

Schindler, C., Ziemiecki, A., Harpur, A., Wilks, A. F., and Decker, T. 1995, Differentiation-regulated serine phosphorylation of STAT 1 promotes GAF activation in macrophages. *Mol. Cell Biol.*, 15: 3579—3568.

[36] Kubin, M., Chow, J. M., and Trichieri,

G. 1994, Differential regulation of interleukin-12 (IL-12), tumor necrosis factor α , and IL-1 β production in human myeloid leukemia cell lines and peripheral blood mononuclear cells. *Blood*, 83: 1847—1855.

核骨架与真核基因复制起点

何明亮 李载平

(中国科学院上海生物化学研究所 200031)

(中科院上海生命科学联合开放实验室)

一、核骨架

核骨架(nuclear scaffold)又名核基质(nuclear matrix, NM),是细胞核内一种动态亚组分结构,其功能是将DNA组织成相对独立的区域(domain),并为其提供专一性的转录、复制及RNA加工的控制位点^[1]。它在形态上为一种细胞核内不溶的骨架网络^[2],包括核纤层(lamina)、内层蛋白纤维颗粒、残留的核仁和核孔复合体^[3]。它普遍存在于真核细胞中,维持了细胞核的基本形态^[3]。

1. 核骨架的基本成分

核骨架是用非离子去垢剂处理细胞核,抽提掉核膜后再用DNase I轻度消化,随后用盐去掉几乎全部组蛋白和绝大部分非组蛋白,留下一个类似细胞核的残存结构^[2]。它包含占细胞核总蛋白10%左右的非组蛋白。核骨架似乎深埋入中等纤维(intermediate filaments)网络之中,通过核纤层与细胞质直接相连^[4]。

核纤层是核骨架中最稳定的结构,主要为分子量60—80 Kd的蛋白家族组成。其中以lamin A、B、C为主,它们属中等纤维蛋白超基因家族,在核膜下形成规则的纤维蛋白网孔,纤维直径为10 nm^[6]。核内lamin的种类

和比例随细胞的类型和分化状态而发生变化^[5,7]。Lamin的磷酸化导致有丝分裂时核纤层的崩解。LaminB总是与核膜结合,是中等纤维在核膜上的固着位点^[8]。核孔复合体总是与核纤层结合在一起,为一组GlcNAc-O-Ser和GlcNAc-O-Thr糖修饰蛋白,包适gp 190、gp 62等。另外还有210、180、145、130、100、63、58、54和45 Kd等一系列蛋白。这些核孔蛋白的主要功能是完成核内与细胞质内生物大分子的物质交换。

核骨架在真核细胞染色质空间组织、基因复制、基因表达调控、RNA加工和转运过程中都起着极其重要的作用^[9,10]。单向和双向凝胶电泳发现,除拓扑异构酶II(TOP II)以外,内层网络(internal network)还包含数百种低丰度的非组蛋白,其中80%以上为酸性蛋白。许多已经确定的核骨架结合蛋白与复制起始调控有关,包括:

(1) 与信号传导有关的细胞调控蛋白^[11-13]

包括癌基因产物c-myc、v-myc等;抑癌基因产物Rb、p 53;病毒蛋白;SV-40 T抗原;腺病毒E1A、E1B蛋白;多瘤病毒VP1、VP2蛋白等。另外蛋白激酶C、钙调蛋白(CaM)、热休克蛋白(hsp),cAMP反应元件结合蛋白

(cAMP response element binding protein, CREB)等都结合在核骨架上。

(2) 与基因转录、复制有关的酶类^[15]、转录调控因子和激素受体^[8,14] 酶类包括 DNA 拓扑异构酶 II (TOP II)、RNA 聚合酶 II、DNA 复制酶 α /引发酶、DNA 连接酶、解螺旋酶和 RIP 60 等。转录调控因子包括 C/EBP、SP 1、OCT-1、AP-1、ATF 家簇等。

(3) 其他多种蛋白 如核内肌动蛋白、核骨架结合元件 (scaffold-attached region, SAR) 结合蛋白 (attachment region binding protein, ARBP)、自主复制序列 核心序列结合蛋白 (ACS binding protein, ACBP) 等。

2. 核骨架结合元件

染色体中 DNA 是一种高度有序的结构。其高级结构是目前分子生物学和细胞生物学所没有解决的重大问题^[1]。目前已确定了 3 个水平: 核小体, 30 nm 纤维和 DNA 环状结构域 (loop domain)。环状结构域涉及 DNA 的超螺旋的形成, 它通过其特定位点结合在核骨架上^[16]。该特定位点的核苷酸序列叫核骨架结合元件 (SAR)。核骨架将 DNA 组织成大约 50000 个左右的环状结构域, 环的大小在 30~300 kb, 平均为 60 kb。但不排除仅 5 kb 的小环^[16]。这些 DNA 环的拓扑学特性类似于共价闭合环状 DNA, 在有丝分裂过程中仍以环的形态结合在染色体核心骨架上。Top II 对 DNA 的拓扑学的调节, 起着关键性的作用。已经证明, 它不仅是中期染色体骨架的主要成分, 而且也与间期核骨架结合。复制以环为单位, 起始于结合在核骨架上的一个特定区域^[17]。在基因的复制过程中, 复制叉定位于环的基部。

SAR 首先在果蝇组蛋白基因座中被发现^[18], 有极其重要的生物学功能, 包括:

① 限定 DNA 环, 使之成为相对独立的结构、功能单位。② 通过与核骨架的相互作用, 控制染色质的松弛与关闭, 从而调节基因的转录和复制。③ 作为 DNA 复制的潜在起始位点 (potential origin of replication)。④ 作

为基因的增强子元件。主要的一类 SAR 是长度为 100—1000 bp 的富含 A、T 的元件, 内含若干拓扑异构酶 II 结合和切割位点 (GTN-WAYATTNATNNR, 其中 N: A, T, C 或 G; W: A 或 T; R: A 或 G; Y: C 或 T)、A-盒 (A-box; AATAAAYAAA) 及 T-盒 (T-box; TTWTWTTWTT)^[18-20]。另外, 许多结构花式 (motif), 比如硬折 DNA (bent DNA), 打结的 DNA (kinked DNA) 等也可能与 SAR 的形式有关^[9]。SAR 可分为两类, 组成型 SAR (constitutive SAR) 总是结合在核骨架上, 不随基因的开放和关闭而发生变化。如人载脂蛋白 B 基因 3'-SAR、与果蝇体节发育有关的基因 ftz 的 5'-SAR, 它们存在于各种细胞中。另一类为机能性或功能性 SAR (facultative or functional SAR), 它们的存在与基因的复制和表达有关, 具有组织、细胞及细胞周期转一性。如 ftz 基因的 3'-SAR, 仅存在于那些活跃表达该基因的细胞中。

二、核骨架与 DNA 复制起点

1. 复制的时空控制

真核基因复制在细胞的 S 期, 为细胞周期控制, 即细胞每分裂一次, DNA 仅复制一次。有些基因在早 S 期复制, 而另外一些基因在晚 S 期复制, 基因复制的这种程序化控制, 可能涉及到染色质的高级结构, 与核骨架密切相关。新合成的 DNA 结合在核骨架上^[21]。DNA 聚合酶 α 也结合在核骨架上^[17]。高度纯化的 DNA 聚合酶 α 在体外只有很低的聚合酶活性, 且只能在缺口处不正确地起始复制, 一旦加入核骨架成分, 就能在体外专一, 正确地起始 DNA 复制。核骨架上有 DNA 复制的固定位点, 复制体 (replisome) 结合于其上^[25]。dNTP 的合成和 DNA 新生链的合成都是在复制体中完成的 (图 1)^[26]。从链的起始到链的终止, 整个过程在核骨架上进行, 随着链的向前延伸, 核小体也随着向前装配, 整个过程有条不紊。人们很早就知道基因复制在核骨架上进行。为

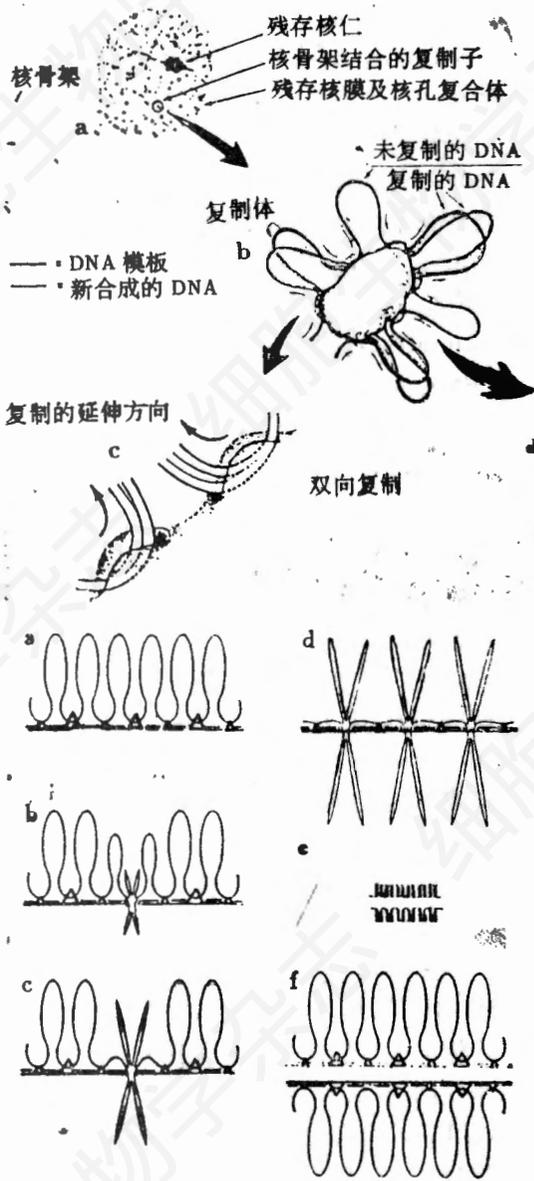


图 1 A DNA 在核骨架的复制机制模式图

- a. 核骨架
- b. 复制体(结合在核骨架上)
- c. 复制时的 DNA 沿伸方向
- d. 放大的复制体结构
(引自 Nelson 等, 1986; Reddy 和 Fa ger, 1993)

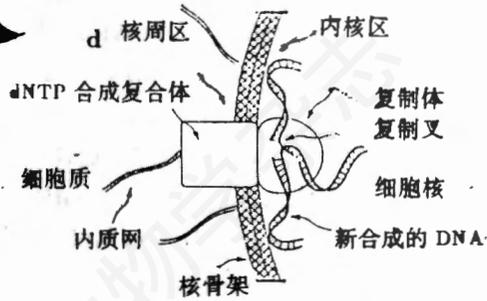


图 1 B 复制过程模式图(cook, 1991)

- a. 三个复制子在复制起点区(大三角)和终点区(小三角)结合于间期核骨架上
- b. DNA 聚合酶从核液中(无活状态)装配到核骨架上结合的复制起点的中心区域(有活状态)
- c. 随着复制的进行, 结合在核骨架上的 DNA 环逐渐减小。
- d. 其他复制子也进行复制, 未复制的 DNA 随后也将完成复制
- e. 在有丝分裂时, 间期骨架解聚, 母链 DNA 完全解聚, 完成一个环的合成。经复制的环仍结合在骨架上。姊妹染色纤维凝缩, 保证了母链与子链间的间锁结构的解除。
- f. 经过分裂, 姊妹细胞中的 DNA 又结合在核骨架上。

什么基因复制一定要在核骨架上进行, 核骨架是怎样控制基因复制和在复制过程中发挥怎样的作用, 直到现在才有可能进行广泛而深入的研究, 必将成为今后研究的一个热点。

2. 真核基因组复制起点(origin)

我们对细菌和病毒基因组复制起始位点已进行了广泛而深入的研究, 然而在研究真核基因组, 特别是多细胞生物时, 却遇到了前所未有的困难。病毒的 origin 小于 1 kb, 在染色体

上某一位点产生 1 kb 新生链仅需 10 秒钟。若考虑哺乳动物细胞周期为 20 小时, 1 kb 片段仅相当于总 DNA 的 5×10^{-11} 。要找出该 1 kb 片段, 显然要比把地球上所有的人放在一起, 再从中找出某人要困难得多^[22]。

酵母基因组复制的研究, 近年来取得了一系列重要成果。一些自主复制序列 (autonomously replicating sequence, ARS) 在染色体上能够作为复制起点。酵母 ARS 不但与核骨架

紧密结合,而且能与果蝇核骨架结合^[19];所有ARS都参与了同核骨架的结合。多细胞生物的某些SAR或其侧翼序列在酵母中具有ARS的功能,非SAR区均无ARS活性。科学家们试图从这种内在联系中,找到新的突破口。

(1) 酵母自组复制序列 酵母ARS由一个长约300 bp的富含AT的片段组成,分为三个区域: domain A包含一个富含AT的11 bp核心序列(ARS consensus sequence, ACS): 5'-WTTTAYRTTTW-3', 为ARS活性所必需^[27,28]; Domain B位于ACS中富T链3'-侧翼的易解链的元件(DNA-unwinding element, DUE), 结构复杂, 内含若干ACS同源序列。有人认为, 它是不必需的, 但对ARS功能有重要贡献^[27]。Domain A另一侧为domain C, 在某些ARS中发挥作用。经详细研究的ARS1仅需约140 bp就能有效复制。其domain A、B、C均参与了同核骨架的相互作用。事实上, 仅domain A区的100 bp(domain A+部分B+部分domain C)就有很强的结合力^[19]。现已证明, 在酵母中发现的许多ARS元件均参与了同核骨架的结合, 比如CENⅢ的ARS, 2 μ 基因ARS, rDNA的ARS等。另一方面, 多细胞生物的许多SAR又具有酵母ARS活性。果蝇ftz基因5'-SAR, 组蛋白基因SAR, 热休克蛋白基因SAR元件均具有酵母ARS活性^[29]。我们发现蓖麻蚕(*Atticus ricini*) rDNA非转录间隔区(nontranscribed spacer, NTS)的SAR, 能够驱动质粒在酵母中自主复制(待发表)。对果蝇X-染色体800 kb进行扫描分析, 发现约100个片段中, 58个含有SAR的片段(片段有重叠)中有40%具有ARS活性, 另外两个具有ARS活性的片段位于SAR旁侧, 而其余41个不含SAR的片段均无ARS活性^[30]。事实上, SAR和ARS核心序列具有相似的同源序列。

ARS1在细胞分裂时不均等分配, 造成在细胞内的拷贝数为的0—50不等。研究发现, 染色体上的ARS1结合在核骨架上, 而质粒

上的ARS1仅有60%结合在核骨架上。但若在质粒上装上CENⅢ, 几乎所有的ARS1都能结合在核骨架上, 此外ARS1也能同果蝇核骨架紧密结合^[19]。不用DNA水解酶处理核骨架, 克隆的SAR元件在体外不能与之结合; 与核骨架结合力强的SAR元件可以通过竞争将内源性的, 与核骨架结合力弱的SAR置换下来^[31]。这说明ARS与核骨架的结合是保合的(saturative)、可逆的以及在进化上是保守的。CENⅢ的一个主要功能是将酵母3号染色体的两条姊妹单体, 正确地分配到两个子细胞中去。因此, 它是一个非常强的SAR元件, 能够保证自主复制自主相对平均地分配到两个子细胞中去。

酵母交配型基因HML、HMR和MAT基因旁侧各有一个ARS, 同时它们又参与了同核骨架的结合。酵母交配型的表现需要MAT两侧的HML和HMR表达受到抑制。HML和HMR的表达抑制受沉默子(silencers)HMRE、HMR I、HMLE和HMLI的控制。HMRE目前研究最为透彻^[32]。令人惊奇的是, 用ARS1纯化的酵母复制复合体(origin replication complex, ORC^[33]), 为核骨架的结合成分, 它不但专一性地同ARS1的ACS结合, 也能与HMRE的ACS以及其他沉默子结合^[33]。而在遗传学上并没有筛选到与silencer直接结合的蛋白, 但改造HMRE使之失去ACS, RAP1及ATF1的结合位点, 其对HMR的表达抑制作用也随之丧失。这表明: ORC在基因的复制和转录沉默过程中都起着重要作用^[34]。

对果蝇ftz 5'-作缺失分析发现, dAn或dTn对ARS活性和与核骨架的结合两者均有很大的贡献^[29]。从HeLa细胞中分离得到的具有ATP依赖的DNA解旋酶活性的RIP60及RIP100, 能与酵母domain B专一性结合。RIP60、RIP100一旦与DNA结合后, 能诱导或增强DNA弯曲(bent)。ARS元件和SAR具有许多共同特征: ①专一性地同核骨架结合基因, 果蝇卵壳基因, 氨基脱氨酶基因(ADA)

合; ② 含一段 bent DNA; ③ 为 DNase I 的高敏感点区, 并能为单链专一性的 DNA 酶如 S1 酶切割。

似乎 DNA 与核骨架的结合, 只是 DNA 作为复制起点的必需但又不充分的条件。将 ARS1 ACS 缺失 6 bp, 它并不改变 ARS1 与核骨架的结合特性, 但足以使 ARS1 失活^[19]。另一方面 bent 似乎也只是与 DNA 与核骨架结合有关, 改变 bent 特性似乎不影响 ARS1 对质粒在酵母中自主复制的起始功能^[27]。

多种与核骨架结合的反式作用因子(trans-factor)参与了基因复制的起始, 如 TBP、ACBP、ORC 1、ORC 2、OBF 1 和 ATF 1 等。

DNA 与骨架的结合可能通过几种方式激发 ARS 活性。核骨架结合序列可能定位于 origin 区, 成为细胞核的一个亚组分, 便于多种参与基因复制的因子或酶的装配。SAR 的 AT-丰富特征, 使起始位点区 DNA 双链更易解开, 为聚合酶/引发酶的进入创造了条件。另外, SAR 可能为许多复制因子(如 ACBP)的聚集, 提供了专一性的结合位点。

(2) 多细胞生物复制起点(Origin) 目前, 分子生物学家们对多细胞生物基因组复制的 cis 控制元件, 所知甚少, 当前主要把精力放在寻找基因组的复制起点上, 尽管存在着这样一种可能性, 即复制起点与复制起始的调控, 是由不同的基因元件承担。用质粒自主复制相关的分析方法来确定多细胞生物复制起点的失败, 阻碍了我们对多细胞生物复制起点结构的认识。即使不存在载体病毒 DNA, 人的任何 DNA 大片段均可在培养细胞中自主复制, 甚至大肠杆菌 DNA 在人的细胞中也有 66% 的复制率^[35]。通过核骨架富集复制中间体, 随后用 BND-纤维素亲和层析纯化, 再通过双向凝胶电泳(2D)的分析方法, 大大加强和延伸了自主复制分析的结果^[35]。但目前研究还主要集中在几种以多拷贝基因或能以某种方式将其放大的单拷贝基因上, 包括组蛋白基因。核糖体 RNA 和二氢叶酸还原酶(DHFR)基因。另外, 对单

拷贝基因 c-myc 和 rhodopsin 也进行了研究。越来越多的结果表明, 高等真核生物基因复制起始于专一性的特定位点^[40]。

① 核糖体 RNA 基因(ribosomal gene, rDNA) 核糖体 RNA 基因是细胞的管家基因, 由大约 200 个独立的转录单位串联组成。每个重复单位由非转录间隔区(NTS), 外转录间隔区(ETS), 18 s rRNA 基因, 内转录间隔区(ITS)和 28 s rRNA 基因组成, 其 rRNA 结构基因高度保守, 是分子进化研究的理想材料; 而间隔区在不同的物种间高度可变。在卵的发育过程中, 有些物种 rDNA 大量扩增, 因此是我们研究基因复制、基因重排和基因放大的极好材料。酵母、爪蟾、小鼠、果蝇和蓖麻蚕(待发表)rDNA 非转录间隔区均参与了与核骨架的结合。电镜观察和 2D 分析方法表明, rDNA 复制均起始于非转录间隔区, 但复制方式各有异同: 单细胞的酵母为单向延伸大约 3—5 个转录单位^[36]; 豌豆与酵母类似^[37]; 爪蟾可能为双向复制, 每个转录单位为一个复制单位^[38]; 人为双向复制, 但在非转录间隔区内有若干起始点^[39]; 我们发现, 蓖麻蚕 rDNA 为单向复制, 在该区域有一些特征的顺式(cis)结构, 比如 S1 超敏感位点, d(AT)18, dTn, d(GT)10...d(AT)10 以及若干 ACS 等(待发表)。目前的研究结果表明, rDNA 复制的终止点大致位于转录的终止点附近。

② 二氢叶酸还原酶基因(DHFR) DHFR 基因是目前研究得最为清楚的一个真核基因。DHFR 基因与 2BE2121 基因在染色体上跨越长达 240 Kb 的一个 DNA 区段, CHO 400 细胞在 methotrexate 存在的情况下培养, 该基因可以扩增约 1000 倍。图二是总结 10 多年来综合不同的研究方法所得结果而给出的模式图^[40]。脉冲标记纤维放射自显影的方法发现, DHFR 基因复制起始于三个不同的区域(Initiation Zone)。分别称为 Ori α 、Ori β 和 Ori γ 。研究主要集中在 Ori β , 它位于 DHFR 基因下游约 20 Kb 区域, 脉冲标记的最初 2 分

钟复制本与 4.3 Kb 的 Xba I 片段杂交。后来利用复制陷阱法证明复制起始于 0.5 Kb 的片

段。PCR 法也证明复制起始于 4.3 Kb 的 Xba I 片段中的 3 Kb 范围内。

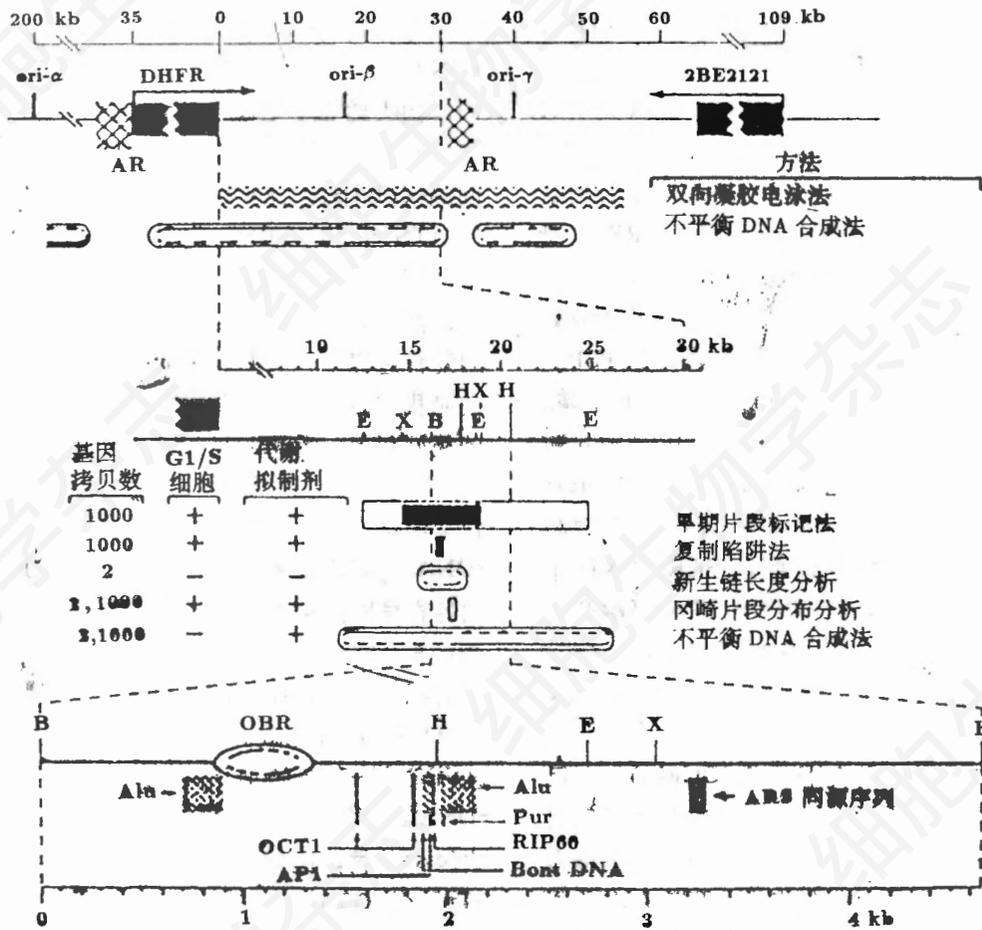


图 2 中国仓鼠细胞(CHO)DHFR 基因复制起点区结构

已确定该基因有三个复制起点,包括 Ori α , Ori β 和 Ori γ , Ori β 位于上游和下游 SAR 之间,其周围有许多 cis-元件可能参与调控复制的起始,如 Alu 序列,酵母 ARS 元件,硬折 DNA 和多种 trans-因子的结合位点(比如 RIP 60, PUR, Oct-I 和 AP-I 等)。E, EcoR I; X, Xba I; B, BamHI; H, Hind III。(引自 Depamphilis, 1993)

上述不同方法均证明 Ori β 确实为 DHFR 基因的一个复制起点。Ori β 区有许多重要特征可能与促进复制起始活性有关,其两侧有两个 SAR,通常结合新复制的 DNA,有时也作为细胞的复制起点。双向复制起点(origin of bidirectional replication, OBR)两侧有两个 Alu 片段,与 DNA 扩增有关,在 OBR 3'-末端 Alu 片段的下游 1 Kb 处有一个酵母 ARS 元件,3'-旁侧为 H-DNA 区域。距 OBR 中心

下游约 1 Kb 处为多种蛋白的结合位点,包括转录因子 OCT 1、API、与 ATPase 偶联的解链酶 RIP60,嘌呤结合蛋白(Pur)等。该区有一区 bent DNA 区, RIP 60 一旦结合到该 bent 区,可以增强其 bent 活性,从而有利于其它因子的结合。另外,该区还有若干酵母 ACS 序列,其中的许多特征在其它被研究的真核基因复制起始区也都存在,比如 c-myc, rhodopsin。

但是,双向琼脂糖电泳显示,在 Ori β 区,

在较长的区域内均有双向复制泡的存在。在其它基因中的情况也与此相似,例如在果蝇组蛋白基因家族中,5 kb 片段内有若干复制泡;果蝇卵壳基因(chorin)于 8 kb 的片段内有若干复制泡,尽管 80%集中在 1 Kb 片段内。而其它方法表明这些基因复制起始于特定位点。在果蝇胚胎发育的早期,染色体上的复制子长度平均只跨越 5 Kb—10 Kb,而不是通常的 30—300 Kb。这表明在多细胞真核生物基因组中有许多潜在的复制位点,虽然复制起始受到严格的调控。上述这些自相矛盾的结果迫使人们对真核基因复制的 cis 控制作出合理的解释:复制起始区域内的特定位点, Linskens 和 Huberman 认为,特定的蛋白质因子在 DNA 链的复制起始区与 DNA 结合,导致 Ori β 复制起始区 DNA 解链。在 OBR 至少总会形成一个双向复制泡,而在复制起始区的其它位点“自由地”形成单向复制泡,因此的新生 DNA 链总是在 ORB 最为丰富。Jusuit 等人则认为,复制起点的选择与周围染色质环境有关,因此是“叫了许多,只选中很少”的结果。

总之,目前我们对多细胞生物基因复制位点的研究就象盲人摸象。每个人只能讲述他所“触摸”的情况,而无法描绘出其全貌^[40]。但是,越来越多的证据表明,较高等的真核生物染色体复制起始于特定的专一位点^[85]。核骨架富集技术,使我们能够拿到更多的复制中间体,作进一步分析。利用这种技术,人们已经可以对单拷贝基因的复制起点进行研究。目前已分离到多种与复制有关的蛋白质因子,它们在高等真核生物和酵母中均能发挥作用。对真核生物复制机制的研究,必将很快成为分子生物学研究的热点。越来越完善的体外复制系统,特别是对体外细胞核重组的研究和更多的反式作用的蛋白质因子的阐明,加上我们对 origin 一级结构确定的日益增多,在不久的将来,对真核基复制的 cis 控制, cis-element 与 trans-factor 的相互作用以及核骨架对基因复制的控制,将有一个清楚的认识。

小 结

核骨架在基因转录、复制和重组过程中发挥了重要作用。它将 DNA 组织成 30—300 Kb 的环状结构域,从而形成相对独立的结构、功能单位。DNA 复制是以环状结构域为基本单位。参与 DNA 复制的许多转录调控因子、DNA 拓扑异构酶、DNA 解旋酶及聚合酶都结合在核骨架上。DNA 通过其特定的位点—SAR 元件结合在核骨架上。SAR 不仅作为环的边界限定了 DNA 环的大小,而且与基因的转录、复制有关。所有酵母自主复制元件都具有 SAR 的特性。反之,高等生物中的许多 SAR 元件在酵母中又具有 ARS 活性。SAR 和 ASR 共享类似的核心序列,它们都是核酸酶的高敏感区,往往具有 bent DNA 特征。核骨架富集复制中间体技术,大大推动了高等真核生物基因组复制位点的研究。已研究的几种高等真核生物复制起点的 cis-控制元件与酵母在进化上有一定的保守性,有一些共同的与复制有关蛋白因子的结合位点,通过 SAR 同核基质的相互作用调节染色质构象,从而调控基因的复制。核糖体基因非转录间隔区参与了同核骨架的相互作用,复制也起始于该区,但不同的物种复制方式各有易同。目前研究得最为清楚的是二氢叶酸还原酶基因 Ori β 结构,它包含若干可能与 DNA 复制控制有关的元件,为此提出了真核基因复制的两种模型,这为我们进一步认识高等真核基因复制起点打下了良好的基础。

参 考 文 献

- [1] Nelson, W. G., Pienta, K. J., Barrack, E. R. & Coffey, D. S., 1986, *Annu. Rev. Biophys. Chem.*, 15: 457.
- [2] Berezney, R. & Coffey, D. S., 1974, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 60: 1410.
- [3] Getzenberg, R. H., 1994, *J. Cell. Biochem.*, 55: 22.
- [4] Carmo Fonesca, M., Cidadao, A. J. & David Ferreira, J. F., 1988, *Eur. J. Cell Biol.*, 45: 282.

- [5] Fey, E. G., Krochmalnic, G. & Penman, S., 1986, *J. Cell Biol.*, 102: 1654.
- [6] Aebi, U., Cohn, J. B., Buhle, L. & Gerace, L., 1986, *Nature*, 323: 560.
- [7] Stewart, C. & Burke, B., 1987, *Cell*, 51: 383.
- [8] Georgatos, S. D. & Blobel, G., 1987, *J. Cell Biol.*, 105: 105.
- [9] Bouliskas, T., 1993, *J. Cell Biochem.*, 52: 14.
- [10] Jackson, D. A., 1991, *BioEssay*, 13: 1.
- [11] Klempnauer, K. H., 1988, *Oncogene*, 2: 545.
- [12] Deppert, W., Steinmayer, T. & Richter, W., 1989, *Oncogene*, 4: 1103.
- [13] Goodrich, D. W. et al., 1991, *Cell*, 67: 293.
- [14] Bidwell, J. P., van Wijnen, A. J., Fey, E. G., Dworetzky, S., Penman, S., Stein, J. L., Lian, J. B. & Stein, G. S., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90: 3162.
- [15] Pienta, K. J., Getzenberg, R. H. & Coffey, D. S., 1991, *Crit. Rev. Eukary. Gene Expr.*, 1: 355.
- [16] Targa, F. R., Razin, S. V. et al., 1994 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1994, 91: 4422.
- [17] Jackson, D. A. & Cook, P. A., 1986, *EMBO. J.*, 5: 1403.
- [18] Mirkovitch, J., Mirault, M. E. & Laemmli, U. K., 1984, *Cell*, 39: 223.
- [19] Amati, B. & Gasser, S. M., 1988, *Cell*, 54: 976.
- [20] Kas, E. & Laemmli, U. K., 1992, *EMBO. J.*, 11: 705.
- [21] Dijkwel, P. A. & Hamlin, J. L., 1988, *Mol. Cell Biol.*, 8: 5398.
- [22] Vassilev, L. T. & Depamphilis, M. L., 1992, *Crit. Rev. Biochem. & Mol. Biol.*, 27: 445.
- [23] Shinomiya, T & Ina, S., 1994, *Mol. Cell Biol.*, 14: 7394.
- [24] Giacca, M., Zentilin, L. et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 91: 7119.
- [25] Cook, P. R., 1991, *Cell*, 66: 627.
- [26] Reddy, G. P. V. & Fager, R. S., 1993, *Crit. Rev. Eukary. Gene Exp.*, 3: 255.
- [27] Marahrens, Y. & Stillman, B., 1992, *Science*, 255: 817.
- [28] Rao, H., Marahrens, Y & Stillman, B., 1994, *Mol. Cell Biol.*, 14: 7643.
- [29] Amati, B. & Gasser, S. M., 1990, *Mol. Cell Biol.*, 10: 5442.
- [30] Brun, C., Dang, Q. & Missod, R., 1990, *Mol. Cell Biol.*, 10: 5455-5463.
- [31] Izaurrealde, E., Mirkovitch, J. & Laemmli, U. K., 1988, *J. Mol. Biol.*, 200: 111.
- [32] Almouzni, G., 1994, *BioEssay*, 16: 233.
- [33] Bell, S. P. & Stillman, B., 1992, *Nature*, 357: 128.
- [34] Bell, S. P., Kobayashi, R. & Stillman, B., 1993, *Science*, 262: 1844.
- [35] Coverley, D. & Laskey, R. A., 1994, *Annu. Rev. Biochem.*, 63: 745.
- [36] Linskens, M. H. K. & Huberman, J. A., 1988, *Mol. Cell Biol.*, 8: 4927.
- [37] Hernandez, P. et al., 1993, *EMBO J.*, 12: 1475-1485.
- [38] Bozzoni, I., Baldari, C. T. & Amaldi, F., 1981, *Eur. J. Biochem.*, 118: 585.
- [39] Little, R. D., Platt, T. H. K. & Schildkraut, C. L., 1993, *Mol. Cell Biol.*, 13: 6600.
- [40] DePamphilis, M. L., 1993, *Annu. Rev. Biochem.*, 62: 29.

祝贺中国细胞生物学学会成立 15 周年。

祝贺中国细胞生物学学会第六届学术大

会召开。