

TRENDS IN CELL BIOLOGY

Vol.3.1999

细胞生物学 动态

▲ 第三卷

翟中和 主编

北京师范大学出版社

细胞生物学动态

Trends in Cell Biology

第 三 卷
(1999)

北京师范大学出版社
· 北 京 ·

图书在版编目(CIP)数据

细胞生物学动态(第3卷)/翟中和主编. —北京:北京师范大学出版社,2000.4
ISBN 7-303-05327-1

I. 细… II. 翟… III. 细胞学:生物学-科学研究-动态-世界 IV. Q28-1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 02103 号

北京师范大学出版社出版发行

(北京新街口外大街 19 号 邮政编码:100875)

出版人:常汝吉

北京师范大学印刷厂印刷 全国新华书店经销

开本:787mm×1092mm 1/16 印张:13 字数:332千字

2000年4月第1版 2000年4月第1次印刷

印数:1~2 200 定价:18.00元

编辑委员会

主 编	翟中和				
副 主 编	郝 水	王永潮	汤雪明	王钦南	
编 委	(以姓氏笔划为序)				
	丁明孝	王亚辉	左嘉客	庄临之	刘树森
	许智宏	邢 苗	孙方臻	孙敬三	李靖炎
	吴 旻	吴祖泽	张 博	张惟杰	陈 竺
	陈建国	陈慰峰	杨弘远	杨福愉	周柔丽
	贺福初	桂建芳	贾敬芬	徐永华	章静波
	裴 钢	薛绍白			
秘 书	陈建国 (兼)	张 博 (兼)		陈丹英	

出 版 说 明

根据国家自然科学基金委细胞生物学战略课题组专家的建议,并征求国内一些生物学专家的意见,为适应国内外细胞生物学发展的形势,并为制订我国细胞生物学研究战略与计划提供依据,决定出版“细胞生物学动态”年评,每年一卷,主要目的是介绍国际细胞生物学发展与新动态,以最新最活跃的细胞生物学前沿领域与新的热点为主要内容。其中以综述性文章为主,兼顾刊登短评、快讯及国际国内成果和学术会议动态。以科学研究工作者、高校教师、研究生与大学生为主要对象。我们希望“细胞生物学动态”的出版能为促进我国细胞生物学研究的发展、不断提高细胞生物学教学质量做一些铺路的工作。

《细胞生物学动态》编委会

1997. 8.

征 稿 简 则

一、宗旨：《细胞生物学动态》是为适应细胞生物学迅速发展的情势而创办的综合性年评，介绍细胞生物学（包括分子生物学）前沿领域的发展动态与新的热点，以促进国内细胞生物学的研究与国际水平接轨，并为制订我国细胞生物学研究战略与计划提供依据。

稿件类型：以综述性文章为主，兼顾刊登短评、快讯及国际国内成果和学术会议动态。

读者对象：以科学研究工作者、高校教师、研究生与大学生为主要对象。

二、字数：6 000~20 000 字，由作者根据需要酌定。

格式：题目

作者

作者单位及地址

正文

参考文献

需要注意的是：

参考文献：择主要的引用，超过 60 篇的不加文章名。以在文中出现的先后顺序附于文末，文中以“上标^[1]”形式出现。具体格式如下（请注意标点符号）：

1. 期刊类：作者，题目，期刊名，年份，卷数（期数）：起止页数（起止页数间用“~”）

2. 图书类：作者，题目，书名，主编，出版社所在地：出版社名称，年份，起止页数

注意：作者要引全。

名词术语：在文中第一次出现时最好注明英文名称。

计量单位：采用国际单位制。

插图请用绘图笔在硫酸纸上绘好。

三、以上请严格规范，否则将予以退稿。

四、来稿请用打印件，最好能提供软盘，请存成 TXT 文件。

五、来稿请寄：北京大学生命科学学院翟中和教授或张博博士（邮编：100871）。

本卷内容简介

《细胞生物学动态》第三卷在第一、二卷的基础上继续介绍细胞生物学前沿领域的发展动态。本卷包括细胞周期调控与细胞分化、细胞信号转导、细胞凋亡、细胞衰老、染色质与基因表达调控、细胞器与细胞骨架、细胞生物学技术 7 个专题。在细胞周期调控与细胞分化专题中,首先介绍了细胞周期中的核心事件——DNA 复制的起始控制;继而介绍了转录因子在红系发生中的调控作用和一种诱导分化剂——HMBA 通过对细胞周期的调控从而诱导转化细胞分化的机制;以及一种新的 P⁵³ 同源性肿瘤抑制基因 P⁷³;关于细胞分化的研究则通过胎盘滋养层细胞形态分化和动脉粥样硬化的发病机制两篇综述可窥一斑。细胞信号转导和细胞凋亡是当前细胞生物学乃至整个生命科学研究中两个最“热”的领域。本卷在细胞信号转导专题中介绍两类重要的信号转换分子: MAPK 和 Myc;并对信号转导中膜受体的调节形式作一总结。在细胞凋亡专题中首先对凋亡过程中的“明星”分子——Caspase (半胱氨酸酶类)进行了“特写”,继而聚焦于一类特殊的凋亡现象——病毒引起的宿主细胞的凋亡。随着老年社会的到来,人们对细胞衰老研究的兴趣日益浓厚,而新近有关端粒酶功能的研究使之再掀高潮。本卷特设细胞衰老专题,介绍端粒、端粒酶与细胞衰老。基因表达调控是当前生命科学研究的主旋律之一,本专题介绍了真核细胞中染色质变构对基因表达的调控;而关于古核生物遗传装置的介绍则从基因表达方式的角度给予我们进化意义上的启示。有关细胞结构与功能的研究源远流长,在细胞器与细胞骨架专题中,一方面介绍线粒体医学的分子基础及其与凋亡的关系,以及中心体研究的新进展;另一方面介绍了中间纤维家族的新成员——nestin 的结构与功能。扫描探针显微术是应用于生命科学的一项发展迅速的技术,它的某些独特优势使其成为研究生物大分子结构与功能的有力工具,本卷在细胞生物学技术专题中对其进行了介绍。

目 录

细胞周期调控与细胞分化

- 动物细胞周期调控与 DNA 复制起始位置的控制 吴家睿(1)
- 转录因子在红系发生中的调控作用 章正琰 章静波 薛社普(6)
- HMBA 的诱导分化作用与细胞周期调控 王华力 章静波(21)
- P⁷³——一种新的 P⁵³ 同源性肿瘤抑制基因 刘艳 张世馥 章静波 蔡有余(29)
- 人胚胎滋养层细胞形态分化的特征、结构基础及调节 王雁玲 庄临之(35)
- 动脉粥样硬化的发病机制 刘国霞 王永潮(46)

细胞信号转导

- G 蛋白偶联受体介导的 MAPK 的激活 张喆 裴钢(55)
- 细胞生长、分化、凋亡调控中的 Myc 网络及其下游靶基因
..... 赵华 方常鸣 徐永华(63)
- 信号传导中膜受体的激活、失敏与减量调节 高飞 易静 汤雪明(74)

细胞凋亡

- 半胱氨酸蛋白酶类和细胞凋亡 张惟杰 何志勇(86)
- 病毒与其宿主细胞的凋亡 周鹏程 丁明孝(96)

细胞衰老

- 端粒、端粒酶与细胞衰老 高云飞 陈丹英 刘诚 翟中和(104)

染色质与基因表达调控

- 染色质变构与真核细胞基因表达调控 任立晨 王东宁 张惟杰(116)
- 古核生物遗传装置及基因表达方式的研究进展 刘晓玲 翟中和(128)

细胞器与细胞骨架

- 线粒体医学及其分子基础 刘树森(134)
- 中心体结构和功能研究进展 陈晓波 王永潮(153)
- 巢蛋白结构与功能研究进展 程乐平 景乃禾(169)

细胞生物学技术

- 扫描探针显微术在生命科学中的应用 闵光伟 翟中和(178)

细胞周期调控与细胞分化

动物细胞周期调控与 DNA 复制起始位置的控制

吴家睿

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

生命的形成和延续依赖于细胞的增殖。细胞的增殖是通过细胞周期来实现的。细胞周期以“DNA 复制期”(S 期)为核心,在该期之前的是“复制前期”(G1 期);在该期之后的是“复制后期”(G2 期)和“分裂期”(M 期)。在细胞周期中,最主要的事件是遗传信息载体 DNA 在“DNA 复制期”中进行复制,形成两份新的 DNA 拷贝;复制后的 DNA 拷贝通过细胞分裂的方式传给子代细胞。DNA 复制的起始标志着细胞周期的启动。因此,对 DNA 复制起始的调控是控制细胞周期的关键环节。由于细胞周期的调控直接影响到生物的生长、发育、衰亡和病变,因此对细胞周期调控的研究已成为分子生物学的重要领域,而对 DNA 复制起始调控机制的研究则是细胞周期研究领域的热点之一。

一、DNA 复制起始位置的调控

DNA 复制起始调控的一个重要特点是:DNA 复制起始位置受到严格的控制。DNA 复制的起始位置通常不是随机的,而是从染色体某一个特定的位点上开始。这个位点被称为 DNA 复制起始点(Origin of DNA Replication)^[1]。当前最为流行的关于 DNA 复制起始点的观念源于 Jacob 等人提出的模型,即 DNA 复制起始点是通过起始蛋白质(Initiator Proteins)结合在特定的 DNA 顺式序列(cis-acting sequence)上而形成的^[1,2,3]。这一模型在原核生物(如大肠杆菌)和动物病毒(如 SV40 Virus)的 DNA 复制起始研究中得到了证实^[1,3]。但在真核生物 DNA 复制起始的研究过程中却发现情况要远比该模型复杂得多^[4]。

芽殖酵母(Budding Yeast, *Saccharomyces cerevisiae*)是目前研究真核 DNA 复制起始的主要材料。虽然研究者们已确定了它的特定的 DNA 起始序列(ARS: Autonomously Replication Sequence)和可能的起始蛋白质(ORC: Origin Recognition Complex)^[2,4,5],但发现此二者还不足以决定酵母染色体 DNA 复制的起始功能。首先,并非所有的 ARS 顺序都被用作染色体上的 DNA 复制起始点。例如,在第三号染色体一段 DNA 片段上含有 14 个 ARS 顺序,仅有 6 个被用作染色体的复制起始点^[6]。1996 年芽殖酵母的基因组全序列已测出,其中一共含有 750 个 ARS 保守序列(ARS Consensus Sequence),但全部染色体的 DNA 复制起始点估计只在 250~400 之间^[5]。其次,一个有起始功能的 ARS 顺序可以通过人为地转移到染色体的另一部位而失去起始功能,即 ARS 顺序的起始功能受制于它们所处的染色体位置^[7]。此外,英国的科研人员不久前还发现,虽然起始蛋白质 ORC 等对于 DNA 复制的起始是必需的,但是这些蛋白质结合在 ARS 顺序上并不足以决定染色体 DNA 复制的起始功能^[8]。由此可以看出,目前对酵母 DNA 复制的定点起始调控机制的认识还是很有限的,尚待进一步的阐

明。

在高等真核生物 DNA 复制起始机制的研究方面,进展就更为缓慢。对高等真核生物中是否存在有特定的 DNA 起始序列都还没有一个肯定的结论^[1,3,4]。不过,虽然动物细胞的 DNA 复制起始机制尚不清楚,但是在动物细胞染色体上许多特定的起始位置已被确定(见表 1),其起始位置的大小因测定的方法不同而有所不同^[9]。

表 1 动物细胞染色体上已知的 DNA 复制起始位置

Organism	Chromosomal Locus Reference	Size of Initiation Locus	
		Nascent DNA Analysis	2-D gel analysis
Drosophila	Chorion Gene	1kb	8kb
Drosophila	DNA pol. α gene	10kb	10~20kb
Hamster	DHFR gene (ori- β)	0.5~3kb	55kb
Hamster	DHFR gene (ori- γ)	8kb	
Hamster	Rhodopsin gene	5kb	
Hamster	S114 gene	2kb	
Human	β -globin gene	2kb	
Human	cDNA343	2kb	
Human	c-Myc gene	2kb	
Human	hsp 70 gene	2~3kb	
Human	Lamin B2 gene	0.5kb	
Human	rRNA gene	10kb	31kb
Mouse	ADA gene (early S-phase)	11kb	
Mouse	ADA gene (late S-phase)	2kb	
Mouse	CAD gene	4kb	
Mouse	Ig heavy chain gene	0.6kb	
Rat	Aldolase B gene	1kb	
Sciara	Chr. 2; Locus9	1kb	6kb
Xenopus	18&28S rDNA		4kb

此外,研究人员发现,细胞核结构和染色质结构能影响 DNA 复制的起始位置的选择。纽约州立大学卫生科学中心的 Gilbert 博士通过非洲爪蟾卵抽提物 (*Xenopus* egg extracts) 构建了第一个可以使动物细胞 DNA 体外复制起始与体内 DNA 复制起始位置相一致的体外复制系统^[10]。研究表明,如果把 G1 期中国仓鼠卵巢细胞 (CHO 细胞) 的完整的细胞核放入爪蟾卵抽提物进行体外起始,起始位置与其体内复制起始位置是一致的;而把用去污剂 (detergent) 等破坏了核膜结构的细胞核放入爪蟾卵抽提物中,则得到随机的起始^[10]。这意味着细胞核膜结构可能参与决定复制起始的位置。如果把处于 M 期的 CHO 细胞放入爪蟾卵抽

提物, 爪蟾卵抽提物在 CHO 细胞的染色体外会形成爪蟾卵核膜结构并进行 DNA 体外复制。令人惊讶的是, 这种 DNA 复制起始发生在 DHFR 基因座的一个新的位置上^[11]。这表明不同的核膜结构可以在同一种 DNA/染色质上选择不同的起始位置。另外, 将人的 β -globin 基因座复制起始位置缺失以后, 在染色体的这个位置上的起始功能就会丧失。但是, 把位于这个基因座上游 50kb 的一段 DNA (LCR-Locus Control Region) 缺失也同样能导致这一位置的起始功能的丧失, 表明控制复制起始的 DNA 序列有可能远离起始位置^[12]。这些实验表明, 动物细胞的 DNA 复制起始位置的确定与细胞核膜和染色质结构有关。

二、复制起始位置的选择发生在 G1 期

虽然 DNA 复制的起始和复制的全过程限于 S 期, 但对 DNA 复制起始的调控早在 M 期就开始了。科研人员发现在 M 期的晚期, ORC 蛋白质复合体和其它一些与复制起始有关的蛋白质结合在染色体上形成前复制复合体 (Pre-Replication Complexes, pre-RC)^[4,13]。过去对于细胞染色体 DNA 复制定点起始与细胞周期的关系并不清楚。但不久前研究人员发现, 如果把处于 G1 期早期的 CHO 细胞核放在爪蟾卵抽提物中进行体外复制, DNA 复制起始位置是随机的, 但如果把处于 G1 期中晚期的 CHO 细胞核放在抽提物中复制, 其起始位置就与细胞自身体内复制的起始位置一致, 不再是随机的了。这一结果表明, 在真核生物细胞周期的 G1 期中存在一个 DNA 定点复制的调控点, 这个点被称为“DNA 复制起始位置决定点” (Origin Decision Point, ODP)^[14]。这个新的细胞周期调控点首次把细胞周期调控与 DNA 复制的起始控制机制联系起来。这也是继 70 年代中期科研工作者发现了第一个哺乳动物细胞周期调控点 (限制点, Restriction Point^[15]) 以来第二个被发现的细胞周期调控点。

限制点是哺乳动物细胞周期 G1 期中一个特定的时刻。在此之前, 如果生长条件不能满足细胞的生长, 如缺少血清或必需氨基酸等, 细胞将离开 G1 期而进入一种“休眠状态”, 称为 G0 期; 而过了这个时刻, 细胞的生长就不依赖于血清或必需氨基酸等; 不论是什么样的条件, 细胞都会进入 S 期, 进行 DNA 复制, 然后完成细胞分裂。最近的研究发现, 在限制点发生的一个关键事件是 Rb 蛋白质 (Retinoblastoma protein) 被依赖于周期蛋白的蛋白激酶 (CDK) 进行磷酸化^[16]。Rb 的磷酸化导致 RB 失去转录抑制活性^[17~19], 从而使细胞内一系列 S 期必需的蛋白质的基因能够被转录, 从而推动细胞进入 S 期。

那么 DNA 复制起始位置决定点与限制点有何关系? 研究表明, 在 CHO 细胞中, DNA 复制起始位置决定点要早于限制点: DNA 复制起始位置决定点在 G1 期的第三和第四小时之间; 而限制点则在第七和第八小时之间^[20]。另外, DNA 复制起始位置决定点不依赖于血清或必需氨基酸; 但蛋白激酶抑制剂可以阻碍复制起始位置的选择^[20]。这些结果表明, DNA 复制起始位置决定点是 CHO 细胞的一个 G1 期早期的细胞周期调控点, 它可能受独立于生长因子的蛋白激酶 (mitogen-independent protein kinase) 的控制。不过, DNA 复制起始位置决定点的作用机制尚不清楚, 有待于进一步的研究。

三、DNA 复制定点起始在细胞中的生物学功能研究

DNA 复制的起始有着严格的时空调控。但是, 这种时空调控的生物学意义目前并不清楚。DNA 复制不同于 DNA 转录。转录基因时需要一个准确的起始位置, 因为一个碱基的错位都有可能引起基因的突变, 给细胞生长带来不利。但 DNA 复制本身并不一定需要准确的起始位置, 因为复制的最终结果是基因组被完整地复制一遍。随便在任一个位置起始都有可能达到

这一结果。事实上也是这样，在胚性细胞里，DNA 复制的起始位置是随机的^[4,21]。研究人员进一步发现，在非洲爪蟾的胚胎发育过程中，虽然最初的 DNA 复制的起始位置是随机的，但到了中囊胚期 (mid-blastula)，DNA 复制的起始转变成非随机的，即定点起始^[22]。因此可以说，这种定点起始仅存在于分化的细胞 (体细胞)。这就意味着，定点起始的机制并不是高等真核生物 DNA 复制本身所必需的，而是细胞分化的一种结果。那么这种定点起始的机制在细胞中是发挥什么样的功能？这是一个非常重要的生物学问题，但现有的研究手段却又无法予以回答。因为人们难以得到一种 DNA 复制是随机起始的体细胞。

最新的研究成果证明，如果采用蛋白激酶抑制剂处理 SV40 病毒 DNA 转化的 CHO 细胞株，可以除去细胞周期内的 DNA 复制起始位置调控点，从而使得这种病毒转化的 CHO 细胞株在 S 期 DNA 复制的起始成为随机的^[23]。这一结果有可能提供一种方法，使人们可以用来研究 DNA 复制定点起始在细胞周期中所扮演的角色

参 考 文 献

1. DePamphilis M L. Eukaryotic DNA replication: anatomy of an origin. *Annu. Rev. Biochem.*, 1993, 62: 29~63
2. Stillman B. Cell cycle control of DNA replication. *Science*, 1996, 274: 1659~1664
3. Coverley D and Laskey R A. Regulation of eukaryotic DNA replication. *Annu. Rev. Biochem.*, 1994, 63: 745~776
4. Gilbert D M. Replication origins in yeast versus metazoa: separation of the haves and the have nots. *Gurr. Opin. Gen. Dev.*, 1998, 8: 194~199
5. Diffley J F X. Once and only once upon a time: specifying and regulation origins of DNA replication in eukaryotic cells. *Genes Dev.*, 1996, 10: 2819~2830
6. Newlon C S and Theis J F. The structure and function of yeast ARS elements. *Curr. Opin. Gene. Dev.*, 1993, 3: 752~758
7. Brewer B J and Fangman W L. Initiation at closely spaced replication origins in a yeast chromosome. *Science*, 1993, 262: 1728~1731
8. Santocanaale C and Diffley J F X. ORC-and Cdc6-dependent complexes at active and inactive chromosomal replication origins in *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J.*, 1996, 23: 6671~6679
9. Vassilev L T and DePamphilis M L. Guide to identification of origins of DNA replication in eukaryotic cell chromosomes. *Crit. Rev.. Bioch. And Mol. Biol.*, 1992, 27: 445~472
10. Gilbert D M, Miyazawa H and DePamphilis M L. Site-specific initiation of DNA replication in *Xenopus* egg extract requires nuclear structure. *Mol. Cell. Biol.*, 1995, 15: 2942~2954
11. Lawlis S J, Keezer S M, Wu J R, Gilbert D M. Chromosome architecture can dictate site-specific initiation of DNA replication in *Xenopus* egg extracts. *J. Cell Biol.*, 1996, 135: 1~12
12. Aladjem M, Groudine M, Brody L, Dieken E, Fournier R, Wahl G And E pner E. Participation of the human-globin locus control region in initiation of DNA replication.

- Science, 1995, 270: 815~819
13. Diffley J F X. Two steps in the assembly of complexes at yeast replication origins in vivo. *Cell*, 1994, 78: 303~312
 14. Wu J R and Gilbert D M. A distinct G1 step required to specify the Chinese hamster DHFR replication origin. *Science*, 1996, 271: 1270~1272
 15. Pardee A B. A restriction point for control of normal animal cell proliferation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1974, 71: 1286~1290
 16. Planas-Silva M D and Weinberg R A. The restriction point and control of cell proliferation. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1997, 9: 768~772
 17. Brehm A, Miska E A, McCance D J reid, Bannister J L, Kouzarides A J T. Retinoblastoma protein recruits histone deacetylase to repress transcription. *Nature*, 1998, 391: 597~601
 18. Magnaghi-Jaulin L, Groisman R, Naguibneva I, Robin P, et al. Retinoblastoma protein represses transcription by recruiting a histone deacetylase. *Nature*, 1998, 391: 601~604
 19. Luo R X, Postigo A A and Dean D C. Rb interacts with histone deacetylase to repress transcription. *Cell*, 1998, 92: 463~473
 20. Wu J and Gilbert D M. The Replication Origin Decision Point is a Mitogen In dependent, 2-Aminopurine, Sensitive, G1-Phase Event That Precedes Restriction Point Control. *Mol. Cell. Biol.*, 1997, 17: 4312~4321
 21. Hyrien O and Mechali M. *Nucleic Acids Res.* 1992, 20: 1463~1469
 22. Hyrien O, Maric C And Mechali M. Transition in specification of embryonic metazoan DNA replication origins. *Science*, 1995, 270: 994~997
 23. Wu J, Keezer S M and Gilbert D M. Transformation Abrogates an Early G1-Phase Arrest Point Required for Specification of the Chinese Hamster DHFR Replication Origin. *EMBO J.*, 1998, 17: 1810~1818

转录因子在红系细胞发生中的调控作用

章正琰 章静波 薛社普

(中国协和医科大学基础医学研究所细胞生物室, 北京 100005)

一、简介

红细胞是一种高度特化的细胞, 它的功能是向组织输送氧气, 并携出二氧化碳。红细胞的生成是多能造血干细胞 (pluripotent hematopoiesis stem cells, HSCs) 沿着一定方向序贯分化, 产生成熟红细胞的过程。这一过程需要多能干细胞的自我更新、前体细胞的增殖、红系细胞的决定以及红系细胞的终末分化, 最后产生成熟的红细胞。在红细胞的成熟发育过程中, 红系细胞经历两种明显的变化: 一方面红系特异性蛋白如血红蛋白 (Hb)、带 3 蛋白 (Band 3)、带 4.1 蛋白 (Band 4.1) 的逐渐表达, 另一方面失去了继续增殖和分裂的能力。在哺乳动物中, 红细胞核固缩, 并最终出现排核^[1~3]。

红系细胞发生过程中受到一系列生长因子的调节, 如干细胞因子 (SCF)、白细胞介素-3 (IL-3)、粒细胞/巨噬细胞克隆刺激因子 (GM-CSF) 和促红细胞生成素 (EPO) 等。其中最为重要的两种生长因子是 SCF 和 EPO。SCF 主要作用于红细胞定向的早期阶段, SCF 基因 (Scf or Steel) 或其受体 (Kit) 的突变常常导致小鼠贫血, 其特征是造血干细胞数目正常, 而 BFU-E 和 CFU-E 的数目减少^[4~5]。这些结果提示 BFU-E 的维持以及其后红系细胞的分化并不依赖 SCF, 而 BFU-E 的产生则是 SCF 依赖性的。而 EPO 则主要影响 BFU-E 之后红系细胞的分化能力, 它是维持体内红细胞数目正常的主要细胞因子, 这种作用的产生依赖 EPO 抑制凋亡, 诱导增殖的能力^[6~7]。

从干细胞向红系前体细胞过渡 (transition) 的过程中, 细胞中发生了一系列变化以利于系别特异性基因的表达。如染色体重组形成核小体结构; DNA 全程 (de novo) 甲基化; 部分主要调节基因、转录因子活化, 从而激活/抑制系别特异性转录因子的表达。这种过渡经历了许多次系别分裂, 与此同时细胞对生长因子的反应性也发生了相应的变化。但目前还不明白在细胞分化过程中, 是什么因素控制着细胞对生长因子的反应。另外, 在是 SCF 还是 EPO 决定着干细胞向红系方向分化这一问题上仍然存在着很大的分歧^[8]。

随着红系细胞终末分化的进行, 红系细胞特异基因相继被激活表达, 而非红系细胞特异基因则选择性地关闭。终末分化细胞中组织特异性基因的表达有赖于组织特异性转录因子与基本转录因子的共同作用^[9~10]。转录失活基因通常位于高度折叠的染色质区域^[11], 要激活这一基因的转录就必须干扰这种紧密包装的染色质结构。转录因子的作用就在于与特异性 DNA 序列结合, 破坏核小体结构, 使相应基因处于开放状态, 有利于转录复合物的形成。

二、转录因子的基本结构

转录因子在结构上具有共性, 通常由三个结构域 (domain) 组成: DNA 结合结构域、转录活化结构域、结合其它因子或调控蛋白的调节结构域, 其特点是具有转录活化域。造血转录因子以 DNA 结合结构域分类。

1. 锌指结构 (zinc finger)

锌指结构是许多转录因子所共有的 DNA 结合结构域, 具有很强的保守性。它由四个氨基

酸（四个半胱氨酸残基，或两个半胱氨酸残基与两个组氨酸）和一个锌原子组成一个形似指状的三级结构。该指状结构可通过 α 螺旋与DNA双螺旋结构的主沟中的特异性核苷酸残基结合，从而使转录因子发挥作用。通常情况下，一个锌指结构就可以与DNA结合，但锌指结构家族成员多数都含有一个以上的指状结构域。另外，锌指结构的构型与其中氨基酸的顺序以及结合锌原子的氨基酸的种类有关。

2. 碱性-亮氨酸拉链 (leucine zipper, bZIP)

C/EBP 家族 (CCAAT/enhancer-binding protein) 羧基端的 35 氨基酸残基形成 α 螺旋，每隔 6 个氨基酸有一个亮氨酸，这些亮氨酸在螺旋的同侧出现，是二聚体形成的基础。由于这些蛋白质都以二聚体形式与DNA结合，两个分子 α 螺旋的亮氨酸一侧相对形同拉链，并因此得名。

3. 碱性-螺旋-环-螺旋 (helix/loop/helix)，即 bH/L/H 结构

这类转录因子羧基端的 100~200 个氨基酸残基可形成两个双性的 α 螺旋，其中间为非螺旋的DNA环， α 螺旋附近氨基端也有碱性区，其DNA结合性质与亮氨酸拉链相似。由于上述 bZIP 或 bH/L/H 都至少含有一个 α 螺旋，其中有以亮氨酸为主体形成的疏水面和以亲水性氨基酸残基组成的另一侧亲水面，因此也可将这两种结构统称为“两性 α 螺旋结构域”。

亮氨酸拉链和螺旋-环-螺旋结构域是转录因子家族中蛋白质-蛋白质相互作用的结构域，这些蛋白质往往成对地与DNA结合，而锌指蛋白则不同，它往往以单体的形式与DNA结合。转录因子间形成的二聚体可以是同源二聚体，也可以是异源二聚体。它们可以是转录的活化剂，也可以是抑制剂。

4. LIM 结构域

LIM 结构域是另一种可以结合锌原子的蛋白质结构域，它所提供的蛋白质间相互作用的界面与锌指蛋白完全不同^[12]。LIM 结构域与锌指结构间的同源性很低，但目前还未发现 LIM 结构域蛋白特异性结合的DNA区域。这说明 LIM 结构域参与转录调控是通过桥梁分子作用，提供一个调节界面，有利于其它转录因子间的相互作用，或作为共激活因子 (coactivator) 传递序列特异性DNA结合蛋白的信息。

5. “Hemeo-”、“POU (POW)” 结构域及 ets 结构域

POU 结构域是由一个位于氨基端 (N 端) 的“POU 特异结构域 (pou specific domain, POU_s)”及其羧基端 (C 端) 的“POU 同源转化域 (pou homeodomain, POU_H)”所组成，含有 POU 结构域及 ets 结构域的蛋白质家族常常识别序列相关的DNA顺序，同时这种蛋白的表达常常具有组织特异性。POU 特异结构域能以高亲和力结合 POU 家族中的基本DNA特征序列，并参与蛋白质间的相互作用。

以上存在于红系转录因子中的典型的DNA结合基序以及蛋白质相互作用基序，与其它调节蛋白相比并无二致。而且红系表达的转录因子并不仅仅局限于红系细胞，在其它细胞中也可找到相似的遍在因子成分或组织特异性成分。就目前所知，很少有哪种调节蛋白仅仅在一种细胞或组织中表达。然而，许多调节蛋白的分布及表达量却往往具有组织或细胞局限性，如 GATA-1 分别在红系细胞、巨核细胞及肥大细胞中表达^[13]。众所周知，转录调节需要多种因素的共同作用。在细胞的发育和分化过程中，一个特异性基因若需在特定的时间、特定的组织以合适的数量表达，就必须有遍在转录因子以及组织特异性转录因子的共同作用。细胞特异性转录因子的作用是使远隔数千 kb 的启动子与增强子间产生相互作用。

三、红系细胞转录因子的克隆

哺乳动物发育过程中，原始红细胞造血出现在卵黄囊血岛，继而转移至胎肝、脾脏，最终转移至骨髓（定向红细胞造血）。胎肝造血与卵黄囊造血明显不同，在卵黄囊血岛中，红细胞的成熟以半同步（semi-synchronous）的方式进行，而在胎肝中，红细胞的成熟与分化分别进行^[14]。卵黄囊造血产生大而有核的红细胞，合成胚胎型血红蛋白，而胎肝造血产生小而无核的红细胞，合成成人型血红蛋白。通过靶向实验证明 EPO 及 EPO-R 基因在哺乳动物红系定向造血中起着不可替代的作用^[15~16]。红系细胞通过表达系别特异性基因而发挥作用，而系别特异性基因的表达受到了一系列红系特异性转录因子的调控。目前已知的红系细胞特异性转录因子是通过以下方法获得的：

1. 克隆 β 珠蛋白基因内可被 DNA 结合蛋白特异性结合的 DNA 序列。因为这些序列中可能含有与 β 珠蛋白基因活化相关的成分。通过这种方法得到的红系特异性转录因子有：Gata1 和 Nfe2^[17~18]。

2. 克隆染色体易位处的基因。因为染色体易位改变了细胞本身的分化程序。通过这种方法得到的红系特异性转录因子有：Scl 和 Myb^[19~20]。

3. 建立可表达 EPO-R 细胞系的减除文库（其中一组细胞经 EPO 作用，而另一组则不经 EPO 作用）。这一方法的基础是，EPO 可以通过启动一套特异基因的表达而诱导分化。因此与红系分化相关的基因一定存在于含有对 EPO 具有反应性的基因的 cDNA 文库中。

四、红系细胞特异性转录因子

现在，对红系细胞特异性转录因子的研究已从克隆其相关基因转移到更为复杂的问题上来，如转录因子间是否形成大的蛋白质-蛋白质结构；转录因子与 DNA 结合后如何影响其周围的染色质构型；后者又如何影响 β 样珠蛋白基因簇内基因转换机制；以及这些转录因子自身是如何调控的，等等。目前已知的与红系细胞分化相关的特异性转录因子见表 1。

表 1 与红系细胞特异性基因活化相关的转录因子

家族	转录因子	DNA 结合位点	细胞分布
锌指基序	GATA1	(A/T) GATA (A/G)	祖细胞，巨核细胞，肥大细胞，嗜酸性粒细胞，Sertoli 细胞
	GATA2	(A/T) GATA (A/G)	祖细胞，巨核细胞，肥大细胞，脑细胞
b-ZIP	NF-E2	TGAGTCA	祖细胞，巨核细胞，肥大细胞，髓细胞
bHLH	SCL	CANNTG (E box)	祖细胞，巨核细胞，肥大细胞，脑细胞和内皮细胞
Kruppel	EKLF	CACCC	成红细胞，巨核细胞，肥大细胞
LIM	RBTN2	Non identified	巨核细胞，发育中广泛存在
Myb	MYB	(T/C) AAC (GT) G	祖细胞
Ets	PU1	GGAA	祖细胞，髓细胞，B 淋巴细胞
STAT	STAT5	GAS	有待于鉴定

红系细胞特异性转录因子在结构上具有共性，红系细胞特异性基因的启动子也具有共同

的结构：GATA 序列与 CACC (EKLF) 或 NFE2 基序相伴，或单独存在^[21~22]。体外研究发现，GATA 序列与 CACC 和 NFE2 基序可以组成一个反应性元件足以指导异源性启动子的红系特异性表达^[22~23]。

现对目前已知的红系细胞特异性转录因子分述如下：

1. GATA 转录因子家族

GATA 转录因子家族在结构上具有共同的特点，即含有两个锌指结构，Cys-X₂-Cys-X₁₇-Cys-X₂-Cys (X 为此家族中恒定的氨基酸残基)^[24]。GATA 家族成员与下列 DNA 序列 WGATAR (W=A/T, R=G/A) (GATA 序列) 具有较高的亲和力。已知 GATA 序列存在于已分析过的所有红系特异启动子区域，这包括 α 珠蛋白基因， β 珠蛋白基因，EPO-R 基因和 GATA 基因本身^[25~29]。迄今为止已发现了三个 GATA 成员：GATA1, GATA2 和 GATA3，它们在锌指结构区具有高度的同源性。GATA2 和 GATA3 的编码区在进化过程中高度保守。

(1) GATA1

GATA1 是该家族中的第一个成员，以前曾命名为 Eryf1, GF-1, NF-E1^[17,30]。其结合位点位于 α 及 β 珠蛋白基因启动子和增强子区域，因而对红系发生起重要作用。GATA1 mRNA 除在红系细胞表达外，还在巨核细胞、肥大细胞以及非成熟的粒细胞中表达^[31~32]。在睾丸组织中还发现了 GATA1 的可变剪接体^[33]。

Gata1 是红系细胞发育中主要的调控基因，Gata1 突变的胚胎干细胞 (ES) 细胞，无论在体外还是在体内，均不能产生红系细胞。Gata1 敲除的 ES 细胞的分化停滞于原红细胞阶段^[34~35]。尽管除了红系细胞以外，GATA1 还在其它细胞表达，但其表达量才是决定细胞向红系发育的核环境因素。如转染 Gata1 的骨髓样单核细胞，高水平表达时，细胞向原红细胞方向分化；低水平表达时，细胞则向噬酸性粒细胞方向分化^[36]。利用含 Gata1 基因的逆转录病毒转染小鼠胚胎干细胞，使之高水平表达 GATA1，受体小鼠出现多系造血^[37]，其中以红系造血为主，与对照组相比，受体小鼠红细胞计数明显增多，而白细胞计数却很低，而且几乎都是中性粒细胞。这种动物须经静脉切开放血，才能造成贫血，并很快得以恢复。GATA1 出现在卵黄囊血岛形成的初期，以及 GATA1 敲除后 ES 分化停滞于红系发生的早期阶段，这说明 GATA1 可能参与调节红系细胞成熟所必需的蛋白质的表达。研究表明，受它调节的蛋白质可能是 EpoR，因为 GATA1 可以激活 EpoR 基因的转录^[27]。

造血干细胞不表达 GATA1^[38]。Gata1 在干细胞向多能祖细胞分化过程中被激活，之后其在红系细胞中的表达逐渐增多，而在髓系细胞中的表达逐渐减少^[39]。Gata1 在红系细胞的增量调节包括远端启动子的活化 (远端启动子位于近端启动子上游 8kb 左右)，进而才有红系及髓系细胞分化过程中 Gata1 的特异性调节。

GATA1 含有两个锌指结构，其中的 C-锌指与 DNA 结合，N-锌指的作用是提高 C-锌指的结合效率。GATA1 对转录的调控是双向的，它既有转录激活作用，也有转录抑制作用^[40]。如 GATA1 可与 YY1 (一种遍在锌指蛋白) 共同作用，抑制成熟红细胞中的 ϵ 珠蛋白基因的转录^[41]，与 SP1 (另一种遍在锌指蛋白) 及 EKLF (红系特异性锌指蛋白) 共同作用，激活含有 GATA 和 SP1 或 EKLF 结合位点的启动子的转录^[42]。

最近通过酵母双杂体系成功地分离出了 GATA1 friend-FOG^[43]。FOG 是一个新发现的多锌指结构蛋白，在红系细胞中的表达量很高，可与 GATA1 结合，增强相关报告基因的转录水平，同时还可促进已经诱导的红系细胞的分化。GATA1 与 FOG 的结合位点位于锌指结构