

同源异形基因浅说

谭 景 莹

(北京市肿瘤防治研究所)

提 要

同源异形基因是决定果蝇体节形成的发育基因,其同源异形盒子编码同源异形结构域蛋白,在进化上极为保守,从低等到高等动物的基因组中都有存在。其表达具严格的时、空特异性,可控制细胞的分化状态及表型,推测可能是通过对其他基因的调节而发挥作用。最近表明线虫及哺乳类细胞中的转录因子也具有同源异形蛋白,初步证明它们也是转录因子,这对解释同源异形蛋白的功能、探索基因表达的调节机制有重要意义。

关键词 同源异形基因,同源异形盒子,同源异形结构域蛋白,POU 结构域,转录因子

同源异形基因(homoeotic gene)是最早在果蝇 DNA 中发现的一类基因。果蝇胚由许多彼此各异的体节组成,同源异形基因是参与体节分化及体型结构形成的发育基因,与个体发育及物种进化关系密切。它们易发生变异使生物变态,产生突变的后代。最初认为只是体节形成基因,近几年发现除果蝇胚外,在成虫以及不同种属动物的胚及成年动物的特异组织中都有表达,而且即使在果蝇胚中某些同源异形基因的表达也并不与体节形成有关。因此对同源异形基因的概念发生了变革,除控制体节发育外还具有更为广泛的生物学功能。

一、同源异形基因的特征

同源异形基因一般都很大,含多个极长的内含子,整个基因编码一个具多个不同功能结构域的同源异形蛋白(homoeotic protein)。每种基因无一例外都含有一段 180bp 长的特征性 DNA 片段——同源异形盒子(homoeotic box),简称盒子,编码一段同源异形结构域蛋白(homoeodomain protein),共 60 个氨基酸残基,有

DNA 结合活性。盒子在生物进化中极为保守,从酵母、软体动物、海胆、爪蟾、小鼠以至人的基因组中都有发现。不同种属动物相关的同源异形基因的盒子的同源性高低不等,但与 DNA 结合处的氨基酸绝对无变异。有的相关同源异形基因除盒子外,在其两侧尤其是蛋白的羧端也是相似的,甚至在氨端也有一定同源性,提示基因的全序列也是保守的。基因分不同的家族,同一家族的成员根据序列的同源程度又分为亚家族。

果蝇绝大多数同源异形基因都成丛地分布在长触角基因丛(ANT-C)和长胸部基因丛(BX-C)上。每种基因在丛中的物理位置与其在胚发育时延前-后体轴进行表达的次序是一致的^[1]。这种组织结构与功能的相关性是从低等到高等动物同源异形基因的共同特征。石斑鱼、爪蟾、鸟类、小鼠以至人的基因组中也是成丛分布、依次表达的。原位杂交表明,和果蝇一样,小鼠位于基因丛最 5' 端的基因在发育胚的最末端表达,而位于 3' 端的则在最前端区域表达^[2]。提示昆虫与脊椎动物的同源异形基因间

的组织结构及功能是保守的,可能是由一个古老基因在生物进化中经过复制加工演变而来。

二、同源异形基因的生物学作用

控制生物的个体发育。果蝇同源异形基因可将发育胚分裂成体节并限定体节分化为成虫的不同组织和结构。每一体节都是由多种同源异形基因进行特异配伍组合共同决定的,各种基因间有序地相互作用决定了体节的发育。若同源异形基因突变则导致易位性变态,影响正常发育,在某一部位长出正常情况下长在其他部位的器官。脊椎动物的同源异形基因亦在胚的特定阶段表达,且往往仅限于一定的解剖部位,也是脊椎动物胚的发育基因^[3]。

同源异形基因在成年动物细胞分化中亦起调节作用,这与它们在发育中的作用无关,多种基因在细胞中配合表达最终可决定细胞分化的途径和类型。造血细胞系是研究分化的最好材料。小鼠及人淋巴细胞、粒细胞和红细胞系分别代表造血细胞分化的不同阶段,在分析的36株细胞系中共发现20多种同源异形基因mRNA表达^[4]。不同细胞系表达的模式各异,有的带普遍性,各类细胞都可检测到,有的则仅见于特定株系,甚至限于某一株系的特定分化阶段,说明表达与细胞类型及分化程度有关。不同基因甚至同一亚家族的不同成员功能亦有不同^[3]。有的决定分化途径及类型,有的与细胞增殖有关,有的与肢体再生有关^[5]。人结肠细胞系分化以及肌肉生成时均有同源异形基因表达。可见,同源异形基因不仅是体节形成的发育基因,而在生长、分化及再生中扮演重要角色,可能是生物体中重要的调节基因。

三、同源异形基因的表达及其调节

无论昆虫还是高等动物,无论胚还是成年动物的特异组织,同源异形基因的表达均呈现阶段和位置特异性。同一基因在不同发育阶段表达产物不同,同一阶段的不同组织表达的产物亦不同。许多基因的表达仅限于胚的前后体轴上,不同基因的mRNA在轴的前、后部积累

量不同,同一基因的几种不同mRNA的表达亦有空间性,有的前部多,有的则相反^[6-9],表现了严格的时、空特异性控制作用。

表达的调控可在不同水平上进行。转录水平的调节包括使用不同的启动子及加尾位点生成不同的mRNA^[6]。在转录后加工水平上,由于剪接方式不同生成多种执行不同功能的mRNA^[9,10],例如Abd-B转录成的四种mRNA中, α 与形态发生m功能有关, β 与调节r功能有关。同一基因的不同剪接可产生结构有差异的蛋白,在不同阶段发挥功能^[6]。同源异形基因一般都很大,转录所需时间相对较长,通过增加转录全基因所需时间的方式控制表达的节奏。同源异形基因在mRNA的5'侧都带有很长的先导序列,含有多个翻译起始密码子,生成不同的开放读码框架(ORF),蛋白产物的大小及序列亦有差别^[10],序列差别及个别氨基酸取代均可影响蛋白的构象及功能^[11]。同一ORF亦可编码两个功能不同的产物,如牛乳头状瘤病毒的同基因编码的长蛋白为转录激活蛋白,短的为阻遏蛋白。爪蟾和小鼠亦可见到类似的调节。此外,在不同位点对产物蛋白进行修饰亦可在不同发育阶段在不同组织中发挥作用,如ftz基因蛋白的磷酸化修饰^[12]。

同源异形蛋白的配合作用及交互调节是同源异形基因的共同功能。Ubx蛋白做为DNA结合蛋白可与Antp基因的启动子区结合,抑制其转录^[13],Ubx又受iab-2基因的阻遏。en基因表达受ftz基因的调节,ftz通过其同源异形结构域与en基因上游的顺式调节序列结合,激活en的转录,同时,en蛋白又与ftz基因竞争其DNA结合位点,消除ftz的激活作用^[4]。Abd-B基因中r序列可阻抑m序列的表达^[10]。同源异形蛋白可对其自身基因进行调控,ftz及Ubx都有增强子活性,可自我激活。

同源异形基因表达调节异常会引起病理改变,造血细胞系转化为白血病时同源异形基因发生重排,有外源病毒DNA的整合^[15]。人消化道的肠上皮化生可能是同源异形基因的转化。提示同源异形基因表达失调在肿瘤生成中

的作用。

四、同源异形蛋白与转录因子

做为转录因子必备的条件是：识别特异 DNA 序列并与之结合；定位在细胞核内；能与其他转录因子形成复合物。同源异形蛋白符合上述要求。NMR 结果表明盒子编码的同源异形结构域蛋白有螺旋-转角-螺旋结构，和酵母结合型蛋白 MAT α 及原核细胞 DNA 结合蛋白的结构相似，后二者均能与特异 DNA 序列结合调节转录作用。结构的相似性提示功能的保守性。同源异形蛋白的特异性 DNA 结合作用是在同源结构域内^[47]，尤其是在几个不变的氨基酸上，有时也受蛋白内其他结构域的影响。不同基因的结合活性不同，同一基因的不同蛋白产物与 DNA 的亲和力也不同^[9]。但不同基因的同源异形结构域的 DNA 结合特异性有近似性，识别序列相似，互相竞争靶基因的结合位点，而许多 DNA 结合位点并不仅仅与一种转录因子结合。相关的同源异形蛋白间竞争与 DNA 结合将决定那种同源异形蛋白占领某一结合位点，那种占领附近位点，蛋白间的竞争和配合形成了复杂的调节网络。除了能与 DNA 结合外，同源异形蛋白的细胞核定位，在核内可与不同的转录因子蛋白形成复合物等^[18]都提示同源异形蛋白可能是调节蛋白，对其靶基因，包括其他调节基因及非调节性结构基因（可直接决定细胞的表型）在转录水平上进行调节，从而发挥其生物学功能。

五、同源异形盒子与 POU 蛋白

对同源异形基因的转录调节机制往往是推测，一直未鉴定出受其调节的靶基因，最近在转录因子基因中发现了盒子及同源异形结构域蛋白使研究有了重大突破。Pit-1 是垂体中合成的生长激素基因及催乳激素基因的转录因子^[19]，OTF-1 是各类型哺乳类细胞广泛存在的转录因子，可激活 SnRNA 及 H2B 基因的转录^[20]，OTF-2 是 B 淋巴细胞 Ig 基因的转录因子^[21]，unc-86 蛋白是线虫神经细胞的分化因

子^[22]，它们都具有类似同源异形结构域蛋白的结构，更有意义的是在其上游还有一段 75 个氨基酸长的保守性很强的 POU 特异序列，中间被 20—27 氨基酸长的非保守性连接区隔开，这段总长 155—162 氨基酸序列为上述四种蛋白所共有，因此用它们的第一个英文字母命名为 POU 结构域或 POU 蛋白，由氨基端的 POU 特异序列及羧基端同源异形结构域两个亚结构域组成（见图 1）。POU 蛋白羧基端的同源异形结构域属于新的基因家族，不具有果蝇的形态发育功能，因此 POU 结构域在转录中的作用是十分令人瞩目的。

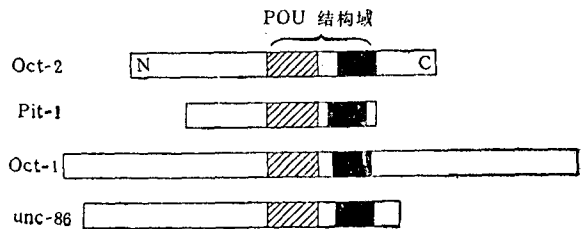


图 1 POU 结构域模式图

虚线框代表 POU 特异序列，黑框代表同源异形结构域，中间为连接区

转录因子至少由两个功能区组成：DNA 结合区，负责将转录因子维系至靶基因的特异 DNA 序列上；激活区，使转录因子与转录复合物中的其他蛋白因子结合，并协助其与靶基因的启动子结合。POU 结构域中的同源异形结构域中也有螺旋-转角-螺旋结构，但与 DNA 结合的特异性不高^[23,24]。例如 OTF-1 及 OTF-2 都与 DNA 中保守性八核苷酸 ATGCAAT 结合，但也能与 MAT α 2 的结合位点结合。OTF-1 激活区活性比 OTF-2 差，只能激活靠近启动子较近的 SnRNA 及 H2B 基因，不能作用于距启动子较远的 Ig 基因。但除了激活能力强弱差别外，一定还有其他因素参与决定转录因子作用的特异性。

POU 结构域中靠近氨基端的 POU 特异序列可形成多个 α 螺旋，可与 DNA 直接接触，亦为识别特异 DNA 序列所必需，和靠近羧基侧的同源异形结构域互相配合共同决定 DNA

序列的识别及结合。二者中间的连接区能与 DNA 中 10 多个碱基对相接触,维持蛋白与 DNA 间相互作用的柔韧性及可塑性,使 DNA 位点可扩展或缩小,有伸缩余地。

与 DNA 特异性结合并不能完全解释转录因子作用的特异性。基因表达的调节不但包括 DNA-蛋白间的相互作用,也包括蛋白-蛋白间的相互作用。值得提出的是盒子平均只编码全蛋白的 10% 左右,同源异形蛋白的其他结构域可介导蛋白-蛋白间的特异作用。POU 结构域中的 POU 特异序列为其他调节蛋白提供了作用场所,具有两个亚结构域的 POU 结构域将蛋白包围在 DNA 周围,这种结构可以避免在与其他转录蛋白因子作用时受立体特异性的限制,并可同时在螺旋对侧与多种转录因子相互作用,以便形成稳定的转录复合物,有利于靶基因的表达。研究结果表明果蝇 *en* 蛋白在调节基因表达时与核中特异蛋白组分结合后才能发挥作用^[25]。病毒 VP16 为活性强的转录因子,本身并不与 DNA 结合,但可与 OTF-1 结合而改变后者的作用特异性^[26]。

总之,基因表达的调节是通过多种因素、多条途径实现的,POU 蛋白的调节作用可能是重要途径之一。有关 POU 蛋白的研究正在深入,*unc-86* 蛋白是否是转录因子? 转录因子是否是控制发育的蛋白? 能否在更多的蛋白中发现 POU 结构域? 这些都是亟待解决的问题。一

旦证实 POU 结构域在蛋白质中存在的普遍性及其全部生理功能,人们将在基因表达调节机制这一重大生物学领域中有更大的迈进。

参 考 文 献

- 1 Harding K *et al. Science*, 1985; 229: 1236
- 2 Graham K *et al. Cell*, 1989; 57: 367
- 3 Dallé P, Duboule D. *EMBO J*, 1989; 8: 1507
- 4 Kongsawan K *et al. EMBO J*, 1988; 7: 2131
- 5 Savard P *et al. EMBO J*, 1988; 7: 4275
- 6 Bermingham J R, Scott M P. *EMBO J*, 1989; 7: 3211
- 7 Gaunt S J *et al. Nature*, 1986; 324: 662
- 8 Irish V F *et al. EMBO J*, 1989; 8: 1527
- 9 Oliver G *et al. EMBO J*, 1988; 7: 3199
- 10 Delorenzi M *et al. EMBO J*, 1988; 7: 3223
- 11 Gaul U *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 1989; 86: 4599
- 12 Krause H M, Gehring W J. *EMBO J*, 1989; 8: 119
- 13 Beachy P A *et al. Cell*, 1988; 55: 1069
- 14 Jaynes J B, O'Farrell P H. *Nature*, 1988; 336: 744
- 15 Blatt C *et al. EMBO J*, 1988; 7: 4283
- 16 Otting G *et al. EMBO J*, 1988; 7: 4305
- 17 Desplan C *et al. Cell*, 1988; 54: 1081
- 18 Schreider E *et al. EMBO J*, 1988; 7: 4221
- 19 Ingraham H A *et al. Cell*, 1988; 55: 519
- 20 O'Neill E A *et al. Science*, 1988; 241: 1210
- 21 Ko H -S *et al. Cell*, 1988; 55: 135
- 22 Robertson M. *Nature*, 1988; 336: 522
- 23 Müller M M *et al. Nature*, 1988; 336: 554
- 24 Scheidereit C *et al. Nature*, 1988; 336: 551
- 25 Gay N Y *et al. EMBO J*, 1988; 7: 4291
- 26 Gerstner T, Roeder R G. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988; 85: 6347

[本文于1989年3月18日收到]

信息服务

猪毛猪鬃加工新技术

随着养猪事业的不断发展,养猪专业户越来越多。然而大多数的猪毛都白白浪费掉了,十分可惜。为此,北京市星火技术研究所与某外贸厂联合培训猪毛回收加工技术,使其变废为宝,换取大量外汇。投资 9000 元,年利润在 10—25 万元,包技术、包供设备、包销全部产品(外贸厂),签订包销产品公证合同。我处备有可行性分析报告。每份 25 元。如果只需包销产品,不学技术,交 700 元即可签订 1—3 年产品包销合同。技术转让培训费:单位 7400 元,个体 6400 元。

[北京 867 信箱 20816 组, 邮政编码 100024, 李 群]