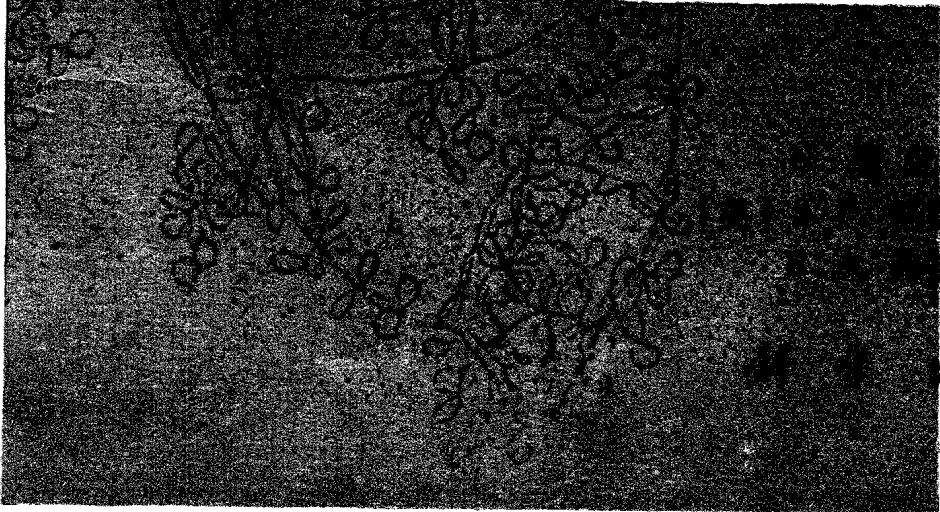
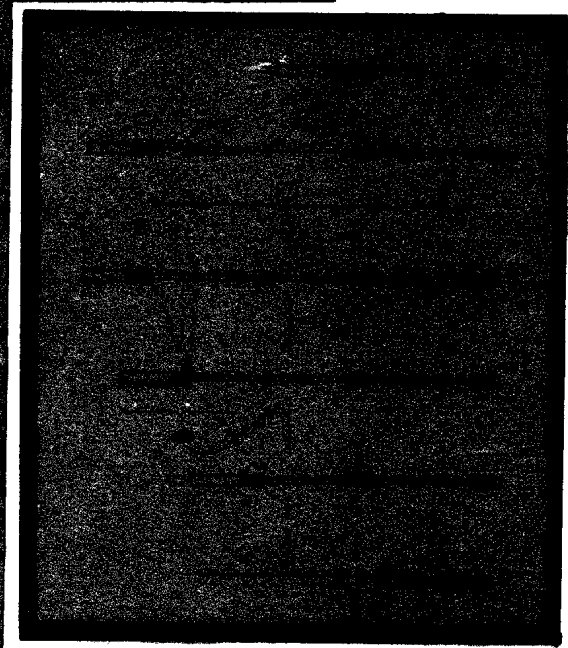




真核基因

结构 活性 调节



莱恩

雷戈里 主编

拉维尔

科学出版社

内 容 简 介

本书由37位有关学术权威撰写。共有25章，分为基因调节、染色体组构、实验方法、特异基因的表达和植物基因5个部分。提供了有关动物、植物和真菌等真核基因的最新资料；在浩如烟海的资料堆积中理出了从染色体、染色质、DNA、基因家族，直到个别特异基因的结构、活性和调节的明晰层次与共同规律；介绍了各种有关的实验系统。可供生物学、医学、农学的科研、教学和临床等方面的工作者、研究生和本科高年级大学生参考。

N. Maclean S. P. Gregory R. A. Flavell

EUKARYOTIC GENES

Their Structure, Activity and Regulation

Butterworths 1983

真 核 基 因

结 构 活 性 调 节

【英】N. 麦克莱恩 S. P. 格雷戈里 R. A. 弗拉维尔 主编

朱作言 柯礼道 吴石君 译

萧淑熙 等 校

责任编辑 刘 安

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1987年11月第一版 开本: 787×1092 1/16

1987年11月第一次印刷 印张: 25 1/4

印数: 0001—2,800 字数: 470,000

统一书号: 13031·3678

本社书号: 5256·13-10

定价: 5.90元

译 者 的 话

本书的主要编者 N. Maclean 博士是英国南安普登大学生物系高级讲师(在英国即为没有行政职务的教授),多年来从事细胞分化、发育和分子遗传学的教学与研究工作。他的第一部专著《基因表达的调控》获得了世界声誉。《血红蛋白》、《细胞分化》和《DNA、染色质及染色体》等专著也都为研究者们所重视,其中有的已译为法、俄、日、中、荷等文字。N. Maclean 博士曾于1983年9月作为中国科学院的客人来华访问。编者 S. P. Gregory 是 N. Maclean 博士指导下获得博士学位并进行博士后研究的,现任伦敦大学医学院生化系副研究员。另一编者 R. A. Flavell 是一位著名的细胞与分子生物学家,原为英国帝国肿瘤基金研究所研究员,现为美国基因工程公司“Biogen”的业务所长。

本书的译者之一,曾在 N. Maclean 博士的实验室工作过较长时间,对他严谨的治学态度、丰富的知识积累、独特的分析问题方法,以及对中国人民的友好感情,都留下了深刻的印象。当 N. Maclean 博士来华访问时,商定将他们编著的这本书翻译成中文,并接受了他赠送的英文原书。

在翻译过程中得到了北京大学生物系卢光莹同志、中国科学院微生物研究所陆德如同志及中国科学院遗传研究所黄华梁同志的指教,特致谢意。

美籍学者萧淑熙先生承担了本书的主要校订工作,感谢她认真严谨的工作。

本书从染色质和染色体结构到描述一个基因、一个基因家族或一整个基因系统;同时讨论了动物、植物、真菌等真核生物基因结构和表达的近期资料,还包括了业已应用于基因工程产物开发的某些细胞生物学技术,内容丰富,涉及面广。而我们限于专业及文字水平,在翻译过程中难免出现错误和缺点。恳切地希望读者提出意见。

译者

1985.10.

序 言

对分子生物学怀有特殊兴趣的人，生活在这个时代里确实是特别幸运的。业已证明，最近几年是遗传学的大革命时期。基因操作的现代技术，使我们有可能从微观到宏观地进行遗传学研究。以往进行的遗传学研究，主要是以检查表型特征，并通过观察这些特征的遗传方式，以便得出关于构成其潜在基因型的基因的结构与功能的结论。当前的这场革命，一下子使有可能把基因从动植物体里分离出来，安置在克隆载体之中，并直接确定其碱基顺序。根据这些资料，人们能够从基因到遗传表型，而不再是从表型往下演绎地研究基因调节与表达的问题。毫无疑问，下一个十年内将会见到基因技术应用方面的突飞猛进，但新的研究途径也将继续为遗传学和生物学这类基础科学作出重大贡献。

本书扼要地提供了新资料的精华。我们所选择的大多是现在已经了解的那些基因，一章描述一个基因、一个基因家族，或者在某些情况下描述一整个基因系统。为了交待已有资料的来龙去脉，我们还在本书开头用了几篇讨论染色质和染色体的结构，以及某些细胞学技术。事实证明，这些技术在开拓基因工程产物方面是极为有用的。

我们想趁此机会，向我们写作组的成员们表示感谢。这些作者们成天忙于实验室工作，具有丰富的经验和第一手资料，理所当然最有资格分写本书的各章节。感谢他们花了许多时间、不辞辛劳地评价资料与撰写。

我们还感激许多同事们，他们帮助我们挑选了最有能力的作者、借用参考文献资料和审编个别章节。对Butterworths出版社诸位的指导、决策和耐心，我们同样表示衷心的感谢。

N. Maclean

S. Gregory

R. A. Flavell

(朱作言译 萧淑熙校)

目 录

第一章 导言.....	(1)
一 新技术提供了新洞察力.....	(1)
二 本书的布局.....	(3)

第 I 篇 基因调节

第二章 染色质的结构及超级结构.....	(7)
一 引言.....	(7)
二 核小体的结构.....	(7)
三 核小体上组蛋白和DNA的排列 细节.....	(9)
四 核心组蛋白碱性N端区域的作用.....	(13)
五 核小体在染色质上的空 间 位 置.....	(14)
六 核小体是否有相位.....	(15)
七 染色质的高层结构: 核小体纤丝的折叠.....	(16)
八 活跃的染色质.....	(20)
九 结论.....	(21)
第三章 非组蛋白和基因调节.....	(22)
一 引言.....	(22)
二 非组蛋白的一般性质.....	(22)
三 非组蛋白作为调节分子的直接证据.....	(31)
四 结论.....	(33)
第四章 DNA的修饰作用.....	(35)
一 引言.....	(35)
二 甲基化作用主要存在于CG之 间.....	(35)
三 用限制性内切酶对 5 mC定 位.....	(36)
四 mCG的复 制 作 用.....	(36)
五 最初的甲基化 作 用.....	(38)
六 动物中mCG水平的不 同.....	(38)
七 甲基化作用的区域.....	(39)
八 DNA甲基化与转录作 用.....	(40)
九 甲基化与突变.....	(43)
十 DNA结构与甲基化 作 用.....	(43)

第 II 篇 染色体的组构

第五章 核外基因.....	(47)
一 引言.....	(47)
二 线粒体DNA的基因——一般 特 性.....	(47)

三	叶绿体基因的结构、活性和组构	(55)
四	有缺陷的细胞器DNA	(57)
五	其它的核外DNA	(58)
六	进化起源学说和细胞器DNA进化	(58)
第六章	灯刷染色体	(59)
一	分布、历史背景和制备方法	(59)
二	两栖类灯刷染色体的形态学	(60)
三	灯刷染色体的发育	(62)
四	灯刷染色体的结构和遗传	(63)
五	灯刷染色体的转录	(64)
六	灯刷染色体的功能	(67)
第七章	多线染色体	(69)
一	引言	(69)
二	横纹图案的恒定性及一条横纹一个基因的相关性	(69)
三	多线染色体: 遗传学与分子生物学的纽带	(72)

第Ⅲ篇 实验方法

第八章	体细胞杂交	(79)
一	杂种细胞的基因表达	(79)
二	胞质杂种和重建细胞的基因表达	(81)
第九章	细胞核及纯化基因显微注入卵母细胞和卵子后的表达	(84)
一	引言	(84)
二	细胞核移植到卵子后的发育潜力	(85)
三	细胞质对染色体行为的控制	(88)
四	发育受阻的原因	(89)
五	细胞核在卵母细胞中适应后遗传潜力的增强	(90)
六	卵母细胞成分调控下分化细胞核内特化基因的表达	(91)
七	注入非洲爪蟾卵母细胞核的纯化基因的功能	(93)
八	克隆基因注入卵内的命运和表达	(100)
第十章	分离细胞核的基因活性	(103)
一	引言	(103)
二	实验系统	(104)
第十一章	整体动物系统	(114)
一	引言	(114)
二	畸胎瘤	(114)
三	畸胎瘤干细胞的杂种细胞	(115)
四	向小鼠胚泡注射杂种畸胎瘤干细胞	(116)
五	受精卵内克隆DNA分子的显微注射	(121)
六	DNA转化的鼠类畸胎瘤干细胞: 转染基因组表达的调节	(121)
七	畸胎瘤杂种干细胞在X染色体失活上的研究	(131)
八	结论	(131)

第Ⅳ篇 特殊基因的表达

第十二章 核蛋白体RNA基因	(138)
一 引言	(138)
二 非洲爪蟾的rDNA	(140)
三 黑腹果蝇的rDNA	(144)
四 四膜虫的rDNA	(148)
第十三章 5S rRNA基因	(151)
一 引言	(151)
二 5S rRNA基因的结构	(151)
三 5S rRNA基因的表达与调节	(154)
第十四章 转移RNA基因	(161)
一 tRNA基因的数量	(161)
二 tRNA基因的排列	(163)
三 tRNA基因的稳定性	(166)
四 间插顺序	(167)
五 转录的起始位点和终止位点	(170)
六 tRNA基因的启动基因	(172)
七 tRNA基因的调节	(176)
八 结论和展望	(176)
第十五章 真核生物的可移动遗传因子	(178)
一 果蝇的可移动遗传因子	(179)
二 酵母中的转位因子	(183)
三 玉米的可移动遗传因子	(184)
四 DNA转位和锥虫抗原的变异	(186)
五 哺乳动物中转位因子的发生	(187)
第十六章 组蛋白基因	(188)
一 引言	(188)
二 组蛋白基因的调节	(188)
三 组蛋白基因的结构	(197)
四 附录	(201)
第十七章 珠蛋白基因: 结构与表达	(203)
一 引言	(203)
二 血红蛋白的生物合成	(203)
三 珠蛋白基因的结构	(204)
四 珠蛋白基因连锁	(204)
五 基因簇内部的重复DNA顺序	(205)
六 假基因	(205)
七 珠蛋白基因转录——启动基因	(206)
八 拼接所需的顺序	(208)
九 珠蛋白基因表达的遗传缺陷: 地中海贫血	(209)
十 珠蛋白基因在类红细胞中的专一性表达	(213)

第十八章 卵白蛋白基因	(215)
一 引言	(215)
二 卵清蛋白的基因家族	(215)
三 卵类铁蛋白传递基因	(218)
四 卵类粘蛋白基因	(219)
五 溶菌酶基因	(219)
六 类固醇激素的调控作用	(221)
第十九章 卵黄蛋白原基因的结构与调节	(223)
一 昆虫的卵黄发生	(223)
二 脊椎动物的卵黄发生	(225)
三 结论	(230)
第二十章 免疫球蛋白基因	(231)
一 引言	(231)
二 三个免疫球蛋白基因座位	(232)
三 V区组装的机理	(234)
四 体细胞的多样性	(236)
五 类型(重链恒定区, C _H)转换	(240)
六 免疫球蛋白基因的表达	(242)
七 等位排斥	(244)
八 有关T细胞受体的尚未解决的难题	(246)
九 易位到免疫球蛋白座位上的致癌基因	(246)
第二十一章 收缩蛋白基因	(247)
一 不同肌肉与非肌肉组织中的收缩蛋白各种同功型	(247)
二 各种收缩蛋白mRNA的特性分析: cDNA克隆	(251)
三 收缩蛋白的基因: 结构和组构	(253)
四 收缩蛋白基因的连锁	(262)
五 收缩蛋白基因表达的调节	(263)
六 结论	(265)
第二十二章 家蚕丝心蛋白的基因	(267)
一 引言	(267)
二 家蚕	(267)
三 丝腺	(267)
四 丝蛋白	(270)
五 丝心蛋白mRNA	(272)
六 丝心蛋白基因	(274)
七 结论	(278)
第二十三章 角蛋白基因	(279)
一 引言	(279)
二 鸟类角蛋白	(279)
三 哺乳动物角蛋白	(285)
四 表皮角蛋白	(288)
五 结论	(289)

第Ⅴ篇 植物基因

第二十四章 真菌系统	(293)
一 引言	(293)
二 基因结构	(293)
三 基因表达	(294)
四 “簇基因”	(295)
五 调节基因	(295)
六 受体位点	(298)
七 基因簇	(300)
八 遗传调节的其它方面	(303)
第二十五章 植物基因的结构与功能	(304)
一 引言	(304)
二 植物基因组	(304)
三 植物细胞的基因表达	(305)
四 植物基因表达的调节	(306)
五 特殊植物基因的结构和功能	(307)
六 植物基因内部和邻近处可能存在的调节顺序	(311)
七 展望	(312)
参考文献	(313)
中英名词术语对照和索引	(390)

第一章 导 言

自从1953年Crick, Watson和Wilkins揭破DNA双螺旋结构之谜以来,有关基因和基因结构的新知识犹如雪片纷纷而下,以至于酿成了一场暴风雪,这是一场所有遗传学工作者必须竭力适应、并在其中工作的暴风雪。本书试图在积雪中开出一条路,以便在这种新知识的迅速累积中较易于抓住主流。这项雄心非凡的工作,不是单枪匹马所能完成的。于是,我们考虑编辑一本由各领域权威发言人分写各章的书,以反映不同信息水平相对重要性的形式,来提供基因顺序、染色质和染色体等方面的最新资料。

新资料暴风雪是如何形成的呢?实质上它来自于遗传密码高效而又相对的简洁性。遗传密码仅由四个不同碱基的三联体密码子组成,编码稍多于20个不同的翻译信息单位。这种编码简洁性,以及DNA螺旋两姊妹链上顺序的互补性质,意味着一旦找出某些可以在染色质上进行基因定位和测定分离基因的碱基顺序的方法,便有可能从与若干世纪以来一直吸引人们注意的方向恰恰相反的一端开始遗传学研究:在不研究表型、家系遗传、甚至其结构蛋白基因表达的情况下,就有可能直截了当地读出遗传密码,并试图译出其中的信息含意。虽然我们必须承认,从对DNA顺序的了解来阐明遗传的实质并不意味着轻而易举,而只有在了解由基因顺序到表型特征的整个内容的基础上,才能通晓遗传学的诸方面。然而无可否认,新的研究途径在遗传学研究中引起了一场大革命,使我们对于遗传过程的了解已有了相当的进展。

一 新技术提供了新洞察力

首先,我们要研讨那些在遗传学上有非凡价值的新技术。一些技术将在本书的导言和各篇中详细讨论,在其后的某些章节中亦(或)有所涉及。这里讨论一下在遗传学范畴中许多不同水平上应用的一些技术。

染色体水平

在本世纪初就推测过基因在染色体上的定位,近几十年来又得到了肯定。尽管如此,染色体研究仍然显得难以进行。在大多数细胞里,它们只能见于有丝分裂期间,而且表面看上去大多相似。正如有关人类蒙古型畸形病的染色体在早期所显示的不明确变化那样,即使大区段基因的染色体定位也不易查明。染色体显带技术为此迈开了一大步。继应用荧光技术进行染色体的染色之后,弄清了用强碱或甲酰胺的特殊细胞化学方法亦可专染着丝粒的染色质。当C带显得不够用时,用某些类似的技术,再经吉姆萨染色,就可在整个染色体上显示出带状条纹,称G带型。特别有用的是不同染色体表现出不同的G带型,因而首次得以毫不含糊地鉴别特殊染色体。

把一个基因定位在一条特殊染色体上,或进而定位在染色体的单一座位上仍然是困难的。阐明基因的分布,在传统上是依赖于连锁研究和测量可能的交换频率。但现在有

了染色技术,至少可以在某些场合下显示特殊基因的位置,如用银染来定位活性核蛋白体RNA顺序。象转移RNA(tRNA)基因那种以大片段形式出现的重复基因,可以用放射性互补DNA(cDNA)原位分子杂交,接着用放射自显影来定位。人们在用放射自显影方法定位单一结构基因顺序方面亦进行了一些工作,但得到的弱的信号很难用cDNA来解释这类实验。构建一个双特性杂交细胞的细胞融合方法是一种全然不同的技术,它可以不含糊地指明在一个单个染色体上的一个特殊结构基因。特别是利用仙台病毒为媒介的小鼠和人细胞之间的细胞融合,以及随后的细胞培养,通常逐渐丢失的是人的染色体组。已得到的细胞系包含着一个“全套小鼠”染色体组和单个的人染色体。染色体显带法显示和验证了单个的人染色体,同时延长了对特殊基因(如胸苷激酶基因)表达的检测,可以在单个染色体上明确地指明一个特殊的结构基因。

在已有的所有染色体技术中,这些进展是很有用的。但是在染色质和真正的基因定序领域中的发展更令人惊叹,这两个领域正是本书要着重讨论的。

染色质水平

关于染色质内组蛋白和DNA之间的关系,大多早期的理论工作认为由DNA形成一个内核,而组蛋白分子作为其外鞘附在双螺旋的表面。Hewish和Burgoyne做了一个简单但具有决定性意义的实验,首先阐明了染色质的真正结构。这些澳大利亚的工作者用内源钙激活核酸酶消化鼠肝染色质,从降解的DNA片段的电泳中得到了现在所知的200碱基对(bp)的重复梯带。这个结果清楚地暗示着,DNA除了在某些相隔200bp的部位裸露之外,被某种特异的方式保护着而免受降解。当把这个发现与电子显微镜分析的染色质细微结构进行比较时,组蛋白珠作为染色质上的一个重复结构的概念便很快形成了。不久,核磁共振研究确立了关于组蛋白-DNA的构象。与早期猜测的意见相反,DNA是缠绕在组蛋白八聚体的外围,由此构想出了现已被采纳的多数染色质亚单位(核小体)的精确图像。在本书开始的某些章节,提供了有关核小体的最新述评及如何把该结构应用于遗传学的其它方面,如基因调节和染色质在染色体上的排布等。

现在已经知道,在所有转录上不活跃的染色质(除精子的以外)和多数活跃的染色质里,核小体是恒定的染色质亚单位。人们对核小体在染色质中高层结构的排列尚欠了解,通过已利用的技术,如核磁共振就为此提供了具有说服力的证据,即核小体是以螺线管式排列的,也许每一螺圈代表附着在完整染色体主干或支架上的一个DNA环或结构区。

DNA水平

近年来,正是在DNA本身水平上的研究发展神速,才使从表型到内部基因和从DNA顺序到外部表现特征这两个方面把遗传学推向前进。第V篇的导言较详细地概述了若干技术,它们结合在一起,有可能使有关基因顺序及其意义的资料大量累积起来。

发展测定特殊DNA分子全长碱基顺序的方法,以及缩短使用这些方法所需的时间,是迅速进步的领域之一。例如直接定序技术,使待测的一个模板DNA顺序与一短的引物顺序结合起来,再加入放射性核苷酸及DNA修复多聚酶,并在每组平行实验中各掺入一种双脱氧核苷,使反应终止在不同的位置。每组反应的混合分子通过丙烯酰胺凝胶

电泳分开,用放射自显影测出凝胶中梯带所示的末端标记分子的位置。

Maxam和Gilbert创立的通过化学降解来测定DNA顺序的另一种方法亦被广泛地应用着。这两种方法及其各种细微的改进,使我们可以快速测定长达几千个碱基的DNA顺序。

在霰弹法(shotgun)实验和通过克隆某特定顺序而生产大量拷贝的进展,快速测序法与基因定位技术便一同发展起来。普遍使用基因克隆法的前几年,就有了核酸杂交实验,这个方法同样为测定细胞的RNA和DNA的复杂性和顺序出现率(sequence frequency)提供了一个有力手段。核酸杂交法揭示了在真核基因组里单一顺序与重复顺序的错落分布现象,与克隆及互补DNA的合成技术结合起来,又揭示了真核基因编码顺序中存在内含子顺序这一令人惊异的现象。

在分子遗传学中,尽管广泛应用了计算机来扫描同源顺序,但基因调节仍是其最难理解的一个方面。已经迅速积累起来了关于CAT和TATA框盒结构和其它一些尚欠明晰的一致性顺序的资料。但是我们对确保一个特殊基因顺序在一种细胞内而不在其它细胞内进行转录的机制仍然不甚了解。

二 本书的布局

本书介绍资料和进行讨论将按如下顺序进行,即先从细胞和染色体方面开始,进而讨论那些至少在结构方面现在已较为清楚的一些真核基因系统。第I篇称为基因调节,主要讨论染色质,以及可能涉及基因活性调节的DNA和蛋白质修饰的方式。读者将会发现这一篇主要讨论的是组蛋白,一些与染色质结合的酸性蛋白诸如高迁移率蛋白群(HMG proteins),泛素、多聚酶等,以及染色质的DNA和蛋白质组成核小体、核小体的高级结构排列和最终组装为染色体的一些方式。

第I篇关于染色体结构的讨论,很自然地导致第II篇讨论线粒体和叶绿体的核外基因的结构与功能,以及脊椎动物卵母细胞灯刷染色体和双翅目昆虫巨型多线染色体对了解染色体的结构和功能作出的特殊贡献。这两种染色体在转录活性和细胞学检测方面均享盛名。我们没有详细陈述染色体总的形态学和染色体遗传学的主要方面,因为这方面的多数资料并不是本书主攻方向——真核基因的结构、活性和调节的必要基础。

在第III篇里,我们有机会讨论第IV篇没有包括进去的一些特殊技术,其中包括侧重于细胞水平而不是分子水平的一些实验方法。已经证明,其中许多实验方法与基因克隆和顺序分析方法结合起来时,既有很大潜在价值又显得精巧动人。例如可以用克隆的cDNA探针检测个别的转录本,也可以把从基因文库中分离并经基因克隆扩增了的外源基因顺序导入细胞、培养的组织、卵母细胞和胚胎之中。

第IV篇构成了本书的主要部分,深入讨论了许多特殊真核基因系统。很明显,这一部分包括的各种基因的范围远远超过了所规定的有限篇幅,其中一些章节不可避免地一定程度上反映了作者的个人倾向。然而,我们在汇编这一部分时,力图对那些在结构,活性及调节方面最明确的真核细胞基因作一广泛的描述。从这些研究中得出的结论,为真核生物细胞核内的基因活动提供了一个一般的轮廓,也适用于许多其它的遗传体系。本篇还讨论了可移动遗传因子(mobile genetic element),虽然它们本身不是一个表达

系统，但转位因子对所结合的DNA区段的活性可能具重大影响。

基于最近几年科学研究的速度和方向，第Ⅳ篇中讨论的基因几乎全部取材于高等动物。为了平衡和提供另一侧面，在本书末尾的第Ⅴ篇简述了真菌和高等植物的分子遗传学，用以强调，无论是植物、动物，还是真菌等真核生物的遗传物质，都有共同的活动规律。一般所见到的表型不同是基因调节问题，对这个问题大部分尚欠了解。

(朱作言译 萧淑熙校)

第 I 篇 基因调节

第 I 篇各章的共同主题是基因调节。关于特殊基因表达水平上可能起作用的调节机制，可以在整本书、特别是第 IV 篇找到参考资料。然而，这里各章主要是讨论真核染色质的那些特征。一般来说，这些特征从功能上、特别是从转录方面影响 DNA 的活性。在真核细胞内，似乎普遍存在着一些基本的特征，它们决定一个特定 DNA 顺序是否被转录。例如我们知道，在所有的间期细胞核里，染色质上有一些转录活跃的区域，其中间隔着更多的，转录上高度抑制的区域，即通常所说的异染色质区域。因此，本篇各章的论题与真核生物细胞核内遗传物质的状态和可能的特性有关，这种特性也许是与结构的表达相关联的。

在复杂的、经常变化着的细胞核环境中，还能够找到一些稳定的因素。这种情况与细胞核的主要蛋白质成分组蛋白有关。有五种主要的组蛋白，其总量与细胞核的 DNA 呈 1 比 1 的关系。这个比值在一定程度上不随组织或物种而变化，说明了在把 DNA 包装成为染色质的过程中，组蛋白起主要作用。第二章从构成染色质基本单位的核小体和可能被采用的高级结构两个方面介绍组蛋白-DNA 相互作用的形式。关于核小体是否存在于活跃转录着的 DNA 区域，虽然至少得到了某些例子的大力支持，但仍然还存在着争议。这里出现的问题是，这些核小体在排列上是否存在着一个决定于特别顺序的（相位）关系。一般而言，核小体没有表现出任何 DNA 顺序上的特异性。但在某些情况下，也观察到了核小体沿着一个特殊基因的有序分布。这种情况适合于单一的组织类型，其中有关的基因可能是活动的或非活动的。如果证实了真正存在这种相位现象，接着就得弄清楚它是原发性的还是继发性效应。其它蛋白质与 DNA 的特异性结合可能迫使核小体采用相位关系。

在细胞核内，笼统称之为非组蛋白的其它蛋白质的性质和功能构成了第三章的基础。特殊的基因调节分子似乎正是来源于细胞核的这部分成分。不同类型的细胞或处于不同生长阶段的细胞，其发育或分化都显示出非组蛋白成分有质和量的不同。其中一些蛋白质在与 DNA 结合的相互作用上，表现出与顺序有关；另一些则有与 DNA 单链区域结合的倾向。此外，还有比较丰富的非组蛋白——高迁移率蛋白群，它们在不同类型的细胞里很少表现出差异。据推测，它们也许是在构建染色质总体结构上行使功能，可能与核小体相互作用形成活动的和非活动的染色质结构区。许多这类蛋白质的活性依赖于其磷酸化的状况，因此蛋白激酶似乎也同样在基因表达的调节中参与作用。

DNA 合成后的修饰也可能同样是重要的，第四章将予以讨论。这里所说的修饰主要是涉及到 CG 碱基对上的胞嘧啶残基，产生 5-甲基胞嘧啶。从以前对原核生物研究得知 5-甲基胞嘧啶在调谐 DNA-蛋白质相互作用上的重要性，因此使人们推测它同样也在真核 DNA 里具调谐作用。染色质内存在甲基化和非甲基化区域；特定基因顺序的低甲基化与转录之间的一般正相关关系，说明是一种功能性作用。然而要区分其中的

因果关系是困难的，正如在分子遗传学的其它方面的情形一样，已有的资料存在着矛盾。一般说来，未甲基化与表达的能力是有关的，但它并不只存在于转录活跃的顺序之中。在这方面正如脱氧核糖核酸酶I(DNaseI)消化敏感所表明，未甲基化似乎与染色质的“开放”构象有关。虽然，这里同样也有某些例外的情况。胞嘧啶甲基化过程最引人注目的地方在于它提供了在DNA内可遗传但又可逆的变化的一种方式，因此为在其后的细胞世代中维持分化状态提供了一种解释。

(朱作言译 萧淑熙校)

第二章 染色质的结构及超级结构

J. O. Thomas

一 引言

在真核生物细胞核内,基本上所有的DNA都与组蛋白结合着,形成一条基本的、直径为10纳米(nm)的染色质纤维,并可以进一步折叠为直径25—30nm的纤维。这种基本纤维(或核小体纤丝)是一个彼此连接并紧密靠在一起的核小体的线性列阵。每一个核小体包含大约200个碱基对(bp)的DNA(不同来源的变动范围为166—241bp)和一个与之相连接的、由各为一对的四种类型组蛋白的八聚体组成的蛋白质核心,这四种组蛋白是富含赖氨酸的组蛋白H₂A和H₂B,以及在进化上非常保守的富含精氨酸的组蛋白H₃和H₄。另外还有一个第五种组蛋白分子(H₁)附着在每个核小体的外侧,并与核小体核心之间的连接子DNA部分地相连接^{50,51,114}。

最近有几篇关于核小体⁵³和染色质^{41,47}的详细评论,故无需在此赘述。在这里,只讨论当前在染色质结构中引人注目的某些方面,包括核小体及核小体纤丝的详细结构,核小体及其排布是否比它作为一个结构上的包装单位具有更深一层的功能意义,特别是核小体对DNA顺序有没有“相位”关系?我们还要进一步讨论核小体纤丝进一步折叠的性质;这种高层结构的稳定性在原则上能够决定特殊染色质区段是否适宜于转录。最后将摘要总结我们关于转录上活跃的染色质结构的新观点^{41,76,124}。

二 核小体的结构

概述

核小体纤丝对几种核酸内切酶,如内源核酸酶、微球菌核酸酶、DNase II表现出周期性的不同敏感性。很明显,当DNA离开一个组蛋白八聚体表面而进入下一个八聚体的时候,这段DNA对上述酶的敏感性比处在核心部分的被组蛋白保护着的DNA要大些,以致“连接子DNA”部分的双链被切断而形成核小体和寡核小体。起初,单核小体包含一个完整的DNA重复片段(如鼠肝脏的DNA重复片段为200bp)。当微球菌核酸酶的核酸外切酶功能继续消化这些颗粒时,可能因组蛋白-DNA相互作用,使进一步的降解受阻。这种障碍首先出现在DNA由完整的重复片段(如200 bp)被酶修剪成166 bp的时候,此时颗粒中的组蛋白成分没有任何变化。当DNA被修剪到146 bp时(原来认为是140 bp)会遇到又一次更大的障碍,形成一个没有H₁的颗粒,它是酶消化过程中的亚稳态中间体,由于八聚体组蛋白核心的保护而免受进一步的降解。在这两个消化阶段所分离出的颗粒分别被称为染色小体(chromatosome, 166 bp)和核小体核心颗粒(146 bp)。因此,

微球菌核酸酶消化核小体的过程可以小结如下:

核小体	→ 染色小体	→ 核小体核心颗粒
200 bp ¹⁾	166 bp	146 bp
+	+	+
八聚体	八聚体	八聚体
+	+	
H 1	H 1	

上述三种颗粒的沉降系数都为11—12S, 其DNA大小的分析表明, 完整的核小体沉降带较宽, 约60 bp, 而消化后变窄。由此可见, 核小体核心颗粒DNA的不均一性是多得多的(146 ± 6 bp)。DNA含量上的这种相对均一性是能使核心颗粒结晶的重要因素(见下文)。从DNase I⁸⁸可以对这种DNA的全长发生作用, 以及中子散射研究^{37, 86}这两个方面都指明DNA是位于核小体的外周。DNase I在每一条DNA链的每隔10个核苷酸处形成缺口, 反映了缠绕着一个组蛋白核心的B-型DNA的周期性(见下一节)。

单晶X射线衍射和晶体的电子显微镜研究表明, 146 bp核心颗粒像一个直径为11nm高为5.5nm的稍具楔状的盘, 其中DNA以80 bp为一周转了1.75圈²⁹。在没有相反证据的情况下, 最简单的假设是DNA双螺旋以规则的左手超螺旋方式平滑地缠绕在组蛋白核心周围^{32, 71}。高分辨率的X射线衍射研究²⁸和单晶中子衍射¹¹明确地证明了在核小体核心颗粒中存在着一个二重旋转的轴。

核小体核心颗粒146 bp的DNA转了1.75圈后, 向两端各延伸10 bp, 形成旋转两整圈的DNA颗粒, 它相当于在用微球菌核酸酶消化核小体产生的第一个亚稳态中间体内所分离出的166 bp染色小体¹⁰³。染色小体失去H 1而被修剪为核心颗粒, 意味着H 1是结合在从核心颗粒两端延伸的10bp顺序上。在电镜照片上, H 1使核小体纤丝呈之字形(相反, 如果没有H 1则呈串珠状), 即使在非常低的离子强度下(<0.2 mol/L)也不呈伸展形态。上述情况至少见于电镜铜网上¹¹²。从所有这些观察所得出的结论是, H 1使围绕核小体两整圈的DNA闭合起来, 并使其进出的两端紧密靠近。

H 1氨基酸顺序有三个明显的区域¹²⁰, 似与其结构上的三个‘结构域’(domain)吻合。它们是中央约80个残基的球状区域, 其氨基酸顺序在不同物种间是相对保守的; 两翼伴以具强碱性的, 至少在溶液里看上去具可塑性的不太紧凑折叠的区域。用胰蛋白酶去除两翼区域之后, 分离出的球状部分似乎足以使失去H 1的染色质恢复到166 bp时的降解间歇期结构, 说明了H 1的这个结构域结合在染色小体的两个10 bp的终端部位, 使DNA闭合成两圈超螺旋。两翼的碱性部分是染色质结构浓缩(condensation)必不可少的成分, 它们可能与连接子DNA相互作用, 但作用方式尚不明确(见18页)。

无论是核小体核心颗粒还是核心组蛋白八聚体(见10页), 都具有一个二重旋转轴对称性, 有可能意味着H 1有两个结合位置。虽然每个核小体的H 1分子数目尚有争议, 但最近测量的结果表明, 不同来源的细胞核中H 1的含量平均说来只能与核小体呈1比1的关系(请参看文献8及其所列的文献)。

1) 或者染色质上的任何重复线段, 例如166—241bp。