,1990)。在正常胚胎中,当浓缩的精子进入到卵子后,细胞质膜和核膜被立即清除,精子核中的鱼精蛋白被移走,由母本提供的核心组蛋白和/或组蛋白变体(如组蛋白 H3.3)进入到精子核中,精子核解除浓缩状态,重新进行核小体组装,产生新的核膜,形成雄性原核。接着,雄性原核和雌性原核依赖微管和微管动力蛋白彼此靠近。在两原核靠近时,染色体复制、浓缩,核膜破裂,纺锤体形成。到分裂后期,同源染色体分离,形成 2 个二倍体的子细胞核(Ahmad and Henikoff,2002)。

与 *N. vitripennis* 相似,黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 和拟果蝇 *D. simulans* 的 CI 早期胚胎也显示,在原核靠近时雄性原核 DNA 呈弥散状态,没有进行正常的浓缩。在分裂后期,染色体延伸形成染色质间桥,表明染色体分离不完全(Tram *et al.*, 2006)。染色质间桥的出现意味着 DNA 复制没有彻底完成或 DNA 复制存在缺陷,因而在未复制的区域姊妹染色体无法正常分离。此外,在同一属 *Nasonia* 的寄生蜂中,CI 导致 *N. longicornis* 和 *N. giraulti* 在胚胎期死亡,而在 *N. vitripennis* 中却导致产生的所有后代都是雄体。这是由于在前 2 种寄生蜂中,CI 使得父本染色体在第 1 次有丝

分裂时发生异常分离,产生非整倍体子核,因而胚胎无法正常继续发育,导致死亡。而在 *N. vitripennis* 中,CI 导致的父本染色体发育缺陷更严重,以至于完全不能进入子核,因此产生的都是单倍体的雄性(Bordenstein *et al.*, 2003)。

1.3 中心粒行为异常

在 CI 胚胎中也呈现出中心粒行为异常的现象。在正常胚胎中,一旦受精后,由精子基体而来的中心粒复制,在雌雄原核接近过程中,复制的中心粒彼此分离,形成第 1 次有丝分裂纺锤体的两级。随着每一次 DNA 复制,中心粒就会复制一次,以便形成正常的有丝分裂纺锤体。然而,在拟果蝇的 CI 胚胎中,细胞质中有许多中心粒,但它们并没有与雌、雄原核接触(Lassy and Karr, 1996, Callaini *et al.*, 1997),在呈桶管形的分裂期纺锤体中都没有中心粒。在 CI 胚胎中,中心粒与雄性原核的联系已遭到破坏,中心粒无法与有丝分裂纺锤体接触。与此相对应的是,在 CI 胚胎中,果蝇精子的尾巴过早地与雄性原核分离(Lassy and Karr, 1996)。很显然,父本染色质浓缩缺陷和有丝分裂进程迟缓导致了中心体与细胞核分离(Takada *et al.*, 2003)。因此,CI 胚胎中观察到的中心体没有与核接触,可能是细胞周期时间点错误和染色体浓缩缺陷的直接后果。

2 CI 的 3 种模型

已有多个研究组提出了几种解释 CI 表型的模型。

2.1 修饰 – 营救模型

Bourtzis 等(1998)认为,CI 可被解释为“修饰”(modification)和“营救”(rescue)。首先 *Wolbachia* 以某种方式对宿主精子的核进行修饰或印记(imprint),当精子成熟时,*Wolbachia* 即被排出在精子的细胞质之外。如果被修饰的精子进入到一个没有 *Wolbachia* 感染的卵子细胞质中,由于精子修饰导致雄性原核发育滞后,使其与雌性原核发育不同步,从而使同种动物配子之间不能互相融合,胚胎无法正常发育。而如果雌性个体内也含有与雄性个体内相同的 *Wolbachia*,则雌性原核也发生相同程度的发育延迟,这样雌、雄原核发育可以同步,因此被修饰了的精子核可以得到营救,配子之间能够互相融合,胚胎发育得以正常进行。在单向 CI 发生时,感染 *Wolbachia* 的雄性精子进入到没有 *Wolbachia* 的卵子中,营救就不能发生。修饰过程和营救方式会随着 *Wolbachia* 的种类不同而不同,一种 *Wolbachia* 无法营救另一种 *Wolbachia* 的修饰过程,这就导致了双向 CI 的发生。

近期的研究表明,不同的 *Wolbachia* 品系有不同的修饰 – 营救机制。研究者将来自不同果蝇品系中的 *Wolbachia* 转入一种常见宿主 — 拟果蝇中后,通过不同组合的交配实验发现,部分 *Wolbachia* 品系可能具有多种营救因子,因为 *w*Tei, *w*Yak 和 *w*San 能够营救 *w*Ri 对精子的修饰,其营救效率可等同于 *w*Ri 自身的营救(Zabalou *et al.*,2008)。而 *w*Au, *w*Ha, *w*No, *w*Ma 则不能营救 *w*Ri 的修饰。此外,宿主的基因型能显著影响 CI 的产生和表达水平,至少有一种 *Wolbachia* 品系在被转入一种新的宿主后,卵子中的 *Wolbachia* 不能完全营救修饰的精子,这种现象称为自杀感染(Zabalou *et al.*, 2008),这种现象是无法用修饰 – 营救模型来解释的。

2.2 锁钥模型

该模型认为,*Wolbachia* 在父本 DNA 上放置了某种物质(“锁”),致使这些染色体不能参与到合子的有丝分裂过程,而在卵细胞质中,*Wolbachia* 放置了配套的物质(能开启该锁的“钥匙”),能够恢复父本 DNA 的功能(Poinsot *et al.*,2003)。如果所有的锁都有匹配的钥匙,那么这种精卵结合就是亲和的,能够正常产生后代。由于不同品系的 *Wolbachia* 产生不匹配的锁和钥匙,因而产生了双向不亲和。尽管 Poinsot 等(2003)认为锁钥模型是最简练的模型,其能够解释大多数 CI 表型,但“锁”和“钥匙”分别是什么,至今还没有准确的分子生物学的实验证据。

2.3 守门员模型

足球守门员要想扑住射过来的皮球,必须既要跳到一定的高度又要跳足够远的距离。同样,如果要避免 CI 发生,必须要满足 2 个条件:第 1 个条件是,雄性原核必须要有足够的时间来准备发育,这样它才能跟上雌性原核的发育速度,从而进行正常的合子分裂;第 2 个条件与 *Wolbachia* 的活性有关(Bossan *et al.*,2011)。该模型认为,有 2 个因子 x 和 y 与产生不同的 CI 表型有关,对不同

的 *Wolbachia* 品系来说,这 2 个因子的量是不同的。在感染的雄性宿主中,这些因子能修饰精子;在感染的雌体中,它们能营救在卵子中被其修饰了的精子。而雌性宿主也提供宿主特异性的 2 个因子 x_h 和 y_h,雄性宿主不能提供这些因子。受精后是否能产生 CI,取决于营救和修饰因子相对量的多少。只有当至少一个修饰因子的量超过相应的营救因子的量时,CI 才会发生(Bossan *et al.*, 2011)。一个特定的 *Wolbachia* 品系 a 在雌、雄宿主中有相同的效应,即如果雌体被感染,那么用来营救的因子 x_a 和 y_a 的量是 a 品系特异的;如果雄性个体被感染,产生修饰作用的因子 x_a 和 y_a 的量也是由该品系 a 所决定的,并与感染雌体中用来营救的 x_a 和 y_a 的量相等。因此,当雌、雄昆虫被相同品系的 *Wolbachia* 感染时才能进行营救,而被不同品系的 *Wolbachia* 感染后则可能不会发生营救,即双向不亲和。

守门员模型能提供一些合理的解释 CI 强度的依据。在宿主感染多个 *Wolbachia* 品系时,感染越多种类的 *Wolbachia* 的雌蝇 CI 强度越低,因为感染 *Wolbachia* 的种类多,增加了营救因子的量。相反,感染越多种类的 *Wolbachia* 的雄蝇产生的 CI 强度越高,因为增加了修饰因子的量(Bossan *et al.*,2011)。

该模型也能合理地解释 CI 胚胎中雌雄原核发育不同步的现象。*Wolbachia* 提供的一个因子 x 可能对应于雄性原核发育时间滞后的问题。雄性原核由于修饰而增加了有丝分裂的时间,在雄性原核准备有丝分裂时,这个因子在雌体中同样会增加营救的时间。如果营救的时间短于修饰的时间,雄性原核在有丝分裂开始时还没有充分准备好(如:复制不完全),导致染色体不能正常分离。如果营救的时间大于或等于修饰的时间,那么雄性原核就能够参与有丝分裂,不管营救的时间比修饰的时间长多少。宿主的贡献可以解释为一个耐受时间,即雌性原核或者受精卵在整个过程中等待雄性原核参与进来的时间。

至于另一个因子 y 到底是什么或与 CI 胚胎中的什么事件相关现在还不清楚,推测可能与后期胚胎发育事件相关。对果蝇的研究发现,在不亲和交配组中,有 76% 的胚胎死亡,但仅仅 56% 的胚胎显示第 1 次细胞分裂异常,剩下的 20% 的胚胎死亡原因不明(Lassy and Karr, 1996),这表明 *Wolbachia* 诱导的精卵细胞质不亲和可能导致五分之一的胚胎在后期发育阶段死亡。在对库蚊的研究中,同样发现 *Wolbachia* 使一些宿主在后期发育阶段死亡(Duron and Weill, 2006)。有迹象表明,守门员模型中的第 2 个因子 y 可能与 *Wolbachia* 的原噬菌体 WO 有关,因为在雌、雄库蚊中,原噬菌体蛋白 Gp15 的有无能引起 CI 的变化,该蛋白序列与病菌的毒力蛋白具有同源性(Duron *et al.*, 2006)。

3　CI 的分子机理

Clark 等(2003)通过对果蝇的研究,提出了一个 WISS (*Wolbachia* infected spermatocyte / spermatid)学说,即精母细胞和精子细胞感染的 *Wolbachia* 数量越多,CI 强度越强(即子代胚胎死亡率越高)。然而对蚊子、寄生蜂和甲虫的研究却发现,精母细胞/精细胞中 *Wolbachia* 的密度和 CI 强度之间几乎没有联系(Duron *et al.*, 2007; Clark *et al.*, 2008)。例如,在寄生蜂 *N. vitripennis* 中,只有约 28% 的精子在发生过程中有 *Wolbachia* 感染,但 CI 水平(胚胎死亡率)几乎为 100% (Clark *et al.*, 2008),推测可能是因为 *Wolbachia* 能够产生一种可扩散的因子,使得那些未感染包囊中的精子也受其影响;或者 *Wolbachia* 感染改变了宿主基因的表达,产生了不同性质和/或不同量的产物,从而导致精子育性的改变(Snook *et al.*, 2000)。已有研究表明,*Wolbachia* 能够通过控制宿主的微小 RNA(microRNA)来调节相关基因的表达(Hussain *et al.*, 2011)。体外细胞中的研究已经发现,*Wolbachia* 可广泛影响宿主基因的表达,包括与繁殖、免疫反应以及代谢有关的基因,体内研究也证实了部分体外研究的结果(Xi *et al.*, 2008; Hughes *et al.*, 2011)。*Wolbachia* 的基因甚至可以插入到宿主的基因组内,即使在去除 *Wolbachia* 感染后,这些插入的基因也可以随宿主基因的转录而得到表达(Dunning Hotopp *et al.*, 2007; Werren *et al.*, 2010)。*Wolbachia* 可能正是通过这些方式对宿主的生殖、发育等产生影响,如导致 CI 等。

此外,作者所在研究组对黑腹果蝇和拟果蝇的研究发现,在 *Wolbachia* 感染且能产生强 CI 表型的雄性果蝇中,*Hira*(组蛋白调控基因)的表达量显著下调,且 1 日龄雄果蝇中 *Hira* 基因的表达量显著低于 5 日龄雄果蝇(Zheng *et al.*, 2011),由

于已有研究表明,随着雄性果蝇日龄的增加,其产生的 CI 强度迅速下降(Reynolds and Hoffmann, 2002; Zheng *et al.*, 2011)。因此我们推测,*Wolbachia* 感染导致雄性果蝇中 *Hira* 基因的表达下调可能是引起果蝇细胞质不亲和的机制之一。在实验过程中也确实发现,*Hira* 突变的雄果蝇能够诱导类似 CI 的表型:包括 *Hira* 突变雄果蝇与未感染 *Wolbachia* 的雌果蝇交配后,子代胚胎死亡率增加;感染了 *Wolbachia* 的雌性果蝇能够营救其引起的胚胎死亡;胚胎中细胞核分裂不同步,出现染色质间桥等(Zheng *et al.*, 2011)。这些证据进一步表明,*Wolbachia* 诱导雄性果蝇 *Hira* 基因的表达下调可能是导致细胞质不亲和的原因之一。

染色体重建是精子发生后期的一个重要事件,核心组蛋白先被雄性特异转换蛋白(TP)替换,接着被一些小的富含精氨酸的精子特异蛋白(如鱼精蛋白)所替换,从而保证精子核呈高度浓缩状态,以利于精子进入到雌性的生殖道且顺利受精(Clark *et al.*, 2008)。HIRA 是组蛋白 H3.3 的伴侣分子,并且在不依赖 DNA 复制的组蛋白沉积时发挥重要作用(Tagami *et al.*, 2004)。在果蝇中,H3.3 在精子发生的早期阶段沉积在特定区域,然后在鱼精蛋白沉积之前的精细胞中消失(Caron *et al.*, 2005)。H3.3 在精子发生中起到关键作用,在雄性小鼠中,H3.3A 受损降低了小鼠的生殖力(Caron *et al.*, 2005)。由于精细胞分化为精子的过程是没有 DNA 复制的,因此组蛋白 H3.3 的伴侣蛋白 HIRA 可能与此过程有关。*Wolbachia* 感染使得雄性果蝇中 *Hira* 基因表达降低,可能因而导致组蛋白 H3.3 在精子发生过程中的功能异常,对精子产生了修饰改造。

有研究发现,*Wolbachia* 感染导致成体果蝇精巢中 *Ance* 基因表达下调(Xi *et al.*, 2008),本研究组用 3 龄幼虫精巢所做的芯片实验也发现,*Ance* 基因在 *Wolbachia* 感染后也发生显著下调(未发表的资料)。由于 *Ance* 基因与精细胞的分化有关(Hurst *et al.*, 2003),其突变能引起类似 CI 的表型(Xi *et al.*, 2008),因此 *Wolbachia* 可能通过多种方式对精子的功能产生危害。此外,Riparbelli 等(2007)在感染的宿主精巢中观察到一些发育异常的精子,如核定位异常、尾部轴丝方向混乱、精子之间不能分开等。另有研究表明,*Wolbachia* 感染的拟果蝇精巢中精子数量要比未感染的精巢少 40%,尤其是在感染 *Wolbachia*、表现较强 CI 表型的“年轻”雄果蝇中(Tram *et al.*, 2006),因此,这些研究结果表明,*Wolbachia* 可能通过多种方式对精子产生了影响,从而降低了雄性宿主的育性。

受精之后,精子核中的精子特异蛋白必须去除,母源性组蛋白进入精核,使精子核解除浓缩状态,参与到子代的发育过程中去。如前所述,雌雄配子结合后,CI 胚胎发生第 1 次合子分裂时,雄性染色体处于异常浓缩状态(Tram *et al.*, 2003; Ferree and Sullivan, 2006)。而近期的研究表明,在 CI 胚胎中,H3.3 在精核中延迟沉积,当对照组胚胎中 H3.3 已经沉积到精核中央时,CI 胚胎中 H3.3 仅出现在精核的周边(Landmann *et al.*, 2009),这可能扰乱了父本染色体的复制,从而影响了雄性原核的及时形成以及此后核分裂时染色体的正常分离。因此,作为组蛋白 H3.3 的伴侣蛋白,*Hira* 表达水平降低可能与母源性组蛋白不能及时在精核中沉积有关。此外,相对于雌性原核而言,周期蛋白依赖性的激酶 1(Cdk1)在寄生蜂 CI 胚胎的雄性原核中被延迟激活(Tram and Sullivan, 2002),可能由于精核中的 DNA 被修饰产生损伤,激活了 DNA 损伤检测点,使得 Cdk1 激活滞后,有丝分裂延迟,以便使损伤的 DNA 修复之后再进入有丝分裂期。这样就导致雌雄原核发育不同步,雄性原核发育相对滞后。另一方面,由于 Cdk1 和周期蛋白 B(cyclin B)复合体驱动核膜破裂,促使细胞进入有丝分裂过程,因此 CI 胚胎中 Cdk1 在雄性原核激活延迟,可能正是其核膜破裂滞后的原因。已发现部分细菌能产生一些毒素,这些毒素就是细胞周期抑制因子(Elwell and Dreyfus, 2000; Lara-Tejero and Galán, 2000),因此 *Wolbachia* 也可能通过产生一些细胞周期抑制因子,阻碍周期蛋白 B 及时进入雄性原核,从而引起雄性原核核膜破裂延迟,父本遗传物质不能参与到子代的发育过程,导致胚胎死亡。

4 结语

总之,由于 *Wolbachia* 诱导宿主产生 CI 的表型受多种因素的影响,CI 的分子机理研究进展比较缓慢,然而对其细胞学表型已了解得比较清楚。目前的研究表明,产生 CI 可能需要有 2 种因子,其一与受精后父本染色体重组滞后相关,在精子发生过程中对精子产生了修饰改造,导致其在受

精后发育迟缓,影响雄性原核的正常形成,致使其无法参与子代的发育过程。第 2 种因子则可能与后期胚胎死亡相关。这些因子可能是同一类物质,能够相互作用,相互补充。目前,作者所在研究组以及其他部分研究组已对感染和未感染 *Wolbachia* 的昆虫宿主细胞或宿主组织进行了表达谱的检测,发现在感染的宿主中,一些与生殖细胞发生和繁殖相关基因的表达发生了显著改变,可能因此对生殖细胞的功能产生了影响,并最终导致 CI 的产生。随着对这些基因的鉴定及功能的解析,相信对 CI 机理的研究会在近期取得更大的进展。

参考文献(References)

Ahmad K, Henikoff S, 2002. The histone variant H3.3 marks active chromatin by replication independent nucleosome assembly. *Mol. Cell*, 9(1):191—200.

Bordenstein SR, Uy JJ, Werren JH, 2003. Host genotype determines cytoplasmic incompatibility type in the haplodiploid genus *Nasonia*. *Genetics*, 164:223—233.

Bossan B, Koehncke A, Hammerstein P, 2011. A new model and method for understanding *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility. *PLoS ONE*, 6(5):1—9.

Bourtzis K, 2008. *Wolbachia*-based technologies for insect pest population control. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 627:104—113.

Bourtzis K, Dobson SL, Braig HR, O'Neill SL, 1998. Rescuing *Wolbachia* have been overlooked. *Nature*, 391:852—852.

Breeuwer JA, Werren JH, 1990. Microorganisms associated with chromosome destruction and reproductive isolation between two insect species. *Nature*, 346:558—560.

Callaini G, Dallai R, Riparbelli MG, 1997. *Wolbachia*-induced delay of paternal chromatin condensation does not prevent maternal chromosomes from entering anaphase in incompatible crosses of *Drosophila simulans*. *Cell Sci.*, 110(Pt 2):271—280.

Caron C, Govin J, Rousseaux S, Khochbin S, 2005. How to pack the genome for a safe trip. *Prog. Mol. Subcell. Biol.*, 38:65—89.

Clark ME, Bailey-Jourdain C, Ferree PM, England SJ, Sullivan W, Windsor DM, Werren JH, 2008. *Wolbachia* modification of sperm does not always require residence within developing sperm. *Heredity*, 101:420—428.

Clark ME, Veneti Z, Bourtzis K, Karr TL, 2003. *Wolbachia* distribution and cytoplasmic incompatibility during sperm development: the cyst as the basic cellular unit of CI expression. *Mech. Dev.*, 120:85—98.

Dunning Hotopp JC, Clark ME, Oliveira DC, Foster JM, Fischer P, Muñoz Torres MC, Giebel JD, Kumar N, Ishmael N, Wang S, Ingram J, Nene RV, Shepard J, Tomkins J, Richards S, Spiro DJ, Ghedin E, Slatko BE, Tettelin H, Werren JH, 2007. Widespread lateral gene transfer from intracellular bacteria to multicellular eukaryotes. *Science*, 317(5845):1753—1756.

Duron O, Bernard C, Unal S, Berthomieu A, Berticat C, Weill M, 2006. Tracking factors modulating cytoplasmic incompatibilities in the mosquito *Culex pipiens*. *Mol. Ecol.*, 15:3061—3071.

Duron O, Fort P, Weill M, 2007. Influence of aging on cytoplasmic incompatibility, sperm modification and *Wolbachia* density in *Culex pipiens* mosquitoes. *Heredity*, 98:368—374.

Duron O, Weill M, 2006. *Wolbachia* infection influences the development of *Culex pipiens* embryo in incompatible crosses. *Heredity*, 96:493—500.

Elwell CA, Dreyfus LA, 2000. DNase I homologous residues in CdtB are critical for cytolethal distending toxin-mediated cell cycle arrest. *Mol. Microbiol.*, 37(4):952—963.

Ferree PM, Sullivan W, 2006. A genetic test of the role of the maternal pronucleus in *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 173(2):839—847.

Hertig M, 1936. *Wolbachia* pipientis and associated inclusions of the mosquito *Culex pipiens*. *Parasitology*, 28:453—486.

Hilgenboecker K, Hammerstein P, Schlattmann P, Telschow A, Werren JH, 2008. How many species are infected with *Wolbachia*? A statistical analysis of current data. *FEMS Microbiol. Lett.*, 281:215—220.

Hughes GL, Ren X, Ramirez JL, Sakamoto JM, Bailey JA, Jedlicka AE, Rasgon JL, 2011. *Wolbachia* infections in *Anopheles gambiae* cells: transcriptomic characterization of a novel host-symbiont interaction. *PLoS Pathog.*, 7(2):e1001296.

Hurst D, Rylett CM, Isaac RE, Shirras AD, 2003. The *Drosophila* angiotensin-converting enzyme homologue *Ance* is required for spermiogenesis. *Dev. Biol.*, 254:238—247.

Hussain M, Frentiu FD, Moreira LA, O'Neill SL, Asgari S, 2011. *Wolbachia* uses host microRNAs to manipulate host gene expression and facilitate colonization of the dengue vector *Aedes aegypti*. *PNAS*, 108(22):9250—9255.

Iturbe-Ormaetxe I, Walker T, O'Neill SL, 2011. *Wolbachia*

and the biological control of mosquito-borne disease. *EMBO Rep.*, 12:508—518.

Landmann F, Orsi GA, Loppin B, Sullivan W, 2009. *Wolbachia* mediated cytoplasmic incompatibility is associated with impaired histone deposition in the male pronucleus. *PLoS Pathog.*, 5:e1000343.

Lara-Tejero M, Galán JE, 2000. A bacterial toxin that controls cell cycle progression as a deoxyribonuclease I-like protein. *Science*, 290:354—357.

Lassy CW, Karr TL, 1996. Cytological analysis of fertilization and early embryonic development in incompatible crosses of *Drosophila simulans*. *Mech. Dev.*, 57:47—58.

McMeniman CJ, Lane RV, Cass BN, Fong AWC, Sidhu M, Wang YF, O'Neill SL, 2009. The stable introduction of a life-shortening *Wolbachia* infection into the mosquito *Aedes aegypt*. *Science*, 323:141—144.

Neary JM, Trees AJ, Ekale DD, Tanya VN, Hetzel U, Makepeace BL, 2010. *Onchocerca armillata* contains the endosymbiotic bacterium *Wolbachia* and elicits a limited inflammatory response. *Vet. Parasitol.*, 174:267—276.

Peng Y, Wang YF, 2009. Infection of *Wolbachia* may improve the olfactory response of *Drosophila*. *Chinese Sci. Bull.*, 54:1369—1375.

Poinsot D, Charlat S, Mercot H, 2003. On the mechanism of *Wolbachia* induced cytoplasmic incompatibility: confronting the models with the facts. *Bioessays*, 25:259—265.

Reynolds KT, Hoffmann AA, 2002. Male age, host effects and the weak of expression or non-expression of cytoplasmic incompatibility in *Drosophila* strains infected by the maternally inherited *Wolbachia*. *Genet. Res.*, 80:79—87.

Riparbelli MG, Giordano R, Callaini G, 2007. Effects of *Wolbachia* on sperm maturation and architecture in *Drosophila simulans* Riverside. *Mech. Dev.*, 124: 699—714.

Ros VI, Fleming VM, Feil EJ, Breeuwer JA, 2009. How diverse is the genus *Wolbachia*? Multiple-gene sequencing reveals a putatively new *Wolbachia* supergroup recovered from spider mites (Acari: Tetranychidae). *Appl. Environ. Microbiol.*, 75:1036—1043.

Ryan SL, Saul GB, 1968. Post-fertilization effect of incompatibility factors in Mormoniella. *Mol. Gen. Genet.*, 103:29—36.

Serbus LR, Casper-Lindley C, Landmann F, Sullivan W, 2008. The genetics and cell biology of *Wolbachia*-host interactions. *Annu. Rev. Genet.*, 42:683—707.

Sicard M, Chevalier F, De Vlechouver M, Bouchon D, Grève P, Braquart-Varnier C, 2010. Variations of immune parameters in terrestrial isopods: a matter of gender, aging and *Wolbachia*. *Naturwissenschaften*, 97:819—826.

Snook RR, Cleland SY, Wolfner MF, Karr TL, 2000. Offsetting effects of *Wolbachia* infection and heat shock on sperm production in *Drosophila simulans*: analyses of fecundity, fertility and accessory gland proteins. *Genetics*, 155:167—178.

Stouthamer R, Breeuwer JA, Hurst GD, 1999. *Wolbachia pipientis*: microbial manipulator of arthropod reproduction. *Annu. Rev. Microbiol.*, 53:71—102.

Tagami H, Ray-Gallet D, Almouzni G, Nakatani Y, 2004. Histone H3.1 and H3.3 complexes mediate nucleosome assembly pathways dependent or independent of DNA synthesis. *Cell*, 116(1):51—61.

Takada S, Kelkar A, Theurkauf WE, 2003. *Drosophila* checkpoint kinase 2 couples centrosome function and spindle assembly to genomic integrity. *Cell*, 113:87—99.

Tram U, Ferree PM, Sullivan W, 2003. Identification of *Wolbachia*-host interacting factors through cytological analysis. *Microbes Infect.*, 5:999—1011.

Tram U, Fredrick K, Werren JH, Sullivan W, 2006. Paternal chromosome segregation during the first mitotic division determines cytoplasmic incompatibility phenotype. *Cell Sci.*, 119:3655—3663.

Tram U, Sullivan W, 2002. Role of delayed nuclear envelope breakdown and mitosis in *Wolbachia* induced cytoplasmic incompatibility. *Science*, 296:1124—1126.

Wang ZY, Deng C, Yun YL, Chen J, Peng Y, 2010. Molecular detection and the phylogenetics of *Wolbachia* in Chinese spiders (Araneae). *J. Arachnol.*, 38:237—241.

Werren JH, 1997. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Annu. Rev. Entomol.*, 42:587—609.

Werren JH, Baldo L, Clark ME, 2008. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nat. Rev. Microbiol.*, 6:741—751.

Werren JH, Richards S, Desjardins CA, Niehuis O, Gadau J, Colbourne JK, The Nasonia Genome Working Group, 2010. Functional and evolutionary insights from the genomes of three parasitoid *Nasonia* species. *Science*, 327: 343—348.

Xi Z, Gavotte L, Xie Y, Dobson SL, 2008. Genome-wide analysis of the interaction between the endosymbiotic bacterium *Wolbachia* and its *Drosophila* host. *BMC Genomics*, 9:1.

Zabalou S, Apostolaki A, Pattas S, Veneti Z, Paraskevopoulos C, Livadaras I, Markakis G, Brissac T, Mercot H, Bourtzis K, 2008. Multiple rescue factors within

a *Wolbachia* strain. *Genetics*, 178:2145—2160.

Zheng Y, Ren PP, Wang JL, Wang YF, 2011. *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility is associated with decreased *Hira* expression in male *Drosophila*. *PLoS ONE*, 6(4):e19512.

潘雪红,何余容,陈科伟,潘飞,盘梅,2007. *Wolbachia* 感染对拟澳洲赤眼蜂寿命、生殖力和嗅觉反应的影响. 昆虫学报, 50(3):207—214.

杨克冬,张海燕,钱海涛,董辉,张莹,丛斌,2008. 沃尔巴克氏体感染对松毛虫赤眼蜂生殖力、发育历期和存活的影响. 中国生物防治, 24(3):210—214.