

真核细胞染色质的结构

王宗舜

(中国科学院动物研究所)

真核细胞染色质的结构与功能,是细胞和分子生物学的中心课题之一,受到极为广泛的注意。最近五年内,在染色质结构方面的研究进展显著,取得了一些比较一致的结果。这些结果是:染色质的基本纤维是一条串珠状结构,它由无数个亚单位——核体(nucleosome)组成,核体是由一条DNA分子串联起来的。核体本身由大约200个碱基对DNA和五种组蛋白相结合组成,四种组蛋白(H2A, H2B, H3和H4)缔合成八聚体或两个四聚体构成核体的核心,在核心外面包绕着140个碱基对DNA成为核体的主颗粒部分,余下的60个碱基对成为核体的联丝或尾丝部分。

有关染色质结构与功能的详细情况可参阅几篇综述文章^[1-3]。本文重点介绍真核细胞染色质的亚单位——核体的结构。

一、染色质纤维的电镜观察

Woodcock 1973年在电子显微镜下观察到染色质纤维的串珠结构,它由间隔着的球状颗粒组成,直径大约为100埃。Olins等人^[4]观察了不同来源的染色质的串珠结构,他们将球状颗粒称为 n_0 (γ)体,这些颗粒的直径为70埃左右(分子量约160,000)由长度为15埃的纤维串联起来。化学分析 n_0 体单体DNA分子长度为710埃,大约相当于210个碱基对(34埃B型DNA等于10个碱基对)。Oudet等^[5]在电镜下观察了盐或胰蛋白酶有限制地处理的鸡肝细胞染色质(去除组蛋白H1)的基本结构是直径为125埃的球状颗粒,这些亚单位颗粒由DNA分子串联在一起,他们将这种球状颗粒称作核体。

1973—1975年,我们应用液面铺浮技术,在电镜下观察到昆虫细胞染色质的基本结构也是串珠状纤维结构。无论是体细胞分裂期间,还是生殖细胞减数分裂前期,或早期精细胞内,染色质的基本结构大致相似,都是直径约110埃亚单位颗粒结构^[6](图5a)。

二、核体的结构

人们应用酶类消化和重组等技术对核体的结构进行了研究。Hewish等(1973)最先获得染色质DNA被特异消化的证据。他们用核酸内切酶消化鼠肝细胞核内的染色质,然后分析产生的DNA片断,得出一个完整亚单位的DNA长度大约是200个碱基对,蛋白质在染色质的分布是均匀的。以后的研究结果进一步证实了他们的发现。kornberg^[7]根据对形成(H3)₂(H4)₂四聚体的观察及重组分析,提出每200个碱基对DNA与两个四聚体组蛋白复合形成一个重复染色质亚单位,人们称作核体。核体由主颗粒(Core particle)和联丝(Linker)两部分组成。主颗粒的核心是两分子四种组蛋白(H2A、H2B、H3和H4)聚合体,外面缠绕着140(或160)个碱基对DNA分子。联丝由40—60个碱基对DNA和组蛋白H1构成。在联丝部分,DNA对核酸内切酶有着均匀敏感构象^[8]。

1. 组蛋白与组蛋白之间的相互作用

鉴于组蛋白聚合体是构成核体主颗粒的核心,决定着DNA分子的折叠和盘绕方式,因此研究核心组蛋白之间的相互作用是十分必要的。

Isenberg等使用园二色性及荧光各向异

性等项技术,广泛研究了各种组蛋白的结构特性及各种组蛋白之间的相互作用,指出在组蛋白之间具有特异的相互作用。在组蛋白 H3 和 H4, H2B 和 H2A, 以及 H2B 和 H4 之间有着强有力的交联作用,由于它们之间的相互作用增加了 α -螺旋量。图 1 总结了组蛋白交互缔合的类型:

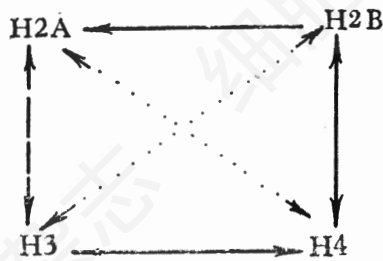


图 1 组蛋白交互缔合的类型

实线联结表示强,虚线联结表示弱,点线联结表示最弱。

组蛋白在有交联剂存在的溶液内发生聚集,形成 $(H2B-H2A)_2$ 和 $(H4)_2(H3)_2$ 四聚体,在低浓度时 H3-H4 复合体是二聚体,富精氨酸组蛋白 H3 和 H4 在染色质亚单位形成中起重要作用。进一步的交联研究指出,还同时存在八分子组蛋白 $(H2A, H2B, H3 \text{ 和 } H4)_2$ 复合体。图 2 表示在八聚体内组蛋白排列的两种可能方式。此外,Weintraub 等人(1975)在染色质亚单位内组蛋白的交联研究中,指出存在空间异型四聚体。

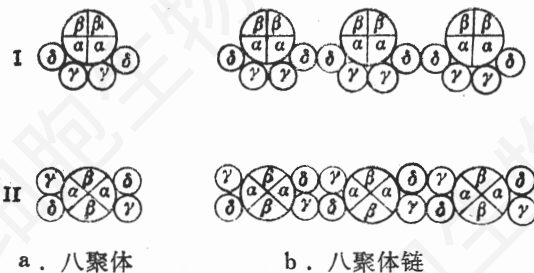


图 2 在八聚体内,组蛋白排列的两种可能方式

α 、 β 、 γ 和 δ 分别代表组蛋白 H4, H3, H2A 和 H2B

用核酸酶和蛋白酶处理染色质,所获得的大部分核心颗粒仅含有四种组蛋白的 C-端部

分,表明散在的 N-端部分已被胰蛋白酶切断,留下抗蛋白酶的组蛋白 C-端部分聚合体。总之,各个组蛋白之间的相互作用,有形成聚合体的趋势,组蛋白结构的非极性部分是组蛋白与组蛋白相互作用的主要位点,组蛋白的 N-端极性部分是与 DNA 分子相互作用的主要位点。通过这样一个相互作用系统,使 DNA 分子折叠或盘绕成染色质的基本结构。

2. 组蛋白与 DNA

Weintraub 等(1974)用胰蛋白酶处理鸡的红血细胞染色质,对组蛋白进行分析,发现组蛋白有秩序地成对断裂。最先 H1 和 H5 完全断裂,随后 H3 和 H4,最后是 H2B 和 H2A。H1 和 H5 断裂成很小的肽,其余四种组蛋白只失去其 N-端的 20—30 个氨基酸,余下的 C-端部分(80—100 个氨基酸)具有抗胰蛋白酶的能力。用 2M NaCl 将这些失去部分氨基酸的组蛋白从 DNA 上解离下来,并不改变它们抗胰蛋白酶的能力,表明 DNA 并没有保护这些组蛋白。然而在 6M 尿素里对这部分组蛋白进行消化,就能彻底消化它们。从而得知组蛋白之间的相互作用保护了组蛋白免受胰蛋白酶的消化,而富有碱性残基的 N-端臂与 DNA 相结合的区域则缺乏抵抗能力。组蛋白这种手臂排列结构可以限定 DNA 分子结合位点,这就决定了 DNA 分子的折叠方式。同时,由于胰蛋白酶消化了四种组蛋白的 N-端臂,也就使得染色质 DNA 对葡萄球菌核酸酶的敏感性增加。电泳分析结果指出组蛋白 N-端保护了相应的 DNA 部分,而组蛋白 C-端保护了另一些相应的 DNA 部分。

Sollner-Webb 等人(1976)应用蛋白酶和核酸酶作为探针研究核体内 DNA—组蛋白之间的关系,发现 DNA 分子对核酸酶的敏感区域只限于 10 个碱基对的重复间隔的位点上,也就是核酸酶选择性的攻击位点是在 10 个碱基对的倍数上的区域。

组蛋白与 DNA 分子的相互作用,决定了染色质亚单位(核体)的结构,决定了 DNA 分

子的超螺旋结构的走向。

最近, Pardon 等人^[9]应用中子和 X 光散射分析, 检查了稀溶液内染色质亚单位主颗粒的形状, 大小以及 DNA 分子的走向。提出了一个圆扁柱形结构模型(图 3), 扁圆形主颗粒高 50 埃, 直径 110 埃; 致密的蛋白质核心所具有的高度大约 40 埃和直径 73 埃大小。在蛋白质核心外面缠绕的两圈 DNA, 分别从主颗粒的顶部和底部回绕着扁圆体的轴螺旋。

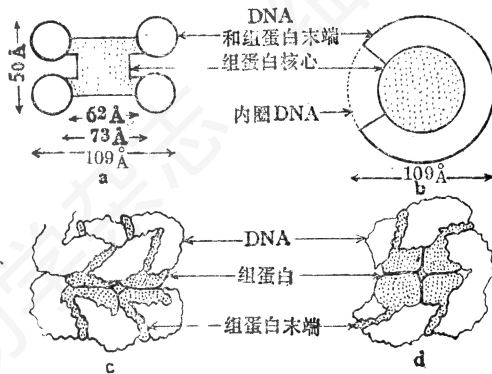


图 3 主颗粒的模式图解

十字横切显示 DNA 和组蛋白在模型内的位置及其相互关系

- a. 沿 DNA 环绕轴的切面
- b. 垂直轴并通过 DNA 环轮之一的中央切面
- c. 侧面观
- d. 主颗粒轴面观

愈来愈多的研究结果证明核体的形状是圆扁柱形或盘形, 而不是球形, DNA 分子在圆扁柱形主颗粒内的走向是以主颗粒轴心为轴, 环绕着圆面螺旋, 然而 DNA 分子在核体内的螺旋会不会改变 DNA 的构象? Johnson 等人(1972)用圆二色性对不同方法制备的染色质进行分析后指出, DNA 分子的结构是 B 型和 C 型混合构成的。Rill 等(1974)还进一步观察到 C 型结构集中在染色质抗核酸酶部分。最近, Cotter 和 Lilley(1977)应用核磁共振比较核体主颗粒内 140 个碱基对的磷酸根和提纯的 DNA 磷酸根图谱, 用红外光谱分析原位核体核心蛋白质的二级结构, 用 2M NaCl 分离复合体的二级结构, 指出在染色质亚单位内的

DNA 与 B 型 DNA 很相似, 在主颗粒内 DNA 磷酸根的张力拉紧, 并没有改变 B 型 DNA 的结构, 但这方面的研究资料不多。

从上述可知, 正是由于组蛋白与组蛋白以及组蛋白与 DNA 的相互作用才产生了染色质亚单位, 并将亚单位组织成更高级的结构。

3. 核体结构的异源性 (Heterogeneity)

是否所有真核细胞染色质的核体结构都是一样的? 同一生物不同组织之间有没有差异? 现将一些研究结果列入表 1:

表 1 各类真核细胞染色质亚单位的 DNA 分子长度(碱基对)

材料来源	每个亚单位	亚单位主颗粒部分	亚单位联丝部分	参考文献
酵母	161	142	19	Lohr, et al 1977
	165	140	25	Thomas, et al 1976
曲霉菌	154	140	14	Morris, 1976a
粗糙链孢菌	170	140	30	Noll, 1976
多头绒泡菌	190	159	31	Johnson, 1976
海胆精子	241	140	101	spadafora, 1976
海胆原肠胚细胞	218	140	78	spadafora, 1976
鸡红血细胞	195	140	55	Hjelm, et al 1976
	197	139	58	Lohr, et al 1977
	212	140	72	Morris, 1966
	205	160	45	Frado, et al 1977
鸭网状红血细胞	185	140	45	Sollner-Webb et al 1975
鸡肝	200	140	60	Morris, 1966
Hela 细胞	182	135	47	Lohr, et al, 1977
小牛胸腺	195	140	55	Carpenter, et al 1977
牛胸腺	191±8	160		Todd 和 Garrard 1977
大鼠肝	196	140	56	Spadafora et al 1976
	198	140	58	Morris, 1976a
	200	140	60	Noll, 1976
	205	160	45	Simpson et al 1976
豌豆芽	185	160	25	Frado et al 1977

(1) DNA 长度 从表 1 可以看出高等真核细胞染色质亚单位 DNA 比低等真核细胞的长, 从低等到高等, 亚单位 DNA 长度的范围是在 154—241 碱基对之间, 其中高等真核细胞亚单位 DNA 长度是比较接近的, 大约在 200 个碱基对左右。此外还可看出, 亚单位两个部分 DNA 的异源性, 联丝部分大于主颗粒部分。

多数的研究结果指出主颗粒 DNA 长度是 140 个碱基对, 然而最近也有人报道为 160 个碱基对。这种不同是否真实存在, 还是由于核酸酶消化的深度不同造成的, 尚待研究。联丝 DNA 长度的异源性, 不但反映在各类不同的真核细胞里, 而且也存在于同一细胞核的染色质内, 我们的电镜观察也证实了这一点^[6]。联丝 DNA 长度的差异, 或许反映了进化程度和不同的机能状态。

(2) 组蛋白 组蛋白具有两个最重要的性质, 一是它的氨基酸程序的非对称性, 这是组蛋白之间以及组蛋白与 DNA 相互作用的关键所在; 二是它的氨基酸程序的稳定性, 其稳定程度 $H_3, H_4 > H_2A, H_2B > H_1$ 。在进化过程中, 染色质亚单位结构的稳定性与组蛋白结构的稳定程度具有明显的平行关系。真核细胞染色质亚单位主颗粒部分的保存, 是由于位于主颗粒内四种组蛋白 (H_2A, H_2B, H_3 和 H_4) 得到了比较好的保存; 而亚单位联丝部分 DNA 长度的异源性, 在不同程度上反映了组蛋白 H_1 的异源性。

三、100 埃串珠染色质纤维是如何构成 250 埃纤维以及更高级结构的染色质

如上所述, 基本的染色质纤维是 100 埃染色质重复亚单位的串珠结构。然而许多形态学观察指出在细胞内大量存在着的是 200—250 埃染色质纤维 (Kiryanov, et al 1976)。那么 100 埃染色质纤维是如何构成 200—250 埃纤维的呢? 可以采取再螺旋或折叠的方式构成。已经提出许多模型, Finch 和 Klug (1976) 提出染色质超级结构的“螺线管模型”, 100 埃纤

维螺旋成直径 300 埃, 螺距 110 埃的螺线管型纤维, 每一圈大约有 6 个核体。Bram 等 (1975) 根据中子散射实验, 提出一个“再盘绕模型”。一些证据表明: 很富赖氨酸组蛋白 H_1 以及某些非组蛋白质在构成这些高级结构中起重要作用。作者^[6]也曾提出一个由 110 埃基本染色质构成 250 埃染色质纤维的可能方式, 强调 H_1 在稳定 250 埃纤维中的作用。

用 EDTA 处理或用盐部分地去除 H_1 就产生染色质纤维的转变, 由 250 埃纤维变成 100 埃纤维, (Thomos, et al 1977)^[10], 二价阳离子在稳定 200—250 埃纤维中起重要作用。组蛋白 H_1 的这种作用是与它的分子结构分不开的。Hartman 等^[11]的研究指出组蛋白 H_1 分子有三个结构区域: 34 个残基的 N 端区域, 85 个残基 (35—120) 球状区以及富有碱性残基 C-端尾区。已经证明尾区能有效地与 DNA 分子结合, 同时也起交联作用; N-端区域和球状区域的生物学机能尚没有实验证据, 可能球状部分的碱性残基在表面, 这种特异带正电荷的空间结构, 是一种特异的多阴离子接受器, 作为核体主颗粒内 DNA 的折叠区域或细胞核酸性蛋白质的折叠区域。

非组蛋白染色体蛋白质 (简称非组蛋白质) 在染色体结构中作用的研究, 逐渐受到重视。从非组蛋白质中可分离出高迁移率组 (HMG) 类组蛋白。John 等^[12]于 1977 年分离和纯化出两种非组蛋白质 HMG_1 和 HMG_2 。对其特性的研究表明: ①电荷分布很象组蛋白, 但不甚规则, 基本上具有 N-端区域和 C-端区域的特性。②与 DNA 相互作用是非特异性的结构蛋白质, 其分子的大部分区域仍然是自由的。③ HMG_1 和 HMG_2 的量大约是组蛋白或 DNA 重量的 1—2%, 这说明不可能每个亚单位都结合着一个 HMG 分子。非组蛋白质这种结构的机能意义还不清楚。超离心研究指出 HMG_1 与组蛋白 H_1 结合, 这种结合有可能改变 H_1 与 DNA 的结合^[13]。

Adolph 等^[14]研究了除去全部组蛋白和

大部分非组蛋白后 HeLa 细胞中期染色体的结构。发现去除上述蛋白质仍然保留着高度组织结构，即人们所熟悉的中期染色体形态。这个结构是靠少数非组蛋白质来稳定的；称作骨架蛋白质，有关的化学性质还不清楚。

由此可知，组蛋白在将染色质 DNA 螺旋或折叠成基本染色质纤维方面起重要作用，而非组蛋白染色体蛋白质的一部分，可能负责比基本染色质纤维更高级的组织结构。至于 250 埃染色质纤维如何组织成更高级的染色质纤维，乃至完全致密的中期染色体还是一个谜。原因之一，凝缩染色体只有在去凝缩的情况下，才能观察到染色质的三级折叠，然而去凝缩有着破坏三级结构趋势，以致造成人为的排列。图 4 总结了哺乳动物染色体的结构^[24]。由 20

埃 DNA 纤维构成各类染色质纤维，一直到中期染色体。

欲将一条几米长 20 埃 DNA 组装成有组织有秩序，高度压缩的染色体，DNA 分子需要附着在一定位点上(不是一个，而是多个位点)，以便固定它们的相对位置，保证染色体内部染色质的有序结构。我们发现^[25]这些附着位点是在细胞核纤维网架上。

四、结束语

染色质纤维最主要的机能是它们的复制和转录。通过复制和转录过程，可将遗传信息传递下去，表达出来。这两个方面都是现代分子细胞学中十分活跃的领域。

从结构角度来看，真核细胞染色质是如何进行复制的尚不清楚。

已经知道在细胞核内 DNA 复制是多复制子同时进行的。究竟一个复制子的 DNA 长度是多少？染色体蛋白质是如何分布到 DNA 分子上的等问题还没有完全弄清楚。从 Mcknight 等人^[26]对果蝇囊胚细胞染色质复制的电镜分析来看，一个复制子不是一个亚单位，而是数十个(含有约 1 万个碱基对)，同时看到在复制以前和以后染色质的结构与染色质亚单位结构没有多大差异，均呈串珠状结构。从而推断在 DNA 复制时，最低限度是组蛋白核心没有从 DNA 上解离下来。Freed Lender 等^[27]应用同位素 ³H 赖氨酸

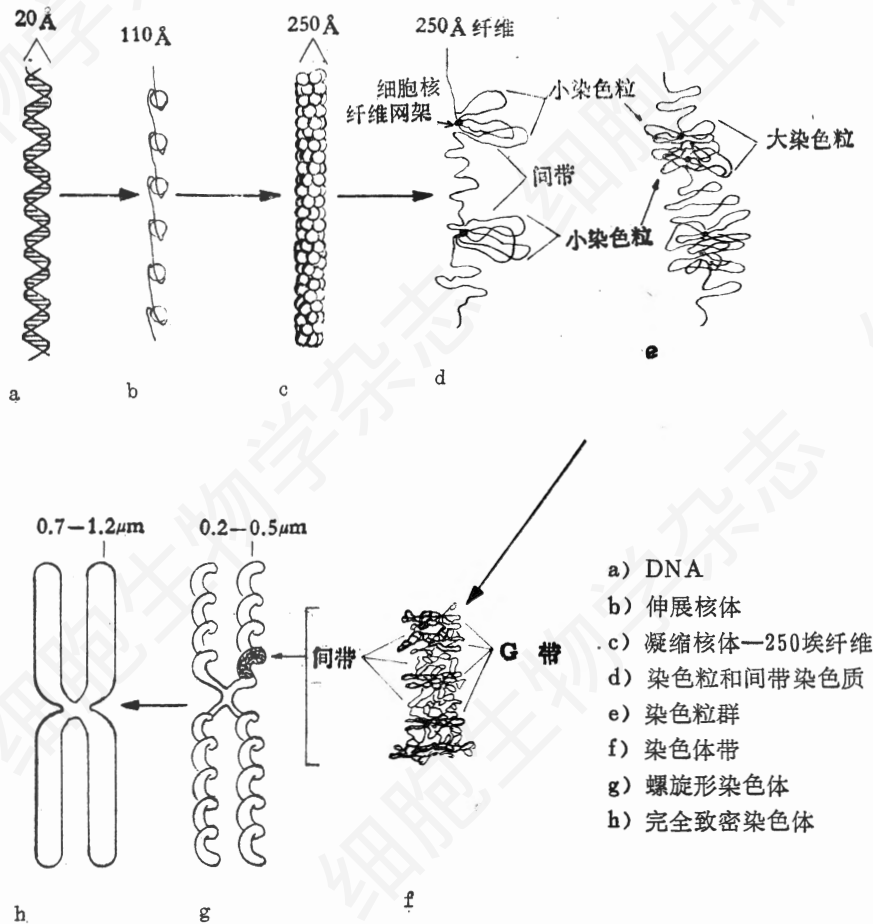


图 4 哺乳动物染色体结构图解

和 5-溴去氧尿苷 (Br Ud Rib) 标记中国田鼠卵巢细胞, 观察在 DNA 复制时染色体蛋白质的分布情况, 指出它们不是随机分布的, 同一世代细胞合成的染色体蛋白质分布到同一代合成的 DNA 纤维上。笔者认为这种新复制的 DNA 和新合成染色体蛋白质的结合, 有着深刻的生物学意义。按照这种方式组装的染色体是一个完全崭新的染色体, 这些新的子染色体有可能全都分配到新的子细胞内。

在基因表达方面, 非组蛋白质所起的专一性调节作用, 很受人们的重视。有关组蛋白本身结构的修饰, 例如组蛋白磷酸化, 乙酰化和甲基化, 尤其是组蛋白 H1 的结构修饰和异源性的研究颇为广泛。

最近, Gottesfeld[18] 等报道了转录活动染色质亚单位结构的研究结果, 发现它们富有非组蛋白质和 RNA。从目前研究结果来看, 染色质亚单位也是动力学结构, 染色质结构有着从非复制—复制—非复制以及非转录—转录—非转录的活动, 推测目前所研究的有关亚单位结构的结果是非复制、非转录活动的染色质。只有搞清楚染色质亚单位的动力学变化, 才算对亚单位结构有了真正的认识。

主要参考文献

[1] Klgin, S. C. R. et al.: 1975, *Ann. Rev.*

Biochem., 44, 725.

[2] Kornberg, R. D.: 1977, *Ann. Rev. Biochem.*, 46, 931.

[3] Thomas, J. O.: 1977, *Biochem. Soc. Symp.*, 42, 117.

[4] Olins, A. L. et al.: 1974, *Science.*, 183, 330.

[5] Oudet, P. et al.: 1975, *Cell.*, 4, 281.

[6] 王宗舜等: 1979, 科学通报, 24, 124.

[7] Kornberg, R. D. 1974, *Science.*, 184, 868.

[8] Simpson, R. T. et al.: 1976, *Nucl. acid Res.*, 3, 117.

[9] Pardon, J. F. et al.: 1977, *Nucl. acid Res.*, 4, 3199.

[10] Thomas, J. O. et al.: 1975, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 72, 2626.

[11] Hartman, P. G. et al.: 1977, *Eur. J. Biochem.*, 77, 45.

[12] Johns, E. W. et al.: in "The Organization and Expression of the Eukaryotic Genome" p3, 1977. (Bradbury, E. M. and Javaherian, K. eds.) Academic Press.

[13] Adolph, K. W. et al.: 1977, *Cell.*, 12, 805.

[14] Comings, D. E.: 1977, *Chromosomes today.*, 6, 19.

[15] 王宗舜等: 1979, 科学通报, 24, 467.

[16] Mcknight, S. L. et al.: 1977, *Cell.*, 12, 795.

[17] Freedlender, E. F. et al.: 1977, *Biochemistry.*, 16, 1802.

[18] Gottesfeld, J. M. et al.: 1977, *Nucl. acid Res.*, 4, 2155.

文摘

维生素 C 与 B₁₂ 并用可抑制腹水瘤细胞的分裂

鉴于目前临床上常用的抗癌药物大多属抗代谢物, 对正常细胞具有毒性作用, 近年提出了新的课题——营养疗法。已有一些工作指出, 维生素 A 与 E 具有延缓细胞衰老、防止癌变的效能。最近, 美国 Ohio 州 Mercurst 学院圣 Thomos 研究所的 M. E. Poydock 等报道, 用维生素 C 和 B₁₂ 混合液处理小鼠腹水型移植瘤: S37 肉瘤、Krebs-2、艾氏瘤以及 L1210 白血病细胞等, 能明显地抑制这些瘤细胞的分裂, 且对正常细胞无毒性作用。体外温育试验表明, 经处理后的瘤细胞的分裂指数下降至另, 而非恶性的 L929 系细胞仍显示活跃的分裂行为。体内实验进一步证实, 经注射维生素 C 与 B₁₂ 混合液的带瘤动物, 腹水中只有很少的肿瘤细胞, 且没有观察到有丝分裂图形。这些残存的少数肿瘤细胞呈现不同程度的裂解状态。有意义的是, 腹水液中的淋巴细胞、单核细胞与中性白细胞等却有所增加。至实验终末, 腹水液中已探查不到肿瘤细胞, 而单核细胞与巨噬细胞则很多。他们指出, 这两种维生素如单独使用, 在同样剂量下则丧失上述抑制作用, 仅在维生素 C 浓度提高至 800—1600 毫克/公斤体重时才显现对动物的毒性作用。作者的这一发现将为肿瘤防治提供了一个有潜在意义的途径。

章荣明摘自 *Exp. Cell Biol.*, 47(3): 210—217. 1979.