

左旋 Z-DNA 研究的进展*

包永德

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

一、Z-DNA 的发现及其主要特征

1972 年 Pohl 及 Jovin^[1] 发现人工合成的多聚脱氧核糖核苷酸 (Poly dG: dC) 的旋光色散、圆二色性及紫外吸收光谱在高盐浓度诱导下发生急剧改变, 从而提出了 DNA 可能存在左手旋螺构象的设想。七年后, 美国麻省理工学院 A. Rich 小组和荷兰 Leiden 大学从事核酸合成的科学家合作发表了脱氧(dG: dC)₃ 六聚体 X 光晶体衍射分析的结果^[2]。他们的分析表明: 这种脱氧寡核苷酸是左手螺旋。除了表现 Watson-Crick 类型的碱基配对现象之外, 还具有一系列不寻常的特征:

1. 从图 1 可以看到其磷酸基团沿核糖-磷酸骨架的走向呈“Z”字形, 并由此命名为左旋 Z-DNA, 它具有同已知的右旋 B-DNA 完全不同的构象。

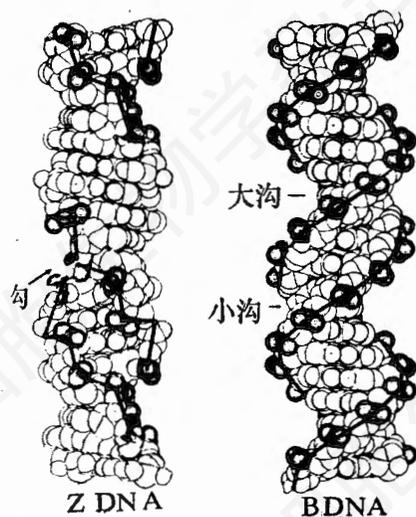


图 1 Z-DNA 和 B-DNA 立体模型侧面图

黑线示磷酸基位置沿着双股螺旋糖-磷酸骨架的走向^[2]。

这种不规则的骨架形状起因于脱氧鸟嘌呤核苷酸及其糖环折叠的特殊构型。由图 2 可见, Z-DNA 中鸟嘌呤碱基绕糖苷键旋转而呈“顺式”构型, 而所有胞嘧啶核苷酸却依然如故, 保留了“反式”构型。同时鸟嘌呤核苷酸的糖环折叠为 3' 内酯结构, 而胞嘧啶核苷酸的折叠仍是 2' 内酯结构。两种不同核苷酸构型在 Z-DNA 结构中的同时并存, 并因之而造成磷酸基相应位置的变化, 其结果导致了骨架的不规则形状。

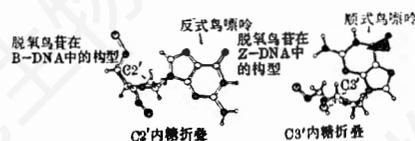


图 2 在 B-DNA 和 Z-DNA 中脱氧鸟苷的构型

在 Z-DNA 中鸟嘌呤绕糖苷的碳-氮连接而旋转呈顺式, 而与 B-DNA 中的反式不同。核糖的定向是这样的, 即 C1'-O1'-O4 确定一个水平面, 高于此平面的原子处于内构象。在 Z-DNA C3' 是内构象, 而在 B-DNA 中 C2' 是内构象。与不同的糖环折叠相关, 磷酸基之间的距离亦发生显著变化^[13]。

2. 由图 1 还可见到, Z-DNA 只有一条小沟, 而且极深, 沟底几及螺旋的轴心(见图 3)。

3. 与 B-DNA 相比, Z-DNA 分子形状略为“苗条”而“舒展”。其螺旋直径为 18 Å, 而 B-DNA 为 20 Å, Z-DNA 的螺旋每转一圈包括 12 对碱基, 距离为 44.6 Å。而 B-DNA 在相同的空间内要容纳 13 对碱基。

4. 从螺旋二端看 Z-DNA 的结构(图 4), 鸟嘌呤残基位于核酸分子表面, 几乎呈六面对称的排布。在 B-DNA 此碱基则成簇集中在螺旋的中心。

* 本文承庄孝德教授、王亚辉教授指正, 深表感谢。

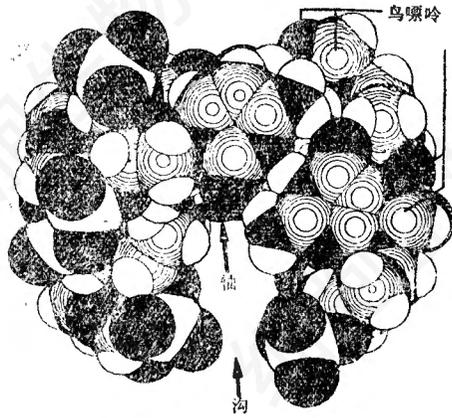


图3 Z-DNA 中由三个碱基组成的片断模型
(沿螺旋轴向看)鸟嘌呤的7位氮原子(N₇)和8位碳原子(C₈)靠近分子外侧。里箭头指向螺旋轴心。另一箭头指示深沟,沟底几及轴心^[13]。

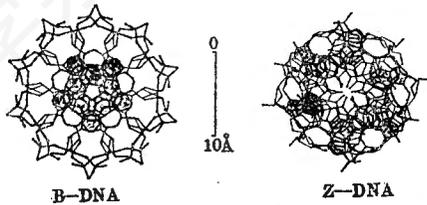


图4 B-DNA 及 Z-DNA 结构的端视图
其中一链鸟嘌呤用深色显示。

由图可见,在 Z-DNA 中深色的鸟嘌呤基团差不多呈六面对称。其咪唑部分与磷酸基团一起形成锥体的外壁。B-DNA 中,鸟嘌呤基团紧靠中心,磷酸基团则处分子外围^[12]。

他们根据上述模型还对 B-DNA 和 Z-DNA 交接处的空间关系提出了一些假设,并推测在这两种构象的交接处可能会造成螺旋松散,并具有一定的结构特点和生物学意义。

二、抗 Z-DNA 的抗体及其性质

上述模型是从人工合成多聚脱氧寡聚核苷酸上得到的。人们自然要问,在活细胞内是否天然存在着 Z-DNA 构象呢? Lafer 等^[9]的工作给了肯定的回答。他们以溴化的 poly dG-C 与牛甲基化蛋白的复合物免疫家兔,成功地获得了专一的抗 Z-DNA 抗体。这种抗体能在高盐浓度中与左旋 Z-DNA 反应,清楚地显示了

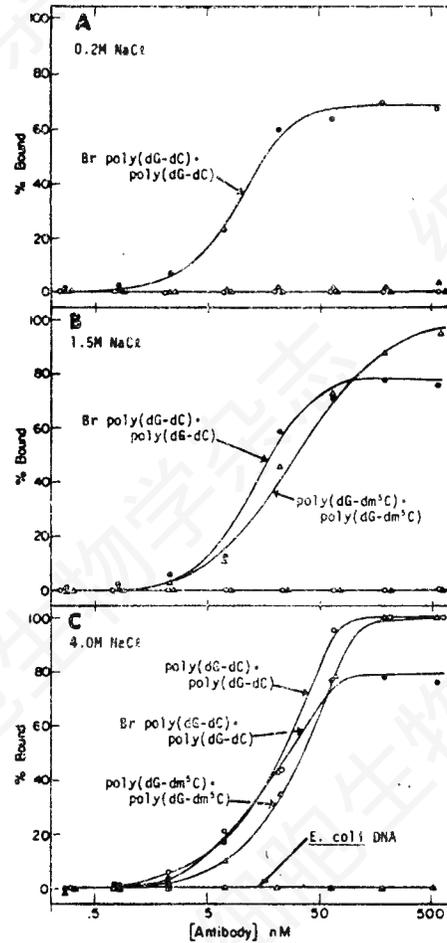


图5 在三种不同的盐浓度条件下,抗 Z-DNA 抗体与标记 DNA 高聚物的专一结合^[13]

它的构象专一性(图5)。

从图5可见,在氯化钠浓度为0.2 M 时,此抗体仅与溴化的 poly dG:dC 结合。在 1.5 M 氯化钠浓度就可与 poly(dG-m⁵dC)反应,而当盐浓度升高到 4 M 氯化钠时, poly(dG:dC)就可与抗体很好结合,而在相同条件下大肠杆菌的 DNA 与该抗体全无反应。竞争放射免疫反应的分析表明,这类抗体不能与另外构象的核酸如 poly(dG)、溴化的 poly(dG)、poly(dG)·poly(dC)、溴化的 poly(dG)·poly(dC) 及双链或单链的 RNA 起免疫反应。

随后,用这种抗体,以果蝇唾液腺区染色体为材料,借助间接免疫荧光法来观察其反应

性时发现,抗 Z-DNA 抗体与多线染色体发生专一结合,并呈现稳定的图式,这是生物材料中存在 Z-DNA 构象的第一个直接证据。由图 6 可见,在相差显微镜下多线染色体呈现特征性的区带——间带图式,而在暗视野荧光显微镜下则可看到特征性的染色图象。荧光染色带主要分布于间带区(interband)。不同间带强度不一,不同的制片,相同的染色体出现相似的图式。在同源未配对的染色体上亦得到了相同的结果,未配对的同源区显示了完全相同的图式,对照实验亦同样显示了抗 Z-DNA 抗体的专一性。

最近 möller 等^[4]用杂交瘤技术,获得了一些单克隆抗 Z-DNA 抗体。结果表明,所获抗体至少有两种不同类型。一类对 m⁵c 敏感即所谓序列专一性抗体,另一类可能只与 Z-DNA 的骨架专一性有关。

用灵长类动物(包括人)^[5]、原生动物的实验也证实了 Z-DNA 的存在,并得到其他一些有意义的结果。

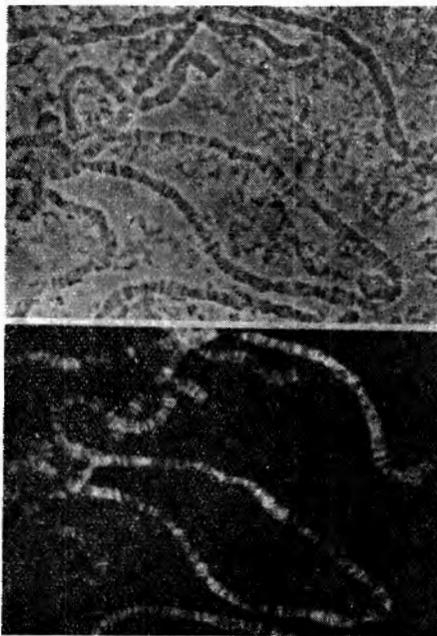


图 6 用抗 Z-DNA 抗体染色后的果蝇多线染色体压片的显微照相

(上面:相差显微镜照片。下面:暗视野荧光照相。)^[13]

三、影响 Z-DNA 构象稳定的一些因素

除了鸟嘌呤与胞嘧啶相间排列的 DNA 序列之外,大凡嘌呤与嘧啶交替排列的结构都有可能形成 Z-DNA 构象。从热力学性质来看, B-DNA 的结构较为稳定,需能较少。因此除了一定的核酸序列外,其他一些因素对 Z-DNA 的形成是至关重要的。迄今为止的研究表明,二价金属离子^[1]、多价阳离子(如多胺)^[7]、不同碱基的修饰(如甲基化^[7]、溴化^[3]),一定程度的负超螺旋结构的存在^[8,9]以及某些染色体蛋白等都有利于 Z-DNA 构象的生成和稳定。大量资料表明,在生物体相当温和的环境内完全具备了 Z-DNA 构象生成和稳定的条件。

早就有人注意到,在真核生物 DNA 中存在某些胞嘧啶-鸟嘌呤序列,当该序列中胞嘧啶的 5' 位被甲基化时,邻近的结构基因就处于抑止状态,而去甲基化则引起该基因的活化。可是,另一方面, Michael Behe 等^[7]发现胞嘧啶 5' 的甲基化有利 Z-DNA 的形成和稳定。此外,还有资料提示^[12]Z-DNA 的形成却又有利基因的激活。这两方面似乎是矛盾的。因此这类序列是否有可能通过 B \rightleftharpoons Z-DNA 的构象转换而作为基因活性调节的开关还是一个不清楚的问题,需要进一步探索。

最近从果蝇^[10]、人的肿瘤细胞、麦胚甚至从大肠杆菌里分离到一些蛋白。它们不仅能专一地与 Z-DNA 结合,而且能促使 B-DNA 转变为 Z-DNA。在这类 Z-DNA 结合蛋白中,有的分子量高达 70000-150000 道尔顿。可以预期这类分子的结构、功能的研究,必将有助于加深在染色质水平上基因表达调控机理的认识。

四、Z-DNA 的功能

前不久 Nordheim 等^[11]建立了一个通用的分离 Z-DNA 的方法。其原理是:在一定条件下将含有 Z-DNA 的核酸与抗 Z-DNA 的抗

体交联, 然后进行 DNA 限制性内切酶酶解, 利用硝基纤维素能选择吸附蛋白与核酸复合物的特性, 取得相应的 Z-DNA 片断。

SV-40 病毒是大家熟悉的材料, 全部的 DNA 序列及有关基因结构及调控区域是已知的, 他们以此为材料, 在引进负的超螺旋结构后, 用上述方法进行了系统的研究。结果表明, 该病毒 DNA 与 Z-DNA 抗体结合的三个位点恰好在增强子 (enhancer) 的区域或其边缘^[12] (见图 7), 而这些区域对促进病毒的早期转录是至关重要的。

处于转录活性状态的染色质特征之一是具有一些对 DNase I 敏感的位点。用 SV 40 DNA 进行的研究显示, 有些敏感位点正处于 Z-DNA 区段的二端 (见图 8), 这种性质正好又和 B-DNA 与 Z-DNA 交界处的结构特点相符合。

同一工作还表明, SV40 基因组中三个潜在的 Z-DNA 区段亦处于不能形成核小体的区域, 这就提示了 Z-DNA 构象的存在与核小体的结构形成与否有一定关系, 而在该病毒小染色体内存在的一些 Z-DNA 结合蛋白可能与非核小体区域的形成和维持有关。

对其他病毒增强子及某些致癌基因插入顺序的分析还发现, 正是在这些部位, 存在着可能形成 Z-DNA 构象的 DNA 顺序 (表 1)。

细胞学的观察也表明, Z-DNA 构象与基因转录活性的调控有关^[6]。一种原生动物的棘尾虫 (*Stylonychia mytilus*), 有两类细胞核: 大核和小核。当大核内基因处于活跃转录状态时, 能与抗 Z-DNA 抗体起明显的反应, 而基因处于静止状态的小核则不显示荧光反应, 即不能与 Z-DNA 抗体反应 (图 9)。

综合上述资料, 不可避免地使人设想: Z-

表 1 在调节区域中有可能形成 Z-DNA 的序列

基因组	序 列
猴肾病毒 40(263)	ATGTGTGT--52--GCATGCAT
猴肾病毒 40(203)	GCATGCAT--65--GCATGCAT
牛乳头瘤病毒(4400)	GTACACAC
多瘤病毒(4447)	ATGTATGTGT--68--CACACATAT
moloney 鼠肉瘤病毒, LTR	ATATCTGCG--64--ATATCTGCG
小鼠乳腺肿瘤病毒, LTR(4)	CGCGCTGCA--83--TGCGTGACGCG
小鼠乳腺肿瘤病毒, (136)	TATGTAAATGC--70--CGTGTGTTTGTGT
鸟髓母细胞瘤病毒, LTR(1494)	ACATGTATAT--77--GCATATGGGCGT
Rous 相关病毒-O, LTR(137)	TATGTACG--56--GTGTGCAC
Rous 相关病毒-2, LTR(272)	GTGTGCAC--81--TATGCATAC
鸟类肉瘤病毒, LTR	CGTGCATGC--60--ACATGGAT
鸡内源病毒, LTR(114)	ACATATGGGCGTA--73--GTGTGCAC
小鼠 C-mos 致癌基因插入片段(425)	GCACATGCGCA--55--ATGTGGGCGCG
小鼠囊池内 A 颗粒(11)	CGCGCCACAT--55--CGCGCATATGC
小鼠囊池内 A 颗粒(11)	CGCGCCACAT--85--CATGTGCTCATGC
人 BK 病毒	ACATGTCTGT--68--CATGCAC

a 字母下划线的碱基不属于嘌呤—嘧啶交替排列的组成

b 括弧中数字是指所示序列中第一个碱基的位置。

c LTR(long terminal repeat)长终端重复顺序。

DNA 构象在基因激活过程中起着重要的作用。

六年前, 当 A. Rich 小组关于 Z-DNA 的模型刚公布于世, 不少生物学家们仅投以好奇的眼光, 认为在生物体内不大可能有什么特别的价值。现在, Z-DNA 在生物体内的存在已不容

置疑, 其可能的功能意义亦愈来愈引起人们的注视。由上述材料, 我们可以得到一个初步的轮廓, 在一定的基因控制区, 存在一类可能形成 Z-DNA 构象的序列, 一旦条件合适 (如存在 Z-DNA 结合蛋白并与之结合, 有关碱基的

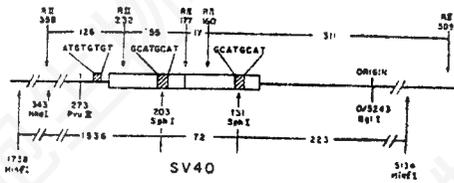


图7 SV-40 基因组中可能形成 Z-DNA 的区段(斜线部份), 指能与抗 Z-DNA 抗体结合的位点^[12]。

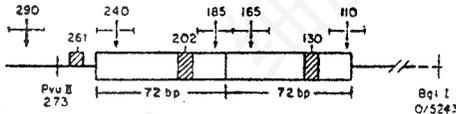


图8 SV 40 病毒 DNA 靠近 Z-DNA 的 DNase I 超敏位点(用 ↓ 标出)^[12]

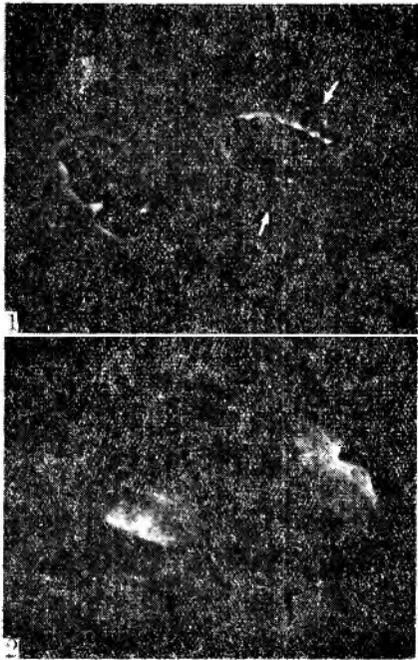


图9 抗 Z-DNA 的荧光抗体与棘尾虫大核的结合

- a 箭头所指为小核, 体积大的即大核。
- b 细胞核荧光染色的情况, 只有大核显示荧光。

修饰受到改变, 某些因子引起 DNA 超螺旋性质的改变等), 该区段就可转变成 Z-DNA 构

象, 于是相关区段的染色质结构发生改变, 从而开动有关基因转录的“机器”, 使这些基因处于活跃的工作状态。现在, 人们已意识到, 除了 DNA 一级结构之外, DNA 的空间构象变化与基因活性的调控也有密切关系。如果从这一观点来看问题, Z-DNA 的研究可说是在这方面的一个新的尝试。自然, 这方面工作才刚刚开始, 需要积累更多的资料和更深入的探索。

缩写:	poly	多聚
	dG	脱氧鸟苷嘌呤核苷酸
	dC	脱氧胞嘧啶核苷酸
	dm ⁵ c	脱氧 5-甲基胞嘧啶核苷酸
	Br	溴
	DNase I	脱氧核酸酶 I

参 考 文 献

- [1] Pohl, F. M., et al., 1972. *J. Mol Biol* 67: 375—396.
- [2] Wang, AH-J., et al., 1979. *Nature, Lond.* 282: 680—686.
- [3] Lafer, E. M., et al., 1981. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 78: 3546—3550
- [4] Möller, H., et al., 1983. *J. Biol. Chem.* 257: 12081—12085.
- [5] Viegas-Pequignof, E., et al., 1983. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 80: 5890—5894.
- [6] Lipps: H. L., et al., 1983. *Cell* 32: 435—441.
- [7] Behe, M., et. al., 1981. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 1619—823.
- [8] Singleton, C. K., et al., 1982. *Nature, Lond* 299: 312—316.
- [9] Peck, L. J., et al., 1982. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 4560—4564.
- [10] Nordheim, A., et al., 1982. *Proc Natl Acad Sci USA* 79: 7729—7733.
- [11] Nordheim, A., et al., 1982. *Cell* 31: 309—318.
- [12] Nordheim, A., et al, in Press.
- [13] Nordheim, A., et al. 1982. *Embryonic Development Part A: Genetic Aspects* Alan R. Liss, inc., New York.