

## 兔乳腺组织中与牛 $\alpha_{s1}$ 酪蛋白基因 5' 调节区特异结合的蛋白\*

陈瑞环 劳为德

(中国科学院生物物理研究所,北京 100080)

**关键词**  $\alpha_{s1}$  酪蛋白基因, 5' 调控区, DNA 结合蛋白, 乳腺组织特异, Southern-Western 杂交

$\alpha_{s1}$  酪蛋白基因为编码  $Ca^{++}$  敏感性酪蛋白的基因家族成员之一, 在催乳素的作用下由乳腺组织特异地合成和分泌, 并受糖皮质激素、孕酮等多种激素的诱导和调节。在酪蛋白基因的 5' 端存在数个可能起顺式调节作用的元件<sup>[1]</sup>, 对酪蛋白基因反式调节因子的了解尚不充分, 只是根据对该基因部分序列分析的结果推测存在某些结合蛋白的可能性<sup>[2]</sup>。

由于兔乳腺组织易得, 且  $\alpha_{s1}$  酪蛋白基因 5' 调节区进化上比较保守, 因此我们以兔为材料, 从哺乳期及正常乳腺组织、肝组织中提取总核蛋白, 并以磷酸纤维素  $P_{11}$  柱层析得到不同盐浓度的洗脱组分, 进行聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 或 SDS-PAGE。利用 Western 转移, 将电泳后蛋白吸印至硝酸纤维素膜上, 进行 Southern-Western 杂交。所用探针为  $^{32}P$ -标记的牛  $\alpha_{s1}$  酪蛋白基因转录起始位点上游 600bp 及下游 200bp (PCR-800)、上游 14kb 及下游 5kb ( $\lambda$ AA1)<sup>[3]</sup>。放射自显影的结果表明: 哺乳期兔乳腺组织总核蛋白有至少五条带能与  $\lambda$ AA1 杂交, 有二条带与 PCR-800 杂交; 正常兔乳腺组织总核蛋白有二条带与 PCR-800 杂交, 与哺乳期者对应; 经  $P_{11}$  柱层析后, SDS-PAGE, 仅哺乳期兔乳腺组织总核蛋白 0.2mol/L KCl 洗脱组分有一条带能与  $\lambda$ AA1 杂交, 分子量约为 30000, 正常乳腺组织者未见杂交

带; 肝组织总核蛋白未见任何杂交带。

因此,  $\alpha_{s1}$  酪蛋白基因除了 5' 上游近端 (PCR-800) 存在结合蛋白外, 在 5' 上游远端或结构基因部分也存在结合蛋白。SDS-PAGE 蛋白亚基解离, 只有以单亚基形式即具备结合功能的蛋白才有阳性杂交, 这可能为 PAGE 与 SDS-PAGE 检出的结合蛋白数量差异的原因。

$\alpha_{s1}$  酪蛋白基因 TATA 框序列 (TTTAA·AT) 说明其启动区为一弱启动区<sup>[4]</sup>, 但其 mRNA 和蛋白质含量却很高, 这种差别可能提示了  $\alpha_{s1}$  酪蛋白基因有其特殊的顺式作用元件和反式作用因子来确保其转录的效率或 mRNA 稳定性的维持。我们发现哺乳期兔乳腺组织中  $\alpha_{s1}$  酪蛋白基因 5' 端及上游区存在至少五个结合蛋白, 其中一个以单亚基形式为功能单位, 且可能为泌乳特异的结合蛋白, 该蛋白结合位可能位于  $\alpha_{s1}$  酪蛋白基因的 5' 远端。这些结果均说明  $\alpha_{s1}$  酪蛋白基因的表达在哺乳期乳腺组织中受到复杂的反式调控。

### 参 考 文 献

- 1 Bonsing J *et al.* *Aust J Biol Sci*, 1988; 41: 527
- 2 Gorodetsky S I *et al.* *Gene*, 1988; 66: 87
- 3 陈瑞环等. 生物工程学报, 1991; 待发表
- 4 Yu-Lee L Y *et al.* *Nucl Acids Res*, 1986; 14: 1883

[本文于1991年6月15日收到, 6月18日修回]

\* 本课题由七五攻关项目资助。