

## 微型述评

## MAR 文库及其在真核基因组作图上的应用研究

周丛照 钱信果 李振刚

(中国科学技术大学生命科学学院, 合肥 230027)

**摘要** 基质结合区 (matrix association regions, MAR) 是真核生物基因组中特有的一种参与基因表达调控和染色体动力学的顺式作用元件, 也是真核染色体上的一种固有且各不相同的分子标记。通过体外 (*in vitro*) 或体内 (*in vivo*) 结合法可以得到与核基质特异性结合的 MAR 分子而构建 MAR 文库。体外 MAR 作为一种结构性的边界元件可用于染色体物理图谱的构建; 而体内 MAR 作为某一组织中与核基质特异性结合的功能元件, 则可用于研究已知基因的表达调控和染色体组织以及对新基因的分析。

**关键词** MAR 文库, 核基质, 基因组作图

**学科分类号** Q78

随着人类和其他一些重要的模式生物基因组计划的完成, 分子生物学即将进入后基因组时代 (post-genome era), 我们面临的一系列重要问题包括研究大量的 DNA 序列与其生物学功能之间的对应关系、不同的 DNA 序列之间的结构和功能关系以及如何对越来越多的 DNA 序列进行工厂化分析<sup>[1]</sup>。

构建 YAC 重叠群 (contig) 是对某一物种的 YAC 克隆进行排序的最常用的手段, 但染色体上的一些固有特征同样可以将某一 DNA 序列在染色体上进行线性定位<sup>[2]</sup>。通过带型 (如 G 带、QC 带) 分析将 DNA 片段定位到染色体上的分辨率约为 5~10 Mb, 这对于基因组的大尺度作图是非常有意义的; 一些重复序列 (如 Alu 家族和 Kpn 家族) 则可以作为较高分辨率的标记。如果以染色体上特有的边界元件 (boundary elements) 为标记, 将相邻的两个边界元件之间的 DNA 片段在整条染色体或 YAC 克隆上进行排序, 就可以使基因组测序的效率大大提高。目前已在很多真核生物基因组中发现的基质结合区 (matrix association region, MAR) 就是这样一种边界元件。

## 1 MAR 的分子结构和生物学功能

MAR 是真核基因组中能特异性地和核基质紧密结合的 DNA 区域, 一般长约 100~1 000 bp。由于富含 A+T, 所以 MAR 一般易于弯曲和解链, 其二级结构表现为狭窄的 DNA 小沟。尽管 MAR 具有很多相似的一级结构特征, 但不同的 MAR 分子之间并不能相互杂交。通过比较 MAR 与来源于不同物种的核基质的体外结合能力, 发现 MAR 与核基质的相互作用在进化上是高度保守的<sup>[2]</sup>。

真核生物的基因组一般通过 MAR 被锚定在核基质而被分隔成拓扑学限制性的 DNA loop, 其大小从不足 1 kb 至 300 kb 以上不等。一个 DNA loop 既是一个转录单位, 也是一个复制单位, 同时还是染色体包装构建的一个基本单位。作为真核生物特有的一种顺式作用元件, MAR 与增强子不同, 它对邻近基因的表达没有增强作用, 只对稳定整合于染色体上的外源基因表现出位点不相关而拷贝数相关的增强作用<sup>[3]</sup>。

收稿日期: 1998-03-05, 修回日期: 1998-07-01

## 2 MAR 文库及其应用

抽提 MAR 有两种方法, 一是将酶解后的 DNA 片段与核基质进行体外结合 (体外结合法), 二是以限制性内切酶对去除组蛋白后的核晕 (nuclear halo) 进行成分消化 (体内结合法), 然后回收结合上的或残留的 DNA 片段即为 MAR. 将获得的 MAR 片段 (带有合适的限制性内切酶粘端, 一般采用 *Mbo* I 或 *Sau* 3A) 重组到合适的载体 (如 pUC18/19 等) 中, 转化大肠杆菌即可得到 MAR 文库.

与真核基因组中另外三种边界元件——LCR (locus control regions)、SCS (specialized chromatin structure) 和绝缘子 (insulator) 相比, MAR 具有两个非常重要的特性, 一是与核基质的特异性紧密结合, 从而可以很方便地将其从基因组中分离出来; 二是同一基因组中不同的 MAR 分子之间并不能相互杂交, 所以分布于结构单位或功能单位交界处的 MAR 就是一种特异性很高的分子标记. 真核生物基因组中的 DNA loop 平均大小一般在 10 ~ 100 kb, 而这些 DNA loop 大多以 MAR 为边界. YAC 文库中的插入片段为 200 ~ 2 000 kb, 因此以 MAR 作为标记有助于 YAC 重叠群的构建. 可与同一个 MAR 分子杂交的任意两个 YAC 克隆, 必将从该 MAR 处开始重叠.

Nikolaev 等<sup>[4]</sup>将克隆于  $\lambda$  文库中的 DNA 片段经多轮 PCR 扩增和与核基质的体外结合, 回收 MAR 片段而构建了一个人类第 19 号染色体上特有的 MAR 文库, 并将这些 MAR 片段定位于该染色体上. 如果从某一个 YAC 克隆出发, 利用体外结合法同样可以获得其中的 MAR 片段, 再结合限制性酶谱将这些 MAR 片段进行排序, 即可得到该 YAC 克隆的 MAR 图谱 (MAR map), 其分辨率即为 DNA loop 的大小. 这对于 YAC 克隆的进一步亚克隆和测序是非常有用的. 随着染色体显微切割和分离技术的不断完善, 并结合物理图谱, 构建某一染色体或染色体区段的 MAR 图谱是完全可

行的.

在某一特定发育时期的某一特异组织中, 只有一部分 MAR 分子紧密结合在核基质上, 这些 MAR 一般位于在该组织中特异性表达的基因的侧翼. 回收核基质上紧密结合的 DNA 片段, 即可得到该组织中的体内结合的 MAR 文库. 参照对应时期和组织中的 cDNA 文库, 分析 MAR 分子和 cDNA 之间的对应关系, 将有助于深入研究有关基因的表达调控、位于相邻的两个 MAR 所界定的一个染色质结构域中的有关基因及其相互关系、同时表达的一组基因的功能和染色体组织之间的对应关系. 这也正是 MAR 图谱相对于 STS 图的最大优越点, 因为 STS 图只能提供线性结构上的相关性.

我们正处在从“序列基因组” (sequence genomics) 到“功能基因组” (functional genomics) 的过渡时期<sup>[5]</sup>. 在对蛋白组 (proteome) 进行研究的时候, 同样存在一个类似于基因组研究的问题, 就是如何对大量的 DNA 或蛋白质按照位置或功能相关性进行分段处理. 目前研究新发现的基因主要采用两种方法, 一是序列比较法 (即将其与已知序列进行同源性分析), 二是对其 cDNA 克隆在酵母中进行遗传缺失的互补实验. 第一种方法对绝对的新基因 (即在任何物种中均未曾发现) 无能为力, 而第二种方法只能对与酵母中的某种性状存在对应关系的一些基因进行分析. 体内 MAR 文库与 cDNA 文库的有机结合, 可以揭示更多的有关新基因与已知基因之间的结构和功能关系.

## 参 考 文 献

- 1 Oliver S G. From DNA sequence to biological function. *Nature*, 1996, **379** (6564): 597~ 600
- 2 Okada S, Tsutsui K, Tsutsui K, *et al.* Subdomain structure of the matrix attachment region located within mouse immunoglobulin  $\kappa$  gene intron. *Biochem Biophys Res Comm*, 1996, **222** (2): 472~ 477
- 3 Jenuwein T, Forester W C, Fernandez-Herrero L A, *et al.* Extension of chromatin accessibility by nuclear matrix attachment regions. *Nature*, 1997, **385** (6613): 269 ~ 272

4 Nikolaev L G, Tsevegiyn T, Akopov S B, *et al.* Construction of a chromosome specific library of human MARs and mapping of matrix attachment regions on human chromosome 19. Nucl Acid Res, 1996, **24** (7): 1330~ 1336

5 Huang G M, Miao G-H. The dawn of the post-genome era, seen from the ocean front. Trends in Biotech, 1997, **15** (6): 200~ 202

**MAR Library and Its Application in Eukaryotic Genome Mapping.** ZHOU Cong-Zhao, QIAN Xin-Guo, LI Zhen-Gang ( *School of Life Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China* ).

**Abstract** Matrix association region ( MAR ) is not only a kind of *cis*-acting element for regula-

tion of eukaryotic gene expression and chromosome dynamics, but also a type of fixed and specific DNA marker on the eukaryotic chromosomes. MAR library can be constructed by *in vitro* or *in vivo* association of DNA fragments with the nuclear matrix. *In vitro* MARs can be used in construction of chromosome's physical map, and *in vivo* MARs can be applied in studying the expression, regulation and chromosomal organization of known genes, and analyzing the newly discovered genes.

**Key words** MAR library, nuclear matrix, genome mapping

# 趋化因子的研究进展

黄仕和

( 卫生部武汉生物制品研究所, 武汉 430060 )

**摘要** 趋化因子家族分为 4 类 ( CXC 、 CC 、 C 和 CX3C ), 估计有 40~ 50 种人类趋化因子. 趋化因子及其受体的基因定位、结构和功能已逐渐阐明. 它们在正常和非正常生理状态下起着重要的作用.

**关键词** 趋化因子, 趋化因子受体, 艾滋病

**学科分类号** Q75

1992 年, 一次国际研讨会上学者们建议把对白细胞有化学趋化作用的细胞因子 ( Chemoattractant cytokines ) 简称为趋化因子 ( Chemokines ), 其功能为: a. 使细胞骨架重排, 引起细胞形态改变; b. 肌动蛋白的聚合与断裂, 引起板层足 ( lamellipodia ) 的形成和退缩 ( retraction ); c. 引起整合蛋白的上调和活化, 使白细胞粘附血管壁的内皮细胞; d. 使活化的白细胞内游离钙离子浓度升高; e. 产生杀微生物的活性氧及有生物活性的脂类物质; f. 释放贮存于细胞内颗粒的内容物, 如中性白细胞和单核细胞内的蛋白水解酶、嗜碱性白细胞内的组胺和白三烯、嗜酸性白细胞内的细胞毒性物质<sup>[1]</sup>. 而且在非正常生理状态

如慢性炎症、过敏性疾病、艾滋病、自身免疫性疾病和肿瘤里起着重要作用.

趋化因子可来源于不同种属的动物 ( 人、小鼠、猪、牛和豚鼠 ) 和多种器官 ( 胸腺、肺、肝、脾、淋巴结、阑尾、小肠、结肠、胃、心脏、睾丸、肾、气管和胰腺 ). 根据趋化因子一级结构的半胱氨酸 ( Cys ) 的排列位置, 1992 年只分为 CXC 类 (  $\alpha$  ) 和 CC 类 (  $\beta$  ) 两类, 它们都有 4 个保守的 Cys, 前者的第一个和第二个 Cys 之间间隔 1 个氨基酸, 后者的第一个和第二个 Cys 相邻. 根据 CXC 类趋化因子的 N 端与第一个 Cys 之间是否存在 ELR

收稿日期: 1998-04-01, 修回日期: 1998-06-22