核质蛋白(nucleoplasmin)研究进展

陈永龙　梁桂霞
(西北师范大学生物系发育生物学研究室　兰州　730070)

虽然组蛋白早在1884年就已被人们认识，但直到70年代初才发现真核细胞染色质中核小体的结构[1]。在近20年来，随着分子生物学的发展，对于核小体的结构、装配及功能等方面有了进一步的认识。70年代末，有两个研究小组相继发现了一种能和组蛋白结合并装配核小体的酸性蛋白质[2-7]。1980年，Earnshaw 等[8]将非洲爪蟾卵母细胞核中发现的这种蛋白质正式命名为核质蛋白(nucleoplasmin)。最近几年发现该蛋白质还与受精后精子核在卵细胞质中的解聚及鱼精蛋白被组蛋白的替换有关[9-12]。因此，对核质蛋白的进一步研究将有助于深入认识生物大分子之间的相互作用及受精的分子机理。

一、核质蛋白的生物学特性

核质蛋白属可溶性核蛋白。自首次在非洲爪蟾卵母细胞生发泡中发现后[2-5,8]，用间接免疫荧光法证实该蛋白广泛存在于其他两栖类动物的卵母细胞及两栖类，鸟类和哺乳类动物的组织细胞及培养细胞中[6,7]。在无脊椎动物海滨蛤(*Spisula*)的卵母细胞生发泡中也发现了类似的蛋白质[13]。其存在的广泛性表明它在真核细胞中执行着一定的生理功能。

非洲爪蟾卵母细胞生发泡中的核质蛋白约占总核蛋白的10%，含量超过了组蛋白和肌动蛋白[7]，是一种具有很高热稳定性的酸性蛋白质，分子量约30000道尔顿，在体内以五聚体形式存在，在有SDS和4 mol/L尿素的条件下加热至100℃即可能聚为单个亚基[14]。

蛋白质印迹分析表明，核蛋白在非洲爪蟾生长的卵母细胞中的表达最早出现在Ⅱ期卵母细胞中[15]。在卵母细胞生长过程中广泛分布于生发泡中，随着卵子的成熟，生发泡的破裂，核质蛋白均匀地分布于动物极半球并环绕植物极及皮层呈带状分布[16]。在卵母细胞成熟过程中，核质蛋白被高度磷酸化。成熟卵子中五聚体核质蛋白的表现分子量是165000，比卵母细胞中的(约150000)大15000，且卵子中的核质蛋白亚基之间有明显的差异[14]，这种在卵母细胞成熟期间核质蛋白的转译后修饰与其生理功能之间的关系尚不清楚。已知只有卵子中提取的核质蛋白才具有体外装配核小体的功能[14,17,18]。

二、核质蛋白与核小体装配

迄今为止，尚不能直接证明核质蛋白的体内作用。体外研究已充分表明核蛋白与核小体装配有关。

正常的核小体核心组蛋白有H 2 A，H 2 B，H 3和H 4。用特异性的，高亲和性的核质蛋白单克隆抗体进行免疫沉淀研究表明，在非洲爪蟾卵子提取液中，核质蛋白特异地与组蛋白H 2 A和H 2 B结合形成一种复合体，用同样的方法发现H 3和H 4特异性地与另一种酸性核蛋白N_1结合为复合体[19-21]。有趣的是从核质蛋白及核蛋白N_1的cDNA序列推测出的氨基酸序列看，都含有许多带负电荷的氨基酸，很可能是这些氨基酸参与识别特异的组蛋白并形成复合体[22,23]，其作用位点及作用方式已引起人们的关注。

将卵子提取液中的上述两种复合体分别作免疫耗竭(immunodepletion)发现，二者是体外核小体装配所必需的，相互依赖，缺一不可[19-21]。但是，这两种复合体以什么程序，通过什么方式将组蛋白转移到双链DNA分子上，

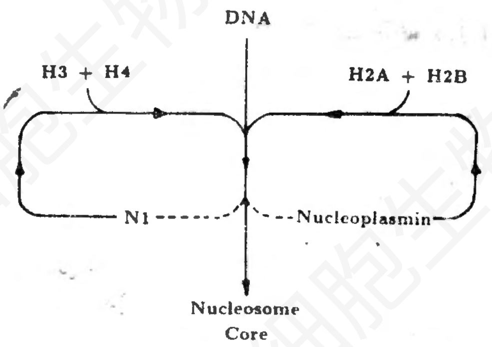

图 1　爪蟾卵中核小体装配途径

H2A, H2B, H3, H4——核小体核心组蛋白 Nucleoplasmin——核质蛋白，一种与染色体解凝及核小体装配有关的酸性热稳定蛋白Nucleosomecore——核小体核心

还有待研究。

Dilworth 等用简图(图 1)表示了核小体装配的可能途径[10]。用两栖类卵子为材料进行进一步的研究，不仅能了解受精及早期发育期间核小体的装配，也将有助于揭示体细胞及所有真核细胞中核小体的装配机制。

三、核质蛋白与精子染色质重建

不同动物精子发生过程中，核小体核心组蛋白不同程度地被鱼精蛋白所取代，并在成熟的精子核中形成高度致密的染色质。受精后，精子核膜破裂，染色质解聚形成一膨大的雄原核，同时，鱼精蛋白被组蛋白替换以便保证父本基因组能正常参与个体发育[24]。

近年来的体外实验研究发现，核质蛋白与精子核的解聚及鱼精蛋白的替代有关[9-12]。用单抗将非洲爪蟾卵子提取液中的核质蛋白进行免疫耗竭，利用溶血卵磷脂去了质膜的爪蟾精子核在其中不能解聚，而分离的核质蛋白独自即能引起其去了质膜的精子核的解聚[10]，相同波度的多聚阴离子却没有这样的功能。若将分离的组蛋白与核质蛋白配合，则随着精子核的解聚，鱼精蛋白也被组蛋白所取代并形成了正常的核小体结构。这不是一个酶促反应的过程，鱼精蛋白没有被降解，而是与核质蛋白形成了复合体[9,11]。非洲爪蟾的成熟精子中没有 H_2A 和 H2B，但有 H3 和 H4，人的成熟精子中四种核心组蛋白都没有，同样能在两栖类的核质蛋白及组蛋白作用下解聚、重建[12]。这一过程没有物种特异性，但核质蛋白的作用似乎是特异的，推测有一些特定的功能域通过某种方式将鱼精蛋白从 DNA 上搬下来。

摘　　要

核质蛋白是一种主要的细胞核可溶性蛋白质，在真核生物的生殖细胞及体细胞中广泛存在，体外研究表明，它与核小体装配及受精后精子染色质的解聚及鱼精蛋白的替代有关。

参 考 文 献

[1] Lsenberg, I., 1978, *The Cell Nucleus*, Vol. IV: 135—154.
[2] Laskey, R. A., et al., 1977, *Cell*, 10: 237—243.
[3] Laskey, R. A., et al., 1978, *Nature*, 275: 416—420.
[4] Laskey, R. A., and W. C. Earnshaw, 1980, *Nature*, 286: 763—767.
[5] Mills, A. D., et al., 1980, *Mol. Biol.*, 139: 561—568.
[6] Krohne, G. and W. W. Franke, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77: 1034—1038.
[7] Krohne, G. and W. W. Franke, 1980, *Exp. Cell Res.*, 129: 167—189.
[8] Earnshaw, W. C., et al., 1980, *Cell*, 21: 373—383.
[9] Ohsumi, K. and C. Katagiri, 1991, *Dev. Biol.*, 148: 295—305.
[10] Philpott, A., et al., 1991, *Cell*, 65: 469—478.
[11] Philpott, A. and G. H. Leno, 1992, *Cell*, 69: 759—767.
[12] Itoh, T., et al., 1993, *Develop. Growth & Differ.*, 35(1): 59—66.
[13] Herlands, L. and G. G. Maul, 1994, *Dev. Biol.*, 161: 530—537.
[14] Sealy, L., et al., 1986, *Biochemistry*, 25: 3064—3072.
[15] Burglin, T. R., et al., 1987, *Genes Dev.*, 1: 97—107.

[16] Hausen, P., et al., 1985, *J. Embryol. exp. Morph.*, 89, Supplement: 17—34.
[17] Cotton, M., et al., 1986, *Biochemistry*, 25: 5063—5069.
[18] Sealy, L., et al., 1989, *Methods Enzymol.*, 170: 612—630.
[19] Dilworth, S. M., et al., 1987, *Cell*, 51: 1009—1018.
[20] Kleinschmidt, J. A., et al., 1985, *J. Biol. Chem.*, 260: 1166—1176.
[21] Kleinschmidt, J. A., et al., 1990, *EMBO J.*, 9: 1309—1318.
[22] Kleinschmidt, J. A., et al., 1986, *EMBO J.*, 5: 3547—3552.
[23] Dingwall, C., et al., 1987, *EMBO J.*, 6: 69—74.
[24] Poccia, D., 1986, *Int. Rev. Cytol.*, 105: 1—65.

Y-box 结合蛋白的研究进展

吕吉宁 左嘉客
(中科院上海细胞生物学研究所 200031)

Y-box 元件是指存在于一些基因的启动子或增强子中的一类顺式调控元件。其核心序列为"CCAAT"。对一些基因启动子中的 CCAAT 序列进行点突变和基因缺失的实验，证实这个顺式调控元件在基因转录调控中扮演重要角色。自 1987 年以来，人们从不同种类细胞核内检测到多种能与 CCAAT 元件结合的因子，如人类组织细胞中的 CTF、NFI、YB 1、CBF、CP 1、CP 2、dbp 1、dbpB；大鼠及其他一些动物的肝脏等组织中的c/EBP、EFIA；小鼠肝脏中的 MSY1、MSYB；非洲爪蟾组织细胞中的 FRGY 1、FRGY 2、mRNP 3、YB 3；酵母中的 HAP2、HAP 3 等；细菌中的 CS 7.4。序列分析表明 YB 1、dbp 1、dbpB、EFIA、MSYB、MSY 1、FRGY 1、FRGY 2、mRNP 3、YB 3 和 CS 7.4 是一类高度同源的分子，与 CTF、NFI、HAP 2 和 c/EBP 等之间无同源性；这类分子不仅具备转录调控作用，而且其中 FRGY 1、FRGY 2 等还在卵母细胞发生和早期胚胎发育中，参与蛋白质翻译水平的调控。本文就这类高度同源的Y-box 结合蛋白的分子结构、功能、与核酸的结合方式，以及与细胞内诸多的重要事件，如 mRNAs 的转录、蛋白质翻译之间的关系等方面的研究进展作一综合的介绍。

一、Y-box 结合蛋白的结构特征

Y-box 结合蛋白的氨基酸序列有几个典型的特征(见图 1)。在氨基末端，有一段由 80 个氨基酸残基构成的高度保守的结构域，这个结构域与 E. Coli 中的冷休克蛋白 CS 7.4 具有高度的同源性，因而命名为冷休克结构域[CSD][1]。通过基因突变分析证实 CSD 是与 DNA 和 mRNAs 结合的结构域。在 CSD 中有一个 RNP-1 样的结构域，富含芳香族氨基酸和精氨酸。CSD 中不包含任何已知的 DNA 结合结构域，如锌指，α-螺旋-转角-α螺旋，亮氨酸拉链等[2]。通过计算机对 CSD 序列作空间结构预测和对 CSPB[一种枯草杆菌的主要冷休克蛋白，其与 E. Coli 中的 CS 7.4 高度同源]进行溶液中的 NMR 和圆二色性的分析结果表明，CSD 是由 5 个反向平行的 β-折叠链构成，β-折叠链间由转角和环相连。这个结构与金黄色葡萄球菌核酸酶和噬菌体 fd 中的基因-5-单链 DNA 结合蛋白(G 5 BP)的空间结构类似，金黄色葡萄球菌核酸酶与单链和双链 DNA 的结合有序列特异性。一个由 3 个 β-折叠链构成的 β-片层包含一个保守的 RNA 结合