

知識天地

似魚非魚—從文昌魚談脊椎動物的起源

游智凱助研究員、胡妙芬研究助理（細胞與個體生物學研究所）

在動物的演化歷史上，脊椎動物的起源代表著一個重要的轉捩點。因為，從生物的角度來看，牠們躋身成為地球上最成功的動物類群之一；若以哲學的角度觀之，牠們則扮演著人類與大自然其他生靈最關鍵的連結。

脊椎動物屬於脊索動物門；脊索動物門的其他成員還包括了尾索動物（被囊類）及頭索動物（文昌魚）。所有的脊索動物具有幾項重要的共同特徵，像是背神經索、脊索、分節的肌節、咽鰓裂以及位於肛門後方的尾。不過，脊椎動物還具備其他無脊椎的脊索動物所沒有的特徵，像是脊柱骨（脊椎）、較複雜的前腦、高度特化的頭部區域以及基因體中增多的基因數量。

頭索動物一般稱為文昌魚，是海生的無脊椎脊索動物；在 1774 年首度被描述時，原被歸類為軟體動物；到了十九世紀初，生物學者開始注意到牠們的身體結構與脊椎動物相似，認為牠們和圓口魚類關係密切。自從十九世紀文昌魚和魚類間的親緣關係首度被發現以來，文昌魚一直在脊椎動物演化自無脊椎祖先的討論中被提及。因為被囊動物的外部形態比文昌魚簡單，廿世紀中大部份的系統發生學架構是將被囊動物放在脊索動物類群中較早分歧的位置，而將文昌魚視為脊椎動物的旁支，因此促成了脊椎動物祖先應類似於現代文昌魚的概念；例如，Gans 與 Northcutt（1983）主張脊椎動物的祖先是一種近似文昌魚的濾食動物，其具有後腦、但無前腦或中腦。博吉斯頁岩（Burgess shale）（年代為寒武紀中期）中發現的一個名為皮卡蟲（*Pikaia*）的化石，強化了脊椎動物的祖先型近似文昌魚的理論，這個化石和文昌魚有些相似之處，被認為是早期的脊索動物（Conway Morris 1998）。雖然皮卡蟲的親緣關係仍有爭議，但中國澄江動物群（年代為寒武紀早期）出土的雲南蟲（*Yunnanzoon*）（部份研究者認為牠們可能屬於脊索動物；Chen et al. 1995）和另外一種類似文昌魚的化石——海口蟲（*Haikouella*）（具有類似脊椎動物的特徵，像是成對的眼睛和較大的腦；Mallatt and Chen 2003）都再度強化了早期脊索動物與現代文昌魚相似的理論。

現生頭索動物亞門包含了三個屬、三十五種，其中大部份的種類列入鰓口文昌魚屬（*Branchiostoma*）；另外兩個屬——側殖文昌魚屬（*Epigonichthys*）、偏文昌魚屬（*Asymmetron*）則和鰓口文昌魚屬不同，僅具有右側的生殖腺；除此之外，這三個屬在形態上十分相似。成年的文昌魚可長到大約三到六公分長，尾端會鑽入沙中，僅露出口部，以濾食浮游生物維生。成熟雌雄個體在夏季中進行繁殖，日落後從沙堆鑽出，開始排放精卵。發生學的研究侷限於鰓口文昌魚屬內的三個種（*B. belcheri*、*B. floridae* 及 *B. lanceolatum*），除了最適溫度不同之外，這三種文昌魚的發育過程幾乎相同。十九世紀時，柯瓦列夫斯基（Kowalevsky）首度描述 *B. lanceolatum* 的胚胎發育過程；到了十九世紀末、廿世紀初，則出現為數眾多的文昌魚發生學研究，但卻因為義大利境內可取得的文昌魚族群消失而逐漸式微。1950 年代，*Branchiostoma belcheri* 的發生學研究在中國青島展開（reviewed in Yan 1999），後來因為文化大革命而一度中斷，直到近年才有所恢復。早期的文昌魚研究絕大部份侷限於成體，直到 1980 年代後期，研究者開始研究佛羅里達文昌魚（*B. floridae*）時，才發展出在實驗室裡培育胚胎的方法（reviewed in Holland and Yu 2004）。



圖一：*Branchiostoma floridae* 的成體標本，長度約 3.5 公分。圖上為雄性，性腺呈現白色；下為雌性，性腺呈現黃色。

1980年代，新的研究發現動物門間的發育基因普遍具有保守性 (McGinnis et al., 1984)，將演化生物學與發育生物學重新整合在一起，創造出一種全新的研究領域—演化發育生物學 (或稱「Evo-Devo」)，嚐試運用發育基因及其調控系統的改變來解釋演化上的變異。文昌魚的研究學者也受到這些新研究的啟發，開始利用文昌魚發育基因的表現來探討脊椎動物如何演化自牠們的無脊椎祖先 (reviewed in Holland and Holland 1999)。這個研究方向獲得了豐碩的成果，顯示文昌魚體內具有類似脊椎動物的前腦、後腦、脊索等的同源構造，並且，中腦、腎臟、甲狀腺、腦下垂體前葉 (即腦垂體腺性部) 也可能具有同源性。近幾年來，基因體的定序計劃已使文昌魚的基因與發生學研究多所獲益。文昌魚 (*B. floridae*) 的基因體圖譜已在最近發表 (Holland et al. 2008; Putnam et al. 2008)，比較基因體學的分析顯示出文昌魚與人類基因體間具有極高度的基因排列相似性 (synteny)，也支持了在脊椎動物早期演化過程中整個基因體複製了二次的觀點；而且，這些分析也為脊椎動物譜系中發育基因複製所造成的功能分化與新功能演化提供了證明。總括而言，這些研究確立了文昌魚具備脊索動物基因體原型的概念，同時也使文昌魚胚胎成為脊索動物祖先胚胎的模型，有別於轉變為具備大型卵黃和 (或) 胚外組織的脊椎動物胚胎。

基因體學與相關資料庫

如前文提及，*B. floridae* 的基因體已完成定序，其基因體 DNA 是萃取自來自美國佛羅里達州坦帕灣的單一一個體。值得注意的是，這個被定序的個體擁有高度的對偶基因多型性 (allelic polymorphism)，包括 3.7% 的單一核苷酸多型性 (single nucleotide polymorphism (SNP)) 和 6.8% 多型性的嵌入/缺失 (polymorphic insertion/deletion)，截至目前為止，這是所有報導案例中基因體序列變異程度最高的單一一個體；其對偶基因間具有如此高的多型性可能與坦帕灣當地的 *B. floridae* 具有很大的有效繁殖族群有關。目前完成定序的基因體大小為 522 MB，估計含有 21,900 個蛋白質編碼基因座。截至目前，物理性或基因地圖的相關資料還很缺乏，因此無法將基因體重建在 *B. floridae* 的 19 對染色體上。但是，目前組合出的基因體圖譜已夠完整到足以辨識出文昌魚與脊椎動物基因體中 17 個保守的脊索動物基因譜系組 (Putnam et al. 2008)。所有基因體的相關資訊都可在以下網頁查詢：<http://genome.jgi-psf.org/Brafl1/Brafl1.home.html>。

配合基因體計劃，研究者進行了 *B. floridae* 的表現序列標幟 (expressed sequenced tag; EST) 定序計劃，總共收集由五個不同的發育階段 (未受精卵、原腸胚、神經胚、36 小時幼體及成體) 的 cDNA，產生了 262,037 EST 序列；所有的 EST 序列皆能在 NCBI EST 資料庫中查詢。3' 端的 EST 序列被用來進行群集分析，以辨認相同的 cDNA，這項分析將 EST 序列從原來的大約十四萬個 cDNA 分類成 21,229 個獨立的 cDNA 群集。此一 cDNA 群集資料估計大約涵蓋了 70-80% 被表現的 *B. floridae* 基因；我們與中研院生物多樣性研究中心的王明智博士合作，已將這個 cDNA 資料庫建制在中研院細胞與個體生物學研究所的伺服器上，成為可查詢的線上資料庫 (Yu et al. 2008)；網址為 <http://amphioxus.icob.sinica.edu.tw/>，因此，使用者能輕易找到自己有興趣的研究標的基因。

結語與展望

過去的二十年間，重要的發育基因表現模式被廣泛用來推論頭索動物與脊椎動物胚胎之間的同源性。這些研究回答了長久以來關於脊椎動物如何從無脊椎祖先演化而來的部份問題，同時也產生了一些有趣的假說，留待未來進一步的研究。隨著頭索動物基因體計劃在 2008 年完成，頭索動物與脊椎動物基因體的比對使我們得以推測出所有脊索動物最近共同祖先的基因體圖像。隨著生物學進入後基因體時代，凡是在巨觀的演化討論上佔據關鍵地位的生物 (例如文昌魚) 都很可能形成一群新的模式生物。我們相信，以整合了比較基因體學、分子演化學及發育生物學的方法著手來研究這種原始的脊索動物，以及其他在演化中佔有重要位置的生物，不僅能解構原始的脊索動物身體架構中的基礎發育機制，也能為演化史上究竟出現何種發育機制改變導致新的脊椎動物特徵出現提供演化源頭的見解。我們的 cDNA 資料庫以及文昌魚基因體圖譜將為此類研究計劃提供有效的資源。

參考資料：

1. Chen, J.Y., Dzik, J., Edgecombe, G.D., Ramskold, L., and Zhou, G.Q. 1995. A Possible Early Cambrian Chordate. *Nature* **377**: 720-722.
2. Conway Morris, S. 1998. *The Crucible of Creation: The Burgess Shale and the Rise of Animals*. Oxford University Press, Oxford.
3. Gans, C. and Northcutt, R.G. 1983. Neural crest and the origin of vertebrates: a new head. *Science* **220**: 268-274.

4. Holland, N.D. and Holland, L.Z. 1999. Amphioxus and the utility of molecular genetic data for hypothesizing body part homologies between distantly related animals. *Am. Zool.* **39**: 630-640.
5. Holland, L.Z. and Yu, J.K. 2004. Cephalochordate (amphioxus) embryos: Procurement, culture, and basic methods. In *Development of Sea Urchins, Ascidiaceans, and Other Invertebrate Deuterostomes: Experimental Approaches* (ed. C.A. Etness et al.), *Methods in Cell Biology* Vol. 74, pp. 195-215. Elsevier Academic Press Inc, San Diego.
6. Holland, L.Z., and et al. 2008. The amphioxus genome illuminates vertebrate origins and cephalochordate biology. *Genome Research* **18**: 1100-1111.
7. Mallatt, J. and Chen, J.Y. 2003. Fossil sister group of craniates: predicted and found. *J. Morphol.* **258**: 1-31.
8. McGinnis, W., Garber, R.L., Wirz, J., Kuroiwa, A., and Gehring, W.J. 1984. A homologous protein-coding sequence in *Drosophila* homeotic genes and its conservation in other metazoans. *Cell* **37**: 403-408.
9. Putnam, N.H., and et al. 2008. The amphioxus genome and the evolution of the chordate karyotype. *Nature* **453**: 1064-1071.
10. Yan, S.Y. 1999. Contribution of late Professor T.C. Tung to the experimental embryology of Amphioxus - In memory of the 20th anniversary of Professor T.C. Tung's death. *Development Growth & Differentiation* **41**: 503-522.
11. Yu, J.K., Wang, M.C., Shin, I.T., Kohara, Y., Holland, L.Z., Satoh, N., and Satou, Y. 2008. A cDNA resource for the cephalochordate amphioxus *Branchiostoma floridae*. *Dev. Genes Evol.* **218**: 723-727.

※各期知識天地文章請逕於本院網頁：<http://www.sinica.edu.tw/> 「常用連結」之「週報〈知識天地〉」項下瀏覽。※