

锌酶(如某些含  $Zn^{2+}$  的脱氢酶、脱羧酶、脱氨酶、核酸酶、蛋白酶、脂酶、转肽酶、转氨甲酰酶等)来影响细胞内外的各种生理生化反应和代谢活动等,从而改变遗传物质赖以生存的“内环境”,并对其行为方式产生间接的影响。由此可见,  $Zn^{2+}$  在遗传调控中的作用是十分广泛的。然而,由于目前的实验结果绝大部分来自于体外实验,因而其真实性和普遍性仍有待检验。此外,今后该领域中应加强各种比较研究,如  $Zn^{2+}$  与其它金属离子(如  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  等)间的比较,不同种类的锌蛋白、锌酶以及其它含锌因子间的比较等等;同时,还要着重研究  $Zn^{2+}$  在整体水平上的作用。只有这样,才能更深入和全面地揭示出  $Zn^{2+}$  参与遗传调控的内在机理。

### 参 考 文 献

- 1 Vallee B L, Falchuk K H. *Physiol Rev*, 1993; **73** (1): 79
- 2 Chang L M S, Bollum F J. *J Biol Chem*, 1990; **265** (29): 17436
- 3 孙乃恩, 孙东旭, 朱德熙. 分子遗传学. 南京: 南京大学出版社, 1990, 238—239
- 4 Zavitz K H, Mariani K J. *J Biol Chem*, 1993; **268** (6): 4337
- 5 Loprete D M, Hartman K A. *Biochemistry*, 1993; **32** (15): 4077
- 6 Martinez-Balbas A, Azorin F. *Nucl Acids Res*, 1993; **21** (11): 2557
- 7 Beltran R, Martinez-Balbas A, Brenues J *et al.* *J Mol Biol*, 1993; **230**: 966
- 8 Bernues J, Beltran R, Azorin F. *Gene*, 1991; **108**: 269
- 9 Kang S, Wohlrab F, Wells R D. *J Biol Chem*, 1992; **267**: 1259
- 10 Zalewski P D, Forbes I J, Giannakis C. *Biochem Int*, 1991; **24** (6): 1093
- 11 Barbieri D, Trolano L, Grassilli E *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 1992; **187** (3): 1256
- 12 Brumlik M J, Storey D G. *Mol Microbiol*, 1992; **6** (3): 337
- 13 胡红雨, 鲁子贤. 生物化学与生物物理进展, 1992; **19** (4): 250
- 14 Daniela R, Klug A. *Sci Am*, 1993; **268** (2): 56
- 15 Clemens K R, Wolf V, McBryant S J *et al.* *Science*, 1993; **260** (5107): 530
- 16 Del Rio S, Setzer D R. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993; **90** (1): 168
- 17 Chan Y L, Suzuki K, Olvera J *et al.* *Nucl Acids Res*, 1993; **21** (3): 649
- 18 Vallee B L, Coleman J E, Auld D S. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991; **88** (3): 999
- 19 Lovering R, Hanson I M, Borden K L B *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993; **90** (6): 2112
- 20 Omichinski J G, Trainor C, Evans T *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993; **90** (5): 1676

## 蛋白质剪接与一类新的可移动遗传因子

卢柏松 黄培堂

(军事医学科学院生物工程研究所, 北京 100850)

**摘要** 最近在几种生物体中连续发现了蛋白质剪接现象, 由于它与通常所说的 RNA 剪接的区别, 人们称这些在蛋白质水平被剪切掉的部分为“蛋白质内含子”。有些蛋白质内含子具有核酸内切酶功能, 编码蛋白质内含子的 DNA 片段是一类新的可移动遗传因子。文中介绍了目前发现的几例蛋白质剪接现象, 讨论了蛋白质剪接的可能机理, 分析了蛋白质内含子的进化及其生物学意义。

**关键词** 蛋白质剪接, 蛋白质内含子, 可移动遗传因子

## 1 前言

生命现象遗传信息的流向是从 DNA 到 RNA 再到蛋白质, 由于绝大多数真核生物和部分原核生物基因中都有间插序列 (IVS), 故遗传信息在 mRNA 水平有一个剪接过程, 即去掉内含子, 将外显子连接起来, 并结合加帽加尾过程 (有些 mRNA 还得经过编辑过程), 最终成为一个有功能的成熟 mRNA 分子。

最近陆续发现了另一类剪接现象——蛋白质剪接。在这里, 前体蛋白中间的某些区域被切除, 剩余部分重新连接起来, 这样便产生了两个蛋白质分子, 被切除的部分称作“蛋白质内含子”<sup>[1]</sup>。蛋白质剪接不同于通常所说的 RNA 剪接, 前者剪接发生在蛋白质水平, 后者则发生在 mRNA 水平。蛋白质剪接也不同于通常所说的蛋白质翻译后加工, 后者往往只是切除前体蛋白 N 端或 C 端的一些片段, 通常没有新肽链的形成。几年前发现 *Jackbean cotyledons* 的伴刀豆蛋白 A (ConA) 在成熟过程中经历了一个复杂的转译后加工过程: ConA 前体蛋白先是从中断开, 然后两肽段对调位置, 重新形成肽键组成成熟 ConA 蛋白<sup>[2,3]</sup>。但这些也不同于蛋白质剪接, 它并没有蛋白质内含子的存在。

由于蛋白质剪接现象的连续发现, 人们对它的兴趣日益浓厚, 现在已有一些引人注目的研究结果, 本文拟从几个方面论述人们对这一现象的最新认识。

## 2 蛋白质剪接现象的发现

Kane 等在研究酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 液泡 H<sup>+</sup>-ATPase 的 69kD 亚基基因 *vma1* 时发现, 该基因由一个不间断的开放阅读框架编码一个 1071 个氨基酸残基的蛋白质<sup>[4,5]</sup>。按计算分子量应为 119 000, 与实验得到的 69 000 相差甚远。把从 DNA 推得的蛋白质序列与已知序列的链孢霉 Vma1 蛋白相比, 发现酵母的 1071 个氨基酸序列其 N 端和 C 端与链孢霉 Vma1 蛋白有较高同源性, 而中间的

400 多氨基酸残基与之无同源性。仔细研究酵母 *vma1* 基因, 未发现内含子存在。一系列实验结果提示, 酵母 *vma1* 基因的转录产物首先转译成一个 119 000 的前体蛋白, 在翻译后前体蛋白经过蛋白质剪接, 去掉中间 400 多残基组成的蛋白质内含子, 然后 N 端和 C 端首尾相连, 形成一个 69kD 的成熟 Vma1 蛋白分子。

随后两个研究组又分别在结核分枝杆菌 *Mycobacteria tuberculosis* 的 *recA* 基因<sup>[6]</sup>以及嗜热原生生物 *Thermococcus litoralis* 的 DNA 聚合酶基因<sup>[7]</sup>中发现了类似情形。结核分枝杆菌的 RecA 前体蛋白中含有一个蛋白质内含子, 而 *T. litoralis* 的 DNA 聚合酶前体蛋白中则含有两个蛋白质内含子, 它们都是在翻译后经过蛋白质剪接现象被从前体蛋白中切除的<sup>[7,8]</sup>。

## 3 蛋白质剪接的反应机理

比较这些已发现的蛋白质内含子序列, 发现其 N 端和 C 端有明显的一致序列 (motif), 尤其是 C 端保守。对剪接部位的氨基酸残基进行定点突变, 发现改变这些残基将影响剪接进行<sup>[4,8]</sup>。在蛋白质内含子中生成缺失或移码突变, 但不改变蛋白质内含子以外区域的阅读框架, 转译产物的剪接都将不能正常进行<sup>[4,8,9]</sup>。这些表明, 蛋白质内含子本身对于剪接是必要的。

将编码蛋白质内含子的 DNA 片段插入大肠杆菌 LacZ 基因, 也能得到正常大小的蛋白质内含子产物, 并能检测到 LacZ 基因产物的生物活性<sup>[4]</sup>, 说明也发生了正确的剪接。去掉酵母 *vma1* 基因 5' 端和 3' 端的绝大部分序列, 转译产物也能正常剪接<sup>[4]</sup>, 这些结果表明蛋白质剪接与蛋白质内含子以外的序列关系不大。

尽管目前并无直接证据表明蛋白质剪接是一个自我催化过程, 但大量实验结果与这一观点吻合。实验发现, 酵母 *vma1* 基因和结核分枝杆菌 *recA* 基因在大肠杆菌、昆虫细胞以及多种体外转译体系中, 前体蛋白都能正常剪接<sup>[1]</sup>。前面所述剪接只与蛋白质内含子有关而

与内含子上下文无关这一事实也支持“自我催化”的观点。

Hodges 等根据蛋白质内含子 C 末端的一致序列 His-Asn-Cys (Thr/Ser) 有点象丝氨酸蛋白酶的“催化三联体”, 认为蛋白质剪接是“三联体”中的 His 活化了 Cys 或 Ser, 然后 Cys/Ser 攻击有关肽键而引起肽键断裂<sup>[9]</sup>. Cooper 等则根据对酵母 Vma1 前体蛋白剪接过程的研究, 认为剪接是上述“三联体”中的 Asn 起始的. Asn 的  $\beta$ -胺基有自动形成环琥珀胺的倾向, 从而起始了剪接反应. 而且他们确实找到了酵母 Vma1 前体蛋白中蛋白质内含子 C 端已经切断而 N 端尚未切断的中间体<sup>[10]</sup>.

由于至今发现的蛋白质剪接现象只有少数几例, 剪接反应的机制总体看还是个谜. 究竟肽链如何断裂, 新肽键如何形成以及如何提供新肽键形成所需的能量, 这些都是有待进一步研究的课题.

#### 4 编码蛋白质内含子的 DNA 是一种新的可移动遗传因子

比较所发现的几种蛋白质内含子序列, 发现它们都与酵母同配型转换基因 (homothallic switching gene) 有同源性<sup>[8]</sup>. 酵母 Vma1 前体蛋白的 50kD 内含子蛋白 (VDE) 和 *T. litoralis* DNA 聚合酶的第二个内含子 (I-Tli I) 都具有特异性核酸内切酶活性, 识别序列在 12bp 以上, 能在准确位置将缺失编码蛋白质内含子的 DNA 片段 (spacer 区) 后的 vma1  $\Delta$  spacer 或 DNA pol  $\Delta$  spacer 切开, 且切割位点重新插入各自的 spacer DNA 片段后, 又恢复为完整的 vma1 基因和 DNA 聚合酶基因<sup>[7,11]</sup>. 酵母 vma1 基因的 spacer DNA 还能在等位基因中高效转移<sup>[11]</sup>. 在反式提供 VDE 的情况下, 不但 vma1 中的 spacer DNA 能转移, 甚至 vma1  $\Delta$  spacer::his 3 中的 his 3 基因也能转移, 使一个 vma1  $\Delta$  spacer::his 3/vma1  $\Delta$  spacer 等位基因转变为 vma1  $\Delta$  spacer::his 3/vma1  $\Delta$  spacer::his 3 等位基因. 这充分说明酵母 vma1 基因中的 spacer DNA 是一种可移动

遗传因子, 它自身编码一种具有核酸内切酶活性的蛋白质, 以帮助实现自身在合适位点的转移. 尽管目前尚未见另两种 spacer DNA 转移的报导, 人们认为编码蛋白质内含子的 spacer DNA 很可能同属于一类新的可移动遗传因子.

尽管与 I 型内含子存在一些差别, 但新发现的这类可动遗传因子与 I 型内含子也有许多相似<sup>[12]</sup>: 首先它们都编码核酸内切酶功能, 其次发现两者都能在等位基因间转移, 且插入位点特异, 方向单一, 插入位点两端不形成重复序列 (这一特点有别于原核质粒中发现的转座子), 再次, 两种剪接似乎都能自我催化, 只不过 I 型内含子剪接发生在 RNA 水平, 蛋白质内含子剪接发生在蛋白质水平.

#### 5 蛋白质剪接现象的进化

蛋白质剪接现象显然不如 RNA 剪接普遍, 已克隆的 20 种 recA 基因中只在结核分枝杆菌中发现了蛋白质内含子, 至今在所有生物中也只发现了三例蛋白质内含子的存在. 但几乎可以肯定, 蛋白质剪接现象在自然界的存在比想象的要多. 可以期望, 随着研究的深入, 会有更多的蛋白质内含子被人们发现.

RNA 内含子被普遍认为是一种古老的生命现象<sup>[13]</sup>, 那么蛋白质内含子是怎样进化而来的呢? 在漫长的进化过程中, 基因组 DNA 有一种排出额外遗传成分的倾向, 编码蛋白质内含子的这些 DNA 片段是如何保存下来的呢?

有人提出了以下一条进化路线<sup>[1]</sup>: 一段 DNA 编码了一种核酸内切酶功能, 因而渐渐扩散到了新的基因组位点, 当它扩散到非编码区域时, 它独立表达并得以存在下来. 在此过程中, 它与 I 型内含子可能形成一种共生关系: I 型内含子为它提供插入位点, 它则可能在帮助 I 型内含子稳定遗传上有优势. 随后这段 DNA 编码的蛋白质除了核酸内切酶活性, 又获得了一种新的活性: 蛋白酶活性. 这样它得以扩散到编码区而能够被忍受. 因为对于某一基因, 在获得了这段额外 DNA 成分后, 虽然不能产生原来的 mRNA 分子, 却由于新来

的蛋白质内含子能准确地将自身从前体蛋白中切除,形成正常的有功能的“宿主”蛋白质分子,因而它能够忍受这一新来的额外成分.在以后的进化历程中,由于基因突变将影响正常剪接,导致不能形成有功能的“宿主”蛋白,因而有一种选择压力迫使这额外 DNA 成分保留下来.

以上假设与蛋白质剪接为自我催化过程的观点相符.但也不能排除有些蛋白质内含子的剪接可能依赖共进化的别的蛋白质内含子甚至依赖宿主细胞的某些因子.因为一旦体系能够反式提供蛋白质剪接因子,蛋白质内含子自身的蛋白酶活性便允许丢失而不影响蛋白质内含子的剪接.

曾发现有一种 I 型内含子编码的蛋白质具有两种功能,即既有 DNA 内切酶功能又有 RNA 内切酶功能<sup>[14]</sup>,前者实现自身 DNA 的转移,后者实现自身产物从宿主分子中排出以使宿主分子容忍额外成分的存在.在这一点上,蛋白质内含子很可能最初也是这样.今后若能证明被剪除的蛋白质内含子除了核酸内切酶功能,尚有蛋白酶活性,无疑对上述假设是一个有力的支持.

## 6 结束语

最初,人们认为基因是一个连续不间断的功能单位,随后内含子被发现了,再接着 RNA 的编辑<sup>[15]</sup>、DNA 的剪接<sup>[16]</sup>以及蛋白质的剪接接连不断地被展示在人们面前,人们对生命现象的认识就是这样一步一步深入.蛋白质剪接现象的发现不但理论上使我们认识到生命现象的复杂多样,对我们的科学实践也具有一定的意义.由于酵母 Vma1 前体蛋白的蛋白质内含子 VDE 和嗜热原细菌 *T. litorolis* DNA 聚合酶的第二个蛋白质内含子 I-Tli I 都具有特异性核酸内切酶功能,且识别序列很长,它们

在分子生物学上尤其是在大片段 DNA 操作上将大有作为<sup>[17]</sup>.其次,若能阐明蛋白质剪接的机理,或许将来会有一类更有特异性的蛋白质工具酶问世.再次,长期以来由于核酸测序的发展快于蛋白质测序,人们习惯于仅仅依赖分析 DNA 序列而推断蛋白质序列,蛋白质剪接现象的发现则给人们这样一个警告:对于有些蛋白质,仅仅从其 DNA 序列推断蛋白质序列是有一定风险的.

## 参 考 文 献

- 1 David A S, Heidi G B. *Cell*, 1992; **71**: 183
- 2 Carrington D M, Auffret A A, Harke D E. *Nature*, 1986; **313**: 64
- 3 Bowles D J, Marcus S E, Pappin D J *et al.* *J Cell Biol*, 1986; **102**: 1284
- 4 Kane P M, Yamashiro C T, Wolczyk D F *et al.* *Science*, 1990; **250**: 651
- 5 Hirata R, Ohsumi Y, Nakano A *et al.* *J Biol Chem*, 1989; **256**: 6726
- 6 Davis E O, Sedgwick S G, Colston M J. *J Bacteriol*, 1991; **173**: 5653
- 7 Perler F B, Donald G C, William E J *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992; **89**: 5577
- 8 Daris E O, Jenner D J, Brooks P C *et al.* *Cell*, 1992; **71**: 201
- 9 Hodges R A, Perler F B, Noren C J *et al.* *Nucleic Acids Res*, 1992; **20**: 6153
- 10 Cooper A A, Chen Y J, Lindorfer M A *et al.* *EMBO J*, 1993; **12**: 2575
- 11 Gimble F S, Thorner J. *Nature*, 1992; **357**: 301
- 12 Lambowitz A. *Cell*, 1989; **56**: 323
- 13 Belfort M. *Cell*, 1991; **64**: 9
- 14 Dujardin G, Jacq J, Slonimski P P. *Nature*, 1982; **298**: 628
- 15 金由辛. 见: 敖世洲主编. 基因分子生物学进展. 上海: 上海科学技术出版社, 1992: 98
- 16 Hunter D J, Williams K, Cartinhour-S *et al.* *Genes-Dev*, 1989; **3** (12B): 2101
- 17 Bremer M C D, Gimble F S, Thorner J *et al.* *Nucleic Acids Res*, 1992; **20**: 5484

**The Regulation of Immunoglobulin Gene Transcription.** Zhang Wenfa. (*Department of Biology, University of Science and Technology of China, Hefei 230027*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*. 1994; **21** (6): 482—486

Immunoglobulin (Ig) gene expression is a B-cell-specific and developmental-stage-specific event. Several factors are involved in Ig gene transcription, including Oct 2, NF- $\kappa$ B and helix-loop-helix (HLH) proteins. The regulation of Ig gene transcription by these three kinds of protein factors are focused.

**Key words** immunoglobulin gene, Oct 2, NF- $\kappa$ B, HLH proteins

**Research Advances on Zinc Participating in Genetic Regulation.** Wang Yingjie, Xu Abing. (*Department of Biological Science and Biotechnology, Hangzhou University, Hangzhou 310012*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*. 1994; **21** (6): 486—491

The effects of zinc on genetic regulation are extensive and conspicuous. It was shown that zinc participates in genetic regulation mainly through affecting the regulation of gene expression, the structure and function of chromatin, the conformation of DNA and the biosynthesis of nucleic acid. The mechanisms of zinc acting in these processes were discussed as well.

**Key words** zinc, chromatin, nucleic acid, gene expression

**Protein Splicing and a New Kind of Mobile Genetic Element.** Lu Baisong, Huang Peitang. (*Molecular Genetic Center Academic of Military Medicine Sciences, Beijing 100850*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*. 1994; **21** (6): 491—494

Several cases of protein splicing have been found recently which is different from so called RNA splicing. The peptides which are excluded from premature proteins are called "protein intron". Some of the protein introns have endonuclease activity and the DNA fragments coding for protein introns have defined a new kind of mobile genetic element. The discovery, mechanism and evolution of protein introns are focused.

**Key words** protein splicing, protein intron, mobile genetic element

**Programmed Cell Death and bcl-2 Gene.** Yu Yongtao, He Fuchu. (*Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850*). *Prog. Biochem. Biophys. (China)*. 1994; **21** (6): 495—497

Programmed cell death (PCD), unlike the other form of cell death (necrosis), is an active process of cellular suicide. It plays an important role in embryogenesis, tumorigenesis and clonal selection in the immune system. bcl-2, a potential physiological regulator of PCD, can not block all kinds of programmed cell death mediated by various stimuli. bcl-X, a recently found gene which encodes two different proteins, takes an important part in both positive and negative regulation of PCD. bcl-2 is regarded as a member of the third category oncogenes because its blocking of PCD results in tumorigenesis.

**Key words** programmed cell death (PCD), bcl-2 gene, bcl-X gene, oncogene

**Advance in Current Research of Human GM-CSF Gene and the Regulation of Its Expression.** Shen Baohe, Guo Donglin, Sun Naien. (*Department of Biochemistry, National Labo-*