

property of antibody, antigen-based array was utilized. The concentration of the proteins immobilized onto slides is an important factor for determining the sensitivity in detecting the interaction of antigen-antibody. The interactions of goat-anti-mouse and goat-anti-rabbit antibodies with their corresponding antigens were proven specific as revealed by the results generated from the present protein arrays.

Key words protein microarray, immobilization, fluorescence labeling, antigen-antibody interaction

* This work was supported by a grant from the National Natural Sciences Foundation of China (39888001).

** Corresponding author. Tel: 86-10-62772239, E-mail: jcheng@tsinghua.edu.cn

Received: July 13, 2001 Accepted: July 25, 2001

真核生物染色质隔离子

章波 刘昕

(第三军医大学分子遗传学教研室, 重庆 400038)

真核生物的基因组较原核生物复杂, 其基因包含在染色质中, 基因的表达调控十分精细. 真核生物的染色体由一系列结构与功能独立的单元组成, 各个单元的基因表达情况各不相同. 各单元间的结构称为边界元件, 它使一侧的基因免受另一侧调控元件的影响. 这就是限定染色质转录功能区的染色质隔离子 (chromatin insulator). 染色质隔离子是顺式作用的 DNA 序列, 它参与更高层次上的基因表达调控.

1 染色质隔离子的发现及生物学功能

早在 1985 年, 人们就在果蝇的染色体 87A7 的两侧发现了 *scs* 和 *scs'*. Kellum 等作了关于染色质隔离子的最早研究报告. 他们将卵黄蛋白-1 的增强子, *hsp 70* 启动子和 *lacZ* 编码区构建为嵌合基因, 然后将隔离子插入在增强子与启动子之间, 检测 LacZ 蛋白的表达. 结果发现 *scs* 及 *scs'* 能阻断增强子转录激活活性.

染色质隔本身对基因的表达强度没有增强或者减弱的作用. 它是染色体上相邻转录功能区的边界序列, 使基因的表达免受邻近转录功能区调控元件的作用. 与增强子和沉默子相似的是, 染色质隔离子也通过与之相结合的蛋白质来发挥作用. 现在已经发现了很多染色质隔离子, 它们在 DNA 一级结构没有任何相似性, 与之结合的蛋白质也多种多样. 染色质隔离子有两个基本功能: 其一是增强子阻断活性, 其二是位置效应保护作用.

当染色质隔离子的位置介于增强子与启动子之间, 则增强子的转录激活活性被阻断, 而位于增强子和启动子的外侧时就没有此作用. 更有研究显示, 染色质隔离子不在增强子与启动子间同样能阻断增强子的转录激活作用. 有意思的是, Muravyova 和 Cai 的研究显示, 染色质隔离子的拷贝数及位置对其增强子阻断活性密切相关. 当在增强子与启动子间插入 2 个染色质隔离子时, 不能阻断增强子转录激活作用, 而在启动子或者增强子的两侧都插入染色质隔离子时, 增强子的转录激活活性被更有效地阻断.

许多观察到的位置效应异质性 (position effect variegation) 可以解释为邻近调控元件的干扰. 在转基因

时, 目的基因整合到染色体上的不同位置而受到明显的位置效应, 表达量的差别很大, 而在目的基因的侧翼连接上染色质隔离子, 则目的基因往往不受染色体位置效应的影响.

2 染色质隔离子的作用机理及应用

loop 模型是一个较成熟的模型. 染色质隔离子结合蛋白与染色质上的 DNA 序列结合后, 可以募集其他的蛋白质结合上来形成一个复合物. 这些不同染色质区域上的复合物或者相互结合, 或者与核基质形成 loop 结构. 在同一 loop 区内的增强子与启动子可以相互作用, 而当增强子与启动子处于不同区域间时则不能作用. 该模型强调染色质隔离子对染色质高级结构的影响, 它可以很好地解释染色质隔离子对增强子或者沉默子的转录调控作用的阻断. 目前发现与染色质隔离子结合蛋白相互作用的蛋白质越来越多, 如 Chip, Nipped-B 等. 这些蛋白质均参与染色质高级结构的建立与维持. 这从侧面说明染色质隔离子的作用发挥涉及多种调节蛋白参与. 另一个模型是启动子“欺骗”模型. 该模型认为: 染色质隔离子与启动子和增强子一样, 是基因组上的重要调节序列, 其作用是调节启动子与增强子的相互作用, 染色质隔离子结合其相应的调节蛋白后形成类似转录复合物样的结构, 因而可以“欺骗”增强子与之相互作用, 而不与启动子结合.

一方面, 染色质隔离子使人们对基因表达调控有进一步的认识. 在基因组测序基本完成的今天, 人们还必需理解各个基因的表达调控. 染色质隔离子的研究可以深化基因表达调控的研究. 随着研究的深入, 越来越多的染色质隔离子将会在基因组上发现. 另一方面, 可以利用染色质隔离子的特性来构建载体. 逆转录病毒载体是基因治疗中广泛使用的载体之一. 由于逆转录病毒载体所介导的整合是随机的, 因而可将外源基因插入在基因组的任何位置. 又由于真核生物染色质位置效应的异质性, 外源基因在宿主基因组上整合后的表达量也各不相同. 利用染色质隔离子构建的载体, 可免受宿主染色质结构的影响, 提高外源基因的表达.