

·成果简介·

“九五”基金重大项目“真核基因表达的调节与控制研究”取得重要进展

江虎军* 王家平† 敖世洲†

(* 国家自然科学基金委员会生命科学部,北京 100085;

† 中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所,上海 200031)

[关键词] 基金重大项目,基因表达与调控

国家自然科学基金“九五”重大项目“真核基因表达的调节与控制研究”于2002年12月通过验收。验收评议组对该项目四年来所取得的成绩给予了积极的肯定,认为该项目在当时以重大项目形式立项并予以资助,充分体现了基金项目的前瞻性和基础性。该重大项目的5个课题的研究对象虽各不相同,但都紧紧围绕基因的表达与调控机制展开研究,一方面为我国培养了一批优秀的人才,另一方面也带动了我国在该领域的研究。特别是从今天看,该领域已越来越受到重视,而且,正是由于这个项目的出色工作使得该领域的进一步研究在“十五”期间第一批启动的基金重大项目中得以延续,即2002年底又正式启动资助“基因表达的调控网络研究”。这项研究从过去的研究单个基因的表达调控上升为对基因的调控网络的研究,使之更接近基因在生命活动过程中的实际情况,同时也体现了现代科学朝高通量大规模方向发展的趋势。

该重大项目4年来在国内外学术杂志上发表论文多达120篇,一些文章发表在 *Science*、*PNAS*、*JBC*、*The Plant J.* 等国际著名刊物上。部分研究成果具有国际先进水平,在国际上影响较大。项目执行期间共培养了博士42名,博士后8名,获得两项省部级二等成果奖,申请国内外发明专利10项,其中批准国内发明专利1项。

在珠蛋白基因表达时空的顺序性研究方面,建立了以BAC介导的含完整人 α 或 β 珠蛋白基因簇的转基因鼠模型,多层次地研究了重要顺式调控元件在珠蛋白基因时空顺序性表达中的作用机制和 δ 珠

蛋白基因的表达以及相关染色体结构。利用EMSA等技术研究了 β 珠蛋白基因簇LCR和 β 珠蛋白基因启动子间相互作用以及重要顺式调控元件与红系转录因子GATA、HMG蛋白质间的相互作用模式,克隆了珠蛋白基因表达时空调控相关的新的转录调节蛋白基因。这对进一步深入研究两个基因簇中顺式元件与反式因子间相互作用的机制具有重要作用。

在水稻蜡质基因的表达调控研究方面,课题组在转录与转录后水平上深入研究了蜡质基因表达调控的分子机理。发现在直链淀粉高含量的水稻品种中,该基因的第一内含子剪接正常;而在直链淀粉含量中、低品种(食用品质较优)中,除部分前体RNA中第一内含子不被剪接外,第一内含子还可形成六种不同的剪接类型,产生6种5' UTR不同的mRNA的分子,因而降低了酶蛋白的含量。这些研究首次从mRNA分子选择性剪接水平高度阐明其与水稻品质间的关系。同时还在水稻蜡质基因的5'上游区鉴定出5个调控元件,克隆了3个编码转录因子的基因。发现其中一个转录因子与顺式元件结合的活力较强,但缺少激活功能;另一个转录因子与顺式元件结合活力较弱,但有激活功能。此二因子之间可形成异源二聚体,并结合在相邻的两个元件上,以协同方式调节下游效应基因的表达。这些研究基本阐明了蜡质基因的调控元件和因子的结构与功能以及第一内含子选择性剪接的生物学意义,为提高稻米的产量和品质打下了理论基础。

在雄性激素对PSBP基因转录在染色质水平上的调控研究方面,发现C1基因表达活跃的前列腺

本文于2002年12月25日收到。

中,在上游-600到-300、启动子区-130到+120及第一内含子+120到+520三处核小体结构消失,并伴有明显的DNase I超敏位点出现。动物阉割后致使C1基因关闭后,只有启动子区的核小体结构消失,说明该区为前列腺特异调控区。此外,取得了5个大鼠附睾特异表达新基因的全长cDNA,并得到了其中3个与小鼠同源的新基因。在这5个新基因中2个在附睾头部表达,另3个在尾部表达,都受雄激素正调控。并取得了3个针对上述基因表达产物的多抗血清,观察到了两个基因的蛋白质与精子头部的不同部位结合。通过与香港中文大学合作,发现与生育可能相关的基因Bin1b还具有杀菌功能,是参与附睾自身防御系统的一个天然抗菌肽,并在国内建立了一个附睾功能基因组研究协作网。Bin1b基因研究成果已在*Science*上发表,被该刊编委列为推荐读物,并以“药物形式的避孕药”为题的短评,推荐给各国媒体,受到世界各国广泛关注和好评。

在乙肝病毒基因表达的调控规律研究方面,克隆了一个肝细胞富集的转录因子hBIF,它能特异地与乙肝病毒增强子II转导元件的B1区结合,具有激活增强子II的功能,调控乙肝病毒基因的表达与复制。hBIF与肝细胞核因子HNF1有协同作用,这种协同作用对乙肝病毒基因肝细胞专一性转录和复制有增强作用。hBIF是一个孤儿核受体,属于FTZ-F1亚家族,存在不同的剪接异构体,该基因的启动子具有高度肝细胞特异性,它能够调控多个肝细胞特异表达基因的转录。在胆固醇代谢平衡中起重要作用,具有重要的生理功能。

在酵母酸性磷酸酯酶PHO5基因的转录因子鉴定及调节机制磷酸化研究方面,阐明了PHO2和PHO4能与PHO5的调控序列结合,促进基因转录,它们的活性受磷酸化调节。PHO2的230位Ser能被CDC28编码的蛋白激酶磷酸化,起正调控作用。PHO4能被负调控因子PHO85-PHO80复合物磷酸化,起负调控作用。PHO80与细胞周期蛋白相似,PHO85为依赖于细胞周期因子的蛋白激酶(CDK)。PHO81类似于CDK的抑制剂。在低磷条件下它抑制PHO80-PHO85复合物对PHO4的磷酸化,可以

促进PHO5的转录。在高磷条件下,PHO81发生变构,失去抑制活性。PHO80-PHO85激酶复合物能使PHO4磷酸化,丧失激活基因转录的活性。这些研究首次清楚地揭示了酵母PHO5基因转录的调控网络及其转录因子磷酸化的分子机制。

回顾该重大项目的实施过程和它所取得的成绩,我们的体会是:

(1)高水平的研究是建立在长期的工作基础上的。该重大项目中的每一个课题组所做的工作都有一个相当长时间的积累。如洪孟民院士在水稻蜡质基因的表达调控研究,从首次克隆水稻蜡质基因,弄清该基因结构,到对该基因的表达调控研究,研究工作已连续积累了许多年。

(2)要出高水平的成果必须建立科学合理的实验系统(至少对生命科学而言是这样)。张永莲院士在*Science*上发表的那篇文章,就是得益于她建立的大鼠附睾实验系统;刘德培院士在PNAS上发表的文章就是建立了一个BAC介导的含完整人 α 或 β 珠蛋白基因簇的转基因鼠模型。

(3)适时地调整原有的研究计划是正常而又必要的。当今科学发展日新月异,特别是对基础研究而言,只有第一没有第二。张永莲院士在项目的年度学术汇报会上总要谈到她对原有工作的调整,显然如果没有那些与时俱进的调整,也就没有那篇在*Science*上发表的文章。

(4)基础研究需要一个相当宽松的环境。我们可以从两个角度来理解,一要有较充裕的经费,没有投入就没有收获,但投入与收获并不呈正相关,因为,最关键的因素是人;二是有相当宽松的学术环境,这又包括两个方面,首先应允许科学家对自己的研究计划作适当必要的调整,以确保研究内容具有新颖性,使研究结果始终能站在同行的前列,其次在科研管理方面,硬性的指标应少一些(至少对于某些科学家而言),类似检查一类的会议少一些,无论在后勤方面还是在促进学术交流方面应多提供服务,促使“科研管理”向“科研服务”转变。也正是因为所在单位科研处在这方面的表现,为该重大项目中的科学家发表高水平的文章发挥了重要的作用。

NEW ACHIEVEMENTS OF THE MAJOR PROJECT SUPPORTED BY NSFC: STUDIES ON THE EXPRESSION AND REGULATION OF EUKARYOTIC GENE

Jiang Hujun* Wang Jiaping[†] Ao Shizhou[†]

(* Department of Life Sciences, NSFC, Beijing 100085; [†] Institute of Biochemistry and Cell Biology, CAS, Shanghai 200031)