

合可能是一种新的方式,所以对它们空间结构的研究完全可能提出一种全新的 DNA 与蛋白结合模式。除此以外,由于 E2F 在细胞周期调控,肿瘤发生,细胞凋亡以及抑制肿瘤等方面的重要作用,对于 E2F 的深入研究可能会导致关于这一系列事件分子机制的新突破。因此,关于 E2F 的研究具有重大的理论意义。

### 摘 要

转录因子 E2F 在细胞周期调控中起重要作用。E2F 的活性受到 pRb, 细胞周期素和细胞周期素依赖性激酶的控制。近年来,许多有关 E2F 研究的新进展揭示了 E2F 与肿瘤发生、细胞凋亡、肿瘤抑制等均有密切关系。

### 参 考 文 献

- [1] Imre K et al., 1986, *Cell*, **45**:219-228.  
 [2] Yee A. S. et al., 1989, *Mol. Cell Biol.*, **9**:578-585.  
 [3] Helin K et al., 1992, *Cell*, **70**:337-350.  
 [4] Kaelin W. G. et al., 1992, *Cell*, **70**:351-364.

- [5] Lees J. A. et al., 1993, *Mol. cell Biol.*, **13**(12):7813-7825.  
 [6] Geoffrey J. L. et al., 1997, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **94**:5095-5100.  
 [7] Huber H. E. et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **90**(8):3525-3529.  
 [8] Girling R et al., 1993, *Nature*, **362**:83-87.  
 [9] La Thangue N. B., 1994, *Trends Biochem. Sci.*, **19**:108-114.  
 [10] Krek W et al., 1994, *Cell*, **78**(1):161-172.  
 [11] Field S. T. et al., 1996, *Cell*, **85**(4):549-561.  
 [12] Yamasaki L et al., 1996, *Cell*, **85**(4):537-548.  
 [13] Nicholas B and la Thangue., 1994, *Curret Opinion in Cell Biology*, **6**:443-450.  
 [14] Shan B and lee W. H., 1994, *Mol. Cell Biol.*, **14**(12):8166-8173.  
 [15] Shan B et al., 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **93**(2):679-684.  
 [16] Johnson D. G., 1995, *Oncogene*, **11**(9):1685-1692.  
 [17] Krek W et al., 1993, *Science*, **262**:1557-1560.  
 [18] Hateboer G et al., 1996, *Genes Dev.*, **10**(23):2970-2980.  
 [19] Hofmann F et al., 1996, *Genes Dev.*, **10**(23):2949-2959.

## 真核基因转录与染色质修饰机制及转录因子间的关系

章正琰 薛社普

(中国医学科学院、中国协和医科大学 基础医学研究所 北京 100005)

真核细胞基因的转录调控是真核基因表达诸级调控中的重要环节,是当前在基因调控研究中最活跃的领域。基因的表达调控发生在不同层次上,即转录前的染色质结构水平上的调控,转录水平的调控,转录后调控及翻译水平的调控等。越来越多的实验证明,染色质的结构状态对 RNA 聚合酶 I 介导的转录作用具有调节作用。染色质基本结构单位是核小体,其核心是由组蛋白八聚体(H2A, H2B, H3, H4 各两个分子)和包绕于其外周的 DNA 链所构成,核心之间的连接部位(linker)是组蛋白 H1,它是与染色质凝集和折叠有密切关系的组分。组蛋白的

去磷酸化和去乙酰化,可引起染色质凝集和折叠。已知当基因包装于染色质内时,可抑制转录的发生,而转录激活因子至少可以部分抵消染色质组装因子所造成的转录抑制作用。因而,转录因子通过何种途径作用于处于阻抑状态的染色质模板,而核小体在启动子区域及其他转录调节区域发生何种变化以有利于转录等等便成为研究染色质结构和转录关系的热点之一。基因转录与染色质结构之间的关系甚为复杂,涉及染色质、RNA 聚合酶 I 复合物、染色质重修饰机制、染色质组装因子,以及组蛋白乙酰转移酶和去乙酰化酶等。

本文仅就染色质的结构组装调整与转录因子间相互作用的一些研究进展作一简要综述。

## 一、染色质重修饰机制 (chromatin remodeling mechanism)

染色质重修饰是指发生在细胞分裂周期过程中染色质—染色体之间的周期性组分变化或任何发生在染色质或核小体单体上的可检测到的变化。如可用微球菌核酸酶消化染色质,检测启动子特异的周期性核小体排列变化,用 DNase I 消化染色质,检测染色质重修饰因子的存在与否等等。

许多大分子的复合物可直接与核小体发生反应,或稳定其结构,抑制转录的发生,或破坏其结构,激活转录的发生。这些大分子复合物的编码基因起初多数是在对酵母和果蝇基因突变筛选研究中发现的,如 SWI 基因,与酵母的交配型开启(mating type switching)调节有关。而 SNF (sucrose nonfermenting) 基因则是酵母蔗糖酶基因(SUC2)转录所必需的基因。研究发现,在不同的生物体中,有一些参与转录调节的蛋白质复合物具有相似的功能结构,如酵母中的 SWI/SNF 复合物,RSC 复合物(remodel the structure of chromatin complex),果蝇的 NURF (nucleosome remodeling factor),CHRAC (chromatin accessibility complex),ACF (ATP-utilizing chromatin assembly and remodeling factor),BRM(brahma)复合物以及哺乳动物中的 BRG1(brahma related gene,或 hbrm(human brahma)复合物<sup>[1-4]</sup>。这些复合物中都含有一个结构上密切相关的亚基,即 SWI/SNF 中的 SWI2/SNF2,RSC 中的 STH1,NURF,CHRAC 和 ACF 中的 ISWI,果蝇的 BRM,哺乳动物的 BRG1 或 hbrm。该亚基是 NTP(ribonucleoside triphosphate)结合蛋白家族中的一员<sup>[5]</sup>。上述各蛋白复合物中都含有一个 NTP 结合蛋白,提示它们可能执行着一项相关的生化功能。对纯化后的酵母 SWI/SNF

复合物研究后发现,它是一个含有 11 个多肽,分子量为 2MDa 的巨大复合体,其中的 SWI2/SNF2 具有螺旋酶的功能,在消耗 ATP 的条件下,可沿 DNA 链移动,通过催化组蛋白 H2A-H2B 二聚体的解聚而促进转录因子 GAL4-AH (一种识别 DNA 特异序列的 DNA 结合蛋白)与核小体中 DNA 的结合<sup>[6]</sup>。这类蛋白质复合物具有沿 DNA 链移动的功能,因此可以改变核小体的结构,以促进染色质重修饰。另有研究发现,转录起始过程是否需要 SWI/SNF 复合物的参与,与启动子的强度有关,即弱启动子启动转录需要 SWI/SNF 的参与,而强启动子则不需要<sup>[7,8]</sup>。

## 二、RNA 聚合酶 II 复合物(全酶)

RNA 聚合酶 I 在真核生物中催化 mRNA 前体分子的合成,是真核生物转录启动所必需的因素之一。全酶是一个巨大的球形分子,包括 RNA 聚合酶核心酶,一系列基本转录因子(如 TF I B,TF I E,TF I F 和/或 TF I H),9 个 SRB 蛋白(SRB 为 RNA 聚合酶 I 的抑制因子),一些已知蛋白(如 GAL11,SIN4,RGR1 和 ROX3)和一些未知蛋白<sup>[9,10]</sup>。最近研究发现,有一种称之为中介者(mediator)的复合物可在体外起到转录激活作用,因此,有人认为,全酶就等于 RNA 聚合酶 I -mediator 复合物<sup>[11]</sup>。全酶的确切组成尚需进一步鉴定,因为利用不同的方法得到的全酶组分略有差异,尤其是 TF I B,TF I D,TF I E 和 TF I H。

那么 RNA 聚合酶 I 全酶与染色质重修饰机制之间关系如何? SWI/SNF 复合物是否为 RNA 聚合酶 I 全酶的组分之一,目前尚无肯定的结论。有研究发现,SWI/SNF 复合物是 mediator 和全酶的完整的,等分子的组分,而另外的相似研究则未发现 SWI/SNF 组分。一项体内研究发现,酵母 mediator/全酶与 GAL11-PH04 $\Delta$ 2 融合蛋白(该蛋白在 PH04 位点与 DNA 结合,通过 GAL11 片段与全酶结合)共

同结合在启动子上,无论具有功能的 SWI/SNF 复合物存在与否,都可以诱导核小体重建<sup>[8]</sup>。这些资料表明,全酶与 SWI/SNF 复合物之间的确切关系甚为复杂,需要进一步研究。无论如何,SWI/SNF 与转录激活作用有关,即(1)含有 SWI/SNF 的全酶可以促进特异转录因子与启动子的结合;(2)已经结合在 DNA 上的转录因子可以促进含有 SWI/SNF 全酶与启动子的结合;但两者的因果关系如何尚需进一步研究后再作结论<sup>[9]</sup>。

### 三、组蛋白乙酰转移酶 和去乙酰化酶

核心组蛋白,尤其是 H3 和 H4 具有从组蛋白八聚体球形核心向外伸展的 N 末端尾部,其赖氨酸残基的  $\epsilon$ -氨基可被乙酰化。组蛋白乙酰化,特别是 H3 和 H4 的乙酰化,被认为是活性染色质核小体的特性之一,如哺乳动物的珠蛋白基因座以及果蝇的雄性 X 染色体都处于高乙酰化状态,与此相反,芽生酵母的端粒区及接合型基因座等转录沉寂区则表现为组蛋白低乙酰化状态<sup>[12-13]</sup>。实验证明,细胞内 H2 的乙酰化水平与染色质凝聚状态密切相关,在同步化的 CHO 细胞中,H4 乙酰化程度与染色质凝聚程度成反比。组蛋白乙酰化与染色质结构重修饰机制之间的关系尚不明了。有理论认为,第一,赖氨酸的乙酰化使组氨酸的荷电性变为中性,从而降低组氨酸 N 末端尾部与 DNA 之间以及与非组蛋白抑制蛋白间的亲和力,因此“松开”了 DNA 与组氨酸的相互作用,染色质的阻抑状态被解除,增加了转录因子与它接触的机会,第二,乙酰基团可以作为组蛋白与其他蛋白相互作用的信号,结果导致核小体的解体<sup>[14]</sup>。另有实验表明,核心组蛋白乙酰化的程度与基因活性之间具有伴随关系。例如,果蝇多线染色体 H4 组蛋白第 5 位或第 8 位的乙酰化广泛分布在常染色质,而其第 12 位的乙酰化则与  $\beta$ -异染色质密切相关,而异染色质一向被认为是转录

抑制状态<sup>[15]</sup>。因此,组蛋白乙酰化与转录活性之间的伴随关系并不是简单而一般的伴随关系。

促进组蛋白乙酰化的酶被称为组蛋白乙酰转移酶,或 HATs,而使组蛋白去乙酰化的酶被称为组蛋白去乙酰化酶,或 HDAs。近年来最为重大的发现是揭示了几个已知的转录调节因子具有组蛋白乙酰化和去乙酰化的功能。第一个被发现的核 HAT 是从四膜虫(*Tetrahymena*)分离出来的分子量为 55KDa 的 p55 蛋白。已发现的 HATs 还包括 HAT1 蛋白,基本转录因子(TAF I 250)和转录辅助激活因子(GCN5, P300/CBP, P/CAF 和 SRC-1 蛋白),这些蛋白在结构上互不具有同源性。而 HDACs 包括一个酶家族,该酶与酵母的 RPD3 蛋白和 HD2 蛋白有关<sup>[16]</sup>。

另外,与 RPD3 相关的 HDACa 似乎参与转录阻抑作用<sup>[18]</sup>。这些证据表明,HAT 和 HDAC 活性是转录调节因素中重要的参与者。除此之外还发现,在转录过程中,HMG 蛋白,p53 和基本转录因子 TF I E 和 TF I F 被乙酰化,因此,有必要证实,是核心组蛋白的乙酰化和去乙酰化,还是其他蛋白质的乙酰化和去乙酰化与转录作用有关。由此推测,HAT 和 HDAC 除了具有使核心组蛋白乙酰化和去乙酰化的功能外,还具有其他一些未知的功能。

研究表明,酵母 GCN5 蛋白存在于至少两种具有 HAT 活性的多亚基复合体中<sup>[18]</sup>。例如,一个 1.8KDa,名为 SAGA(SPT-ADA-GCN5 乙酰转移酶)的复合物,似乎含有 GCN5, SPT3, SPT7, SPT8, SPT20/ADA5, ADA2 和 ADA3。SAGA 复合物中的蛋白质按功能可被分为三组:第一组,Ada2p-Ada3p-Gcn5p,将其突变则使 Gcn5p 丧失 HAT 酶活性,同时表现出 ada 表型(即在过度表达的激活因子,Ga14p-VP16 存在下生存的能力),作为一个群体,它们具有与激活因子相互作用的能力。第二组,Spt20p-Spt7p,可能与 SAGA 结构完整性有关,因为剔除其中任何一个蛋白都将无法分离

到 SAGA 及其相应的 HAT 酶活性,它们的突变将同时表现出 Ada 和 Spt(Ty 插入突变抑制子)表型。第三组为 Spt3p-Spt8p,与 SAGA 完整性和 HAT 酶活性无关,但将其突变则表现出 Spt 表型。Spt3p 和 Spt8p 在功能上与 TATA 结合蛋白(TBP)相互作用<sup>[14]</sup>。SAGA 和 SWI/SNF 复合物之间似有一些潜在的联系<sup>[19]</sup>,两者中的任一已知组分都与有丝分裂无关,而合成致死性(或严重疾病)却与 SWI/SNF 以及 SAGA 复合物中相关组分的突变有关。推测这种合成致死性可能是 SWI/SNF 复合物和 SAGA 复合物对细胞基本代谢过程独立而不相关的作用,也可能是两者的协同作用。

#### 四、染色质装配因子

染色质组装是一个基本的生物学过程,它需要基因组的复制和维持<sup>[20,21]</sup>。细胞中无论有无 DNA 复制,都可有染色质组装。在活跃分裂的细胞中,染色质的组装包括新合成的 DNA 包装入染色质中,而在长期静止的细胞中,如哺乳动物的神经元,染色质的组装是为了维持基因组的完整性,它发生在组蛋白更新(turnover)时。生化研究表明,无论有无 DNA 的复制,相对于非复制 DNA 而言,染色质组装优先发生在新复制的 DNA 上。另外,核心组蛋白在胞浆内一被合成就被乙酰化(在 H4 组蛋白的第 5,第 8,第 12 位),而被转运入胞核后就被去乙酰化,然后装配入染色质中。组蛋白乙酰化和去乙酰化的特殊作用,例如它是否与蛋白质的稳定性有关,是否参与组蛋白转运入核,目前尚不明了<sup>[22,23]</sup>。

周期性核小体排列是消耗 ATP 的过程,它需要核心染色质装配结构,后者包括一种名为 ACF 的蛋白质复合物(意为消耗 ATP 的染色质组装和重修饰因子)和一种核心组蛋白伴侣,即 CAF-1(染色质装配因子-1)或 NAP-1(核小体装配蛋白-1)<sup>[20]</sup>。ACF 是从果蝇胚胎中纯化到的,它是一个多亚基因子,含有 ISWI,后

者是一种与 SWI2/SNF2 相同的 NTP 结合蛋白。有趣的是,ISWI 至少是果蝇三种蛋白质复合物,即 NURF(核小体重修饰因子),CHRAC(染色质可及性复合物)和 ACF 的一个亚基;该蛋白位于细胞核内,在果蝇的整个发育阶段都以每个细胞 100,000 分子的高水平表达。ACF 还可介导启动子特异的染色质重修饰,该过程通过 GAL4-VP16(一种识别 DNA 特异序列的 DNA 结合转录因子)以消耗 ATP 的方式完成。因此,根据 ACF 的生化特性推测,它很可能参与伴随转录激活作用而发生的染色质装配和核小体重修饰<sup>[24-26]</sup>。

ACF 含有 ISWI 亚基,以及可以作为染色质重修饰因子这一发现提示,染色质组装、染色质重修饰结构与转录之间存在着某种联系。核心组蛋白结合蛋白(NAP-1 和核质素-nucleoplasmin)可以促进转录因子与核小体单体的结合,该过程是通过组蛋白结合蛋白与 H2A 和 H2B 结合,从而将它们从核小体中除去来实现的。总之,这些结果提示,染色质装配因子可能参与转录过程。

由 ACF 和核心组蛋白伴侣介导的核心染色质装配反应,似乎与核心组蛋白的乙酰化和去乙酰化无关。但以下研究则提示,染色质组装和组蛋白和乙酰化以及去乙酰化过程具有某种联系,如 1. 核心组蛋白伴侣 CAF-1 可与 H3 和乙酰化的 H4 形成一个复合物,命名为染色质装配复合物(CAC-chromatin assembly complex);2. CAF-1 最小的亚基在结构上似与一种组蛋白去乙酰化相关的酶蛋白相同,同时还与一种 HAT1 组蛋白乙酰化转移酶相关的蛋白质密切相关。另外,乙酰化似乎与组蛋白的转运(包括结合到 CAF-1)和稳定性有关,而与内在的组蛋白沉淀(deposition)过程无关<sup>[27,28]</sup>。

综上所述,我们可知,真核细胞基因转录过程是一个非常复杂的过程,在转录因子、染色质修饰复合物以及基因转录之间存在着错综复杂关系。因此,在研究真核细胞基因转录调控中,就必需考虑染色质的存在,并将各种因素作为

一个有机体加以综合分析,才能得出合理的结论。

## 摘要

真核基因的表达调控是当前分子生物学研究领域的前沿科学,其中的发展日新月异,涉及面广,从染色质结构的改变到转录因子间的相互作用形成了一个复杂的网络关系,各因素之间的协调作用是真核生物体内基因表达调控的关键所在。

## 参考文献

- [1] Peter, C L. and Tamkun, K W., 1995, *Trends Biochem. Sci.*, **20**:143-146.
- [2] Kingston, R E. et al., 1996, *Genes Dev.*, **10**: 905-920.
- [3] Hartzog, G A. and Winston, F., 1997, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **7**:192-198.
- [4] Tsukiyama, T. and Wu, C., 1997, *Cell*, **83**: 1011-1020.
- [5] Eisen, J A. et al., 1995, *Nucleic Acids Res.*, **23**:2715-2723.
- [6] Cote, H. et al., 1994, *Science*, **265**:53-60.
- [7] Burns, L G. and Peterson, C L., 1997, *Mol. Cell. Biol.*, **17**:4811-4819.
- [8] Gaudreau, L. et al., 1997, *Cell*, **89**:55-62.
- [9] Koleske, A J. and Young, R A., 1995, *Trends Biochem. Sci.*, **20**:113-116.
- [10] Ptashne, M. and Gann, A., 1997, *Nature*, **386**:569-577.
- [11] Kim, Y J. et al., 1994, *Cell*, **77**:599-608.
- [12] Loidl, P., 1994, *Chromosoma*, **103**: 441-449.
- [13] Turner, B M., 1995, *Semin. Cell Biol.*, **6**: 229-236.
- [14] Grant, P A. et al., 1998, *Trends Cell Bio.*, **8**:193-197.
- [15] Turner, B M. et al., 1992, *Cell*, **69**: 375-384.
- [16] Lusser, A. et al., 1997, *Science*, **277**: 88-91.
- [17] Pazin, M J. and Kadonaga, J T., 1997, *Cell*, **89**:325-328.
- [18] Grant, P A. et al., 1997, *Genes Dev.*, **11**: 1640-1650.
- [19] Roberts, S M. and Winston, F., 1997, *Genetics*, **147**:451-465.
- [20] Ito, T. et al., 1997, *Genes Cell*, **2**:593-600.
- [21] Roth, S Y. and Alles, C D., 1996, *Cell*, **87**:5-8.
- [22] Smith, S. and Stillman, B., 1989, *Cell*, **58**:15-25.
- [23] Kamakaka, R T. et al., 1996, *Mol. Cell. Bio.*, **16**:810-817.
- [24] Tsukiyama, T. et al., 1995, *Cell*, **83**:1021-1026.
- [25] Varga-Weisz, P D. et al., 1997, *Nature*, **388**:598-602.
- [26] Ito, T. et al., 1997, *Cell*, **90**:145-155.
- [27] Taunton, J. et al., 1996, *Science*, **272**:408-411.
- [28] Tyler, J K. et al., 1996, *Mol. Cell. Bio.*, **16**: 6149-6159.

## 果蝇发育基因 Patched 与人皮肤基底细胞癌的发生

郑杰

(南京铁道医学院病理教研室 南京 210009)

基底细胞癌(basal cell carcinoma, BCC)是一种起源于多潜能干细胞的皮肤恶性肿瘤,它常见于40岁以后的中老年人。肿瘤一般生长缓慢,呈浸润性生长,但很少发生转移。BCC常见于头颈部或其他日光照射部位,与280-320nm的紫外线辐射有很大关系。除了上述所谓散发性BCC外,约1%的BCC发生于遗传性疾病痣样基底细胞癌综合征(nevoid basal cell carcinoma syndrome, NBCCS, 又称 Gorlin 氏

综合征)。NBCCS是一种常染色体显性遗传的疾病,特别容易发生皮肤基底细胞癌,还常伴有一些其他发育异常<sup>[1]</sup>,这说明NBCCS基因除了参与细胞的生长和分化外,还与正常发育有关。NBCCS基因目前已被克隆,它定位于染色体9q22.3。NBCCS基因现通常称作PTCH,因为该基因与果蝇发育基因patched(Ptc)同源,两者在核苷酸和氨基酸水平上分别有67%和60%的同源性<sup>[2,3]</sup>。许多遗传分析显示大多数遗