

GATA 转录因子家族在细胞命运调控中的作用

张珂¹⁾ 邓宏魁^{1, 2, 3)*}

(¹⁾ 北京大学, 北大-清华生命科学联合中心, 北京 100871; (²⁾ 北京大学生命科学学院, 细胞分化与工程实验室, 北京 100871;

(³⁾ 北京大学深圳研究生院, 化学基因组学实验室, 化学生物与生物科技学院, 深圳 518055)

摘要 在胚胎发育过程中, 组织器官的形成依赖于干细胞在空间与时间上正确的定向分化、增殖, 以及中间细胞的凋亡。这一细胞命运决定的过程必须被严格精确地调控, 从而保证胚胎发育过程中组织器官形成得以顺利地进行。在此过程中, GATA 转录因子家族扮演了不可或缺的角色, 它们在胚层分化、造血系统和心脏形成、胸腺和肠道发育以及肿瘤发生中都起到了重要的作用。本文结合目前对 GATA 转录因子家族的研究和本课题组实验结果, 介绍其在干细胞分化和维持, 以及它们在细胞重编程中所起的作用。

关键词 胚胎发育, 干细胞, GATA 转录因子, 细胞重编程

学科分类号 Q28, Q254

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2014.00260

GATA 转录因子家族一共包含了从 GATA1 到 GATA6 的 6 个成员。它们都包含了 2 个典型锌指结构的 DNA 结合氨基酸序列(Cys-X2-Cys-X17-Cys-X2-Cys), 从而被归于锌指蛋白家族(图 1)。根据 2 个锌指结构的位置分布, 靠近 N 端的被称为

N-finger, 靠近 C 端的称为 C-finger, 并且这 2 个锌指结构被赋予了不同的生物学功能(图 1)。

C-finger 主要是负责特异识别 WGATAR(W=A 或 T, R=A 或 G)DNA 碱基序列, 从而使 GATA 蛋白结合到特定的 GATA 结合位点; N-finger 则主要是

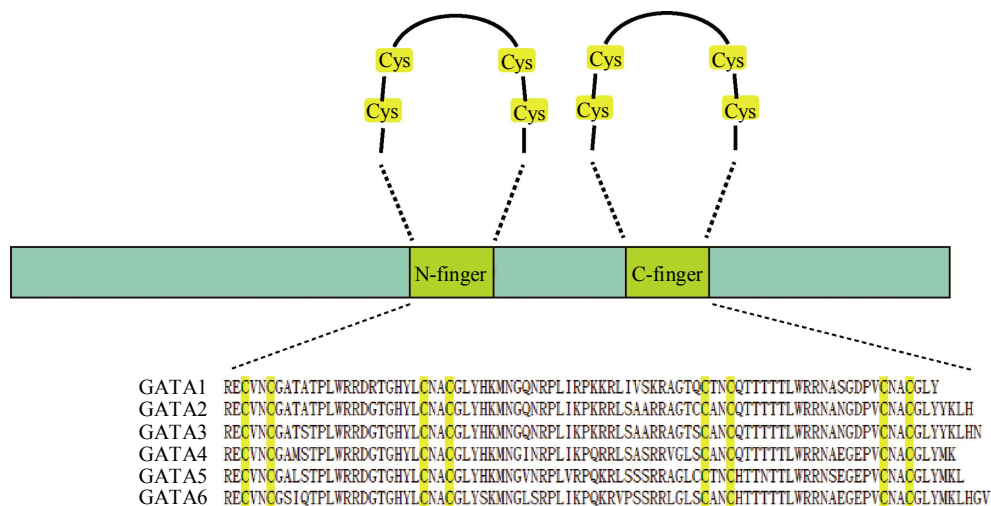


Fig. 1 A schematic diagram illustrating the structure of GATA family members

图 1 GATA 家族成员结构示意图

* 通讯联系人。

Tel: 010-62756474, E-mail: hongkui_deng@pku.edu.cn

收稿日期: 2014-09-09, 接受日期: 2014-09-15

通过与 GATA 相互作用蛋白的结合来调节 C-finger 的 DNA 结合能力^[1-2]。通过对 24 种脊椎动物中 GATA 基因的进化分析, 研究者发现所有的 GATA 基因可以被分为 6 种不同的分支簇。在脊椎动物早期发生了两次基因复制事件, 第一次复制产生了 GATA2、GATA3 和 GATA1, 第二次复制产生了 GATA4、GATA5 和 GATA6。其中 GATA5 在进化中离其他 5 种因子的距离最远, 是一种新型的 GATA 蛋白, 而 GATA2 是 6 种因子中最古老的一个^[3-4]。根据这 6 种 GATA 转录因子的表达范围主要分为三类, GATA1、2、3 主要表达于造血系统; GATA2 和 GATA3 表达于中枢神经系统和胸腺; GATA4、5、6 主要表达于心脏、肠胃和性腺。

1 GATA 因子在谱系发育中的功能与作用

1.1 GATA1

20 世纪 80 年代末, Evans 和 Tsai 等在研究红细胞中球蛋白基因增强子相互作用蛋白中, 发现了一种特异表达于红细胞中的蛋白, 称作 Eryf1 (erythroid transcription factor 1) 或 NF-E1 (nuclear factor erythroid 1) 或 GF1 (globin transcription factor), 直到 1990 年, 由于其 DNA 结合位点的特点而被最终取名为 GATA1, 其在小鼠和人染色体上都定位于 X 染色体^[5-8]。GATA1 主要在造血系统中的红细胞、巨核细胞、嗜酸性细胞、肥大细胞以及睾丸中的足细胞中表达^[9]。许多研究结果都表明 GATA1 对于红细胞生成是必不可少的, GATA1 缺失的胚胎干细胞能够分化为所有的非造血细胞以及白细胞, 但唯独不能生成成熟的红细胞^[9]。Pevny 等^[10]在进一步的体外实验中发现 GATA1 缺失并不影响红细胞祖细胞生成, 说明其主要作用于红细胞祖细胞分化为成熟红细胞的过程中。随后多种 GATA1 转基因小鼠实验也证实在胚胎发育过程中, 红细胞的生成离不开 GATA1 的正常表达。GATA1 基因敲除小鼠在胚胎期 10.5~11.5 天死于严重的贫血。而具有 GATA1 正常表达量 5% 和 20% 的 GATA1 敲降小鼠虽然生存时间延长了 1~3 天, 但最终仍然死于胚胎期红细胞祖细胞分化缺陷所造成的贫血^[11-13]。

GATA1 在嗜酸性细胞、巨核细胞还有肥大细胞中同样有着重要作用。在小鼠巨核细胞中 GATA1 的突变会造成血小板减少以及大量巨核细胞的形态异常, 并相对于正常小鼠延长了止血时间。这些突变细胞大部分不能正常地进行有丝分

裂, 并且显著地减少了巨核细胞相关 mRNA 的表达, 说明 GATA1 在巨核细胞成熟过程中的重要性^[14]。有研究针对 GATA1 启动子区域的 GATA 结合位点进行删除, 而这一区域被推测为 GATA1 的自我调节区域, 结果表明此位点的删除会导致嗜酸性细胞的减少^[15]。GATA1 高表达于成熟的肥大细胞中, 然而在骨髓祖细胞中的表达量几乎不能被检测到, 暗示 GATA1 在肥大细胞成熟过程中发挥了关键作用。在缺失了 GATA1 基因第一增强子和远端启动子的成年小鼠中, GATA1 处于低表达状态, 这些小鼠都表现出肥大细胞的发育缺陷, 具体表现为形态异常的肥大细胞, 以及在结缔组织和黏膜组织中肥大前体细胞的凋亡。在体外实验中也证实了这类 GATA1 低表达的细胞具有肥大细胞分化缺陷, 然而人为在这些突变细胞中过表达 GATA1, 其又能恢复形成正常肥大细胞的能力, 说明 GATA1 在肥大细胞分化中也不可或缺^[16]。

1.2 GATA2

1990 年, Yamamoto 等利用 GATA1 的 cDNA 探针在鸡细胞中分离出额外两种 GATA1 的同源物, 称为 NF-E1b 和 NF-E1c, 后来分别称作 GATA2 和 GATA3^[17-18]。GATA2 在造血系统里主要表达于造血祖细胞、早期红细胞、肥大细胞和巨噬细胞^[19]。在红细胞祖细胞中过表达 GATA2 能够促进细胞的增殖, 同时抑制细胞的分化。但是过表达 GATA1 或者 GATA3 并不能抑制这些祖细胞的分化以及促进自身的增殖, 因此说明在红细胞祖细胞中 GATA2 扮演着调节自我更新的作用^[20]。为研究 GATA2 在胚胎发育中的作用, Tsai 等^[21]利用基因敲除技术获得了 GATA2 纯合敲除小鼠 (GATA2^{-/-}), 这些小鼠都在胚胎期 10~11 天死于严重的贫血, 卵黄囊内的血管呈苍白色甚至很难观察到血管形态。进一步观察发现, 虽然 GATA2^{-/-} 小鼠能形成正常形态的红细胞祖细胞, 但是红细胞数量相对于正常小鼠减少 50%~85%, 从体内印证了 GATA2 对于造血祖细胞增殖的重要性。随后, 在胚胎干细胞体外分化实验和卵黄囊细胞体外培养试验中发现, GATA2 的缺失抑制了多能造血祖细胞的增殖以及肥大细胞的形成, 但是对红细胞的最终分化和巨噬细胞的形成并不是不可或缺的^[22]。多能造血祖细胞中 GATA2 的缺失不仅抑制了细胞增殖, 而且促进了细胞凋亡。进一步研究其机制发现, GATA2 和 P53 同时敲除 (GATA2^{-/-}P53^{-/-}) 的小鼠胚胎中造血祖细胞的数量得到了部分恢复, 说明

GATA2 调节造血祖细胞的增殖和凋亡与 P53 通路途径有所联系^[21]。在 GATA2^{-/-} 成体小鼠骨髓中造血祖细胞的数量相对于正常小鼠都有所下降, 并且伴随着细胞凋亡增多, 说明 GATA2 在胚胎和成体中的作用都主要是保证造血祖细胞的增殖以及抑制细胞凋亡^[23]。

1.3 GATA3

同 GATA1 和 GATA2 一样, GATA3 也表达于造血干细胞中, 并且在 T 细胞的形成过程中 GATA3 是必不可少的一个转录因子^[24]。胚胎干细胞或者骨髓中造血干细胞分化而来的 T 祖细胞迁移到胸腺后, 在这个特定的微环境下会被诱导分化发育为 T 细胞^[25]。在这个分化过程中 GATA3 被认为是胸腺 T 细胞形成的关键因子。CD4 单阳性 (CD4⁺/CD8⁻) 及 CD8 单阳性 (CD8⁺/CD4⁻) T 细胞的形成主要经历了以下几个重要阶段: a. 第一阶段, T 祖细胞从骨髓或胚胎干细胞通过血流归巢于胸腺, B 细胞分化潜能的丢失, T 细胞谱系分化能力的形成。b. 第二阶段, 早期 T 祖细胞开始分化, 经过 CD4/CD8 双阴性 (CD4⁻/CD8⁻) 时期的四个阶段 (DN1/2/3/4), 以及正向选择。c. 第三阶段, CD4⁺CD8⁻ 以及 CD4⁺CD8⁺ 的负向选择^[26]。而 GATA3 则在这三个阶段都起到了重要作用, 利用反义寡核苷酸在胚胎干细胞中 Lin⁻/c-kit⁺ 细胞群和胚胎胸腺细胞 c-kit⁺ 细胞群中敲降 GATA3 后发现, 在胚胎干细胞群中 T 细胞发育受到明显抑制, 而在胸腺细胞群中受到轻微抑制^[27]。另外一则体内实验中, 将具有 Lacz 报告基因的 GATA3 缺陷胚胎干细胞注射入囊胚中, 观察其分化发育能力。结果显示, GATA3 缺陷的细胞不能分化形成 T 细胞, 甚至不能形成 CD4⁺/CD8⁻ 早期 T 祖细胞^[28], 这些结果都显示了 GATA3 在最早期的 T 祖细胞形成中起到了重要作用。为研究第二阶段中 GATA3 的作用, 利用 LCK 启动子介导的 CRE 重组酶在特定的时空条件性敲除 GATA3 基因, 在敲除小鼠中发现, GATA3 在正向选择过程中可以调控 TCR 的表达从而影响 pTCR 的重排, 进而影响着 T 细胞的成熟, 同时在 CD4⁺/CD8⁻ 的 T 细胞形成中也是不可或缺的一个重要因子^[29]。在最终 CD4⁺、CD8⁺ 表达选择上, 最终成为 CD4⁺/CD8⁻ 的 T 细胞高表达 GATA3, 而 CD8⁺/CD4⁻ 型 T 细胞中 GATA3 的表达则减少。利用 CD2/LCR 启动子在 T 细胞发育过程中使 GATA3 持续高表达, 使得 CD8⁺/CD4⁻ 的成熟 T 细胞数量明显减少^[30], 而利用 CD4 启动子介

导的 CRE 重组酶条件性敲除 GATA3 使得 CD4⁺/CD8⁻ 的 T 细胞数量减少^[29]。在幼稚 CD4⁺/CD8⁻ 型 T 细胞继续分化为 Th1 和 Th2 型细胞的过程中, GATA3 在 Th2 细胞中高表达而在 Th1 细胞中低表达, 过表达 GATA3 会促进 Th2 细胞的分化而抑制 Th1 细胞的分化, 主要通过 GATA3 与 IL-12 相互抑制发挥作用^[31]。而条件性敲除 GATA3 则抑制了 Th2 细胞的分化而不影响 Th1 细胞的形成^[32-33]。以上结果都说明 GATA3 在 T 细胞整个形成过程中扮演了极其重要的角色, 除此之外, 近年来也有资料证实 GATA3 在自然杀伤性 T 细胞和 B 细胞的形成中发挥着关键作用^[34]。

1.4 GATA4

在利用 GATA 锌指结构区的核酸探针对小鼠胚胎期 6.5 天 (E6.5) cDNA 文库的筛选中, 发现了一个新的 GATA 结合蛋白, 按照惯例被称作 GATA4^[35]; 随后对小鼠胚胎期心脏 cDNA 文库进行功能性筛选的时候, 发现了另外两个鼠源 GATA 蛋白, GATA5 和 GATA6^[36-37]。GATA4、5、6 表达于多种中、内胚层来源的组织, 如心脏、小肠、肺、肝脏、性腺、胃、膀胱等, 并且在特定组织基因的表达上起到了重要作用。而在心脏和肠道发育过程中 GATA4、5、6 都有表达, 也说明了它们在这两个系统发育过程中的重要性, 以及在此过程中它们可能会有相互协作的功能^[38]。如下文所述, 针对于 GATA4、5、6 基因在鼠中功能性缺失的研究, 也的确印证了其在表达区域的重要性。GATA4 是胚胎期小鼠心脏细胞发育过程中出现最早的转录因子之一, GATA4^{-/-} 小鼠在 E8.5 天死亡, 并且伴有严重的心脏和前肠形成的缺陷^[39-41]。虽然这些突变小鼠的心脏腹侧成形异常, 出现心脏二分叉, 但是心肌分化却没有受到影响。然而在胚胎瘤细胞系 P19 中过表达 GATA4 能够促进其分化形成跳动的心脏细胞, 相反, 抑制 GATA4 的表达则会抑制心脏细胞的分化并且引发细胞凋亡^[42-43], 说明 GATA4 对于心肌的分化是一个重要的转录因子, 并且在 GATA4^{-/-} 小鼠体内, GATA6 的表达会相应地增加, 暗示在体内 GATA4 功能的缺失可能会由其他 GATA 因子来弥补。然而利用鸡胚胎研究的结果却未能支持这一功能互补的假设, 同时敲除一个或任意两个 GATA4、5、6 转录因子, 以及同时部分敲除 GATA4、5、6 三个因子虽然会造成心脏腹侧成形异常, 类似于 GATA4^{-/-} 小鼠表型, 但是仍然没有影响心肌细胞的分化^[44], 于是出现了另一

种假设, GATA4 缺失所造成的心脏形成异常是由于非细胞自主性的缺陷. 利用 GATA4^{-/-} 胚胎干细胞注射于八细胞囊胚中观察其体内分化, 发现嵌合小鼠都能形成正常的心脏, 并且 GATA4^{-/-} 细胞在心肌、心内膜、心房和心室都能够被检测到, 通过对高嵌合率小鼠的分析(GATA4 野生型细胞只在卵黄囊内胚层和前中肠内胚层中表达), 发现 GATA4^{-/-} 小鼠心脏腹侧缺陷是由于内胚层的发育缺陷而非心脏中胚层缺陷导致, 说明 GATA4 通过非细胞自主性作用来调节心脏的发生^[45-46]. 在临床研究中也发现包含了 GATA4 基因的八号染色体短臂端(8p23.1)部分缺失会造成 GATA4 的表达不足, 从而产生先天性心脏缺损. 在对心脏房间隔缺损的病人检测中发现, 在 GATA4 基因靠近 C 端锌指蛋白的地方发生了突变, 296 位甘氨酸突变为丝氨酸(G296S), 从而削弱了其 DNA 结合的能力和转录活性, 并且丢失了其相互作用蛋白 TBX5 结合的能力, 另一种突变, 359 位谷氨酸的缺失(E359del)也造成 GATA4 转录活性的失活, 从而造成心脏房间隔缺损^[47-48]. 这也从临床数据显示了 GATA4 基因对于心脏发生的重要性.

1.5 GATA5

在斑马鱼中, GATA5 的缺失会导致心脏发育异常, 类似于 GATA4 缺失小鼠心脏二分叉的表型, 并有心肌细胞数量减少的表型, 然而在小鼠中 GATA5 的缺失却没有造成心脏发育异常, 而只是在雌性小鼠中产生泌尿生殖管发育异常, 如阴道、子宫和尿道^[49-50], 说明在进化中不同物种的 GATA4 和 GATA5 可能被赋予不同的功能. GATA5 在小鼠胚胎发育过程中最先表达于心脏, 随后是肺和泌尿生殖系统, 并且 GATA4、6 在心脏发育过程同 GATA5 的表达范围相似, 说明其他 GATA 因子可能对 GATA5 功能的缺失能起到弥补作用. 虽然 GATA5 和 GATA6 在发育中的泌尿生殖嵴也有共表达, 但是其功能在此可能并不完全对应^[51-52]. 随后在斑马鱼的研究中发现, GATA5 和 GATA6 通过协同作用来调节心脏祖细胞的生成, 若同时敲除这两个 GATA 基因, 心脏将不能形成, 而重新单独表达 GATA5 或 GATA6 都能恢复心肌细胞形成的能力^[53]. 在斑马鱼胚胎中过表达 GATA5 和 Smarcd3b 能够以细胞自主性的方式促进心肌细胞的分化, 产生增大的心脏^[54]. 虽然 GATA5^{-/-} 小鼠没有明显的心脏缺陷, 但是 GATA5^{-/-}GATA4^{+/-} 小鼠却在胚胎期就出现了严重的

心脏发育缺陷, 其原因在于心肌细胞的增殖受到抑制^[55]. 而 GATA5^{+/-}GATA4^{+/-} 和 GATA5^{+/-}GATA6^{+/-} 的小鼠都表现了心脏流出道的发育缺陷, 如右室双出口(DORV)和室间隔缺陷^[56]. 在体外对小鼠胚胎干细胞分化的实验中, 过表达 GATA5 能够促进胚胎干细胞分化为心肌细胞并表达心肌细胞特有蛋白, 同时这些细胞能够表现出心肌细胞的生理活性, 而且 GATA5 的表达能使 GATA4 和 GATA6 的表达量升高^[57]. 这些结果都说明了相对于斑马鱼中, 小鼠中 GATA5 的功能缺失更能够被 GATA4 和 GATA6 所弥补, 并且 GATA5 可能做为一个关键的调节子同 GATA4 和 GATA6 相互协同来调节心脏的形成.

1.6 GATA6

GATA6^{-/-} 小鼠死亡于 E6.5 到 E7.5 天心脏形成之前, 这些突变胚胎的内脏内胚层(visceral endoderm, VE)和胚外内胚层(extraembryonic endoderm, EE)分化都受到了抑制, 产生缺陷的范围都与 GATA6 早期在原始内胚层的表达范围相一致, 并且这些突变小鼠的两个重要的内胚层转录因子 GATA4 和 HNF4 的表达都严重下降^[37, 58]. 将 GATA6^{-/-} 胚胎干细胞注射入小鼠囊胚后其所形成的嵌合小鼠中, GATA6^{-/-} 细胞唯独不能够分化形成内胚层来源的气管上皮细胞, 这些突变细胞能够很好地参与心脏的形成以及心肌细胞的分化, GATA6^{-/-} 胚胎干细胞来源的胚胎体分化也表明其不能分化形成内脏内胚层, 并且严重降低了一些早期和晚期的内胚层转录因子的表达, 如 GATA4、HNF4、AFP、HNF3^[58]. 杂合的 GATA4^{+/-}GATA6^{+/-} 小鼠死于 E13.5 天, 表现出严重的心血管发育缺陷, 如心肌变薄、隔膜与平滑肌发育受到抑制, 并且 MEF2C 和 β -MHC 的表达都明显下降^[59]. 在小鼠中, 利用四倍体补偿技术克服 GATA6^{-/-} 和 GATA4^{-/-} 小鼠胚外内胚层形成缺陷, 研究其在心脏发育中的作用, 发现 GATA6 对于心肌细胞发育过程中转录因子网络的正常表达是不可缺少的^[60]. 研究证实, GATA6 能够结合于 BMP4 启动子的 GATA 结合位点来调节 BMP4 的表达, 而且在斑马鱼中 BMP 信号的抑制能表现出同 GATA6^{-/-} 斑马鱼类似的表型, 说明 GATA6 可能通过调节 BMP 信号来影响心脏的发育^[61-62]. 这也提示说明, GATA4^{-/-} 或 GATA6^{-/-} 胚胎干细胞在注射到野生型囊胚后能够正常地参与心脏的形成, 有可能是由于这些突变细胞可以从周围细胞或血清中获得

BMP4. 如最近的研究发现, 当在无血清培养条件下, GATA4 和 GATA6 都能有效促进心肌细胞发育过程中遗传网络的形成, 从而促进心肌细胞的形成^[67]. GATA6 的表达随着心肌祖细胞的分化而下降, 说明 GATA6 的作用有可能是维持其未分化状态. 在斑马鱼中过表达 GATA6 抑制了心脏祖细胞的分化, 但不影响心脏祖细胞的形成, 在这些过表达的细胞中再敲降 GATA6, 心肌细胞的分化又能正常进行, 只是形成的心肌细胞有所增多, 说明这些分化受抑制的细胞能够继续增殖^[63]. 在临床上有报道称, GATA6 的突变能造成永存动脉干(PTA)的产生, 由于突变的 GATA6 蛋白失去了对信号素(SEMA3C)及其受体(PLXNA2)的转录激活, 从而揭示 GATA6 也可以通过 semaphorin-plexin 信号来调节心脏的发生^[64].

2 GATA 因子诱导细胞重编程

2.1 GATA 因子与细胞转分化

早在几十年前, 人们就利用过表达特定的转录因子实现了细胞谱系间的转换^[65]. 作为一种有效的研究细胞命运选择和再生医疗的手段, 近年来随着诱导多功能干细胞(iPSC)研究的飞速发展, 细胞转分化(transdifferentiation)或细胞谱系转决定(transdetermination)的研究也取得了巨大成就. 由于 GATA 转录因子在特定细胞谱系中的表达, 它们也被用来研究其在细胞谱系转换中的作用, 早在 1995 年就有报道称 GATA1 可以被用来重编程骨髓单核细胞系分化成为红细胞、嗜酸性粒细胞. GATA1 表达于早期造血祖细胞, 而在骨髓单核谱系决定发生时表达急剧下降, 但其在红细胞、嗜酸性粒细胞中仍然持续表达. 在骨髓单核细胞系里过表达 GATA1 后抑制了骨髓单核细胞特异的基因表达, 从而阻止了其分化为骨髓单核细胞, 转而分化为红细胞或嗜酸性粒细胞^[66]. GATA4 连同转录因子 MEF2C 和 TBX5 一起能够使小鼠成纤维细胞直接重编程成为分化的心肌细胞, 这些重编程的心肌细胞具有同体内心肌细胞相似的基因表达谱, 并且在表观遗传上也接近于体内的心肌细胞, 而且表现出正常心肌细胞的生理功能特性^[67]. GATA4 也能够连同另外两个转录因子 Hnf1 和 Foxa3, 将小鼠成纤维细胞重编程成为有功能的肝细胞样细胞, 这些重编程的细胞具有同肝细胞相似的基因表达谱, 并且在体内移植后能够产生正常的肝细胞功能^[68]. 这都说明 GATA 转录因子在细胞命运决定和谱系

转换之间扮演了重要的作用, 但是其如何实现不同细胞类型间转分化的机制还有待研究, 以及 GATA 转录因子家族中的其他几个成员是否同样有相似的转分化作用也需要更进一步探索.

2.2 细胞重编程

2006 年日本科学家 Shinya Yamanaka 等^[69]报道, 在小鼠成纤维细胞中导入 Oct4(O)、Sox2(S)、Klf4(K)、c-Myc(M)四因子(OSKM)即能诱导其变为全能性的干细胞, 并且具有同胚胎干细胞类似的多能性性质, 这些细胞也被称为诱导多功能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)^[69]. 随后许多实验小组相继报道多种能替换 Yamanaka 四因子的组合, 其中 Sox2、Klf4、c-Myc 能够被其自身家族蛋白中的某些转录因子所替代, 唯独 Oct4 不能找到自身家族蛋白替换^[70-74]. 虽然随后发现 Nr5a2、E-cadherin、Tet1 能够替换 Oct4 完成小鼠重编程的诱导, 但是都没有具体的分子机制来阐述其作用原理, 因而 Oct4 在重编程过程中的作用显得尤为重要^[75-78].

传统观念认为, 干性因子在多能干细胞中高表达, 并且同决定分化的谱系决定因子相互拮抗并抑制其表达, 从而使得多能性细胞维持着一个干性网络而保持多能性, 例如谱系因子高表达会破坏干性网络使多能性细胞开始分化. 而 Oct4 被认为是维持干细胞多能性最重要的因子之一, 在分离胚胎干细胞和小鼠多能性细胞形成中都是不可或缺的^[71]. 然而在 2011 年 Kyle M. Loh 和 Bing Lim^[72]提出了多能性因子本身具有使多能性细胞向特定谱系分化的能力, 这些因子在多能性细胞中相互持续对抗, 从而使细胞维持在多能性状态. 同年, Sharad Ramanathan 实验室即证实, Oct4 能促进胚胎干细胞(ESC)往中内胚层分化, 而 Sox2 能促进 ESC 往神经外胚层分化, 在维持胚胎干细胞多能性状态时 Oct4 和 Sox2 则相互抑制对方的表达^[73].

2.3 GATA 因子诱导产生细胞多能性

2013 年我们实验室发现了调控中内胚层(mesendoderm, ME)发育和分化的因子 GATA3、GATA4、GATA6 能够在小鼠体细胞重编程中替换 Yamanaka 四因子中的 Oct4, 并且具有同 OSKM 四因子相当甚至更高的重编程效率, 同时提出了重编程的“跷跷板”模型. 在此模型中, 中内胚层(ME)谱系分化因子的 GATA3、4、6 与外胚层(ectoderm, ECT)发育和分化因子能在重编程过程中相互抑制和抗衡, 这种相互作用的关系决定了细

胞命运的改变和干性的维持(图 2, I)^[74]。这一模型的提出改变了传统观念认为向目标细胞转变就需要高表达目标细胞特定的转录因子, 为细胞命运转变的研究提供了新的视角。同年, Montserrat 等^[75]报道在人体细胞中利用相同的谱系分化因子 GATA3、4、6, 能够替换 OCT4 将体细胞成功重编程为多功能干细胞, 这也证明了“跷跷板”模型在不同物种间的普适性。

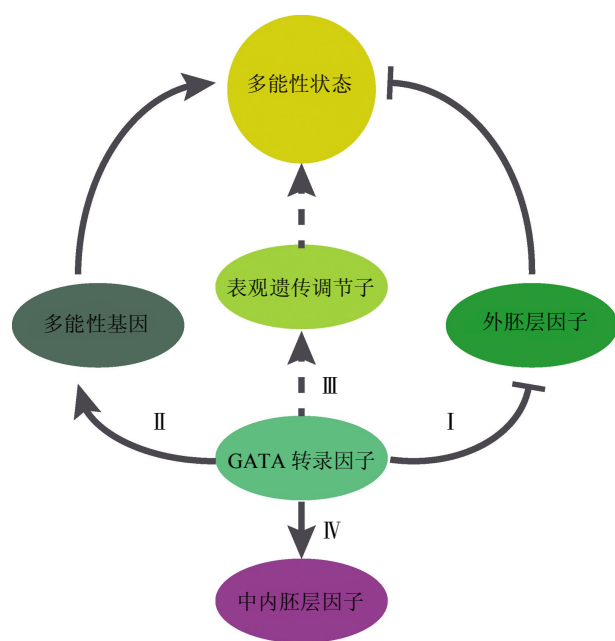


Fig. 2 A diagram illustrating the roles of GATA transcription factors in reprogramming to pluripotency and lineage specification

图 2 图示 GATA 转录因子在重编程和谱系决定中的作用

I: GATA 转录因子在重编程过程中抑制外胚层因子的分化力量使细胞进入多能性状态。II: GATA 转录因子激活多能性基因建立重编程多能性网络, 使细胞进入多能性状态。III: GATA 转录因子通过调节表观遗传因子改变染色质结构, 使细胞进入多能性状态。IV: GATA 转录因子激活中内胚层因子, 使细胞向中内胚层分化。

在细胞重编程过程中, GATA3、4、6 与 Nr5a2 发挥不同的作用, GATA 转录因子并未直接结合到 OCT4 启动子区域来直接激活其表达(未发表数据), 说明 GATA 转录因子有一套独特的激活干性基因表达的方式。GATA 家族转录因子在各物种间都具有高度的保守性, 从结构上观察, 它们都具有高度保守的两个 C2C2 型(Cys-X2-Cys-X17-Cys-X2-Cys)锌指结构(图 1), 并且能特异识别 DNA 序列 WGATAR(W=A 或 T, R=A 或 G), 这两个结构域对于其功能起到了至关重要的作用^[76]。之前的

研究报道称这两个锌指结构具有不同的功能, C-finger 主要与 DNA 结合, 而 N-finger 主要是和相互作用蛋白结合^[77-78], 但是也有报道称 N-finger 对于 DNA 结合的特异性和稳定性也有所贡献^[79-80]。在 Th2 细胞发育过程中, 将 GATA3 的 C-finger 删除后严重影响了 IL-4/IL-13 基因位点的染色质重塑, 从而使 IL-4/IL-13 细胞因子的产生减少, 而删除 N-finger 却没有影响^[81]。同样, 在巨核细胞分化过程中, GATA1 和 GATA2 的 C-finger 也显示出比 N-finger 更加重要的作用, 只需要跨越 C-finger 的 69 个氨基酸即可以诱导巨核细胞分化, 虽然效率有所降低^[82]。在细胞重编程过程中, 针对这两个结构域是否发挥着不同功能, 我们实验室从 GATA 转录因子结构上做了分析。通过将不同长度片段进行删除, 发现只需要 GATA 转录因子的两个锌指结构域就可以同 SKM 一起将体细胞重编程, 并且 C-finger 中的 DNA 结合位点起到了重要作用, 若将其突变则大大降低了重编程效率, 而将 N-finger 的 DNA 结合位点突变却几乎不会影响, 若同时突变两个 finger 的 DNA 结合位点得到的结果和突变 C-finger 的结果类似(未发表数据)。这都说明了在细胞重编程过程中, GATA 转录因子是主要通过 C-finger 中的 DNA 结合位点来发挥作用的。

从已报道的 GATA3 的三维结构来看, 它与 DNA 相互结合的形式有两类。第一类形式是两个锌指结构域结合在一个 GATA 回文序列上, 从而增强其与 DNA 结合的强度以及动力学稳定性。另外一类形式中, 两个锌指结构域结合在不同 DNA 分子上, 从而使得分开的两个 DNA 分子相互靠拢, 即 DNA 节环(DNA looping), 也实现了远距离相互作用(long-range interaction)^[83]。这种 DNA 的远距离相互作用, 在基因的转录调节中具有重要作用。利用染色体构型捕获技术(chromosome conformation capture)发现, GATA1 同其相互作用蛋白 FOG1 能够使染色质节环, 从而使距离较远的 β -globin 启动子和增强子相互靠拢, 以调节 β -globin 基因的表达^[84]。在 Th2 细胞发育过程中, GATA3 也同样在 Th2 细胞因子转座子控制区(locus control region)和启动子远距离相互作用的建立和维持过程中发挥了重要的功能^[85-86]。在红细胞发育和分化过程中, GATA1 和 GATA2 通过在 KIT 基因位点的替换来建立不同形式染色质节环, 从而调节 KIT 基因的表达。在红细胞祖细胞中, GATA2 和 FOG1 形成复合物将 KIT 基因的增强子和启动子相互拉拢,

从而促进 KIT 基因的转录。而在红细胞成熟分化阶段, GATA2 被 GATA1 替换, 并且 GATA1-FOG1 复合物将 KIT 基因启动子区同下游原件联结靠拢形成一个新的 DNA 节环, 从而抑制 KIT 基因的转录表达^[87]。这暗示 GATA 转录因子可能在重编程过程中, 也可能通过远距离 DNA 相互作用或 DNA 节环这种染色质结构重塑的方式来重新建立多能性基因表达模式。

染色质的结构对于其中基因的表达有着至关重要的作用, 真核生物的染色质都经过缠绕在组蛋白上而使 2 m 长的染色质紧缩在只有微米级别的细胞核内。而紧缩的染色质并不利于转录因子和转录酶的结合, 但是有一类转录因子能够直接结合并打开紧缩的染色质, 使处于该处的基因被随后相应的转录因子所激活, 这类转录因子被称为先驱因子 (pioneer factor)。早在 1998 年, Boyes 等^[88]就发现在体外重建的核小体模型中, GATA1 能够破坏组蛋白和 DNA 之间形成的核小体结构, 使得组蛋白和 DNA 分离形成暴露的 DNA 分子, 即从紧缩沉默的状态变为打开的活性状态。2002 年, Zaret 等通过同样类似的体外模型构建了携带肝脏细胞表达的 Albumin 基因增强子的核小体, 发现 GATA4 能够将紧缩的核小体结构打开, 并且在 HNF3 存在的情况下能够增强 GATA4 打开这种紧缩染色质的效率^[89]。在肿瘤发生中, GATA2 和 GATA3 都能作为先驱因子在前列腺癌和乳腺癌中促进相关基因的表达^[90]。说明 GATA 转录因子作为打开紧缩状态染色质的先驱因子, 在多种细胞类型和组织发育中都发挥着重要作用, 但是在细胞重编程过程中它们是否也履行相似的职责却还不清楚。2012 年, Zaret 等^[91]研究 OSKM 在细胞重编程过程中的作用, 发现 O、S、K 可以作为先驱因子先于 c-Myc 结合到许多紧缩状态的并且与重编程相关的基因区域, 这些染色质区域都缺乏活性状态的甲基化标志物, 如: H3K4me2、H3K4me3、H3K9ac 和 H3K27ac。O、S、K 的结合使这些紧缩染色质被打开, 相关转录因子和转录酶得以进入, 从而起始基因的转录。GATA 转录因子作为在发育过程中一类重要的染色质重塑因子, 不仅能够发挥 DNA 节环的作用, 而且能够作为先驱因子疏松紧缩状态的染色质, 从而可以在分子水平影响细胞基因的表达。然而在细胞重编程过程中, GATA 转录因子是否也能够发挥相似的功能来完成细胞命运的转变, 这将会是一个很有意义的探索方向。

2013 年, Uri Ben-David 等^[92]同期发表评论称“跷跷板”模型中的谱系因子也许并不只在重编程中抑制相对胚层基因的表达来完成重编程, 它们可能还发挥着其他直接激活内源多能性基因的作用。Gmnn, 作为外胚层谱系分化因子, 在“跷跷板”模型中能够替换 Sox2 将体细胞重编程, 但也表达在未分化的多能性细胞中, 并且能够通过拮抗染色质重塑因子 Brg1 来维持 Oct4、Sox2 和 Nanog 的表达^[93]。这一现象说明, 作为谱系分化因子, 它们自身可能在重编程中具有直接激活内源的多能性因子的能力, 从而建立起多能性干性网络。我们实验室 RNA-sequencing 的结果也显示, GATA 转录因子在重编程早期就能够激活多种多能性因子, 如: Sox2、Lin28、Esrrb (未发表数据)。2012 年, Rudolf Jaenisch 实验室通过单细胞测序发表论文称, 早期激活的内源 Sox2 启动了最终的整个多能性网络的建立^[70]。这些结果都说明 GATA 转录因子能够在重编程过程中直接激活多能性网络中的关键因子(图 2, II), 从而建立多能性网络, 实现细胞命运的转变。

2.4 展望与未来

过去对 GATA 转录因子作用的研究主要集中在造血系统(GATA1、2、3)和心脏(GATA4、5、6)的发育及分化, 人们对其也有了比较深入的了解(图 2, IV)。然而近年来发现, 它们作为谱系分化因子在细胞转分化和重编程过程中同样扮演了至关重要的角色, 异位表达 GATA1 能够重编程骨髓单核细胞系成为红细胞和嗜酸性粒细胞, 而阻止了其向骨髓单核细胞分化^[61]。GATA4 转录因子, 也被用来将体细胞重编程为心肌细胞^[67]。然而目前却没有相关机制来解释它们是如何将细胞转分化为另一种细胞, GATA 家族的其他转录因子是否也有类似的作用目前也不得而知。根据“跷跷板”模型, GATA 转录因子作为 ME 谱系分化因子在体细胞重编程为多能性细胞过程中抑制了 ECT 谱系分化因子的力量, 从而使得两股力量达到平衡, 继而使细胞达到多能性状态(图 2, I)。在转分化过程中, GATA 转录因子是否也能够直接抑制相对分化方向的分化力量, 从而使细胞改变分化道路? 从本课题组最新的实验结果来看, 在体细胞重编程过程中, GATA 转录因子作为谱系分化因子不仅能够抑制其他谱系分化因子的分化力量, 而且能够直接激活细胞的多能性关键基因, 从而促进多能性网络的建立, 这也说明了 GATA 转录因子在重编程过程中

的作用并不是单一的. 在分化过程中, GATA 转录因子在染色质重塑上发挥着重要的作用, 是否在重编程过程中也发挥着类似的作用? (图 2, III) 它们是否通过改变染色质的结构, 如 DNA 节环、远距离相互作用、打开紧缩染色质等方式来改变细胞染色质结构从而改变基因网络? 这些都是需要进一步探索的问题. DNA 甲基化和去甲基化对于基因的表达起着决定性作用, 例如 Tet1 作为关键的 DNA 甲基化调节因子在重编程中能够将 Oct4 基因位点去甲基化, 从而激活这一关键多能基因的表达^[94]. GATA 转录因子是否也能够通过调节这类表观遗传因子的表达, 从而在基因组范围内改变多能性基因的表观遗传性质来建立多能性网络? 这或许也是阐述 GATA 转录因子在重编程过程中作用的另一种可能. 通过上面对 GATA 转录因子的概述以及我们实验室最新的研究结果显示, GATA 转录因子除了在分化中发挥作用以外, 在细胞重编程和转分化过程中发挥了让人意想不到的作用, 说明了 GATA 家族转录因子的作用在过去被远远低估, 同时也呈现出更多的问题等待我们的回答.

参 考 文 献

- [1] Mackay J P, Kowalski K, Fox A H, *et al.* Involvement of the N-finger in the Self-association of GATA-1. *J Cell Biol*, 1998, **273**(46): 30560–30567
- [2] Trainor C D, Omichinski J G, Vandergon T L, *et al.* A palindromic regulatory site within vertebrate GATA-1 promoters requires both zinc fingers of the GATA-1 DNA-binding domain for high-affinity interaction. *Mol Cell Biol*, 1996, **16**(5): 2238–2247
- [3] Tang Y, Wei Y, He W, *et al.* GATA transcription factors in vertebrates: evolutionary, structural and functional interplay. *Mol Genet Genomics*, 2014, **289**(2): 203–214
- [4] Gillis W Q, St John J, Bowerman B, *et al.* Whole genome duplications and expansion of the vertebrate GATA transcription factor gene family. *BMC Evol Biol*, 2009, **9** (207) (DOI: 10.18611471-214)
- [5] Evans T, Reitman M, Felsenfeld G. An erythrocyte-specific DNA-binding factor recognizes a regulatory sequence common to all chicken globin genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, **85**(16): 5976–5980
- [6] Tsai S F, Martin D I, Zon L I, *et al.* Cloning of cDNA for the major DNA-binding protein of the erythroid lineage through expression in mammalian cells. *Nature*, 1989, **339**(6224): 446–451
- [7] Martin D I, Orkin S H. Transcriptional activation and DNA binding by the erythroid factor GF-1/NF-E1/Eryf 1. *Genes & Development*, 1990, **4**(11): 1886–1898
- [8] Zon L I, Tsai S F, Burgess S, *et al.* The major human erythroid DNA-binding protein (GF-1): primary sequence and localization of the gene to the X chromosome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87**(2): 668–672
- [9] Pevny L, Simon M C, Robertson E, *et al.* Erythroid differentiation in chimaeric mice blocked by a targeted mutation in the gene for transcription factor GATA-1. *Nature*, 1991, **349**(6306): 257–260
- [10] Pevny L, Lin C S, D'Agati V, *et al.* Development of hematopoietic cells lacking transcription factor GATA-1. *Development*, 1995, **121**(1): 163–172
- [11] Takahashi S. Arrest in primitive erythroid cell development caused by promoter-specific disruption of the GATA-1 gene. *J Biol Chem*, 1997, **272**(19): 12611–12615
- [12] Fujiwara Y, Browne C P, Cunniff K, *et al.* Arrested development of embryonic red cell precursors in mouse embryos lacking transcription factor GATA-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**(22): 12355–12358
- [13] McDevitt M A, Shivdasani R A, Fujiwara Y, *et al.* A "knockdown" mutation created by *cis*-element gene targeting reveals the dependence of erythroid cell maturation on the level of transcription factor GATA-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**(13): 6781–6785
- [14] Vyas P, Ault K, Jackson C W, *et al.* Consequences of GATA-1 deficiency in megakaryocytes and platelets. *Blood*, 1999, **93** (9): 2867–2875
- [15] Yu C, Cantor A B, Yang H, *et al.* Targeted deletion of a high-affinity GATA-binding site in the GATA-1 promoter leads to selective loss of the eosinophil lineage *in vivo*. *J Exp Med*, 2002, **195**(11): 1387–1395
- [16] Migliaccio A R, Rana R A, Sanchez M, *et al.* GATA-1 as a regulator of mast cell differentiation revealed by the phenotype of the GATA-1low mouse mutant. *J Exp Med*, 2003, **197**(3): 281–296
- [17] Yamamoto M, Ko L J, Leonard M W, *et al.* Activity and tissue-specific expression of the transcription factor NF-E1 multigene family. *Genes & Development*, 1990, **4**(10): 1650–1662
- [18] Orkin S H. Globin gene regulation and switching: circa 1990. *Cell*, 1990, **63**(4): 665–672
- [19] Mowthorn M, Bernard O, Mitjavila M, *et al.* Expression of tal-1 and GATA-binding proteins during human hematopoiesis. *Blood*, 1993, **81**(3): 647–655
- [20] Briegel K, Lim K C, Plank C, *et al.* Ectopic expression of a conditional GATA-2/estrogen receptor chimera arrests erythroid differentiation in a hormone-dependent manner. *Genes & Development*, 1993, **7**(6): 1097–1109
- [21] Tsai F Y, Keller G, Kuo F C, *et al.* An early haematopoietic defect in mice lacking the transcription factor GATA-2. *Nature*, 1994, **371**(6494): 221–226
- [22] Tsai F Y, Orkin S H. Transcription factor GATA-2 is required for proliferation-survival of early hematopoietic cells and mast cell formation, but not for erythroid and myeloid terminal differentiation. *Blood*, 1997, **89**(10): 3636–3643
- [23] Rodrigues N P, Janzen V, Forkert R, *et al.* Haploinsufficiency of GATA-2 perturbs adult hematopoietic stem-cell homeostasis. *Blood*, 2005, **106**(2): 477–484

- [24] Ting C, Olson M, Barton K, *et al.* Transcription factor gata-3 is required for development of the T-cell lineage. *Nature*, 1996, **384**(6608): 474–478
- [25] Pantelouris E. Absence of thymus in a mouse mutant. *Nature*, 1968, **384**(5126): 474–478
- [26] Hosoya T, Maillard I, Engel J. From the cradle to the grave-activities of GATA-3 throughout T-cell development and differentiation. *Immunol Rev*, 2010, **238**(1): 110–125
- [27] Hattori N, Kawamoto H, Fujimoto S, *et al.* Involvement of transcription factors TCF-1 and GATA-3 in the initiation of the earliest step of T cell development in the thymus. *J Exp Med*, 1996, **184**(3): 1137–1147
- [28] Hendriks R, Nawijn M, Engel J, *et al.* Expression of the transcription factor GATA-3 is required for the development of the earliest T cell progenitors and correlates with stages of cellular proliferation in the thymus. *Eur J Immunol*, 1999, **29**(6): 1912–1918
- [29] Pai S Y, Truitt M L, Ting C N, *et al.* Critical roles for transcription factor GATA-3 in thymocyte development. *Immunity*, 2003, **19**(6): 863–875
- [30] Nawijn M C, Ferreira R, Dingjan G M, *et al.* Enforced expression of GATA-3 during T cell development inhibits maturation of CD8 single-positive cells and induces thymic lymphoma in transgenic mice. *J Immunol*, 2001, **167**(2): 715–723
- [31] Ouyang W, Ranganath S, Weindel K, *et al.* Inhibition of Th1 development mediated by GATA-3 through an IL-4-independent mechanism. *Immunity*, 1998, **9**(5): 745–755
- [32] Zhu J, Min B, Hu-Li J, *et al.* Conditional deletion of Gata3 shows its essential function in T(H)1-T(H)2 responses. *Nat Immunol*, 2004, **5**(11): 1157–1165
- [33] Zheng W, Flavell R A. The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells. *Cell*, 1997, **89**(4): 587–597
- [34] Wan Y Y. GATA3: a master of many trades in immune regulation. *Trends Immunol*, 2014, **35**(6): 233–242
- [35] Arceci R J, King A A, Simon M C, *et al.* Mouse GATA-4: a retinoic acid-inducible GATA-binding transcription factor expressed in endodermally derived tissues and heart. *Mol Cell Biol*, 1993, **13**(4): 2235–2246
- [36] Morrissey E E, Ip H S, Tang Z, *et al.* GATA-5, a transcriptional activator expressed in a novel temporally and spatially-restricted pattern during embryonic development. *Dev Biol*, 1997, **183**(1): 21–36
- [37] Morrissey E E, Ip H S, Lu M M, *et al.* GATA-6, a zinc finger transcription factor that is expressed in multiple cell lineages derived from lateral mesoderm. *Dev Biol*, 1996, **177**(1): 309–322
- [38] Molken J D. The zinc finger-containing transcription factors GATA-4, -5, and -6. Ubiquitously expressed regulators of tissue-specific gene expression. *J Biol Chem*, 2000, **275**(50): 38949–38952
- [39] Heikineimo M, Scandrett J, Wilson D. Localization of transcription factor GATA-4 to regions of the mouse embryo involved in cardiac development. *Dev Biol*, 1994, **164**(2): 361–373
- [40] Kuo C T, Morrissey E E, Anandappa R, *et al.* GATA4 transcription factor is required for ventral morphogenesis and heart tube formation. *Genes & Development*, 1997, **11**(8): 1048–1060
- [41] Molken J D, Lin Q, Duncan S A, *et al.* Requirement of the transcription factor GATA4 for heart tube formation and ventral morphogenesis. *Genes & Development*, 1997, **11**(8): 1061–1072
- [42] Grepin C, Robitaille L, Antakly T, *et al.* Inhibition of transcription factor GATA-4 expression blocks *in vitro* cardiac muscle differentiation. *Mol Cell Biol*, 1995, **15**(8): 4095–4102
- [43] Grepin C, Nemer G, Nemer M. Enhanced cardiogenesis in embryonic stem cells overexpressing the GATA-4 transcription factor. *Development*, 1997, **124**(12): 2378–2395
- [44] Jiang Y, Tarzami S, Burch J, *et al.* Common role for each of the cGATA-4/5/6 genes in the regulation of cardiac morphogenesis. *Dev Genet*, 1998, **22**(3): 263–277
- [45] Narita N, Bielinska M, Wilson D. Wild-type endoderm abrogates the ventral developmental defects associated with GATA-4 deficiency in the mouse. *Dev Biol*, 1997, **189**(2): 270–274
- [46] Narita N, Bielinska M, Wilson D. Cardiomyocyte differentiation by GATA-4-deficient embryonic stem cells. *Development*, 1997, **124**(19): 3755–3764
- [47] Pehlivan T, Pober B, Brueckner M, *et al.* GATA4 haploinsufficiency in patients with interstitial deletion of chromosome region 8p23.1 and congenital heart disease. *Am J Med Genet*, 1999, **83**(3): 201–206
- [48] Garg V, Kathirya I, Barnes R, *et al.* GATA4 mutations cause human congenital heart defects and reveal an interaction with TBX5. *Nature*, 2003, **424**(6947): 443–447
- [49] Reiter J, Alexander J, Rodaway A, *et al.* Gata5 is required for the development of the heart and endoderm in zebrafish. *Genes Dev*, 1999, **13**(22): 2983–2995
- [50] Molken J D, Tymitz K M, Richardson J A, *et al.* Abnormalities of the genitourinary tract in female mice lacking GATA5. *Mol Cell Biol*, 2000, **20**(14): 5256–5260
- [51] Morrissey E E, Ip H S, Tang Z, *et al.* GATA-5: a transcriptional activator expressed in a novel temporally and spatially-restricted pattern during embryonic development. *Dev Biol*, 1997, **183**(1): 21–36
- [52] Nemer G, Qureshi S T, Malo D, *et al.* Functional analysis and chromosomal mapping of Gata5, a gene encoding a zinc finger DNA-binding protein. *Mamm Genome*, 1999, **10**(10): 993–999
- [53] Holtzinger A, Evans T. Gata5 and Gata6 are functionally redundant in zebrafish for specification of cardiomyocytes. *Dev Biol*, 2007, **312**(2): 613–622
- [54] Lou X, Deshwar A R, Crump J G, *et al.* Smad3b and Gata5 promote a cardiac progenitor fate in the zebrafish embryo. *Development*, 2011, **138**(15): 3113–3123
- [55] Singh M K, Li Y, Li S, *et al.* Gata4 and Gata5 cooperatively regulate cardiac myocyte proliferation in mice. *J Biol Chem*, 2010, **285**(3): 1765–1772
- [56] Laforest B, Nemer M. GATA5 interacts with GATA4 and GATA6

- in outflow tract development. *Dev Biol*, 2011, **358**(2): 368–378
- [57] Turbendian H K, Gordillo M, Tsai S Y, *et al.* GATA factors efficiently direct cardiac fate from embryonic stem cells. *Development*, 2013, **140**(8): 1639–1644
- [58] Morrissey E E, Tang Z, Sigrist K, *et al.* GATA6 regulates HNF4 and is required for differentiation of visceral endoderm in the mouse embryo. *Genes & Development*, 1998, **12**(22): 3579–3590
- [59] Xin M, Davis C A, Molkentin J D, *et al.* A threshold of GATA4 and GATA6 expression is required for cardiovascular development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(30): 11189–11194
- [60] Zhao R, Watt A J, Battle M A, *et al.* Loss of both GATA4 and GATA6 blocks cardiac myocyte differentiation and results in acardia in mice. *Dev Biol*, 2008, **317**(2): 614–619
- [61] Nemer G, Nemer M. Transcriptional activation of BMP-4 and regulation of mammalian organogenesis by GATA-4 and -6. *Dev Biol*, 2003, **254**(1): 131–148
- [62] Peterkin T, Gibson A, Patient R. GATA-6 maintains BMP-4 and Nkx2 expression during cardiomyocyte precursor maturation. *EMBO J*, 2003, **22**(16): 4260–4273
- [63] Gove C, Walmsley M, Nijjar S, *et al.* Over-expression of GATA-6 in *Xenopus* embryos blocks differentiation of heart precursors. *EMBO J*, 1997, **16**(2): 355–368
- [64] Kodo K, Nishizawa T, Furutani M, *et al.* GATA6 mutations cause human cardiac outflow tract defects by disrupting semaphorin-plexin signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106**(33): 13933–13938
- [65] Davis R L, Weintraub H, Lassar A B. Expression of a single transfected cDNA converts fibroblasts to myoblasts. *Cell* 1987, **51**(6): 987–1000
- [66] Kulesa H, Frampton J, Graf T. GATA-1 reprograms avian myelomonocytic cell lines into eosinophils, thromboblats, and erythroblasts. *Genes Dev*, 1995, **9**(10): 1250–1262
- [67] Ieda M, Fu J D, Delgado-Olguin P, *et al.* Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors. *Cell*, 2010, **142**(3): 375–386
- [68] Huang P, He Z, Ji S, *et al.* Induction of functional hepatocyte-like cells from mouse fibroblasts by defined factors. *Nature*, 2011, **475**(7356): 386–389
- [69] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, **126**(4): 663–676
- [70] Buganim Y, Faddah D A, Cheng A W, *et al.* Single-cell expression analyses during cellular reprogramming reveal an early stochastic and a late hierarchic phase. *Cell*, 2012, **150**(6): 1209–1222
- [71] Nichols J, Zevnik B, Anastassiadis K, *et al.* Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor Oct4. *Cell*, 1998, **95**(3): 379–391
- [72] Loh K M, Lim B. A precarious balance: pluripotency factors as lineage specifiers. *Cell Stem Cell*, 2011, **8**(4): 363–369
- [73] Thomson M, Liu S J, Zou L N, *et al.* Pluripotency factors in embryonic stem cells regulate differentiation into germ layers. *Cell*, 2011, **145**(6): 875–889
- [74] Shu J, Wu C, Wu Y, *et al.* Induction of pluripotency in mouse somatic cells with lineage specifiers. *Cell*, 2013, **153**(5): 963–975
- [75] Montserrat N, Nivet E, Sancho-Martinez I, *et al.* Reprogramming of human fibroblasts to pluripotency with lineage specifiers. *Cell Stem Cell*, 2013, **13**(3): 341–350
- [76] Ko L J, Engel J D. DNA-binding specificities of the GATA transcription factor family. *Mol Cell Biol*, 1993, **13**(7): 4011–4022
- [77] Omichinski J G, Trainor C, Evans T, *et al.* A small single-“finger” peptide from the erythroid transcription factor GATA-1 binds specifically to DNA as a zinc or iron complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**(5): 1676–1680
- [78] Yang H Y, Evans T. Distinct roles for the two cGATA-1 finger domains. *Mol Cell Biol*, 1992, **12**(10): 4562–4570
- [79] Pedone P V, Omichinski J G, Nony P, *et al.* The N-terminal fingers of chicken GATA-2 and GATA-3 are independent sequence-specific DNA binding domains. *EMBO J*, 1997, **16**(10): 2874–2882
- [80] Trainor C D, Omichinski J G, Vandergon T L, *et al.* A palindromic regulatory site within vertebrate GATA-1 promoters requires both zinc fingers of the GATA-1 DNA-binding domain for high-affinity interaction. *Mol Cell Biol*, 1996, **16**(5): 2238–2247
- [81] Takemoto N, Arai K, Miyatake S. Cutting edge: the differential involvement of the N-finger of GATA-3 in chromatin remodeling and transactivation during Th2 development. *J Immunol*, 2002, **169**(8): 4103–4107
- [82] Visvader J E, Crossley M, Hill J, *et al.* The C-terminal zinc finger of GATA-1 or GATA-2 is sufficient to induce megakaryocytic differentiation of an early myeloid cell line. *Mol Cell Biol*, 1995, **15**(2): 634–641
- [83] Chen Y, Bates D L, Dey R, *et al.* DNA binding by GATA transcription factor suggests mechanisms of DNA looping and long-range gene regulation. *Cell Rep*, 2012, **2**(5): 1197–1206
- [84] Vakoc C R, Letting D L, Gheldof N, *et al.* Proximity among distant regulatory elements at the beta-globin locus requires GATA-1 and FOG-1. *Mol Cell*, 2005, **17**(3): 453–462
- [85] Spilianakis C G, Lalioti M D, Town T, *et al.* Interchromosomal associations between alternatively expressed loci. *Nature*, 2005, **435**(7042): 637–645
- [86] Spilianakis C G, Flavell R A. Long-range intrachromosomal interactions in the T helper type 2 cytokine locus. *Nat Immunol*, 2004, **5**(10): 1017–1027
- [87] Apostolou E, Thanos D. Linking differential chromatin loops to transcriptional decisions. *Mol Cell*, 2008, **29**(2): 154–156
- [88] Boyes J, Omichinski J, Clark D, *et al.* Perturbation of nucleosome structure by the erythroid transcription factor GATA-1. *J Mol Biol*, 1998, **279**(3): 529–544
- [89] Cirillo L A, Lin F R, Cuesta I, *et al.* Opening of compacted chromatin by early developmental transcription factors HNF3 (FoxA) and GATA-4. *Mol Cell*, 2002, **9**(2): 279–289
- [90] Zaret K S, Carroll J S. Pioneer transcription factors: establishing competence for gene expression. *Genes Dev*, 2011, **25**(21): 2227–2241
- [91] Soufi A, Donahue G, Zaret K S. Facilitators and impediments of the

- pluripotency reprogramming factors' initial engagement with the genome. *Cell*, 2012, **151**(5): 994–1004
- [92] Ben-David U, Nissenbaum J, Benvenisty N. New balance in pluripotency: reprogramming with lineage specifiers. *Cell*, 2013, **153**(5): 939–940
- [93] Yang V S, Carter S A, Hyland S J, *et al.* Geminin escapes degradation in G1 of mouse pluripotent cells and mediates the expression of Oct4, Sox2, and Nanog. *Curr Biol*, 2011, **21** (8): 692–699
- [94] Gao Y, Chen J, Li K, *et al.* Replacement of Oct4 by Tet1 during iPSC induction reveals an important role of DNA methylation and hydroxymethylation in reprogramming. *Cell Stem Cell*, 2013, **12**(4): 453–469

The Function of GATA Family in Cell Fate Determination

ZHANG Ke¹⁾, DENG Hong-Kui^{1,2,3)*}

¹⁾ Peking-Tsinghua Center for Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China;

²⁾ The MOE Key Laboratory of Cell Proliferation and Differentiation, College of Life Sciences, Peking University, Beijing 100871, China;

³⁾ Laboratory of Chemical Genomics, School of Chemical Biology and Biotechnology, Peking University Shenzhen Graduate School, Shenzhen 518055, China)

Abstract During the process of embryo development, formation of tissues and organs is strongly dependent on the correctly temporal-spatial differentiation and proliferation of stem cells, as well as apoptosis of intermediate cells. The processes of cell fate determination require sophisticated coordination, in order to promise the appropriate morphogenesis of tissues and organs during embryo development. GATA transcription factors play essential roles in this process, for example, in germ layer determination, hematopoietic system and cardiac formation, and also function in the genesis of thymus, intestine and tumor. Based on the current findings and combined with our research, this review will introduce the important function of GATA transcription factors in maintenance and differentiation of stem cells, as well as in cell reprogramming.

Key words embryo development, stem cell, GATA transcription factor, cell reprogramming

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2014.00260

*Corresponding author.

Tel: 86-10-62756474, E-mail: hongkui_deng@pku.edu.cn

Received: September 9, 2014 Accepted: September 15, 2014