

大肠杆菌的蛋白分泌机制

袁 宇 甘人宝

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

摘要 大肠杆菌的分泌蛋白定位于内膜、外膜、周质空间和胞外环境, 它们在 N 端或 C 端带有一定的结构包含着分泌信号, 这两类分泌蛋白在各自特定的一组蛋白因子的协助下跨越内膜, 再通过目前尚不清楚的方式实现其最终定位. N 端带有信号肽的分子在跨越内膜时得到 Sec 家族蛋白因子协助, 信号肽在跨膜过程中可能被切除, 该过程由 ATP 和电化学势提供能量. C 端带分泌信号的分子主要受到 Hly 家族分子协助, 一次穿过内膜和外膜而不经周质空间.

关键词 蛋白分泌, 新生肽, 蛋白因子, 分泌信号, 大肠杆菌

在过去的 15 年中, 蛋白质分泌或称蛋白质跨膜输送的研究一直是引人注目的. 目前, 以大肠杆菌 (*E. coli*) 为代表的革兰氏阴性菌的这一生理活动已进行了深入的研究, 发现了在蛋白质运送过程中起关键作用的 sec 基因家族和两种信号肽酶, 初步了解各种基因产物的功能及相互关系, 提出了一些初步的模型^[1]. 这一过程的众多细节, 如 N 端信号肽的功能, 信号肽和成熟蛋白的空间构象与分泌的关系, 影响分泌效率的因素等, 都得到了详细研究.

大肠杆菌及其它革兰氏阴性菌, 其包被有三层结构——内膜、细胞壁和外膜. 内外膜之间的间隙为周质空间 (periplasm), 二膜有一些粘着点 (adhesion zone) 相接触. 内膜是典型的细胞膜, 外膜也是非对称的脂双层膜, 细胞壁由肽聚糖组成, 对大分子完全通透^[2]. 绝大多数已知的分泌蛋白^[3], 包括内膜蛋白、外膜蛋白和周质空间蛋白以及分泌到环境中的蛋白, 在 N 端或 C 端都有一定的结构包含着分泌信号. 大肠杆菌中存在着能识别这些信号的相应的分泌系统. 现简单综述如下.

1 N 端带分泌信号的蛋白及转运系统

1.1 信号肽

多数分泌蛋白的 N 端都带有可断裂或不

可断裂的信号肽序列, 其长度通常约有 20~30 个氨基酸, 信号肽氨基端亲水, 通常至少有一个带正电的赖氨酸或精氨酸处于氨基端, 可能参与前体分子结合到质膜上的过程. 其后紧随一高度疏水的序列, 至少含 8 个非极性氨基酸, 推测可能形成 α 螺旋. 另外还有一终止螺旋 (helix-breaking) 残基 (多为脯、甘、丝、苏等) 位于疏水核心末端^[1], 并在此处形成 β 转折. 当可断裂信号肽穿过内膜时, 其羧基端含有一个或几个特定氨基酸为信号肽酶所识别 (已证实信号肽的, -1, -3 位保守^[3]) 切下信号肽产生成熟的多肽链^[4]. 信号肽根据其所处环境不同, 采取不同的构象. 在水溶液中主要以 β 折叠形式存在, 在去垢剂或脂质分子中有很高的形成 α 螺旋的趋势. 这可能对信号肽与脂双层非极性区作用是至关重要的.

各种序列比较和突变实验证明, 信号肽的一级结构并不保守, 但信号肽的这种结构框架和残基类型高度保守. 符合这种结构特征的合成肽段也有信号肽的功能. 这可能暗示了二级结构或更高级结构起着主要作用. 特定的高级结构可能在与细胞可溶性结合因子 (cytosolic binding factor) 相互识别以及与内膜及外膜上的分泌装置相互作用过程中是至关重要

的^[5]。另外,绝大多数带有信号肽的分子若在分泌前就失去了这段前导序列将不能分泌。

关于蛋白分泌和信号肽的功能,曾提出过众多的模型,目前较为广泛接受的是“环模型”(loop model),即前导肽上带正电的氨基酸首先与带负电的膜作用,紧接着疏水核心插入其中形成一个环。进一步的研究结果表明,信号肽与成熟蛋白的相互作用对于高效分泌必不可少,信号序列可能有助于维持蛋白前体出胞所需的构象。可见信号肽的功能可能比想象的复杂^[6]。

分泌不仅仅由信号肽决定,成熟蛋白分子的结构对分泌也有影响。如果改成熟部分靠近切点的几个氨基酸,使之带正电,将会降低穿膜效率 50 倍^[7]。N 端带正电的氨基酸可能不能进入脂双层,因而阻碍了分泌。另一种可能是:信号肽沿着电化学梯度引导自身进入脂质

膜,分子上较多的正电荷会阻碍这种穿膜运动,最终阻止分泌。前面曾经提到,分泌蛋白最终位置各不相同,这些蛋白质分子必然带有决定其最终位置的信息。这种信号不可能仅仅位于信号肽上,因为多数分子的前导序列在整个分子穿越内膜的过程中就已被切除。然而目前并不清楚分泌蛋白的成熟部分的一级结构或高级结构究竟如何体现最终定位的要求。分泌蛋白在穿越内膜进入周质空间以后如何穿越外膜至今还不很清楚。

1.2 蛋白分泌、膜透过有关因子

近年来,在大肠杆菌中发现了一组以 Sec 命名的蛋白:SecA (proD)、SecB、SecD、SecE (prlG)、SecF 和 SecY (prlA) 与蛋白分泌密切相关。这些蛋白、信号肽酶和其它一些因子参与了蛋白前体的运送,穿膜和加工过程(见表 1)。下面将简单介绍其特性和功能。

表 1 大肠杆菌蛋白分泌有关的蛋白因子及信号肽酶^[8]

蛋白因子	存在区域	Mr	性质及功能
维持肽链松散结构:			
Ffh/4.5 S RNA 复合体	胞浆	48 ku (Ffh)	与真核细胞构成 SRP 的 54 ku 蛋白质的结构与功能相似,与信号肽相结合
SecB	胞浆	16 ku	阻止肽链紧密折叠,维持转位活性构象,与 SecA 作用,以四聚体存在
引导肽链与膜结合开始分泌:			
SecA	胞浆/膜内面质膜	102 ku	引导肽链与内膜接触,有 ATPase 活性,与 SecY/SecE 结合起始穿膜,自身翻译的负控制因子,以二聚体存在
SecY	质膜	49 ku	激活 SecA 的 ATPase 活性,与 SecE 结合引导肽链穿膜,使之与 SPase 接触
SecE	质膜	14 ku	与 SecY 结合引导肽链穿膜,使之与 SPase 接触
切除信号肽:			
信号肽酶 I	质膜	37 ku	切除脂蛋白以外其它分泌蛋白信号肽
信号肽酶 II	质膜	18 ku	切除脂蛋白信号肽
参与穿膜后期至结束:			
SecD	质膜	67 ku	转位后期使肽链解离
SecF	质膜	35 ku	转位后期使肽链解离
Dsb(Ppf)	周质	20 ku	参与碱性磷酸酯酶穿膜后的二硫键形成

1.2.1 新生肽的合成至内膜

a. Ffh/4.5 S RNA 复合体:真核细胞中

参与蛋白质分泌的信号识别颗粒(SRP)是 6 种蛋白与 7 S RNA 构成的复合体,其中与信号

肽结合的蛋白是 54 ku 蛋白. 在大肠杆菌中发现与此蛋白功能相同的蛋白 Ffh, 分子量为 48 ku, 能与 4.5 S RNA 结合构成复合体, 并具有与信号肽结合的活性. 当新生肽形成时, 与 4.5 S RNA 结合的 Ffh 可与信号肽结合, 阻碍新生肽的折叠, 这样增加了 SecB 等分子伴侣能与新生肽的成熟肽链部分结合.

b. SecB: SecB 单体的分子量为 16 ku, 以四聚体存在于胞浆中. 在大肠杆菌中, 为了使分泌型蛋白能有效地穿过膜, 当蛋白从核糖体合成后, 有一些称为分子伴侣 (molecular chaperone) 的蛋白因子与其结合, 使其维持一定的适合于透过膜的构象. SecB 起着这种功能, 虽然不是所有分泌型蛋白都需要, 但多数分泌蛋白需要它. SecB 与前体分子相结合, 阻止其折叠, 避免形成不适于蛋白运送的高级结构. 可以认为 SecB 与新生肽链的结合, 不是因为能识别某些专一的氨基酸序列, 而是与蛋白带正电部分亲和性所致. SecB 与前体形成的复合体转运至内膜, 与膜的 SecA 相结合. 另外胞浆内还存在其它一些起着类似功能的分子伴侣, 如一些热休克蛋白因子 DnaK、GroEL、GroES 和扳机因子 (trigger factor). 这些热休克因子参与某些新生肽的折叠过程和肽的运送和跨膜过程. 目前这些分子伴侣如何协同将合成后的新生肽运送至膜上详细过程还不够清楚.

1.2.2 前导肽与膜结合, 分泌开始

a. SecA: SecA 为 102 ku 的可溶性蛋白, 以二聚体形式存在于胞浆、质膜内面或质膜上. SecA 具有典型的 ATP 酶结构, 发现有 3 个 ATP 结合位点, 能与 SecB-前体复合物结合, 随后在膜上与 SecY 作用, 形成四元复合物, 水解 ATP 释放能量, 使穿膜过程得以进行. 因此它有 SecB-分泌蛋白前体-SecY 复合物依赖的 ATP 酶活性^[9], 为蛋白分泌过程提供能量. 这个活性还可以由信号肽和变性的成熟蛋白刺激得到. 另外, 它的 ATP 酶活性, 也可以在缺乏前体蛋白的情况下由磷脂激活. SecA 是多数周质空间和胞外蛋白分泌所必需的.

SecA 的合成似乎与大肠杆菌分泌蛋白的

能力有关. 当分泌受阻时, SecA 的表达提高 20 倍, 不论这个阻碍是由于 sec 家族成员基因突变, 还是由于高水平表达分泌蛋白引起的, 但 secB 缺失引起的分泌障碍不能提高 SecA 的表达水平. SecA 的调控似乎发生在转录后水平上. SecA 可能是自身翻译的阻遏物, 其调节位点可能位于翻译起始区域. 在正常蛋白分泌情况下, 核糖体结合位点 (RBS) 被它占据. 当分泌过程受阻时, SecA 也许会全部投入分泌装置, 因此松懈了对翻译的抑制. 也就是说, 游离的 SecA 的水平决定了该条件下 SecA 抑制水平.

b. SecY 和 SecE: SecY 是 49 ku 的富含疏水性氨基酸的蛋白质, 通过 10 个穿膜区域整合于内膜上, 有 6 个质膜侧和 5 个周质侧结构域. 它与 SecA 直接作用, 是激活 SecA 的 ATP 酶活性所不可缺少的. 抗 SecY 的抗血清能抑制 SecA 的 ATP 酶活力. 另外 SecY 与信号肽可能直接作用, SecY 可能识别信号肽的回折结构 (在“中止螺旋”残基及左右的 β 折叠), 随后的结果暗示了 SecY 不仅仅与信号肽作用, 而且可能在蛋白质转位的整个过程中都起作用^[9].

SecE 通过 3 个穿膜区整合于内膜上, SecY 与 SecE 常以稳定的复合物形式存在, SecY-SecE 复合物构成了转位酶的膜整合部分. 当新生链由于 SecB 的引导而与 SecA 接近时, SecA 同时与信号肽及成熟部分相结合, 引导这个三元复合物泊在膜内面, 此时, SecY-SecE 复合物将与 SecA 接触, 支持 SecA 转位、激活 SecA 的 ATP 酶活性和实现自身 SecA 依赖的新生肽链转位活性. SecY-SecE 复合物可以解聚, 但转位活性必须在聚合时才能表现. 另外, SecY-SecE 复合物可能是肽链穿过膜的直接驱动装置, 使之沿电化学势从胞浆跨过内膜到达周质空间.

c. 信号肽酶: 信号肽酶是一类能从许多分泌蛋白的 N 端去除信号序列的内切蛋白酶. 它似乎专一识别信号肽上的 -1, -3 保守位点, 另外, 位于质膜外表面的信号肽酶与剪切位点的接触必须有信号肽上紧随着疏水区域的 β 转折的存在^[10]. 信号肽 N 端带正电的氨基酸与质

膜内表面的某些成分结合,疏水核插入膜中,并可能发生从 β 折叠到 α 螺旋的变构^[5].在蛋白前体延伸穿膜时, α 螺旋之后的 β 转折使信号肽C端区域的剪切位点正确定位,由膜结合的信号肽酶将其切除.

信号肽酶 I (SPase I) 由 *lep* 编码,产物的分子量为 37 ku. 该酶穿膜需要 SecA、SecY 和电化学势的存在. 但它的 N 端没有可切除的信号序列. 它整合于内膜上,有 3 个非极性区,两个极性区. 在周质空间有一大的结构域, N 端朝向周质空间, C 端定位于胞浆,它能切掉除脂蛋白以外的所有带有可切除信号序列的分泌蛋白的信号肽. 通常该酶识别所需的信号肽保守顺序为 Ala-X-Ala^[11].

信号肽酶 II (SPase II) 是一个 18 ku 的分子,去除脂蛋白的信号肽,由 *lspA* 编码. 与前者一样,它也不含可断裂的信号肽. 该酶整合于内膜上,有 4 个穿膜肽段,能被非离子去垢剂的激活,但不被磷脂激活. 它所识别的保守位点常是 Leu-X-Y-Cys^[12].

1.2.3 膜透过的后期阶段

SecD 和 SecF 是膜内的蛋白质,其基因 SecD 与 SecF 同用一个操纵子. SecD 和 SecF 分子都有一段定位于周质空间,因此推测当与 SecA 等结合的蛋白前体分子的信号肽被切断后,它们参与蛋白透膜的后期反应. 确切的功能还待研究.

从以上讨论大致可以推测大肠杆菌的蛋白运送过程^[13]. 当前体蛋白肽链从核糖体上翻译后不久,由 SecB 或其它分子伴侣结合于新生肽链阻止其折叠,由此形成的前体蛋白-SecB 复合物在胞浆或质膜内面与 SecA 作用. SecB 一旦和 SecA 结合,新生链便与 SecB 解离而与 SecA 结合,于是 SecB 游离到胞浆中寻找新的前体肽链. 与此同时,SecA 引导新生链与膜内面接触. 信号序列在早期阶段可能有两个作用:其一,阻止前体折叠以促进与 SecB 等的结合,并可能直接引导了这种结合. 其二,与 SecA 或其它膜成分作用起始穿膜过程. 这几种膜成分包括 SecY 和 SecE,以复合体形式存在. SecA

水解 ATP 使多肽链的 N 端从 SecA 结合状态变成插入状态,可能和 SecY-SecE 复合物形成环结构并开始逐步跨越质膜. 在信号肽酶切除信号肽以后,SecD 和 SecF 与成熟蛋白作用从内膜上释放分泌蛋白进入周质空间. 这个穿膜过程需要的能量主要由质子驱动力(电化学梯度)提供. 但体外实验认为,ATP 的水解是必须的而质子驱动力却不是必需的. 分泌过程可能与翻译过程相伴——同翻译过程,也可能在翻译后进行——后翻译过程.

2 C 端带有分泌信号的蛋白及其转运系统

目前已发现了 N 端无典型的信号序列,而 C 端末尾大约 50 个氨基酸的区域含有分泌信号的蛋白质^[14]. 其分泌与 Sec 无关,且分泌过程不可能与翻译同步. 这类蛋白到达细胞表面时并不经过周质空间,而可能通过内外膜的粘着点直接到达胞外环境中. 大肠杆菌的 α -溶血素(α -hemolysin)就是这样的蛋白.

α -溶血素是由 *hlyA* 编码的 107 ku 的外毒素. *hlyA* 有两个与之紧密相连的基因 *hlyB* 和 *hlyD* 对溶血素的分泌必不可少,而 *hlyC* 编码的 20 ku 的蛋白质对 *HlyA* 的分泌无贡献,但负责对 *HlyA* 进行后翻译修饰,使之成为活性形式. 另外,还有一基因 *tolC* 编码一小外膜蛋白,也是分泌所需的^[2]. *HlyA* 不带有如前所述的 N 端信号肽,其 C 端可能有一保守的两亲性(amphiphilic)螺旋,一些二级结构可能部分地作为分泌信号. 有趣的是,如果 *HlyA* 的 N 端处的 80% 序列为异源基因所取代,只保留 C 端的 20% 序列仍可以分泌. 这说明了分泌信号的确处于 C 端,同时说明了分泌极有可能是后翻译的.

HlyB 和 *HlyD* 定位于内膜上,前者可能有部分处于外膜,并有一个大的 C 端结构域位于胞浆中,具有典型的 ATP 结合部位并有 ATP 酶活性;后者有一个小的 N 端结构域位于胞浆中,而分子的大部分横跨周质空间,可能与外膜也相连. 突变实验^[15]证实了 *HlyB* 可

能为溶血素的分泌提供能量. HlyB 和 HlyD 可能形成一个穿过包被的复合体而成为 HlyA 外运的孔道, 位于内外膜的接合部. 这个接合部可能就是粘着位点^[2], HlyB 的质侧部分可能参与 HlyA 信号的识别, 而另一侧可能与转运的后期过程有关. HlyB 和 HlyD 形成的复合物组成的蛋白性通道, 可能要求 HlyA 主要以未折叠形式存在; 也可能形成类似葡萄糖转运通道的旋转门式结构, 通过转位子 (translocator) 即 HlyB 和 HlyD 的变构, 使 HlyA 得以穿膜, 这允许 HlyA 主要以折叠式被分泌^[16]. 这类蛋白的分泌过程及分泌机理还有待深入研究.

3 小 结

以上总结了大肠杆菌的蛋白质分泌的几个方面的问题, 大肠杆菌中最终定位在内外膜、周质空间和分泌出细胞的多数蛋白质, 以前体的形式被合成. 但不管分泌蛋白在出胞过程中是否会被部分降解, 其分子本身的结构中都含有相应的最终定位信息, 这些信息多数集中在 N 端或者 C 端相对小的区域. 据此, 分泌蛋白被分成两类: N 端带分泌信息的和 C 端带分泌信息的. N 端带分泌信息的又有两种类型, 一种在出胞过程中被部分降解, 另一种不会被蛋白内切酶水解. 前一种占分泌蛋白的多数, 被切除的一段约 20 个氨基酸的多肽就是信号肽. 这两种蛋白不论是否会被部分降解, 都以一个共同的机制穿过内膜. C 端带分泌信息的蛋白质分泌机制的细节了解得最多的是 HlyA. 它的分泌机构 HlyB、HlyD 和 TolC 构成复合物跨过两层膜形成一个通道, HlyA 在受到 HlyC 修饰后, 通过这个通道一次穿过两层膜分泌到胞外而不经周质空间.

综上所述, 目前对大肠杆菌的蛋白分泌机制已有了一定的了解, 但还有很多细节有待进一步研究. 这方面的探索不仅在理论上有助于理解其它革兰氏阴性菌的蛋白分泌行为, 还有助于理解更为复杂的体系——真核细胞的蛋白转运装置, 而且在实践上有利于解决基因工程中最大的难题之一——表达产物不溶和无活性

的问题, 对这两方面都将产生重要影响.

参 考 文 献

- 1 Schatz P J, Beckwith J. *Annu Rev Genet*, 1990; **24**: 215
- 2 Hirst T R, Welch R A. *TIBS*, 1988; **13**: 265
- 3 Wickner W. *Annu Rev Biochem*, 1991; **60**: 101
- 4 Pugsley A P. *Annu Rev Genet*, 1990; **24**: 69
- 5 Jones J D, Mcknight J, Gierasch L M *et al.* *J Bioenerg Biomembranes*, 1990; **22**: 213
- 6 Copeland B R. *J Cell Biol*, 1984; **24**: 345
- 7 得永正雄, 菱沼文男. 蛋白質 核酸 酵素, 1992; **37** (3): 223
- 8 水島昭二. 蛋白質 核酸 酵素, 1992; **37** (3): 235
- 9 Nishiyama K. *Biochim Biophys Acta*, 1991; **1065**: 89
- 10 Watanabe M, Blobel G. *Cell*, 1989; **58**: 695
- 11 Dalbey R E, Wickner W. *Science*, 1987; **235**: 793
- 12 Dev I K, Ray P H. *J Biol Chem*, 1984; **259**: 11114
- 13 三原勝芳. 蛋白質 核酸 酵素, 1993; **38** (7): 1160
- 14 Stanley P, Koronakis V, Hughes C. *Mol Microbiol*, 1991; **5**: 2391
- 15 Koronakis V, Koronakis E, Hughes C. *Mol Gene Genet*, 1988; **213**: 551
- 16 Driessen A J M. *TIBS*, 1992; **17**: 219
- 17 Salmond G P C, Reeves P J. *TIBS*, 1993; **18**: 7

The Mechanism of Protein Secretion in *E. coli*. Yuan Yu, Gan Renbao (*Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai 200031, China*).

Abstract Secretive proteins in *E. coli*, which are located in the inner membrane, the outer membrane, the periplasmic space or the environment, have a structure containing the secretion signal on the N or C terminal. These two sorts of proteins elbow through the inner membrane with the help of two series of distinguishable protein factors and realize their final position by an unelucidated mechanism. The molecule containing its signal peptide on the N terminal is assisted by protein factors of the Sec family when rushing through the cytoplasmic membrane. The leading peptide might be cut off in the process. ATP and the electri-

cal potential supply the energy for the secretion. The molecule which has secretion signal on its C terminal is helped by the Hly family members to pass the inner and outer mem-

brane at the same time while omitting the periplasmic space.

Key words protein secretion, nascent peptide, protein factors, secretion signal, *E. coli*

CpG 甲基化与基因调控

康毅滨 吴晓晖 魏 勇 柴建华

(复旦大学遗传学研究所, 上海 200433)

摘要 CpG 双核苷酸中的胞嘧啶甲基化和去甲基化在哺乳动物的基因表达中有重要的调控作用. 哺乳动物基因组中有两类启动子: CpG 岛启动子和 CpG 缺乏启动子. 两种蛋白质因子通过与甲基化 CpG 的相互作用影响基因表达. CpG 岛在基因组分析中也有广泛的用途.

关键词 甲基化, 基因表达, CpG 岛, 基因组分析

CpG 双核苷酸中胞嘧啶环第 5 位碳原子的甲基化是哺乳动物最为重要的一种 DNA 修饰, 约 75% 的 CpG 位点是甲基化的. 哺乳动物的基因组根据 DNA 甲基化程度的不同可以分为两个部分^[1]: 约 98% 的 DNA 中, CpG 双核苷酸大约每 50~100 bp 出现一个, 而且甲基化程度很高. 其余约 2% 的 DNA 中, 低甲基化的 CpG 双核苷酸约 10 bp 出现一个. 后者虽然只占基因组的一小部分, 却引起人们广泛的兴趣. 这一部分 DNA 以 45 000 多个约 1 kb 大小的片段散布于基因组中, 称为 CpG 岛. 它们与基因的 5' 端密切相关^[2], 包括了基因的启动子和 5' 端的一个或数个内含子. 在人类基因组中大约 60% 的基因 (包括全部持家基因和 40% 的组织特异性表达基因) 含有 CpG 岛^[3]. DNA 的甲基化对哺乳动物的正常发育有重要的调控作用, 并且这种调控很大程度上是通过 CpG 的甲基化与去甲基化起作用的. 因此, DNA 甲基化和 CpG 的研究将增进我们对基因调控和人类基因组的认识.

1 DNA 甲基化在哺乳动物发育和进化中的意义

甲基化的 DNA 是诱发突变的主要因素之

一, 尽管 CpG 在哺乳动物基因组中的出现频率只有预期频率的 1/5, 但约有 1/3 人类遗传病可归因于由 CpG 到 TpG 的颠换所引起的点突变, CpG 的甲基化可大大增加突变的概率. 为了逃避这种危险, 大部分动物的基因组甲基化程度很低, 而高等脊椎动物则不然, 甲基化 DNA 广泛分布于它们的基因组中, 包括许多编码基因^[4]. 因此 DNA 甲基化必然对哺乳动物的正常发育起着不可缺少的作用以致于能抵消由突变概率增大带来的遗传负荷.

早在 1975 年, Riggs 就推测甲基化可能是基因表达调节系统的基础. 此后, 在 1979 年 Taylor 等人的实验首先证实 DNA 甲基化可能在哺乳动物的发育中扮演一定的角色, 他们发现 10T1/2 细胞用甲基化抑制剂 5-氮胞苷处理后能分化成肌肉细胞和一些其它的类型细胞. 之后的许多研究成果进一步证实甲基化对基因表达有重要的调控作用, 这些成果主要有: a. 许多在分化细胞中特异性表达的基因, 它们的转录调控序列是非甲基化的, 而在其它类型细胞中相应的这些序列是甲基化的; b. 在特定