

展开。

体外实验获得的数据表明 IL-17 是小鼠脾 T 细胞的自分泌生长因子, 用 mIL-17 和亚适浓度 (1%) PHA 培养鼠脾 T 细胞时细胞处于中等程度的增殖状态, 可溶性 mIL-17R (smIL-17R) 显著减少该细胞由丝裂原如 PHA 等诱发的细胞增殖^[3]。因而, 可以认为 IL-17 的拮抗剂能抑制 T 细胞的活化。

另外进行的几组实验表明 IL-17 的拮抗剂有抑制异种抗原应答的作用^[5]。在 C57BL/10J 和 C3H 小鼠脾细胞的初始混合物培养液中加入 50~200 $\mu\text{g/L}$ 的 smIL-17R 时, 能显著抑制其中的同种异体应答 (当刺激物与应答物的比例为 1:1 时, 抑制效率为 50%; 当二者的比例为 1:4 时则完全抑制)。根据这些数据来评估 smIL-17R 的免疫抑制作用。在非血管化的心脏同种异体移植模型中, 把新生儿心脏植入受者的耳廓上, 发现 smIL-17R 实验组的移植时间为 (20.0 ± 0) d, 而对照组只有 (13.5 ± 0.5) d。在血管化的同种异体移植模型中, 观察同种异体植入心脏的主动脉与肾静脉和肾动脉的吻合情况, 发现 smIL-17R 实验组的存活时间从对照组的 10.5 d 提高至 19 d。

目前有关 hIL-17R 的功能研究则更少。初步研究表明抗 hIL-17R 的单克隆抗体 (mAb m202) 能抑制 hIL-17 的生物学活性^[4]。m202 抗体阻断 hIL-17R 与 hIL-17 的结合, 因而抑制 hIL-17 诱导产生 IL-6; 而且随着抗体浓度的增加, 抑制效应逐渐加强; 当加入 5~10 倍过量的抗体时, hIL-17

的活性完全被抑制。这说明配基与相应受体的结合是 IL-17 发挥其生物学效应所必需的。至于结合后信号转导的机制还有待于人们的深入研究。

参 考 文 献

- 1 Yao Z B, Painter S L, Fanslow W C, *et al.* Human IL-17: a novel cytokine derived from T cells. *J Immunol*, 1995, **155** (12): 5483~5486
- 2 Fossiez F, Djossou O, Chomarat P, *et al.* T cell interleukin 17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J Exp Med*, 1996, **183** (6): 2593~2603
- 3 Yao Z B, Fanslow W C, Seldin M F, *et al.* Herpesvirus saimiri encodes a new cytokine, IL-17, which binds to a novel cytokine receptor. *Immunity*, 1995, **3** (6): 811~821
- 4 Yao Z B, Spriggs M K, Derry J M, *et al.* Molecular characterization of the human interleukin-17 receptor. *Cytokine*, 1997, **9** (11): 794~800
- 5 Spriggs M K. Interleukin 17 and its receptor. *Journal of Clinical Immunology*, 1997, **17** (5): 366~369

Interleukin 17 Receptor. ZHOU Li-Mei, WANG Jia-Xi (*Institute of Basic Medical Sciences, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China*).

Abstract Interleukin-17 receptor (IL-17R) has been recently identified, which exhibits no homology to any known family of receptors. Studies show that soluble mouse IL-17R (smIL-17R) can not only inhibit T-cell activation, but also suppress the response to alloantigen in established allograft transplant models.

Key words interleukin-17, interleukin-17 receptor, cytokine

转基因植物中外源基因沉默机制的研究进展

朱 莉 张春义 范云六

(中国农业科学院生物技术研究中心, 北京 100081)

摘要 基因沉默现象是导致转基因不能正常表达的重要因素之一。其作用机制主要有三种: 位置效应, 转录水平的基因沉默和转录后水平的基因沉默。根据目前的知识, 重复序列是基因沉默的普遍诱因, 甲基化是基因沉默的直接原因。

关键词 基因沉默, 重复序列, 甲基化

学科分类号 Q7

通过导入外源基因使植物获得新的性状并能稳定遗传是植物基因工程的最终目的。但是, 根据现在研究结果发现有大量的转基因植株不能正常表达, 通常这并不是由于转基因的缺失或突变引起的, 而是基因失活的结果。这种失活的现象称为基因沉默。通过近 10 年来的研究, 人们发现了关于基因沉默机制的一些规律, 并提出了一些对策^[1]。

1 基因沉默机制

外源基因进入细胞核后, 会受到多种因素的作用, 根据其作用机制和水平不同可分为三种: 位置效应 (position effect), 转录水平的基因沉默 (transcriptional gene silencing, TGS) 和转录后水平的基因沉默 (post-transcriptional gene silencing, PTGS)^[2]。

a. 位置效应是指基因在基因组中的位置对其表达的影响。外源基因进入细胞核后首先整合到染色质上, 其整合位点与表达有密切的关系。如果整合到甲基化程度高、转录活性低的异染色质上, 一般不能表达; 如果整合到甲基化程度低、转录活性高的常染色质上, 其表达受两侧 DNA 序列的影响。植物基因组常是由具有相似 GC 含量 DNA 的片段相互嵌合在一起的, 外源基因的插入打乱了它们正常的组合。例如, 玉米中 AI 基因的 GC 含量为 52.5%, 而在转 AI 基因沉默的矮牵牛中, AI 基因两侧 DNA 序列的 GC 含量分别为 26% 和 23%, 明显低于 52.5%, 另外, AI 基因是超甲基化的, 但其两侧序列的甲基化程度则不高。在许多其他转基因沉默的植株中也发现了类似现象。这表明生物体可以通过外源基因与其两侧序列 GC 含量的差别来识别外源基因, 激活甲基化酶, 使外源序列甲基化而降低其转录活性。

b. 转录水平的基因沉默是 DNA 水平上基因调控的结果, 主要是由启动子甲基化或导入基因异染色质化所造成的。二者都和转基因重复序列有密切关系。

重复序列可导致自身甲基化。外源基因如果以多拷贝的形式整合到同一位点上, 形成首尾相连的正向重复 (direct repeat) 或头对头、尾对尾的反向重复 (inverted repeat), 则不能表达。而且拷贝数越多, 基因沉默现象越严重。这种重复序列诱导的基因沉默 (repeat-induced gene silencing, RIGS) 与在真菌中发现的重复序列诱导的点突变 (repeat-induced point mutation, RIP)^[3] 相类似, 均可能是

重复序列间自发配对, 甲基化酶特异性地识别这种配对结构而使其甲基化, 从而抑制其表达。此外, 重复序列间的相互配对还可以导致自身的异染色质化。其机理可能是异染色质化相关蛋白质识别重复序列间配对形成的拓扑结构, 与之结合, 并将重复序列牵引到异染色质区, 或直接使重复序列局部异染色质化^[4]。

c. 转录后水平的基因沉默是 RNA 水平基因调控的结果, 比转录水平的基因沉默更普遍。特别是共抑制 (cosuppression) 现象尤其是研究的热点。共抑制是指在外源基因沉默的同时, 与其同源的內源 DNA 的表达也受到抑制。转录后水平的基因沉默的特点是外源基因能够转录成 mRNA, 但正常的 mRNA 不能积累, 也就是说 mRNA 一经合成就被降解或被相应的反义 RNA 或蛋白质封闭, 从而失去功能。这可能是由于同源或重复的基因表达了过量 mRNA 的结果。Dawson 提出, 细胞内可能存在一种 RNA 监视机制用以排除过量的 RNA。当 mRNA 超过一定的域值后, 就引发了这一机制。特异性的降解与外源基因同源的所有 RNA。此外, 过量的 RNA 也可能和同源的 DNA 相互作用导致重新甲基化 (*de novo* methylation), 使基因失活。

上述三种机制并不是独立的, 而是相互关联的。基因沉默机制在核酸水平上均是 DNA-DNA, DNA-RNA, RNA-RNA 相互作用的结果, 所以人们认为对基因沉默机制的研究开启了认识 DNA 水平及 RNA 水平上调节基因表达的新纪元, 并提出了基因免疫, 即基因组对外源基因入侵有抵抗能力的新观念。

2 防止基因沉默的对策

克服基因沉默已经成为基因工程的一个重要课题。目前, 针对上述基因沉默的机制, 初步提出了如下一些对策:

a. 由于重复或同源序列是基因沉默的普遍诱因, 所以在构建表达载体时, 应尽量使得所设计的序列与內源序列的同源性较低, 以减少或避免配对。另外, 选用外源基因插入基因组中拷贝数低的, 最好是单拷贝的转基因植株亦可减少重复序列的存在。

b. 甲基化是基因沉默的直接原因, 转基因甲基化的程度与基因沉默的程度成正相关。目前已知用 5-氮胞嘧啶处理植株具有很好的抑制甲基化和脱甲基化作用。人们也正在试图在载体上加上有去

甲基化功能的序列以防止甲基化。

c. 实验表明在转基因的侧翼接上核基质结合序列 (matrix attachment regions, MAR) 会在一定程度上避免位置效应, 提高基因的表达。MAR 具有限定 DNA 环的大小, 使之成为相对独立的结构功能单位的作用。可能正是由于这一功能, 使其起到类似绝缘子的作用使转基因成为相对独立的结构免受周围基因环境的影响^[5]。

参 考 文 献

- 1 Kumpatla S P, Chandrasekharan M B, Lye L M, *et al.* Genome intruder scanning and modulation systems and transgene silencing. *Trends in Plant Science*, 1998, **3** (3): 97~ 104
- 2 Stam M, Mol J N M, Kooter J M. The silence of genes in transgenic plants. *Annals of Botany*, 1997, **79** (1): 3~ 12
- 3 Irelan J T, Selker E U. Cytosine methylation associated with repeat-induced point mutation cause epigenetic gene silencing in *Neurospora crassa*. *Genetics*, 1997, **146** (2): 509~ 523
- 4 Dorer D R, Henikoff S. Transgene repeat arrays interact with distant heterochromatin and cause silencing in *cis* and *trans*. *Genetics*, 1997, **147** (3): 1181~ 1190
- 5 Finnegan J, McElroy D. Transgene inactivation: plant fight back! *Biotechnology*, 1994, **12** (9): 883~ 888

Progress in the Studies of Foreign Gene Silencing in Transgenic Plants. ZHU Li, ZHANG Chun-Yi, FAN Yur-Liu (*Biotechnology Research Center, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China*).

Abstract Gene silencing is one of the important factors of transgene inactivation. The main mechanisms, including position effects, transcriptional silencing and post-transcriptional silencing was presented, the means of stabilizing gene expression in transgenic plants was discussed.

Key words gene silencing, repeat sequence, methylation