

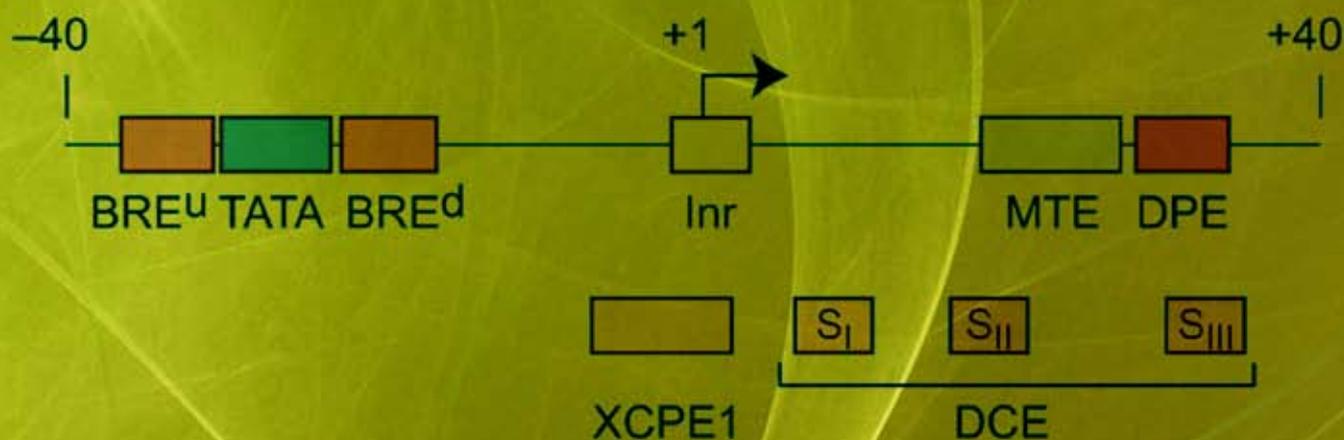


www.LifeOmic.com

www.LifeOmic.cn

生命奥秘 LifeOmics

2012年3月刊
总第43期



核心启动子基因 表达调控机制简介

探究肥胖与癌症之间的小秘密

一场个性的撞击：胆大的海葵擅长打架

无奇不有

生命世界

解读生命

走进科学

目录 | CONTENTS

专题译述

核心启动子基因表达调控机制简介

前言

一、研究核心启动子的意义	01
二、关于核心启动子	02
三、核心启动子基序简介	05
四、核心启动子在基因表达调控工作中发挥的作用	08
五、核心启动子识别因子在细胞特异性转录及基因调控中的新功能	12
1. 原型核心启动子识别装置	12
2. 在生殖细胞分化过程中的作用	15
3. 在体细胞分化过程中的作用	19
4. 在细胞分化过程之外的非原型功能	22
5. 总结	24
六、更多阅读——启动子实时活性分析系统	26

下一期（2012年4月刊）预告：2011年《自然》年度技术：人工核酶介导的基因组编辑技术

每年年底，《自然-方法》都会对过去一年中推动生物学发展的技术方法做出回顾与总结，由此评选出当年最受瞩目、影响力最大的技术。2011年最受关注的技术成果是人工核酶介导的基因组编辑技术。下期《生命奥秘》将会详细介绍相关内容。

热点话题

探究肥胖与癌症之间的小秘密	31
---------------------	----

生命百态

一场个性的撞击：胆大的海葵擅长打架	45
裸滨鼠为何不怕酸痛?	46
孤独使静水椎实螺的记忆受影响	48
怀孕给宽吻海豚带来负担	49
企鹅通过拍打翅膀计算潜水时间	51

本刊文章主要由国外网站文章编译而成，如有版权问题，请版权所有人与本刊联系。
凡本刊所载文章，版权归作者本人和本刊所有，如需转载，请注明作者及出处“生命奥秘”。
本刊提供的任何信息都不能作为医疗凭证和依据，仅供科研参考。

专题译述



核心启动子基因表达调控机制简介

真核生物的生存以及生长发育有赖于对基因组内成千上万个基因的表达进行正常调控。经过科研人员多年的努力探索，我们现在认识到每一个基因的表达都受到多种不同机制的调控。这篇综述将着重就上述众多调控机制中的一种组份——RNA聚合酶II核心启动子展开讨论。



研究核心启动子的意义

对核心启动子的分析可以帮助我们了解真核生物转录调控机制里最基本的信息。这些基础知识也是现代分子生物学基础理论重要的组成部分。其次，因为在转录激活过程里发生的一系列级联反应最终都会作用到核心启动子上，都会对核心启动子上发生的基础转录作用造成直接或间接的影响，所以核心启动子可谓是所有对RNA聚合酶II能够起到转录调控作用的转录因子的终极作用靶标。

另外，由于核心启动子在基因转录的全过程中居于最重要的中间位置，所以我们常常都忽略了它们在基因表达调控过程中的作用。通常我们认为核心启动子就是DNA片段中负责与RNA聚合酶II结合、启动转录过程的那一段序列。而且我们一直都认为核心启动子只有一种作用机制，不过现在我们终于清楚了，核心启动子不论从结构上还是从功能上来看，其实都没那么“单纯”。下文我们将就RNA聚合酶II核心启动子的几个关键特征展开探讨，还将介绍几个例子，以方便读者认识核心启动子在基因表达调控过程中发挥的作用及其作用机制。



关于核心启动子

1. 什么是核心启动子

RNA聚合酶II核心启动子（RNA polymerase II core promoter）是一种多功能调控元件。通常来说，核心启动子里都会包含转录起始位点以及该位点上下游的一部分序列，大约上下游各有35nt左右。不过在很多情况下，核心启动子却只有大约40nt。

2. 集中型转录起始作用与弥散型转录起始作用

科研人员们对转录起始过程进行研究之后发现细胞内共有两种转录起始机制，即集中型转录起始作用（Focused Transcription Initiation）和弥散型转录起始作用（Dispersed Transcription Initiation）（图1）。在集中型转录起始作用里，基因转录从一个或很少几个核苷酸位点处开始；而在弥散型转录起始作用里，在一段长约50~100bp的“广阔”范围里会同时存在好几个转录起始位点，不过每一个转录起始位点的转录起始作用都比较弱。有一些启动子同时具有这两种转录起始作用，比如某些启动子里就含有好几个作用较弱的弥散型转录起始位点和一个作用很强的集中型转录起始位点。不过本文暂不介绍这种“混合型”启动子，仅介绍专一性的集中型启动子和弥散型启动子。

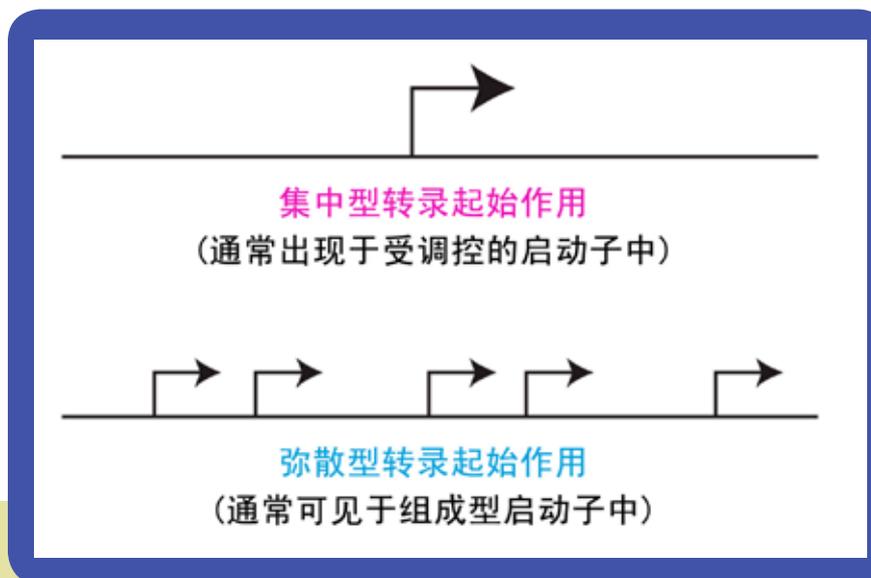


图1 集中型转录起始作用与弥散型转录起始作用。

集中型启动子可见于所有生物体基因组内，在较低等的生物体内这种转录起始作用几乎是唯一的一种基因转录起始机制。不过在脊椎动物体内，大约有70%的基因都受到弥散型启动子的控制，这些基因常见于CpG岛（CpG island）内。一般来说，集中型启动子主要见于受调控基因（regulated gene），而弥散型启动子多见于组成型基因（constitutive gene）。从目的论的角度来看，这种分配是非常有意义的，毕竟对一个位点的控制要比对多个位点的控制容易得多，所以依照这种模式，细胞就可以比较容易地对某些调控表达基因的表达进行操控。而对于组成型表达的基因使用弥散型启动子则有利于保证这些基因的表达水平不至于发生太大的波动。

虽然在脊椎动物启动子中集中型启动子只占很小的比例，但绝大部分对RNA聚合酶II转录机制的研究都是在集中型启动子上开展的，很少有人关注弥散型启动子，这主要是因为受集中型启动子调控的基因在生物学中具有更加重要的意义。科学家们通过对集中型核心启动子（core promoter）的分析发现了各种重要的基序，比如TATA盒（TATA box）、BRE^u（位于TFIIB因子识别位点上游的一段序列）、起始子（initiator, Inr）、基序十元件（Motif Ten Element, MTE）、下游启动子元件（Downstream Promoter Element, DPE）、下游核心元件（Downstream Core element, DCE）以及X核心启动子元件1（X Core Promoter Element 1, XCPE1）等（图2）。与集中型启动子不同，弥散型启动子一般都缺乏BRE、TATA、DPE和MTE等基序。所以这两种启动子发挥作用的原理很有可能存在根本性的差别。接下来我们将着重探讨集中型核心启动子的工作机制。

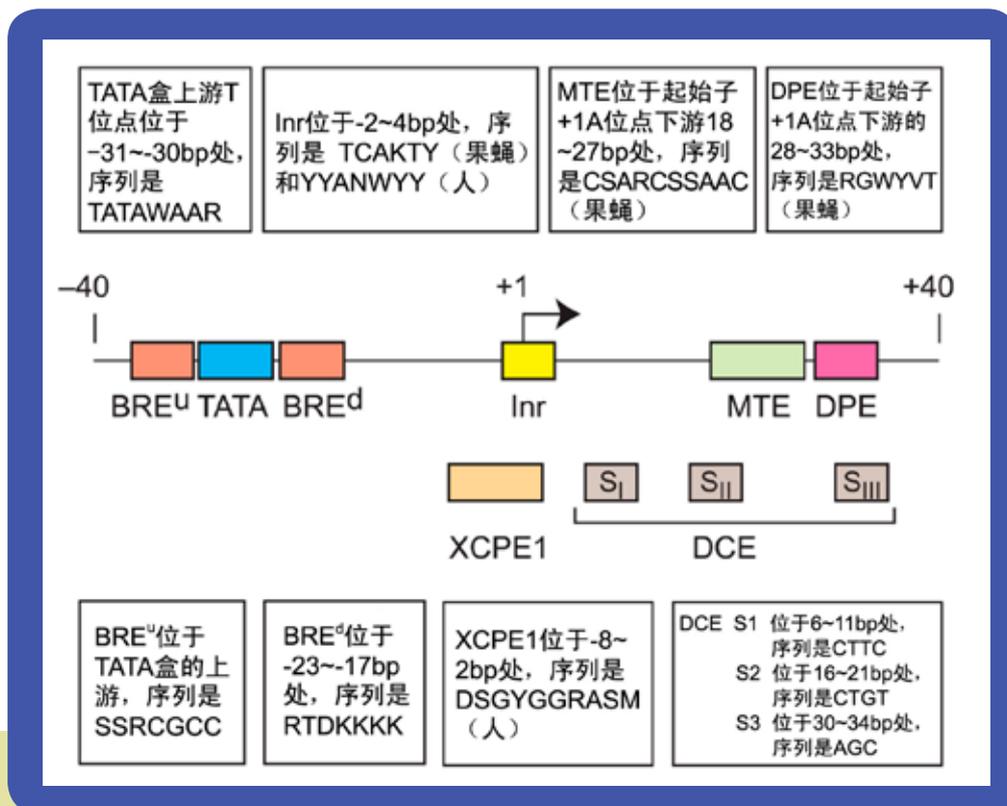


图2 集中型核心启动子上的各种重要基序。

3. 基础转录因子

集中型核心启动子一般都位于转录起始位点上游40bp至下游40bp这段区域里，该区域就是RNA聚合酶II开始转录的位置所在。人工表达纯化的RNA聚合酶II可以根据一段DNA模板转录出一段RNA序列，但是在这种体外反应体系中，RNA聚合酶II不能识别转录起始位点，即核心启动子的位置。这一过程还需要一些基础转录因子（Basal transcription factor），比如RNA聚合酶II A转录因子（Transcription Factor for RNA polymerase II A, TFIIA）、TFIIB、TFIID、TFIIE、TFIIF以及TFIIH等的辅助。由于这些不同的转录因子在核心启动子处发挥作用的机制并不相同，所以我们只能将它们称作基础转录因子，而不能叫做通用转录因子（general transcription factor）。

对于依靠TATA盒启动的核心启动子，我们在体外反应中只需要加入纯化的RNA聚合酶II、TFIIB、TFIID、TFIIE、TFIIF以及TFIIH就可以正常完成转录反应。但是这样一套反应系统放到依靠DPE启动的启动子中就不行了。不过研究发现负向辅因子2（Negative Cofactor 2, NC2，又称作Dr1-Drap1）这种可以抑制依赖TATA盒转录起始作用的蛋白却能够促进依赖DPE序列的转录起始作用。TATA盒与DPE这两套不同的转录起始作用似乎刚好组成了一对相互拮抗的调控体系（至少在一定程度上是这样的）。有研究发现TATA盒结合蛋白TBP（TATA box-Binding Protein）在激活TATA转录的同时也能抑制DPE转录，但是反过来NC2因子和Mot1蛋白（该蛋白是一种ATP酶，它可以将TBP因子从DNA链上解离下来）则能够阻断TBP的作用继而抑制TATA转录作用，同时促进DPE转录作用。

TFIID因子是一种非常重要的基础转录因子，它可以帮助RNA聚合酶识别集中型核心启动子的位置。TFIID因子是由多个不同蛋白组成的复合物，其中包括TBP蛋白以及十几种TBP相关因子蛋白（TBP-Associated Factors, TAF）。所以TFIID因子和核心启动子之间理论上可能存在多个相互作用位点。其中TBP因子可以与启动子中的TATA盒结合；TAF1因子和TAF2因子则能够识别Inr；TAF1因子和DCE非常相似；TAF6因子和TAF9因子与DPE之间可能也存在相互作用。

除了经典的TFIID复合体识别途径之外可能还存在其它一些核心启动子识别机制，比如我们接下来将要介绍的TBP相关因子(TBP-Related Factor, TRF)就和TBP有着完全不同的识别途径。

科研人员们还发现了其它一些在转录早期阶段发挥作用的基础转录因子的作用机制。比如TFIIB因子可以与TBP发生相互作用，帮助RNA聚合酶结合到启动子序列上。TFIIB因子还可以在依赖TBP与TATA盒结合的方式下与核心启动子中的BRE^u和BRE^d基序相结合。TFIIA因子似乎能够促进TBP蛋白与TATA盒相结合。TFIIE、TFIIF以及TFIIH能够在TFIID因子与TFIIB因子和核心启动子结合之后发挥作用，帮助DNA链解旋，在转录起始的早期阶段发挥作用。



核心启动子基序简介

各个集中型核心启动子之间在结构和功能上都存在着一些差异。在图2中我们给出了几个目前已知的与核心启动子功能相关的核心启动子基序，今后还可能会发现更多的核心启动子元件。目前为止，人们还没有发现一种见诸于所有启动子中的通用的核心启动子基序。接下来我们将介绍几种常见的核心启动子元件。

1. 起始子

起始子 (Inr) 位于转录起始位点处，它可能是最常见的核心启动子基序。Smale和Baltimore早在1989年就发现起始子是一种作用独特的核心启动子元件。有好几种因子都能够与起始子发生相互作用，不过其中TFIID因子对起始子活性的影响最为重要。功能研究发现了一些起始子的共有序列，在人体中是YYANWYY (国际理论与应用化学联合会核酸编码)，在果蝇中是TCAKTY。后来，2007年 Yamamoto等人又在拟南芥 (*Arabidopsis*) 中发现了YR (其中R是+1) 起始子基序。其他人则在酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中发现了起始子样序列 (Inr-like sequence)。

对果蝇的启动子序列进行电脑分析之后又发现了起始子共有序列TCAGTY，这与之前通过功能研究发现的、能够与TFIID因子相结合的共有序列TCAKTY非常相似。不过，对哺乳动物启动子进行电脑分析只得到了一个非常短的共有序列——YR (其中R是+1)，这与之前通过功能研究发现的共有序列YYANWYY大相径庭。这可能是因为在哺乳动物中存在大量的、高频次 (据Carninci等人统计称可能达到了70%) 的弥散型启动子，但是他们在计算机分析时将这些弥散型启动子也全都包含在内，没有进行剔除，所以才出现了上述误差。实际上，哺乳动物的集中型启动子起始子共有序列可能与YYANWYY序列非常接近，或与更具特异性的果蝇共有序列TCAKTY相接近。

在集中型的核心启动子中转录起始作用一般都开始于起始子处，而起始子共有序列中的“A”一般都是+1位置，而不管转录是否起始于这个核苷酸。这种机制非常有意义，因为MTE或DPE等其它核心启动子基序也都与起始子共同发挥作用，它们主要根据与起始子共有序列的距离关系发挥作用，而不在乎实际的转录起始位点位于何处。

2. TATA盒及BRE基序

TATA盒是第一个被发现的核心启动子基序，Goldberg等人在1979年发现了它。当然，它也是最著名的核心启动子元件。多细胞动物TATA盒的共有序列是TATAWAAR，该序列中上游T位点通常都位于起始子+1A或+1G位点的上游31bp或30bp处。正如我们在前面介绍过的那样，TATA盒可以被TFIID复合体的亚单位TBP蛋白识别并与之相结合。TATA盒以及TBP蛋白在从古细菌 (archaeobacteria) 到人类等各种生物中都非常保守，在植物中也同样存在。尽管TATA盒颇负盛名，但是在哺乳动物核心启动子中只有10-15%的启动子里可以发现TATA盒的踪影。

TFIIB识别元件（TFIIB Recognition Element, BRE）最初被认为是TFIIB结合序列，它就紧挨着一部分（大约10~30%）TATA盒，处于上游位置。还有一种核心启动子元件是TFIIB下游识别元件（downstream TFIIB recognition element, BRE^d），它们则紧挨在TATA盒的下游。自从发现了BRE^d之后，我们就把BRE改名做BRE^u，即上游BRE元件，以示区别。BRE^u和BRE^d都与TATA盒一起发挥作用，它们既可以提高基础转录水平也可以降低基础转录水平。有研究还发现BRE^u在转录调控作用中也能够发挥独特的作用。

3. DPE及MTE基序

下游核心启动子元件（downstream core promoter element, DPE）是TFIID识别序列，它位于起始子的下游。在果蝇到人类的多种生物中，DPE元件都位于+1A位点下游的28~33bp处。然而，在酿酒酵母细胞中没有发现DPE元件。DPE元件是与起始子结合的TFIID因子的识别位点，TFIID因子能够同时结合起始子和DPE基序。从起始子至DPE元件之间的距离对于依赖DPE元件的启动子的转录活性至关重要。依赖DPE元件的启动子通常都只含有DPE元件和起始子基序。不过在某些情况下，某些核心启动子内也会同时含有TATA盒、起始子以及DPE基序。

基序十元件（Motif Ten Element, MTE）也是一种重要的核心启动子元件，它能够与在果蝇核心启动子区域中发现的保守序列——基序十（motif 10）发生相互作用。MTE元件就位于DPE元件的上游，即位于起始子+1A位点下游18~27bp处，它在从果蝇至人类的众多生物中都非常保守。DNA酶I印记实验（DNase I footprinting analyse）发现MTE元件和DPE元件一样，也是TFIID的识别位点。MTE元件与起始子共同发挥转录起始作用，它可以不依赖DPE和TATA盒发挥作用。不过，MTE与DPE之间以及MTE与TATA盒之间存在协同作用。

基于上述研究成果科学家们设计出了同时含有TATA盒、起始子、MTE元件和DPE元件的超级核心启动子（super core promoter, SCP）。到目前为止，这种超级核心启动子在所有体外实验和人工培养细胞实验当中都被证明是作用最强的核心启动子，在增强子（enhancer）的配合下可以达到非常高的转录水平。这说明我们可以通过核心启动子来调节基因表达水平。

特约编辑招聘启事

为了及时收集生命科学最新资讯、提高《生命奥秘》办刊质量，现面向从事生命科学或对这学科有浓厚兴趣的科研人员、学生诚聘特约编辑（兼职）。

职位职责：

独立完成《生命奥秘》专题的策划：对基因组学、蛋白组学、生物信息学和细胞生物学等学科的发展以及生物医学领域相关技术（例如基因诊断技术、干细胞和克隆技术、生物芯片技术等）的应用进行翻译及深入评述。

选题要求内容新颖、评述精辟、注重时效和深入浅出。尤其欢迎以自身系统研究为基础的高水平译述与评论，结合所从事的科研工作提出自己的见解、今后设想或前瞻性展望。

要求：

- 1.具备基因组学、蛋白组学、生物信息学、细胞生物学等生命科学学科背景；
- 2.具备良好的生命科学前沿触觉；
- 3.具备较高的外文文献翻译、编译水平；
- 4.具备较强的选题策划、资料搜集、组织能力，以及专业稿件撰写能力；
- 5.具有高级职称；或者拥有（正在攻读）该领域的最高学位。

有意者请将个人简历发送至 editor@lifeomics.com

联系人：蔡小姐

四

核心启动子在基因表达调控工作中发挥的作用

基因转录调控不仅依赖各种增强子的作用，同时也依赖各种不同结构的核心启动子的作用。这种情况在增强子和启动子同时存在时表现得尤为明显。比如果蝇的AE1增强子和IAB5增强子就能够优先激活含有TATA盒的even-skipped核心启动子，而不会优先激活不含TATA盒，却含有DPE元件的white核心启动子。另外，我们利用增强子捕获筛选技术（enhancer-trapping screen）还在果蝇中发现了DPE元件以及TATA盒特异性的增强子。所以，有一些增强子主要负责激活含有TATA盒的启动子，另一些增强子则主要负责激活含有DPE元件的启动子。

最近，通过对果蝇同源异型（homeotic, Hox）基因的分析发现了一些核心启动子在基因表达调控网络中的其它作用。科研人员发现几乎所有的Hox基因都含有依赖DPE元件的核心启动子（图3）。过去我们只知道这些基因的启动子中都不含有TATA盒。这一发现表明，至少有一些参与Hox基因表达调控作用的转录因子可能是能特异性激活DPE元件的因子。所以在这一假设的指引下我们发现了Caudal因子这种序列特异性的DNA结合转录因子，同时也是重要的Hox基因调控因子。当然，Caudal因子也是DPE特异性的激活因子。Caudal因子还能激活*P2*基因（这是一种控制果蝇触角的基因）的增强子及启动子区域和*Sex combs reduced*基因的增强子及启动子区域，这些激活作用都依赖各自基因核心启动子里的DPE元件。所有这些发现都表明，DPE元件在Hox基因的表达调控过程中都起到了非常重要的作用。

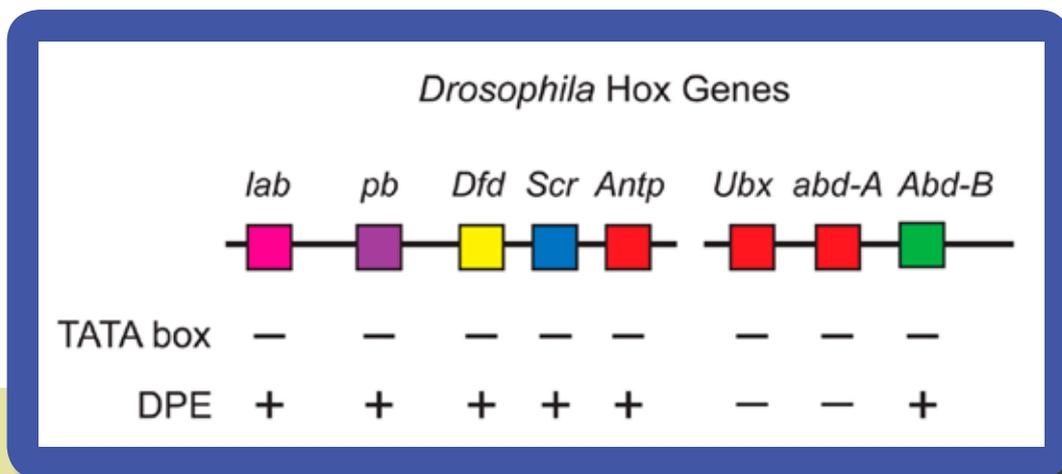


图3 果蝇Hox基因。几乎所有的Hox基因都含有不含TATA盒，但依赖DPE元件的核心启动子。*lab*, *labial*; *pb*, *proboscipedia*; *Dfd*, *Deformed*; *Scr*, *Sex combs reduced*; *Antp*, *Antennapedia*; *Ubx*, *Ultrabithorax*; *abd-A*, *abdominal-A*; *Abd-B*, *Abdominal-B*.

更进一步的研究又发现Caudal还具有其它一些功能，远远不止DPE元件而非TATA盒特异性激动子这一项功能。BRE^u基序能够抑制Caudal的作用，通过TATA盒而不是DPE元件激活转录作用。如图4中所示，对于Caudal因子的活化至少有三个层面上的作用，分别是通过DPE元件的强活化作用（不论有无BRE^u元件存在）；在缺乏BRE^u元件时通过TATA盒发挥的较弱的活化作用；以及在存在BRE^u元件时通过TATA盒发挥的非常弱、甚至于毫无作用的活化作用。

上述对Caudal因子和Hox基因的研究表明，特异性的核心启动子基序在生物学调控网络中起到了非常重要且关键的作用。不过我们还不清楚为什么Caudal因子会选择通过DPE元件来发挥调控作用，即为什么Caudal因子会是一个DPE特异性的激动因子。简单地说，这可能是因为借助DPE特异性更有利于构建调控网络。由于需要借助这个调控网络来沟通转录增强子及其启动子，所以利用DPE特异性的或者是TATA盒特异性的激动因子更有利于在增强子及其启动子之间建立起更加精细且有效的联系，达到更好的调控效果（图5）。

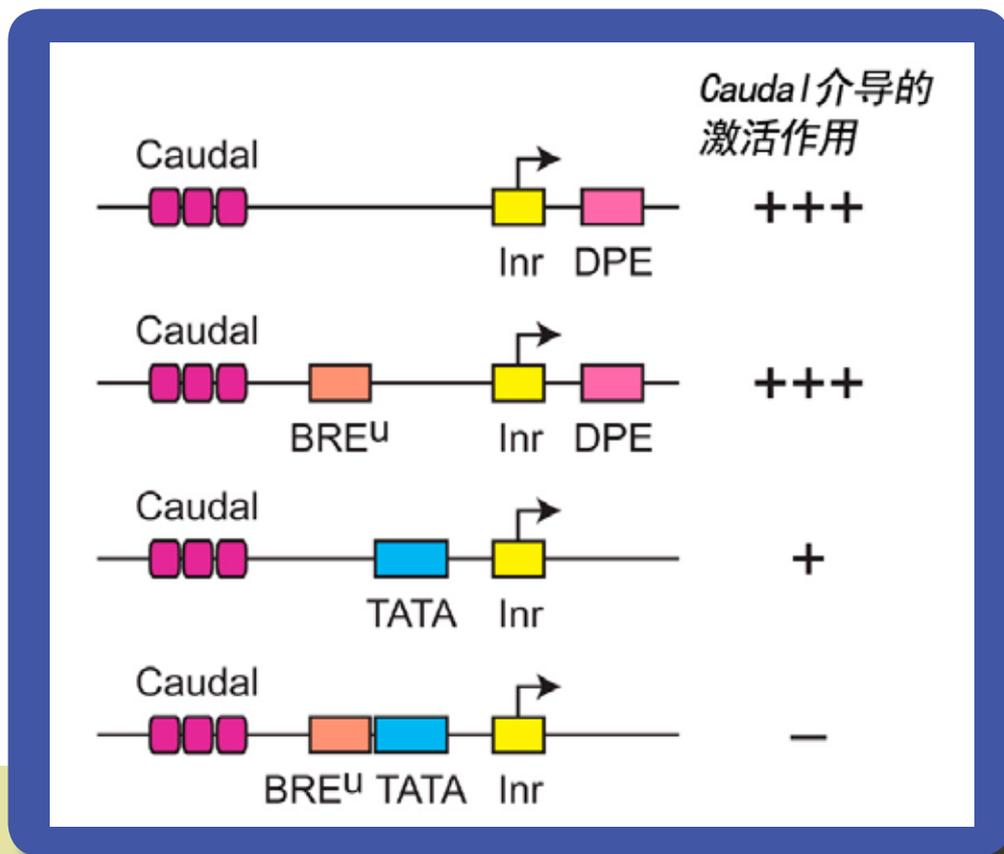


图4 Caudal是一个DPE特异性激活因子。Caudal优先激活依赖DPE的核心启动子的转录作用，而非依赖TATA的核心启动子的转录作用。另外，TATA盒上游BRE^u基序的存在进一步抑制了Caudal激活转录的能力。BRE^u基序不会影响Caudal激活依赖EPE的核心启动子的能力。TATA盒也不会通过DPE基序来影响Caudal激活转录作用的能力（图上没显示）。

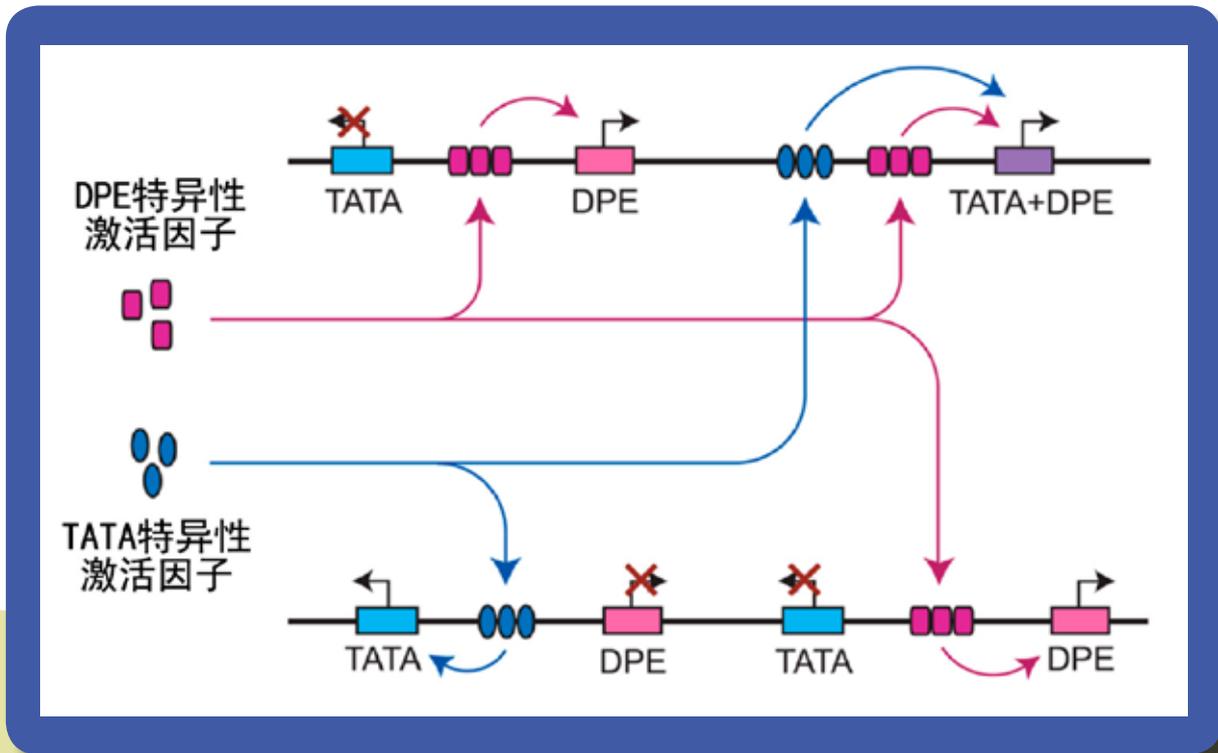


图5 关于DPE特异性因子和TATA特异性因子激活作用的一个简化的、推测的示意图。转录因子与增强子结合，但只会激活拥有合适的核心启动子元件的启动子的转录作用。既含有TATA盒，又含有DPE基序的核心启动子可以被DPE或TATA特异性激活因子激活。转录水平因BRE^u以及其它核心启动子基序的存在而可以进一步调控。

基因组中不仅存在各种核心启动子元件，同时也存在各种基础转录调控机制。比如TRF就是一个很好的例证。到目前为止一共发现了三种TRF因子，分别是TRF1、TRF2和TRF3。

在酵母细胞和人体细胞中并不存在TRF1因子，它们见于果蝇细胞。在包括酵母细胞和人体细胞在内的众多真核细胞中，TBP因子都会参与依赖RNA聚合酶I、II和III的转录作用。不过在果蝇细胞中TRF1因子取代了TBP，改由TRF1因子参与依赖RNA聚合酶III的转录过程。

TRF2因子也被称作TLF、TLP、TRF或TRP，它广泛见于各种真核生物细胞内，主要参与依赖RNA聚合酶II的转录作用。TRF2因子不能与TATA盒序列结合，在体外实验中也不能取代TBP因子的作用。有很多基因都受到TRF2因子的调控，但是不受TBP因子的影响，果蝇细胞的组蛋白H1基因就是其中一例。H1连接组蛋白基因（H1 linker histone gene）就不含有TATA盒元件，但是该基因位于一个基因簇内。该基因簇内还有四个含TATA盒的核心组蛋白基因，这些核心组蛋白基因都受到TBP因子调控作用的影响。这些发现都表明在同一基因簇内可能同时有好几种不同的转录机制在发挥作用。

TRF3因子也被称作TBP2或TBPL2因子，它似乎只见于脊椎动物细胞内，它也是所有三种TRF因子中与TBP因子最为接近的一个。TRF3因子可以与TATA盒结合，促进依赖TATA盒的转录起始作用。TRF3因子对于胚胎发育也具有非常重要的作用。在斑马鱼试验中如果缺失掉胚胎的*TRF3*基因，就会导致胚胎出现多种发育异常，并且这种斑马鱼胚胎还不具备造血作用。

在研究成肌细胞（myoblast）向肌管（myotube）分化的过程中又发现了TRF3因子的一个重要功能。成肌细胞里含有经典的TFIID 复合体，即含有TBP因子的TFIID。不过在成肌细胞向肌管分化的过程中TFIID复合体会被一个含有TRF3-TAF3因子的复合体取代（图6）。这说明终末分化细胞会采用另外一套细胞特异性的转录机制对基因表达进行调控。不过，目前还不清楚在其它细胞分化过程中是否存在同样的现象。

核心启动子和基础转录机制是两条非常重要，同时又是我们尚不太明了的两条基因表达调控机制。目前发现的核心启动子以及基础转录因子在结构和功能上都存在非常大的多样性，这些结构不同、功能各异的调控因子全都参与了生物发育过程，所以今天的生物界才显得如此丰富多彩。因此，在今后的研究工作中一定要将这些因子的作用考虑在内。比如转录增强子就应该与相应的启动子共同来研究。我们还可以利用核心启动子以及相应的TATA盒或DPE特异性的增强子设计出新的报告载体（reporter vector）。随着我们对核心启动子以及基础转录因子的重视程度不断提高，对它们的认识不断加深，我们也将获得更多更加激动人心的发现，这些发现将会帮助我们对生物学调控机制有一个完整并且准确的认识。

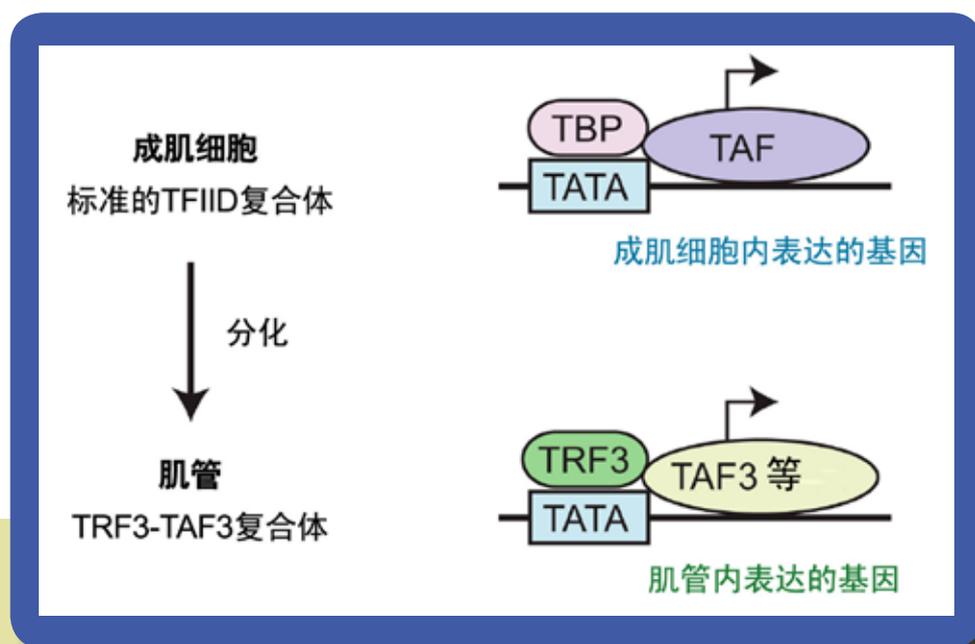


图6 在成肌细胞向肌管的末端分化过程中，标准的TFIID复合体被TRF3-TAF3复合体取代。两个复合体均借助TBP或TRF3亚基与TATA盒结合。这些结果可以作为细胞分化后形成了一个新的基础转录系统的例证，而且表明类似的过程可能会在其它细胞中发生。

五

核心启动子在细胞特异性转录及基因调控中的新功能

我们一直都认为RNA聚合酶II核心启动子识别装置（RNA polymerase II core promoter recognition apparatus）在所有的真核细胞中都具有高度保守且一致的作用，即启动基因转录的作用。一般都认为诸如含有TATA盒结合蛋白（TATA binding protein, TBP）和TBP相关因子（TBP associated factor, TAF）的复合体TFIID一类的原型起始前复合体（preinitiation complex）的重要组成亚单位一定都有其相对应的、序列特异性的激活子或抑制子，帮助它们发挥转录调控作用。这主要是因为科学家们研究的细胞种类太少了，只研究了酵母细胞、果蝇S2细胞、人体HeLa细胞。由于这些细胞分裂速度都非常快，所以可以大量培养，比较适合在实验室中进行生化研究和遗传学研究。在有限的几次对分化程度更高的细胞和组织开展的科学研究工作中却又往往会混杂多种细胞系，比如大鼠肝细胞、小牛胸腺组织以及果蝇胚胎等，这也影响了试验的结果。另外在很多基因转录研究工作中往往还会用到重组基因模型、启动子模型以及人工调控元件模型等。

最近的研究主要集中在对一个单一、同质性且特化的已分化细胞甚至是这个细胞的某一个细胞周期里细胞内源基因及其生理相关调控元件的分析工作中。这些研究发现，有一些非原型的核心启动子识别因子，比如细胞特异性的TAF和TBP蛋白相关因子（TRF）等在细胞分化过程中的基因转录调控工作中也起到了非常重要的作用。科学家们还发现了一些原型核心启动子识别装置的新功能。有越来越多的证据表明，上述这些因子参与了某些基因的表达调控过程，所以我们就这方面的科研进展做了一番综述，主要向读者介绍体细胞和生殖细胞在发育过程中的基因表达调控机制，并且还将介绍一些核心启动子识别因子除了基因转录表达调控功能和维持基因转录状态功能之外的新功能，比如可以介导与染色质之间的相互作用，又或者可以在细胞分裂的过程中让基因一直处于活性表达的状态等。

1. 原型核心启动子识别装置

核心启动子识别是转录起始过程中发生的第一个步骤。真核生物mRNA转录基因的第一大原型核心启动子识别因子就是转录因子TFIID，它可以与多个核心启动子元件相结合，启动包含有RNA聚合酶II在内的起始前复合物的组装行为（图7）。高等真核生物的RNA聚合酶II核心启动子具有非常多的种类，在很多基因的核心启动子中甚至都没有任何一种我们已知的核心启动子元件。最著名的核心启动子元件非TATA盒（TATA box）莫属，但是实际上含有TATA盒的核心启动子却少之又少，绝大部分的核心启动子都不含TATA盒。根据目前的研究成果来看，我们还不能将核心启动子简单的分为含有TATA盒的核心启动子和不含TATA盒的核心启动子这两大类，因为在不含TATA盒的核心启动子中也包括很多种不同的启动子类型。不过现有的研究表明，在高等真核生物细胞内，不能说全部，但是绝大多数的RNA聚合酶II核心启动子里都含有能与TFIID复合体组成亚单位发生相互作用的元件。

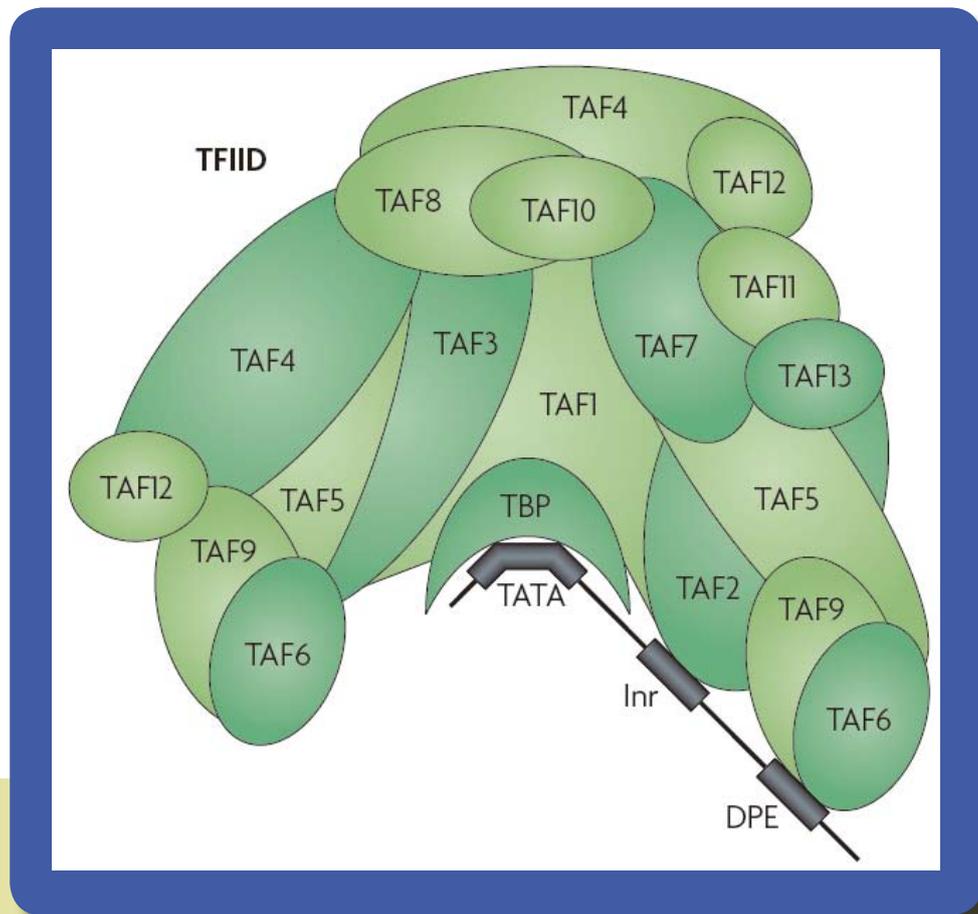


图7 TFIID识别核心启动子。转录因子IID（transcription factor IID, TFIID）是由多个亚基组成的复合物，它可以与核心启动子元件相结合。TATA盒结合蛋白（TATA binding protein, TBP）能够与TATA盒结合。TBP结合因子1（TBP associated factor 1, TAF1）和TBP结合因子2（TBP associated factor 2, TAF2）都能与起始子结合。TAF6和TAF9都能与下游启动子元件（downstream promoter element, DPE）结合。

TFIID复合物里含有TBP蛋白和13~14个TAF亚单位，它可以通过这些亚单位（比如TBP、TAF1、TAF2、TAF6以及TAF9）与DNA分子之间的相互作用与核心启动子相结合（图7）。TFIID复合物中的TBP亚单位能够与核心启动子中的TATA盒结合（这段TATA盒元件大约位于基因转录起始位点上游27bp处）。好几种TAF因子也都可以与核心启动子中TATA盒下游的启动子元件相结合。TAF1因子与TAF2因子可以与横跨转录起始位点的起始子（initiator）相结合；TAF6因子与TAF9因子则可以与启动子下游元件（downstream promoter element, DPE）相结合。当TFIID复合物与启动子结合之后，其中的TAF1因子会非常接近下游核心元件（downstream core element, DCE）。有一些TAF因子还可以与转录激活子发生相互作用，让TFIID复合物接受来自各个方面信号的调控作用，进而控制基因核心启动子，起到基因表达调控的作用。

转录因子TFIIA可以帮助TFIID复合物与核心启动子结合，随后包括TFIIB、RNA聚合酶II、TFIIF、TFIIE、TFIIH以及其它共激活复合物等因子在内的转录调控机制

也都可以相继发挥作用。起始前复合体形成之后就可以启动基因转录。在细胞内的基因转录过程要比细胞外的基因转录过程复杂得多，这主要是因为细胞内，基因DNA片段与组蛋白形成了核小体进而又形成了染色质，所以还需要其它一些转录激活因子（transcriptional activator）、共激活因子（coactivator）、染色质修饰因子（chromatin modifying factor）以及转录延伸因子（transcription elongation factor）等多种辅助因子的作用才能完成基因转录。不过，尽管上述因子的作用非常重要，但它们却都不属于核心启动子识别因子（core promoter recognition factor）。最近研究发现，TFIID复合体的组成亚单位除了具有核心启动子识别功能和起始前复合物形成功能之外还具有一些其它的作用。而且还发现有一些与TBP和TAF因子相关的蛋白在细胞的发育、分化和增殖过程中也具有其独特的功能。我们接下来在表1中将对这些蛋白进行一番总结和功能简介。

表1：核心启动子识别复合体组分因子功能一览表

因子名称	研究系统	因子功能
TBP	人HeLa细胞	有丝分裂期基因标记
TRF2（也称作TLF、TRP或TBPL1）	秀丽隐杆线虫（ <i>Caenorhabditis elegans</i> ）、非洲爪蛙（ <i>Xenopus laevis</i> ）	胚胎发生早期作用
	黑腹果蝇（ <i>Drosophila melanogaster</i> ）	生殖细胞分化，变态作用
	黑腹果蝇S2细胞	基因转录作用（比如组蛋白H1基因）
	小鼠	精子发生作用
TRF3（也称作TBPL2）	非洲爪蛙（ <i>X. laevis</i> ）	原肠胚形成作用
	斑马鱼	胚胎发生，造血作用
	小鼠胚胎干细胞	造血作用
	小鼠C2C12细胞	肌形成作用
TAF3	小鼠	卵子发生作用
	斑马鱼	造血作用
	小鼠胚胎干细胞	造血作用
	小鼠C2C12细胞	肌形成作用
TAF4b	人U2OS细胞	将TFIID固定在H3K4me3位点作用
	小鼠	卵子、精子发生作用
	小鼠	精子发生作用
	小鼠	脂肪形成作用
TAF7L	小鼠	精子发生作用
TAF8	小鼠	脂肪形成作用
TAF10	小鼠	肝脏发育

因子名称	研究系统	因子功能
No hitter (TAF4 同系物)	黑腹果蝇	精子发生作用
Cannonball (TAF5同系物)	黑腹果蝇	精子发生作用
Meiosis I arrest (TAF6同系物)	黑腹果蝇	精子发生作用
Spermatocyte arrest (TAF8同系物)	黑腹果蝇	精子发生作用
Ryan express (TAF12同系物)	黑腹果蝇	精子发生作用

2. 在生殖细胞分化过程中的作用

2.1 TRF2因子在生殖细胞分化过程中的作用

TRF2因子又被称作TLF、TLP、TRP或TBPL1。我们之所以发现它是因为它的氨基酸序列与TBP蛋白的非常相似，广泛见于秀丽隐杆线虫至人类等多种真核生物体内。不过虽然TRF2因子从序列上来看与TBP蛋白非常相似，但是它却不能够与TATA盒结合。在哺乳动物的睾丸中TRF2因子有很高的表达量，在其它组织中的表达量则比较低。在TRF2因子被敲除的小鼠身上可以观察到精子发生（spermatogenesis）障碍的现象（图8a）。TRF2因子只在精母细胞（spermatocyte）发育时才会高表达，在第6~7阶段形成精子细胞（spermatid）时表达量升到最高。在TRF2因子被敲除的小鼠模型中，精子发生的第7步障碍表现得非常明显，不能形成长长的、有尾巴的精子细胞，多个减数分裂后睾丸组织特异性基因的转录水平也严重降低。进一步研究发现，这些不能表达TRF2因子的小鼠在精子细胞形成的早期阶段就已经表现出染色中心（chromocenter）形成障碍。所谓染色中心是细胞内一个含有压缩的着丝粒异染色质（centromeric heterochromatin）的结构，它与染色质形成有关。不过我们还不清楚这些小鼠不能形成精子细胞究竟是因为基因表达谱发生了改变所致还是因为染色中心形成障碍所致。

TRF2因子除了参与生殖细胞的分化过程之外，它还在某些物种的胚胎发生（embryogenesis）过程中发挥作用。比如在秀丽隐杆线虫（*C. elegans*）和非洲蟾蜍（*Xenopus*）体内，TRF2因子就是这些生物胚胎发生早期阶段必不可少的一个因子，TRF2因子保证了很多基因能够正确转录。在果蝇中，TRF2因子不仅参与了生殖细胞的分化过程，它也参与了果蝇变态反应（metamorphosis）的起始过程。如果果蝇体内的TRF2因子发生了突变，那么在变态反应早期受到蜕皮激素（ecdysone）调控的基因的转录水平就会发生异常的改变，甚至会出现基因转录延迟的情况。实际上，虽然这些不典型的TRF因子和TAF因子最主要的功能是参与生殖细胞的发育，但是如果我们研究的案例足够多，那么我们就就会发现上述因子在不同的物种中会表现出迥然相异的功能。

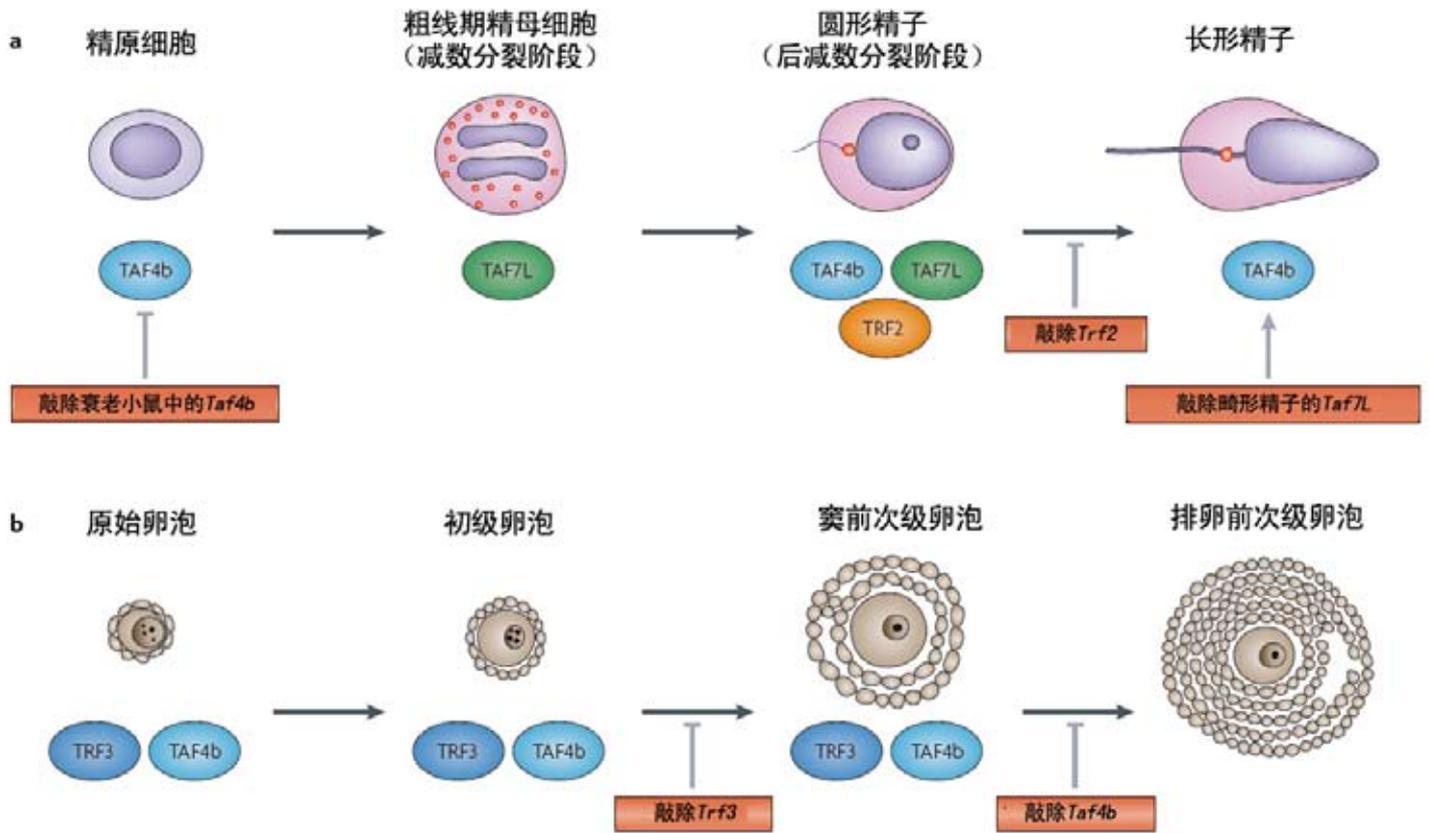


图8 TRF与TAF在生殖细胞分化过程中的作用。(a) 小鼠精子发生过程简述。图中给出了缺失了或表达TBP相关因子2 (TBP related factor 2, TRF2)、TBP结合因子4b (TBP associated factor 4b, TAF4b) 以及TBP结合因子7L (TBP associated factor 7L, TAF7L) 等因子之后会产生影响。(b) 小鼠卵子发生过程简述。图示表示TRF3因子和TAF4b因子表达或缺失之后会产生影响。如果缺失了TAF4b因子会对多个分化阶段造成影响, 图中给出的是最后一个受影响阶段。

2.2 TRF3因子在生殖细胞分化过程中的作用

TRF3因子又被称作TBP2, 是在构建人体基因组草图, 寻找可能与人体TBP蛋白序列相似蛋白的过程中发现的一个蛋白因子。不过, TRF3因子和TBP蛋白之间的相似性只局限于它们都在C末端有一个DNA结合结构域, 仅此而已, 这两个蛋白的N末端就没有什么序列相似性可言了。在小鼠、蛙、斑马鱼等物种的基因组中也都发现了TRF3蛋白的编码基因, 但是这些基因和在果蝇和秀丽隐杆线虫中发现的基因不太一样。TRF3因子可以与TATA盒结合, 与TFIIA和TFIIB发生相互作用, 参与基础转录过程, 这些功能都与TBP蛋白比较类似。所以有人推测TRF3因子完全可以从功能上代替TBP蛋白的作用。

早期的研究发现，TRF3蛋白在人体和小鼠的多个组织和细胞系中都有表达，不过表达水平各异。后来的研究发现在斑马鱼和非洲蟾蜍的睾丸和卵巢组织以及小鼠的卵母细胞（oocyte）中TRF3基因mRNA的表达水平最高。为什么TRF3蛋白的表达水平会有如此大的差异我们现在还不太清楚，这可能与不同的课题组在实验操作过程中使用的抗体和提取方法不同有点关系。

我们已经知道在小鼠体内，卵巢组织中TRF3蛋白的表达水平是最高的。而且在滤泡生成（folliculogenesis）过程中，TRF3蛋白主要存在于小鼠卵母细胞的细胞核中。我们还发现细胞内TRF3蛋白的水平会随着排卵过程而逐渐降低。有意思的是，在滤泡生成过程中并没有在卵母细胞中发现TBP蛋白。缺失了TRF3因子的小鼠依旧能够存活，但是这种雌性小鼠却是不孕的，这主要是因为卵母细胞的上涨和滤泡生成过程受到了影响。在这些缺失了TRF3因子的小鼠体内还能发现RNA聚合酶II活性降低以及H3K4me3水平显著降低的现象，同时这些小鼠有好几百个基因的表达水平也发生了改变。其中受到下调影响最为显著的基因就是卵巢组织特异性的基因，这说明TRF3蛋白是卵巢发育过程中维持正常基因转录水平所必需的一个转录调控因子。ChIP实验也发现，在野生型小鼠体内，TRF3蛋白可以与多个卵巢发育相关基因的启动子区域结合（图8b），这说明TRF3蛋白在滤泡生成过程有效地取代了TBP蛋白的转录活性功能。

2.3 非原型TAF因子在生殖细胞分化过程中的作用

有一些非原型TAF因子（non-prototypic TAF）也在生殖细胞分化过程中发挥了它们各自的作用。比如果蝇*cannonball*基因（与果蝇TAF5基因同源的基因）就会特异性地在初级精母细胞（primary spermatocyte）中表达。该基因的表达有利于在精子细胞发育过程中让多个基因的转录水平维持在正常状态。在果蝇初级精母细胞中还表达有其它另外四种TAF因子，它们分别是TAF3因子同系物no hitter、TAF6因子同系物减数分裂I阻滞蛋白（meiosis I arrest）、TAF8因子同系物精母细胞阻滞蛋白（spermatocyte arrest）和TAF12因子同系物ryan express。这四个睾丸组织特异性的TAF因子都与精母细胞的正常分化发育有关，也有一组与精母细胞分化过程相关的基因的正常表达调控机制有关。更进一步的研究表明，这些睾丸组织特异性的TAF因子主要都结合在各个参与精子细胞形成的基因的启动子上。在这些研究中发现如果野生型睾丸组织特异性的TAF因子与目的基因启动子结合了，那么可以对基因转录起到沉默作用的染色质修饰复合体——多梳蛋白抑制复合体1（polycomb repressive complex 1, PRC1）与这些启动子的结合水平就会降低，而标志着转录活性的H3K4me3甲基化修饰标志物的水平会增高。所有这些研究成果都表明，果蝇睾丸组织特异性的TAF因子在初级精母细胞中发育基因的转录活化过程中起到了非常重要的作用，它们可能是抑制了PRC1复合体与基因启动子的结合。但是，我们目前还不知道这些TAF因子究竟对PRC1复合体起到了多么大的干扰作用，干扰的程度如何。不过我们知道在精母细胞的细胞核中，有很多睾丸组织特异性的TAF因子都和PRC1复合体共定位在一个地方，而且这种共定位都需要这些TAF因子的参与。这些TAF因子中有一部分因子还可能会将PRC1复合体从基因启动子上替换下来，对这些基因的转录起到去抑制的作用。

TAF4b因子也是一种细胞特异性的TAF因子，它只见于人体B细胞系中。但是在对小鼠组织的研究工作中又发现该因子在小鼠睾丸和卵巢组织中也有非常高的表达。在小鼠卵巢组织中，TAF4b基因的mRNA转录产物仅见于卵泡滤泡（ovarian follicle）的卵巢颗粒细胞（granulosa cell）中。如果敲除掉TAF4b基因会使雌性小鼠不孕，那么这种小鼠的卵巢也会因为缺乏成熟的滤泡显得比较小（图8b）。后来的研究又发现TAF4b因子可以促进卵巢颗粒细胞的增殖，而且它还是卵巢颗粒细胞生长所必需的一种因子。在敲除了TAF4b因子的小鼠卵巢组织里有很多基因的表达水平都有不同程度的降低，而且这些“年轻的”基因敲除小鼠的卵巢基因表达情况与野生型的“老年”小鼠比较相似。这也与其它研究中发现的这些敲除了TAF4b因子的小鼠的卵巢组织会加速老化的现象比较一致。如果在颗粒细胞自发性永生化的大鼠动物模型中过表达TAF4b因子则会显著提高某些基因的表达水平，其中最为突出的就是*c-jun*基因。而且这种对基因表达水平的影响是细胞特异性的，比如在NIH/3T3细胞中过表达TAF4b因子就不会观察到类似的基因表达水平升高的现象。ChIP实验也证实在许多基因的启动子区域都能发现TAF4b因子和c-Jun因子共定位的现象，其中也包括c-Jun因子自身编码基因的启动子区域。另外在重组转录系统中还发现含有TAF4b因子的TFIID复合体对c-Jun因子编码基因的启动子具有很高的转录活性，远远超出了不含TAF4b因子的原型TFIID复合体的转录作用。因此，上述研究表明TAF4b因子和特异性的转录激活因子c-Jun因子一起可以对滤泡生长相关基因的转录起到重要的调控作用。

TAF4b因子还参与了小鼠的精子发生过程，它可以在成熟精子细胞中表达（图8a）。敲除了TAF4b因子的雄性小鼠最开始都是具备生育能力的小鼠，但是它们的睾丸会随着年龄的增加而逐渐退化，丧失生殖细胞，变成不育小鼠。而且在这种敲除了TAF4b因子的雄性小鼠中还发现有很多与精子发生相关的基因表达水平都有显著的降低。寻找能够和TAF4b因子一起发挥基因表达调控作用，控制精子发生过程的转录激活因子一定是一个非常有意思的工作。

最后要出场的是TAF7因子的旁系物TAF7L因子，该因子也参与了雄性小鼠生殖细胞的发育过程。TAF7L因子主要在正在分化的雄性小鼠的生殖细胞中表达，可见于精子细胞的细胞核中（图8a）。随着生殖细胞的发育，TAF7L因子的表达水平也会随之增高，与此同时TBP的表达水平也会增高，而TAF7因子的表达水平却会随之逐渐降低。在精母细胞中，TAF7L因子与TBP蛋白相关，但是TAF7因子却与TBP蛋白无关。敲除了TAF7因子的小鼠会发育出畸形的精子细胞，但是这种小鼠还是具备生育能力的。基因表达谱研究发现，在这种基因敲除小鼠的睾丸组织中有六个基因的转录水平发生下调，但是这些基因与精子发生的关系目前还不清楚。

3. 在体细胞分化过程中的作用

多细胞生物在多种分化通路中是如何建立起各种转录调控机制的呢？这些转录调控机制又是如何指挥各条特异性的分化通路正常发挥作用的呢？这些问题一直困扰着科研人员们，为了回答这些问题，科研人员们逐渐将目光锁定在了转录激活因子（transcriptional activator）和转录抑制因子（transcriptional repressor）的身上，因为他们知道这些因子在细胞特异性转录调控过程中都起到了至关重要的作用。最近又发现非原型的核心启动子识别因子也在细胞分化调控中发挥着非常重要的作用。

3.1 TRF3因子和TAF3因子在胚胎发生过程中的作用

如果斑马鱼胚胎中TRF3因子的表达水平下降就会导致胚胎中胚层（mesoderm）出现异常。TRF3因子在非洲蟾蜍的胚胎发生过程中对原肠胚的形成（gastrulation）起到了关键的作用，它与非洲蟾蜍胚胎发育过程中近900个相关基因的正常表达都有关系。因此，我们绝对可以说TRF3因子这个非原型的核心启动子识别因子控制了大量基因的转录水平，对它们都起到了转录调控的作用。

进一步的研究又发现在斑马鱼胚胎发生过程中TRF3因子还是血细胞生成必不可少的一个因子（图9a）。基因表达谱分析研究和ChIP实验发现，TRF3因子还是*mespa*基因在细胞分化过程中特异性转录所必需的因子。*mespa*基因编码的蛋白是一种碱性的螺旋-环-螺旋结构的转录因子，该因子对造血系统的发育非常关键。*mespa*基因的启动子能够与TRF3因子结合，但是不能与TBP蛋白结合。如果缺失了*mespa*基因会造成发育异常，而且这种发育异常与缺失了TRF3因子时出现的发育异常非常相似。更重要的是，在缺失了TRF3因子的胚胎中如果再表达外源的*mespa*因子就能够使胚胎发育恢复正常。最终我们发现，在中胚层分化出造血系统的过程中TRF3因子会与*mespa*基因的启动子结合。最近的研究又发现在斑马鱼胚胎中TRF3因子和TAF3因子可以一起启动造血作用。TAF3因子可以与TRF3因子结合，然后再与*mespa*基因的启动子结合，启动造血作用。在小鼠动物模型中重复这一实验发现，TRF3因子和TAF3因子一起可以与*mespa*基因在小鼠中得同源基因*Mesp1*基因的启动子结合。研究发现，TRF3因子同样是小鼠胚胎启动造血作用时必不可少的一个因子。

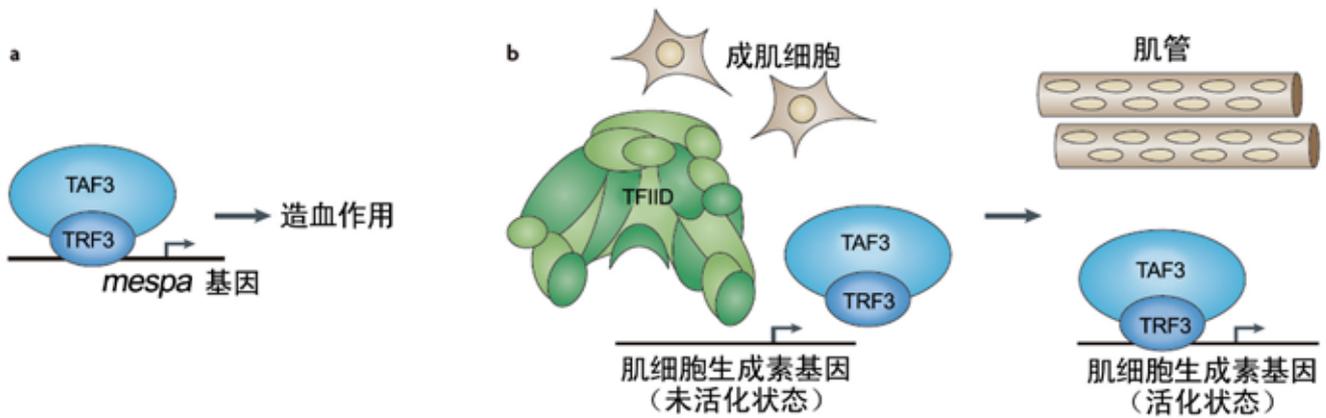


图9 TRF3和TAF3在体细胞分化过程中的作用。(a) TAF3因子和TRF3因子在造血过程中的作用。在斑马鱼的胚胎发生过程中TRF3因子和TAF3因子都会与mespa基因（该基因主要编码一种转录因子，这种转录因子对造血功能至关重要）的核心启动子结合。(b) TRF3因子和TAF3因子在肌形成过程中的作用。小鼠成肌细胞分化为肌管时多个TFIID复合体亚单位的水平会下降。与此相反，TAF3因子和TRF3因子的水平则保持不变。在肌管中，TRF3因子和TAF3因子会形成复合体，并且都结合在肌细胞生成素编码基因的启动子上。肌细胞生成素是一种转录激活因子，在肌形成过程中起到了非常重要的作用。

有实验证据表明TRF3因子和TAF3因子不仅可以一起参与造血作用，还与其它的组织分化作用有关。在研究TFIID在骨骼肌分化过程中的作用时发现，在C2C12成肌细胞分化为肌管时，TFIID复合体的原型亚单位TBP、TAF1和TAF4等因子的表达量会大幅度降低（图9b）。但是，在成肌细胞和肌管的细胞核中RNA聚合酶II、TFII-A、TFII-B、TFII-E、TFII-F和TFII-H等常见的转录因子的水平却没有什么变化，这一点与TAF3因子的情况很不一样。在对小鼠骨骼肌成肌细胞和肌纤维的单独试验中也验证了上述结论。有趣的是，在C2C12细胞分化为肌管（在肌管细胞中TAF3因子和TRF3因子可以发生相互作用）时，TRF3因子的含量一直都维持在稳定的相对较低的水平。如果C2C12细胞缺失了TAF3因子或者TRF3因子均会影响肌管的分化，同时也会抑制胞内MyoD和肌细胞生成素（Myogenin）这两种与肌形成调控机制密切相关的转录因子的表达。

在对肌管的研究中通过ChIP实验发现，TAF3因子和TRF3因子都能够与肌细胞生成素编码基因的启动子结合，但是在成肌细胞中这两种因子却不能够与肌细胞生成素编码基因的启动子结合。在后续的研究中又通过重组转录系统（reconstituted transcription system）实验发现TAF3因子和TRF3因子可以在MyoD的帮助下激活肌细胞生成素的启动子，启动基因转录作用。研究还发现TAF3/TRF3对肌细胞生成素编码基因的转录激活作用是不依赖Mediator亚单位（在肌管细胞中也不存在这个因子）的。综上所述，我们可以认为在肌形成的过程中RNA聚合酶II启动子识别装置会发生一次彻底的重组，TFIID复合体的亚单位减少，转而由TAF3/TRF3因子对成肌关键基因的转录活动进行调控。

关于上述研究成果在不同细胞系中意义如何的问题一直都存在比较大的争议。敲除了TRF3因子的小鼠似乎也没有影响骨骼肌和造血系统的发育，但是根据上述研究成果却又不应该是这样。于是诞生了好几种假说，试图对这一矛盾现象加以解释。比如虽然TRF3因子在小鼠的肌肉形成和造血系统形成过程中发挥了主要作用，但是将其敲除之后还会有其它的因子来补偿TRF3因子的作用，所以不会对小鼠造成太大的影响，但是这些进行补偿的因子却不能够补偿TRF3因子在胚胎发生过程中的作用。同样，在模拟肌形成过程和造血系统形成的细胞模型系统中这些补偿因子也不能够代替TRF3因子的作用，在斑马鱼造血系统形成模型中，这些补偿因子同样也不能够代替TRF3因子的作用。其它一些实验，例如在细胞或敲除了TRF3因子的小鼠中表达补偿因子的试验可以对这种假说加以验证。基于上述假说有一个试验非常有必要在此介绍，那就是在非洲蟾蜍的卵母细胞中表达外源TBP蛋白可以代替TRF3因子的作用，启动某些基因的转录活动。

但是，在敲除了TRF3因子的小鼠动物模型中只有在某些非常特定的条件下才能看到肌肉形成和血细胞形成的表型。比如，缺失了TRF3因子的小鼠在损失愈合方面就会有所缺陷，因为这需要肌肉干细胞及时的进行分化，对伤口加以修复。另外一种可能的解释就是，我们常用的细胞模型系统不适合进行肌肉形成和造血系统形成机制的研究。通常来说，由于缺乏活体研究系统，所以我们很难证明某种因子没有参与某个复杂的生理过程。所以很明显，科学家们还需要继续开展其它的试验研究，利用各种不同的研究策略检验各种可能性，看看TRF3因子在小鼠肌肉形成、造血系统形成以及其它分化发育通路中究竟扮演了什么样的角色。

3.2 TAF8因子和TAF10因子在发育过程中的独特作用

非原型的TAF因子在脂肪形成（adipogenesis）的过程中也起到了非常关键的作用，虽然此时似乎并没有出现核心启动子识别装置大规模重组的事件。Roeder等人发现，在脂肪前体细胞（preadipocyte）分化为脂肪细胞（adipocyte）时很多组成TFIID复合体的原型TAF因子的水平都有降低，只有非原型的TAF8因子是个例外。但是在脂肪前体细胞中却没有发现TAF8因子，它只是在脂肪形成过程中表达量开始上调，并且结合到TFIID复合体当中。TAF8因子的N末端含有一个组蛋白折叠结构域，它可以借此与其它含有组蛋白折叠结构域的TAF因子发生相互作用，这可能也是TAF8因子与TFIID复合体结合的作用机制。如果过表达TAF8因子的组蛋白折叠结构域会抑制3T3-L1脂肪前体细胞分化为脂肪细胞，这可能是因为过表达TAF8因子的组蛋白折叠结构域抑制了内源性TAF8因子与TFIID复合体间的相互作用。如果再过表达全长的TAF8因子则可以逆转这种抑制效应。重要的是，如果表达TAF8因子组蛋白折叠结构域还会抑制PPAR γ 和C/EBP α 这两种脂肪形成调控因子的表达。所以，我们认为TAF8因子与TFIID复合体一起通过激活脂肪形成必需基因表达的方式促进了脂肪前体细胞向脂肪细胞转化的过程，不过具体的作用机制现在还不清楚。

TAF10因子也是TFIID复合体的重要组成亚单位，如果小鼠胚胎缺失了TAF10因子则不能够继续存活。条件性失活小鼠胚胎肝细胞里的TAF10因子可以导致小鼠胚胎肝脏

体积明显缩小，这说明TAF10因子对小鼠胚胎肝脏的发育非常重要。如果让成年小鼠肝脏里的TAF10因子条件性失活则会让TFIID复合体解离（虽然除了TAF10因子之外的TFIID复合体组成亚单位的含量都没有受到影响）。转录谱研究表明，如果让正在发育的肝脏细胞里的TAF10因子失活，则只会影响到11%的基因的表达。这些被影响基因绝大多数都是肝脏特异性的基因，它们也许就是导致肝脏发育异常的“致病”基因。

4. 在细胞分化过程之外的非原型功能

科研人员们在最近几年里又发现了一些核心启动子识别因子的新功能。我们接下来将要介绍的三个例子中都会涉及到TRF2、TAF3以及TBP这三个原型核心启动子识别因子的非原型新功能。

4.1 果蝇TRF2因子的基因转录调控功能

Tjian等人通过对免疫纯化的果蝇TRF2因子的研究发现，该因子能够与核小体重构因子NURF以及对细胞周期基因和细胞增殖基因具有调控作用的转录因子DREF相结合。生化实验和细胞试验发现TRF2因子和DREF因子可以促进PCNA基因（该基因的编码产物是细胞DNA进行高保真复制必需的因子）的转录，这是因为PCNA基因的启动子区域里含有DREF因子结合位点DRE。后来的研究又发现果蝇TRF2因子能够促进组蛋白H1编码基因的转录，这是因为TRF2因子可以与不含TATA盒的组蛋白H1编码基因启动子结合。有意思的是，TRF2因子却不能与和组蛋白H1编码基因位于同一重复组蛋白基因簇中的核心组蛋白编码基因的启动子区域结合，这些核心组蛋白编码基因的启动子区域上却都结合着TBP蛋白。这是因为在细胞发育过程中连接组蛋白H1的数量相对于核心组蛋白来说变化幅度非常大。

对果蝇S2细胞进行ChIP-chip试验发现有1000多个基因都结合了TRF2因子，这其中就包括了需要TRF2因子进行共调控的核糖体蛋白编码基因簇。与TBP蛋白的ChIP-chip试验结果比较之后发现结合了TRF2因子的基因与结合了TBP蛋白的基因基本上互相都不重叠，这一比例大约是80%。另外，基本上所有结合着TBP蛋白的基因启动子里都含有TATA盒，而结合着TRF2因子的基因启动子区域里几乎都不含有TATA盒。敲除掉果蝇唾液腺（salivary gland）细胞里的TRF2因子会使腺体出现明显的生长障碍，这也与之前发现的TRF2因子能够促进细胞生长的现象非常吻合。所有这些研究结果都表明，TRF2因子在果蝇细胞生长过程中对整个细胞基因组的转录过程都起到了非常重要的调控作用。它控制了基因在细胞生长过程中的作用，所以所谓的“非原型”作用或者“特异性”作用似乎还都不能很好的概括TRF2因子在细胞生长过程中所起的这种关键作用。

4.2 TAF3因子将TFIID复合体固定在核小体上

启动子上结合的组蛋白H3上第四位赖氨酸的甲基化修饰作用H3K4me3被认为是基因开始活性转录的标志之一。Timmers等人发现人体TFIID复合体能够与H3K4me3标志物结合，这一结合作用主要受TAF3组成亚单位的调控，这是以为TAF3因子上含有PHD finger结构域，它可以选择性地与H3K4me3标志物结合，即便它们位于核小体上。功能研究表明TAF3因子含有的PHD finger结构域可以以一种依赖组蛋白甲基转移酶的方式促进基因开始转录。组蛋白H3的其它修饰作用可以影响TFIID复合体与H3K4me3标志物间的结合作用，R2位点非对称的去甲基化修饰作用则会抑制TFIID复合体与H3K4me3标志物间的结合作用，K9和K14位点的乙酰化修饰作用也会影响TFIID复合体与H3K4me3标志物间的结合作用。后面这种情况也比较有意思，因为H3K9Ac（即H3蛋白K9位点的乙酰化修饰作用）和H3K14Ac（即H3蛋白K14位点的乙酰化修饰作用）都能够与活性启动子结合，但是TAF1因子却又含有一个可以与被乙酰化修饰的赖氨酸相结合的双布罗莫结构域（double bromodomain），它可以让组蛋白H4去乙酰化修饰。因此可以认为TFIID复合体能够与基因启动子区域上的组蛋白修饰物结合，而TFIID复合体中的TAF1因子和TAF3因子可能就是其中关键的媒介因子。所以核心启动子可能不光只是DNA片段，还有可能是DNA元件和相关组蛋白修饰物共同形成的复合体。这种含有核心启动子DNA片段的染色质核蛋白复合体才是TFIID复合体识别的对象。

4.3 TBP蛋白在有丝分裂过程中对活性转录基因的标记作用

在细胞有丝分裂（mitosis）的过程中，很多基因的转录活动都已经停止了，但是染色质里细胞进入有丝分裂期前处于转录活性状态的基因启动子区域依旧处于松散的未压缩状态，或者说处于一种被标记的状态，这样在细胞进入G1期时这些基因又可以马上开始转录。TBP蛋白（它可能是构成TFIID复合体的组成亚单位）就参与了这种启动子标记作用。之前的研究发现至少有一部分的TBP蛋白和TAF因子在有丝分裂期时依旧结合在染色质上，但是像RNA聚合酶II等其它因子就没有继续结合在启动子上。Sarge等人最近对TBP的作用又进行了更深入的研究（图10）。他们发现在有丝分裂细胞的提取物中，TBP蛋白与磷酸酶2A（phosphatase 2A, PP2A）和凝缩蛋白（condensin）的CAP-G亚单位结合在一起。凝缩蛋白就是在细胞进入有丝分裂期时帮助染色质压缩的蛋白复合体。在这些蛋白复合体中，PP2A蛋白可以使CAP-G蛋白去磷酸化修饰，从而抑制凝缩蛋白的染色质压缩活性。对有丝分裂期的细胞进行ChIP研究发现TBP蛋白和PP2A蛋白都共定位于组蛋白H4编码基因的启动子区域，该基因在细胞进入有丝分裂前就处于活性转录状态。用siRNA干扰TBP蛋白的表达可以极大地影响PP2A蛋白与H4基因启动子间的结合，这说明TBP蛋白能够帮助PP2A蛋白在细胞进入有丝分裂期时结合在基因启动子上。所以我们可以得出这样一个假设，TBP蛋白将PP2A蛋白招募到在细胞进入有丝分裂期前就已经处于转录活性状态的基因的启动子上，使该区域里的CAP-G蛋白去磷酸化修饰，从而抑制凝缩蛋白的活性，使染色质里的启动子区域在有丝分裂期不能进行压缩，依旧保持在松散的状态，即对启动子区域起到了书签样的标记作用。这样在细胞离开有丝分裂期，进入G1期时就能马上启动基因转录机制。

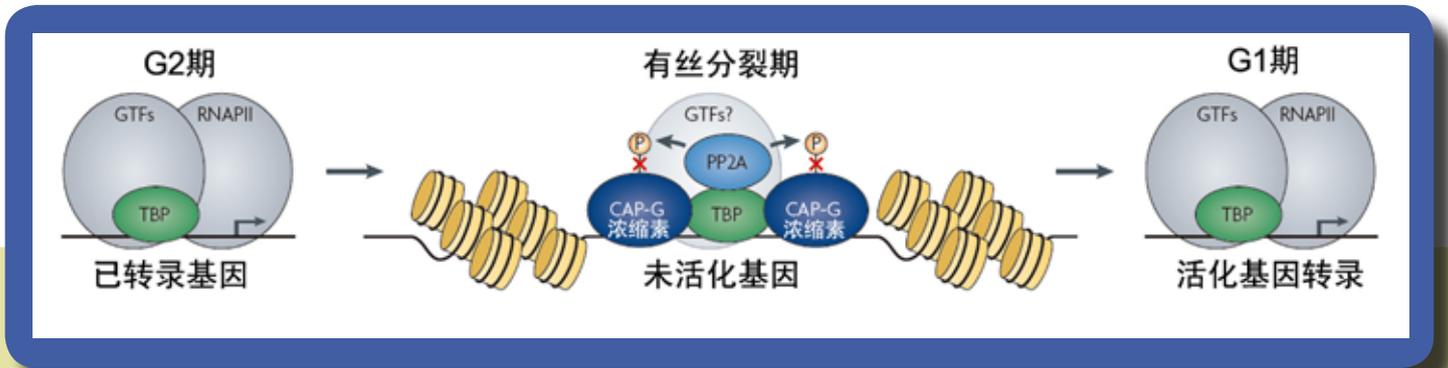


图10 在有丝分裂过程中TBP因子对基因的标记作用。在处于有丝分裂期的细胞核中TBP蛋白与蛋白磷酸酶2A（protein phosphatase 2A, PP2A）以及结合在进入有丝分裂前就已经被激活的基因核心启动子上的浓缩素CAP-G亚单位相结合。PP2A能够使CAP-G亚单位去磷酸化，让浓缩素失活，这样处于有丝分裂期中的核心启动子DNA就可以处于松散状态，有利于基因转录。当细胞离开有丝分裂期，进入G1期时被标记的基因就可以被激活，进行转录和表达。聚合酶II在有丝分裂期中会从染色质上分离下来，基因不能转录。不过我们现在还不清楚除了TBP因子之外，还有没有其它的通用转录因子（general transcription factors, GTF）结合在标记基因上。

上述研究结果又带来了一连串有趣的问题。比如在这个标记过程中TBP蛋白是通过TFIID复合体发挥作用的，还是通过其它尚未发现的核心启动子识别复合体因子发挥作用的？有多少启动子拥有这种依赖TBP蛋白的标记作用？它们都含有TATA盒吗？同样，在RNA聚合酶I和RNA聚合酶III转录机制中发挥作用的TBP蛋白是否也会对此类聚合酶的启动子表现出同样的标记作用？通常携带有启动子临近暂停聚合酶（promoter-proximal paused polymerase）的失活基因的启动子是否也拥有这种TBP蛋白标记作用？也许充分认识组蛋白基因位点活性起始前复合体的本质可以帮助我们更好地了解这种TBP蛋白标记机制。

5. 小结

近期，在对非原型核心启动子识别因子的研究工作中出现了两个意想不到的热点，那就是对细胞特异性TAF因子和TRF因子在分化发育基因调控和细胞分化机制中作用的研究，以及在某些像C2C12骨骼肌细胞模型一样的、能够继续合成细胞和组织特异性mRNA分子的已分化的成熟细胞中是否可以完全去掉经典的原型核心启动子识别因子的研究。在未来几年里，继续研究哪些成熟的细胞系会利用这些机制来决定细胞的分化的方向将会是非常有意思的研究课题。一些新的核心启动子识别因子很有可能会参与到细胞分化和已分化细胞基因表达调控这两大机制当中。实际上，最近的研究已经表明在细胞中完全可以缺少原型TFIID亚单位，因为非原型的TAF因子足以取代它们的功能，这已经在体内和体外的肝细胞和脂肪细胞分化试验中得到了验证。将来继续利用shRNA

技术开展的功能缺失试验和外源表达技术开展的功能恢复试验对非原型核心启动子识别因子开展研究还将帮助我们更深入的了解这些因子的功能。比如为了了解各种核心启动子装置在不同的细胞系中具有哪些不同的功能就可以综合shRNA基因干扰技术、小鼠基因敲除技术、外源基因表达等技术开展研究。在某些情况下甚至可以过表达某些TAF因子或核心因子，看看是否会改变前体细胞的分化方向，使其分化出其它的终末细胞。我们很难预测出哪些细胞模型和活体动物模型可以从生理功能上符合核心启动子研究的需要，模拟出它们应有的功能，但是更纯的细胞系、更好的体外生化实验系统和动物试验系统肯定是会对科研工作带来极大帮助的。毫无疑问，获得同质的、均一的细胞系将是最大的挑战。我们希望能够尽快开发出单细胞生化实验技术和高分辨率的成像技术，这也将给试验工作带来极大的帮助。

有人可能会认为，并非所有的细胞系都能像已分化的肌管细胞那样既缺乏传统的TFIID复合体，同时又能通过非原型的TAF3因子，可能还有TRF3因子的帮助来弥补TFIID复合体的作用。实际上，我们认为在高等生物中就算没有几千个，至少也有几百个细胞系会和肌管细胞一样，利用TRF因子和TAF因子在特异性的激活子和抑制子的配合下对基因表达和细胞分化进行调控。当我们在某些特定的细胞系中对这些转录装置进行深入的研究时，我们可能会看到一个复杂的起始前复合体正在工作。在有些情况下可能只需要细胞特异性的TAF和TRF就足够了，并不需要原型的TFIID复合体发挥作用，但是在另外一些情况下却还是离不开它们和其它一些辅助因子的参与，比如Mediator因子。例如在卵巢滤泡中，TFIID复合体中的TAF4因子就被TAF4b给取代了。我们甚至还可以做出这样的假设，在B细胞和T细胞等需要快速被激活进行复制的成熟细胞中，TFIID复合体的水平可能会基本保持不变，但是其中的一个或几个TAF组成因子或TRF因子的作用可能会变得更加重要。

某些不再需要进行复制的已分化细胞是否还会继续利用TFIID复合体作为起始前复合体呢？开展这种研究一定很有意思。这些细胞可能会对经典的核心启动子装置进行修饰，在其中掺入或者替换一些新的细胞特异性的亚单位来重新改造并利用其中的启动子识别元件，就好像在哺乳动物卵巢中见到的TAF4b因子替换TAF4因子那样。有时候，成熟细胞会离开细胞周期，如果只有一个或两个TAF/TRF因子还继续保留下来，或者表达被上调，其它的TFIID复合体组份全都没有保留，那么不同的细胞会招募不同的TAF因子和TRF因子，以满足它们各自的转录需要吗？比如在肌管细胞中发挥重要作用的TAF3因子到了肝脏细胞、脂肪细胞或神经细胞中会被其它的TAF因子取代吗？

我们可能还会认为包括前文介绍过的各种转录因子是否都会与染色质重构和修饰因子相配合，启动细胞特异性的转录机制，保证已分化细胞能够一直维持特异性的分化状态。从这个角度出发，我们特别想知道核心启动子识别因子在iPS细胞形成过程中的作用。此时，已分化细胞可能会“抛弃”TFIID复合体的原型亚单位，再重新激活一些核心启动子编码基因以及DNA复制基因，从而转变成具备自我更新能力的iPS细胞。在已分化细胞转变成iPS细胞的过程中，这些TFIID复合体、TAF因子和TRF因子的转归问题也非常值得研究。

我们希望在未来几年里前面提到的某些问题能够得到圆满的解答，因为在某些细胞系中已经利用功能更为强大的现代分子细胞成像技术，例如超高分辨率的单细胞显微技术和体外生化实验技术以及微流体细胞检测技术等阐明了核心启动子的识别机制。如果

我想知道是哪些因素和机制决定了细胞的分化命运，人体内功能如此多样的不同细胞都是怎么来的，我们就必须对掌控细胞分化命运的分子机制和转录调控机制有更加全面、深入的了解和认识。我们希望前面介绍过的那些核心启动子识别因子以及它们在细胞分化和基因转录调控中的新功能能够在更多的细胞系和更多的调控通路中得到进一步的拓展。

目前，关于非原型核心启动子识别因子在细胞特异性转录调控中的作用的问题还有很多细节尚不清楚。细菌sigma假说（bacterial sigma-hypothesis）可能是一个说得通的模型。按照该假说的理论，新的RNA聚合酶全酶核心启动子识别亚单位可以识别某些与孢子形成有关或阶段特异性表达的基因的启动子，并与之结合。可能一些新的TAF/TRF复合体就能识别一些特殊的启动子，这些启动子含有独特的、我们现在还不了解的元件。细胞内还会表达各种细胞特异性的激活子或抑制子，专门配合这些新的核心启动子识别元件，共同发挥调控作用。非原型的TAF因子还有可能与染色质组份发生相互作用，通过一些未知的途径对基因的转录活性进行调控。



更多阅读——启动子实时活性分析系统

在人类基因组DNA序列中，仅仅有大约3%的序列是编码蛋白质的序列，而在基因表达成蛋白质过程中转录是关键性的第一步。启动子是影响基因能否转录的重要功能单位，是决定基因能否表达的开关。某个基因是否应当表达决定于在特定的启动子起始过程。在疾病的发生和发展过程中，部分启动子的活性会打开或关闭。通过对启动子活性的检测有助于理解疾病相关的信号传导途径，发现和确证靶标。

到目前为止我们知道人类基因组大约有2.5万个基因，在各类分化的细胞中，这些基因信息尽管保留下来，却不会完全表达。比如脑细胞或心肌细胞都只表达了7000到8000个基因。这就是说，在不同的细胞中启动子‘关闭’了大部分基因而只“开启”一小部分。在人类基因组项目之后，基因的“控制开关”分布可能是最重要的研究目标。

近期的研究表明，人类基因组中转录起始点的数量高于基因数量的10倍以上，已发现许多基因采用不同的启动子，预测人类基因中大部分基因含多个启动子（putative alternative promoter）。同一基因的不同启动子受控于不同的转录调节，选择不同的起始点，产生不同的转录本（transcript variant），甚至是翻译出不同的蛋白质（protein variant）。真核生物的启动子预测已经成为生物信息学研究的热点，通过各种模型和方法预测启动子。在试验手段方面，近年来通过CHIP技术，根据启动子与转录因子结合的特性，发现了很多的转录因子在基因组上的结合位点。受限于基因组的认知和启动子克隆的困难，很多的启动子只是预测，没有实验证据。到目前为止，Eukaryotic

Promoter Database 数据库中仅收录了1871条人类启动子，远少于人类基因的数量（约25000条）。

鉴于此，有公司计划开发先进的生物信息学算法，结合NCBI、EPD以及DBTSS等数据库，对人类基因启动子区域进行分析、界定。这些公司以一系列的自有知识产权技术，克隆具有重要功能基因的启动子，并以专利授权的分泌型荧光素酶报告基因，开发灵敏、精确、高效并适合高通量筛选的启动子活性分析系统，同时结合高效的反相转染技术，建立高通量的启动子进行活性分析技术，为建立新型的基于启动子活性分析的药靶发现与确证平台打下坚实基础。

下文将向大家简单介绍这种启动子实时活性分析系统——GLuc-ON™启动子报告克隆。

1. GLuc-ON™启动子报告克隆简介

GLuc-ON™启动子克隆采用分泌型的Gaussia荧光素酶（GLuc）作为报告子，可在活细胞中对超过20,000种人源启动子进行实时活性分析。

GLuc-ON™启动子克隆均经测序验证，可直接用于细胞转染。克隆在GLuc报告基因上游插入一段1.0-1.3 kb的序列。这段插入序列与位于特异人源基因转录起始区上游大约1.3kb到下游200bp之间的5'序列一致。由于这段模拟的顺式作用元件存在于克隆的启动子区域内，因此我们可以通过观察荧光素酶的活性来研究人源细胞中启动子对基因的调节作用。

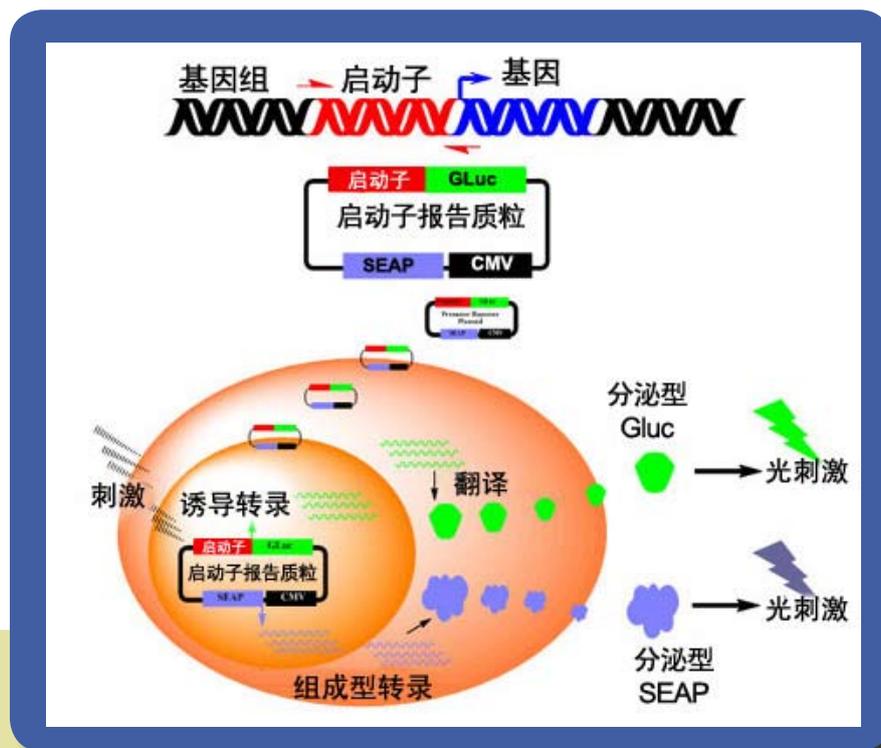


图11 GLuc-ON™启动子工作流程

2. GLuc-ON™ 启动子报告克隆的优势

活细胞分析	实时研究	分泌型双报告系统	高通量兼容	高灵敏度	高品质，使用方便
*分泌型Gluc报告子 *无需裂解细胞	*可获得即时检测数据	*分泌型Gluc和分泌型碱性磷酸酶	*可用于信号通路等研究	*采用GLuc作为报告基因，与萤火虫或Renilla荧光素酶相比灵敏度高1000倍	*所有启动子克隆均经测序验证，可用于细胞转染
*节省样本，减少突变，简化试验流程如脉冲追踪分析等	*与实时活性分析过程类似	*对多样本常规转染进行精确比较	*可进行高通量研究		

3. Gaussia荧光素酶

GLuc-ON™ 启动子克隆采用经过修饰的GLuc (mGLuc) 作为报告基因，能产生强烈且稳定的荧光信号，克服了人源野生型GLuc (wtGLuc) 信号衰退较快等缺点。

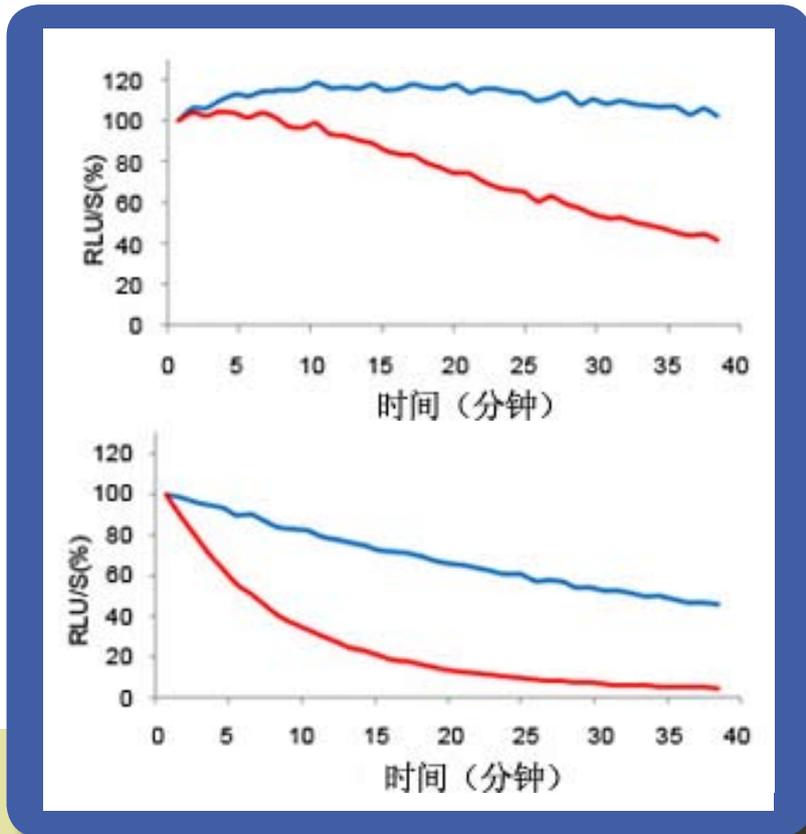


图12 mGLuc (蓝色) 和wtGLuc (红色) 的信号稳定性。左侧：含有稳定剂的分析缓冲液；右侧：常规分析缓冲液。

4. 双报告系统

双报告系统也适用于GLuc-ON™ 启动子克隆。分泌型碱性磷酸酶（SEAP）作为第二个报告子可作为内参，也能对多样本常规转染进行精确比较。

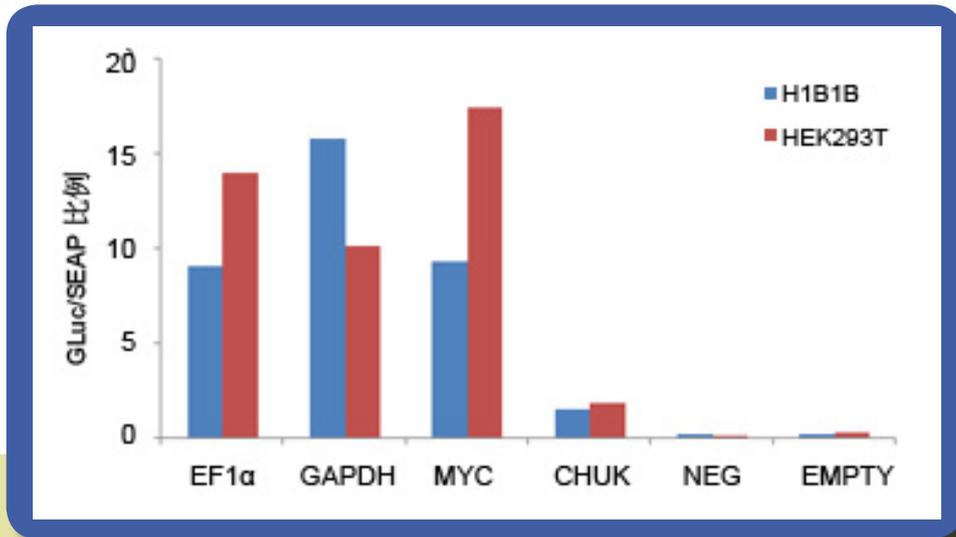


图13 启动子在H1B1B和HEK293T细胞中的活性分析。双报告基因启动子克隆或对照一式两份转染入这两种细胞中。转染24小时（HEK293T）和48小时（H1B1B）后分析样品。NEG（包含非启动子序列）和EMPTY（载体不含启动子）作为阴性对照。

参考文献

1. Jennifer E.F. Butler and James T. Kadonaga. (2002) The RNA polymerase II core promoter: a key component in the regulation of gene expression. *GENES & DEVELOPMENT*, 16:2583-2592.
2. Tamar Juven-Gershon and James T. Kadonaga. (2010) Regulation of Gene Expression via the Core Promoter and the Basal Transcriptional Machinery. *Dev Biol*, 339(2): 225–229.
3. James A. Goodrich & Robert Tjian. (2010) Unexpected Roles for Core Promoter Recognition Factors in Cell-type Specific Transcription and Gene Regulation. *Nat Rev Genet*, 11(8):549-558.
4. <http://www.fulengen.com/product/promoter-reporter-clones/>

GLuc-ON™ 启动子报告克隆

分泌型双报告系统 可实时检测细胞活性

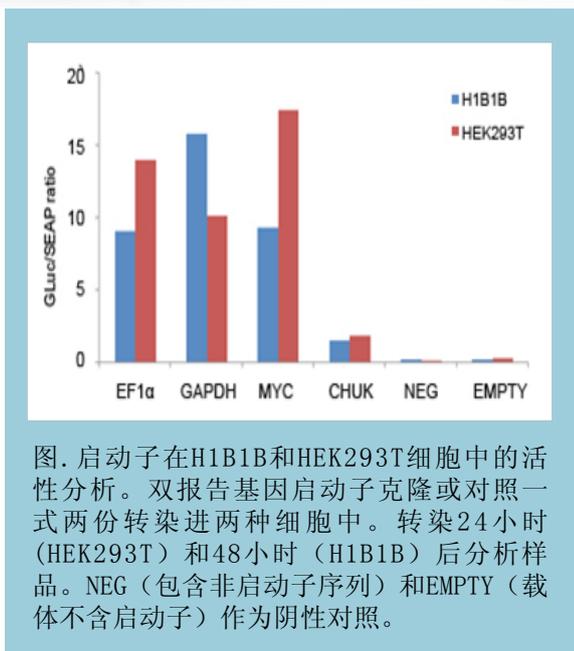


图. 启动子在H1B1B和HEK293T细胞中的活性分析。双报告基因启动子克隆或对照一式两份转染进两种细胞中。转染24小时(HEK293T)和48小时(H1B1B)后分析样品。NEG(包含非启动子序列)和EMPTY(载体不含启动子)作为阴性对照。

活细胞分析

- ◆ 分泌型GLuc报告子
- ◆ 无需裂解细胞
- ◆ 节省样本, 简化试验流程

实时研究

- ◆ 与实时活性分析过程类似
- ◆ 可获得即时检测数据

分泌型双报告系统

- ◆ 分泌型的GLuc和分泌型碱性磷酸酶(SEAP)
- ◆ 矫正转染误差, 使实验数据更准确

高通量兼容

- ◆ 可用于信号通路等研究
- ◆ 可进行高通量研究

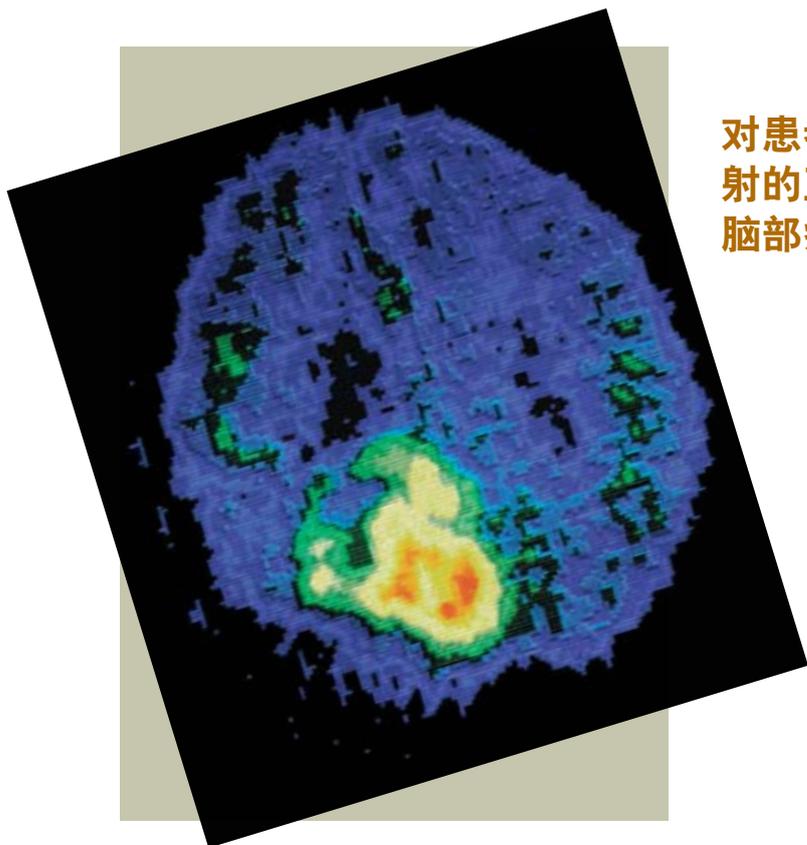
高灵敏度

- ◆ 采用经过修饰的GLuc作为报告基因, 与firefly或Renilla luciferase相比灵敏度高1000倍

热点话题



探究肥胖与癌症之间的小秘密



对患者进行脑部PET扫描时，在仪器所发射的正电子作用下，标记物发光发热，将脑部病变部位

——快速消耗葡萄糖的肿瘤细胞所在的部位标识出来。

越来越多的研究发现，胰岛素及相关激素都是肿瘤的“助推剂”，它们在肿瘤发病过程中起到了非常关键的作用。而且这些激素还在肥胖、糖尿病以及肿瘤之间起关联作用。

在实验室里培养的乳腺癌细胞给加拿大多伦多大学（University of Toronto）的肿瘤研究学者Vuk Stambolic带来了一点小提示。Vuk Stambolic采用的细胞培养方法是一直沿用了好几十年、被大家广泛接受的实验方法，但是其中一直有点小问题困扰着他：为什么培养基里需要添加大量的葡萄糖、EGF（一种生长因子）和胰岛素（insulin）呢？如果细胞培养基里添加了上述几种物质，肿瘤细胞就会生长得非常好，而且分裂繁殖的速度也非常快。但是如果撤掉胰岛素，肿瘤细胞就会从培养皿上脱落并死亡，这太奇怪了。Stambolic指出，可能这些肿瘤细胞对胰岛素上瘾了。



奇怪的依赖性。Vuk Stambolic观察到乳腺癌细胞似乎对胰岛素“上瘾”了。

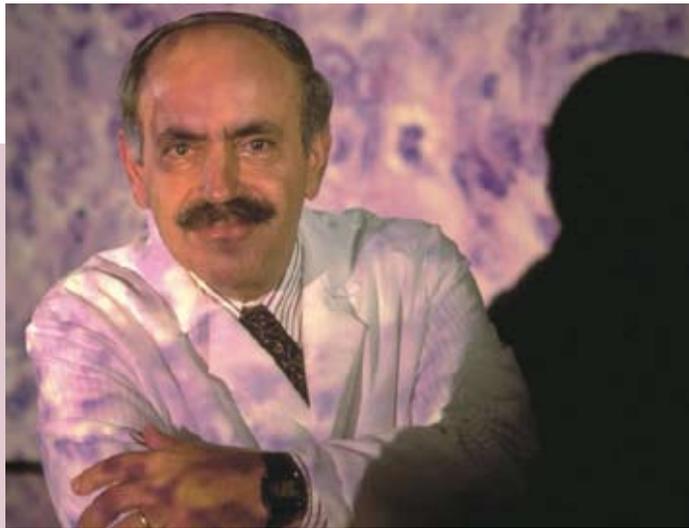
Stambolic认为最奇怪的一点就是，为什么这些乳腺癌细胞和演变为它们的正常乳腺细胞在对胰岛素的需求问题上的态度完全不一样。正常的乳腺细胞对胰岛素完全不敏感，至少和乳腺癌细胞对胰岛素的敏感程度不一样。这些正常乳腺细胞上没有胰岛素受体，也缺乏关键的胰岛素信号通路组份因子，不能在胰岛素分子进入细胞之后立即将其转运出细胞。实际上，正常的乳腺细胞根本就不需要胰岛素帮助它们生长，但是乳腺癌细胞离开胰岛素就活不了。

虽然Stambolic并非发现这个现象的第一人，但是他却没有放过这个奇怪的现象，他决定好好研究一下胰岛素在促肿瘤细胞生长方面的作用。于是在近10年时间里，Stambolic对正常肌肉细胞、脂肪细胞和肝细胞里被胰岛素激活的各种信号通路开展了深入的研究。结果他发现了一条重要的信号通路，即PI3K激酶信号通路，这也是一条在很多人体肿瘤细胞中最常发生突变的信号通路。

胰岛素是由胰腺分泌的一种激素，它被我们大家所熟知主要是因为和糖尿病有着密切的关系。但是现在，这种观点恐怕得改一改了。现在，全世界已经掀起了一股研究

胰岛素以及其它一些被称作胰岛素样生长因子（insulin-like growth factor, IGF）的相关激素的热潮，因为大家都想知道这些激素和各种肿瘤细胞的生长有什么关系。在近30年的时间里，流行病学调查也发现了一个奇怪的现象，即在肥胖和患有糖尿病的人群中罹患各种癌症的几率要比健康人群高得多，而且这些危险人群如果患上了癌症，那么他们的死亡率也比正常的癌症人群高很多。这很有可能就是由肥胖和患有糖尿病的人群体内的胰岛素和胰岛素样生长因子的水平增高所致。目前在全世界肥胖症和糖尿病的患病率已经屡创新高，所以我们必须尽快弄清楚这究竟是否和癌症有关系。

据美国坎布里奇麻省理工学院（Massachusetts Institute of Technology in Cambridge）的肿瘤研究学者Robert Weinberg介绍，其实在好几十年之前的医学文献中我们就能够找到记述肥胖与肿瘤之间关系的文字。但是直到2004年才有两位肿瘤流行病学专家将这两件事情联系到一起。当时就职于国际肿瘤研究中心（International Agency for Research on Cancer），后来又在Eugenia Calle美国癌症协会（Eugenia Calle of the American Cancer Society）工作的Rudolf Kaaks曾经在当年的《自然 肿瘤学综述》（*Nature Reviews Cancer*）杂志上发表过一篇文章，其中有这么一段话：历史给我们留下了一个需要我们来回答的问题，为什么肥胖是一个如此重要的癌症风险因素？



雷达屏幕上的新目标。Robert Weinberg认为肥胖、胰岛素与肿瘤之间的关联是确实存在的，但是我们现在对具体情况还不太了解。

这个研究思路应该是非常理所当然的。Kaaks指出，过度肥胖的人在几种常见的癌症患者人群中大约占到了1/4至1/2的比例，这些常见癌症包括乳腺癌、结肠癌、子宫内膜癌、肾癌以及食道癌等，而且还陆续有新的癌症加入这个名单当中。

加拿大蒙特利尔（Montreal, Canada）麦吉尔大学（McGill University）的肿瘤学家Michael Pollak表示，这种关联的意义是相当重要的。很大一部分原因是因为现在肥

胖和糖尿病太普遍了。看起来似乎肿瘤细胞比较喜欢肥胖者体内的代谢环境。流行病学资料还显示，不仅II型糖尿病与肿瘤的发病率和致死率相关，血液循环中的胰岛素和胰岛素样生长因子的水平也与肿瘤的发病率和致死率有关。

最近的药物研究成果也给我们呈现出这样一幅清晰的画面，在接受了胰岛素治疗，或者使用了能够刺激人体胰岛素分泌的药物的II型糖尿病患者人群中，他们的癌症发病率明显要高于使用二甲双胍（metformin，这是一种能够降低人体内胰岛素水平的降糖药）药物的II型糖尿病患者人群的发病率（背景知识1）。据Pollak介绍，有越来越多的证据表明胰岛素和胰岛素样生长因子与癌症相关，他继续指出，这也让很多人彻夜不眠地思考这个问题。



生命世界 无奇不有

www.LifeOmic.com



糖尿病药物能防癌？

2005年，英国邓迪大学（University of Dundee）的Andrew Morris等人正在研究II型糖尿病患者的治疗问题，但是他们当时发表的研究成果却让全世界的肿瘤研究工作者们兴奋不已。这是因为Morris他们发现II型糖尿病患者常用的能够降低患者体内胰岛素分泌的二甲双胍（metformin）类降糖药物能够显著的降低癌症的发病率。从那以后，又陆续有六七项研究证实了这一发现，即使用二甲双胍药物的糖尿病患者与使用胰岛素的患者或使用能够促进胰岛素分泌的磺酰脲类（sulfonylurea）药物的患者相比，癌症的发病率能够降低25%~40%。



双重功效的降糖药物。被全世界医生和糖尿病患者广泛使用的廉价降糖（也能够降低胰岛素水平）药物二甲双胍似乎也能够在降低癌症的发病率。



Andrew Morris等人发现使用了二甲双胍的糖尿病患者和没有使用这种药物的患者相比，癌症发病率可以降低25%~40%之多。

于是我们就可以自然而然地想到会不会是因为人体循环系统里的胰岛素或胰岛素样激素的水平过高诱发了癌症，如果降低胰岛素或胰岛素样激素的水平是不是就能够预防和控制癌症，所以这也成了开发抗癌药物的一条新思路。据美国哈佛大学医学院（Harvard Medical School）Beth Israel Deaconess医学中心肿瘤中心（Cancer Center at Beth Israel Deaconess Medical Center）的主任Lewis Cantley介绍，当时各大制药公司也陆续开发出了一大批能够抑制胰岛素的药物。但是之后，这些大公司全都被打懵了。据Cantley介绍，二甲双胍自从问世以来，它所挽救的癌症患者比历史上的其它任何药物都要多。二甲双胍是世界上最古老的、也是最常用的降糖药物，每年全世界的医生会开出1.2亿张二甲双胍药物处方。

不过这里有一个问题，这种发现使用二甲双胍和癌症发病率降低有关的观察性研究方法其实并不能够直接证明它们之间真的具有实质性的因果关系。可能二甲双胍只不过能够预防II型糖尿病患者患上癌症；可能使用胰岛素和磺酰脲类药物也只不过会增加一点患癌风险；又或者它们和癌症都没有关系，是其它的一些未知因素在发挥作用。

二甲双胍能够激活人体肝脏里的AMPK酶，从而降低肝糖原的合成与分泌，达到降低血糖的目的。研究发现二甲双

胍还能够激活LKB1抑癌基因。英国邓迪大学有两位生化学家Dario Alessi和Grahame Hardie经过研究，终于发现了AMPK酶和LKB1抑癌基因之间的联系。美国加利福尼亚州圣地亚哥Salk生物研究所（Salk Institute for Biological Studies in San Diego, California）的Cantley和Reuben Shaw也同样发现了AMPK酶和LKB1抑癌基因之间的关联。Morris在此基础上继续对服用二甲双胍的糖尿病患者的癌症发病率问题开展了研究。

但是科学就是科学，往往现实情况和理论假设会相距甚远。Cantley和其他几位科学家发现，二甲双胍似乎是通过直接降低胰岛素或胰岛素样生长因子（insulin-like growth factor, IGF）的水平来发挥防癌作用的，与AMPK酶和LKB1抑癌基因活化毫无关系。据加拿大蒙特利尔市麦克吉尔大学（McGill University in Montreal, Canada）的Michael Pollak介绍，二甲双胍最主要的作用是能够降低血糖水平，其次才是降低胰岛素的水平。

动物实验结果终于证实了上述理论。2010年9月，美国国立癌症研究所（U.S. National Cancer Institute）的Phillip Dennis等人报告，在注射了烟草致癌物的小鼠试验中发现，二甲双胍的确能够降低小鼠肺癌的发病率，但是他们没有发现二甲双胍激活了小鼠肺部组织中的AMPK酶，也就是说二甲双胍并不是通过AMPK酶途径达到抑癌作用的。不过Dennis他们发现小鼠肝脏组织中的AMPK酶的活性的确有大程度的提高，而且小鼠血液中的胰岛素和胰岛素样生长因子的水平也都有所降低。他们将这一研究成果发表在了《癌症预防研究》（*Cancer Prevention Research*）杂志上。Cantley也认为这一研究成果表明任何能够降低胰岛素和胰岛素样生长因子水平的药物都能够起到抑制肿瘤生长的作用。

Dennis等人还认为这一研究成果给临床癌症预防实验提供了一个强有力的理论基础。因为他们正打算给癌症复发几率很高的早期肺癌术后患者服用二甲双胍，看看是不是能够像在小鼠试验中观察到的那样，起到防止癌症发作（复发）的作用。同时他们还想观察一下药物的安全性以及对胰岛素和胰岛素样生长因子的抑制作用。

其它的实验也都陆续开展了起来。其中规模最大的一个研究项目是由加拿大多伦多大学（University of Toronto in Canada）的肿瘤学家Pam Goodwin主持的。Goodwin从20世纪90年代中期就开始研究胰岛素和乳腺癌的关系。据Goodwin介绍，她自己是在意识到胰岛素可能会影响到肥胖与乳腺癌预后的关系之后才对这个领域产生浓厚兴趣的。非糖尿病妇女的空腹胰岛素水平（Fasting insulin levels）可以被用作判断乳腺癌预后是否良好的一个指标，Goodwin观察到在乳腺癌患者人群中肥胖妇女的空腹胰岛素水平往往就偏高，她们的预后通常也都不太好。

早在6年以前，Goodwin的研究小组就发现，在大约四分之一的女性人群（哪怕不是糖尿病患者）中，二甲双胍能够降低血糖和血浆胰岛素水平。现在，Goodwin小组正在计划对3500名乳腺癌患者开展二甲双胍临床试验。这些患者会被随机分成实验组和安慰剂对照组，看看二甲双胍是不是真的能够提高乳腺癌患者的存活率，降低癌症的复发率。Goodwin指出，她们估计这个实验还需要两年的时间才能够招到足够的志愿者。然后还需要2~3年才能够得到实验结果。

但同时Goodwin强调，即便到了那个时候，她们最多也就只能告诉我们二甲双胍究竟有没有防癌作用。她表示，所有的临床前研究数据和流行病学资料都非常吻合，也都很有说服力，但是所有这些数据 and 资料只不过给了她们一个理论上的假设，所以从现在开始，她们必须小心翼翼地开展实验研究，去验证这个假设到底对还是不对。

互不相关的两个世界

最近，有很多科研人员都开始对胰岛素和胰岛素样生长因子能够致癌这个问题感兴趣了，部分原因是因为其他的理论都已经被证明是错误的。比如加拿大多伦多大学的肿瘤学家**W. Robert Bruce**早在20世纪70年代末就开始寻找与结肠癌发病有关的饮食和环境致病因素，但是经过了漫长的搜索之后，他宣布他自己失败了。

现在，包括**Bruce**在内的许多科研人员都相信，不论是哪种致癌因素，它们绝大多数都不会直接损伤细胞DNA，它们会通过改变原癌细胞周围激素环境的方式促进肿瘤发展，比如升高血液循环中的胰岛素和胰岛素样生长因子的浓度就是其中的一种促癌机制。**Kaaks**认为，肿瘤细胞所处环境中的内分泌因素和生长因子因素都发生了变化，所以有利于肿瘤细胞的生长，能够促进它们快速增殖。而且还能够逃避人体固有的监视机制（即能够导致正常细胞死亡的凋亡机制）。

Bruce认为，如果要了解胰岛素、胰岛素样生长因子与肿瘤之间的关系，那么他就必须阅读大量的糖尿病相关文献，但是他从中却看到了两个相互之间完全没有交集的世界。他指出，糖尿病研究是一个完全独立的科研领域，它和肿瘤研究领域完全没有任何联系，它们就像是两座完全独立的山峰。

不过，现在已经有人在这两个领域之间架起了几座沟通的桥梁。其中的一座桥梁就将肿瘤与肥胖和饮食联系到了一起。其实肿瘤研究人员并不是头一次注意到肥胖的害处，我们早就在动物试验中观察到，如果让实验动物处于半饥饿状态，那么它们体内的肿瘤细胞就会停止生长，但是还不能够完全阻止它们生长。首次发现致癌病毒而获得诺贝尔奖的**Peyton Rous**就是第一个观察到这种现象的科学家。美国芝加哥的病理学家**Albert Tannenbaum**也在1942年证实了这一发现。**Tannenbaum**发现，如果不给实验大鼠喂食足够的食物，那么就能够显著延长它们的寿命，这可能有一部分原因是因为在半饥饿的状态下抑制了肿瘤细胞的生长。

Tannenbaum认为“**Warburg效应（Warburg effect）**”可能也就是这种机制起作用的结果。所谓的“**Warburg效应（Warburg effect）**”指的是大多数肿瘤细胞即便在氧气供应充足的条件下依旧会采用一种通常只在细菌里才会见到的效率比较低的代谢方式，即有氧糖酵解方式（**aerobic glycolysis**）。因此肿瘤细胞需要获得大量的葡萄糖供给才能够生存。于是**Tannenbaum**猜测，处于半饥饿状态下的实验动物由于不能够给肿瘤细胞供应足够的葡萄糖，所以它们的有丝分裂和增殖作用受到了抑制。

但是在近几十年的时间里，科学家们一直都在争论肿瘤细胞能够从血液循环中获取到的葡萄糖总量究竟是促进肿瘤细胞生长的关键因素，还是限制肿瘤细胞生长的关键因素。给肿瘤患者使用了一种葡萄糖类似物——荧光素标记的脱氧葡萄糖（**fluorodeoxyglucose**）之后对他们进行正电子发射断层扫描（**positron emission tomography scan**），结果发现即便在患者血糖浓度并不高的情况下，他们体内的肿瘤细胞依旧可以分解大量的葡萄糖。美国马里兰州巴尔的摩（**Baltimore, Maryland**）约翰霍普金斯大学（**Johns Hopkins University, JHU**）的肿瘤研究专家**Chi Dang**认为，在这些肿瘤细胞周围总是存在着大量的葡萄糖，所以一定还有其它因素在促进肿瘤细胞生长。

肿瘤加速器

认为胰岛素和胰岛素样生长因子就是Dang所认为的能够促进肿瘤细胞生长的“其它因素”，这属于比较新颖的观点。但是正如Bruce指出的那样，我们在这方面已经积累了数十年的资料，足够支持这种观点。早在20世纪60年代中期，科研人员就发现胰岛素能够促进正常组织和癌变组织的生长和增殖。到了20世纪70年代末，当时在美国国立癌症研究院（National Cancer Institute）工作的C. Kent Osborne等人发现，有一种侵袭能力非常高的乳腺癌细胞对胰岛素异常敏感，而且这种细胞上还表达有胰岛素受体，但是正常的乳腺细胞上却不会表达这种受体。

据美国波士顿哈佛大学医学院Beth Israel Deaconess医学中心（Beth Israel Deaconess Medical Center at Harvard Medical School）的主任Lewis Cantley介绍，通常情况下，我们只能在肝脏细胞、肌肉细胞和脂肪细胞上发现这么多的胰岛素受体。Cantley最开始的方向是生物物理化学方向，但是当他开始研究激素和生长因子对细胞新陈代谢的调控作用之后发现，他的研究方向转到了研究肥胖、糖尿病与肿瘤之间的关系上。据Cantley介绍，我们能够在上面介绍的肝脏等组织之外的其它大约6种正常组织上发现较低水平的胰岛素受体，但是仅此而已。所以在前列腺癌细胞、结肠癌细胞和乳腺癌细胞上发现如此多的胰岛素受体还是非常有意义的。他继续指出，这些细胞上的胰岛素受体一定有它们存在的理由，它们肯定能够帮助肿瘤细胞生长，它们的作用肯定是帮助肿瘤细胞以更高的速度摄取葡萄糖。

另外一个重要的促癌因子就是胰岛素样生长因子，它最初是在20世纪50年代末被我们发现的，但是它作为胰岛素样因子的历史只维持了不到20年。胰岛素样生长因子的结构与胰岛素比较类似，它也可以模拟胰岛素的作用。但是据美国纽约Mount Sinai医学中心代谢研究所（Metabolism Institute at the Mount Sinai Medical Center）的糖尿病专家Derek LeRoith介绍，该因子只有在受到生长激素刺激的情况下才会分泌。

在20世纪80年代初，科学家们发现，与正常的细胞相比，肿瘤细胞上胰岛素样生长因子受体的数目一般都会高出1至2倍，所以肿瘤细胞对它们周围环境中的胰岛素样生长因子更为敏感。据美国宾夕法尼亚州费城托马斯·杰斐逊大学（Thomas Jefferson University）的Renato Baserga介绍，对于啮齿类动物来说，有功能的胰岛素样生长因子受体是它们体内肿瘤细胞生长必不可少的必需因子。Baserga于20世纪80年代末偶然发现了这一现象。如果封闭掉小鼠体内的胰岛素样生长因子受体将会出现Baserga所报

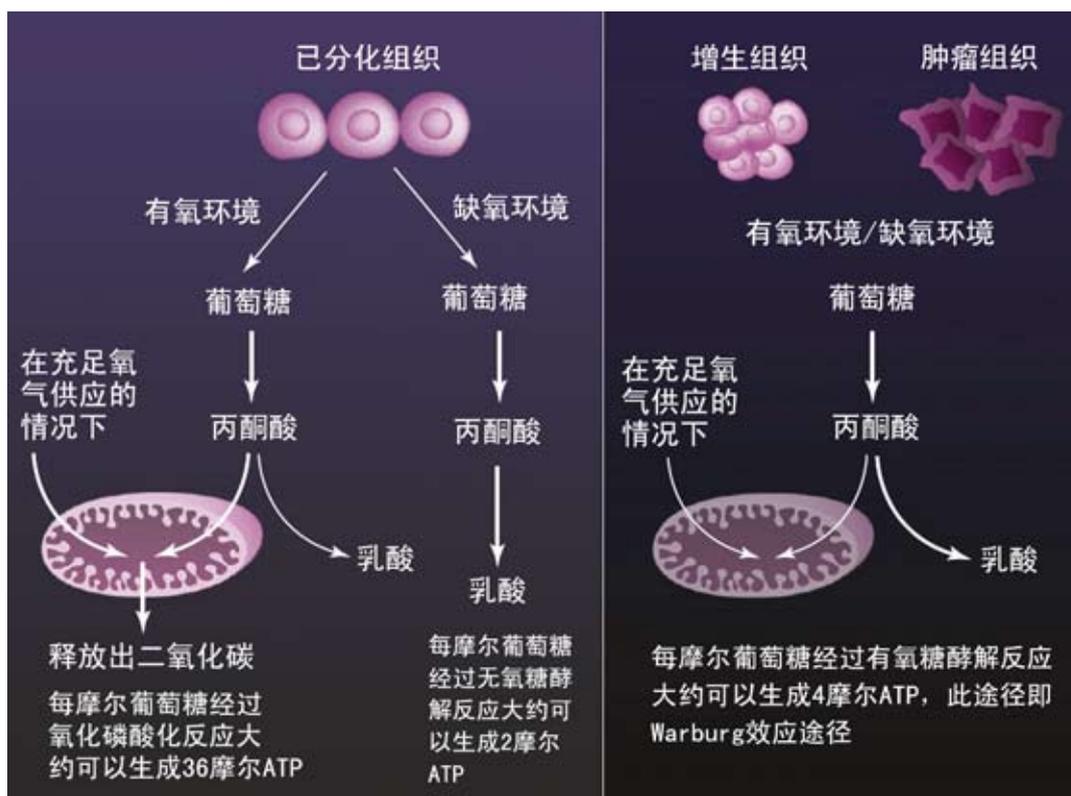


坏消息。Lewis Cantley认为PI3K信号通路功能失常可能是很多肿瘤发生的原因。

道的肿瘤细胞生长大幅度抑制（不是生长完全抑制）的现象，这对于转移瘤细胞来说可谓“致命性的打击”。

LeRoith构建了一种转基因小鼠，这种小鼠体内的肝脏细胞不能分泌胰岛素样生长因子，所以它们血液循环中的胰岛素样生长因子的浓度只有正常小鼠的四分之一。LeRoith发现，给这种小鼠移植结肠癌细胞或乳腺癌细胞之后，这些肿瘤细胞的生长速度和转移速度都会较正常小鼠对照组明显减慢。如果给这些转基因小鼠再注射外源性胰岛素样生长因子，那么肿瘤细胞的生长和转移速度就会再度加快。

根据上述研究成果我们可以发现，胰岛素和胰岛素样生长因子不仅能够作为生长原料促进肿瘤分裂和生长，同时还能够激活相关的信号通路，持续的促进肿瘤细胞生长和转移。



Warburg效应途径图解。图中左侧展示的是正常组织经由高效率的氧化磷酸化反应途径获取能量的方式。右侧展示的是所谓的Warburg效应途径，即经由低效率的有氧糖酵解反应途径获取能量的方式。但是这种方式似乎也足够支持肿瘤细胞分裂和生长。



嗜糖如命的肿瘤细胞

德国生物化学家，诺贝尔奖得主Otto Warburg早就开始关注肥胖、肿瘤与激素之间的关系，为此Warburg也开始对肿瘤细胞的新陈代谢情况产生了浓厚的兴趣，他早在上世纪20年代就开始对此展开研究。Warburg观察到肿瘤细胞能够在缺氧的条件下以效率极低的有氧糖酵解（aerobic glycolysis）方式获取能量，生存下来。所以大家也以他的名字将这一现象命名为Warburg效应（Warburg effect）。这其实是细菌在缺氧条件下经常会采取的一种获取能量的方式，但是肿瘤细胞即便在氧气供应充足的情况下也还是倾向于采用这种方式。在有氧糖酵解反应中，葡萄糖不是在细胞的线粒体中被转变为丙酮酸，继而在有大量氧气供应的条件下充分燃烧获得大量的能量，而是在胞质中被转变为乳酸，并且生成很少的能量，这个过程基本不需要氧气的参与。通过有氧糖酵解反应获得的能量只有氧化磷酸化反应的1/9，即每摩尔葡萄糖不是生成36摩尔ATP，而是只有4摩尔ATP。

所以肿瘤细胞必须消耗大量的葡萄糖才能够满足它们的能量需要。这种嗜糖如命的情况也已经通过FDG PET扫描的方式得到了证实。Warburg提出，高糖代谢途径就是肿瘤细胞生长的必需方式。但是学界对这种观点至今都还一直存在着争议。比如经常会有人问下面这些问题，为什么肿瘤细胞会选择这样一种低效率的供能方式？这对肿瘤细胞有什么好处呢？我们如何判断这究竟是导致肿瘤产生的原因还是肿瘤形成之后的结果？现在，绝大多数研究Warburg效应的科学家们都认为胰岛素和胰岛素样生长因子信号通路导致了这一切。科学家们现在最想回答的一个问题就是细胞的代谢方式改变和肿瘤形成之间究竟谁先发生，谁是因，谁是果。

第三种因素

除了前面介绍的胰岛素和胰岛素样生长因子之外，科学家们又发现最初由Cantley等人在20世纪80年代中期发现的PI3K激酶（PI3 kinase）也在这个能够影响细胞代谢和生长，并且与肿瘤有关的信号通路网络中起到了至关重要的作用。PI3K激酶位于胰岛素信号通路当中，它可以被胰岛素和胰岛素样生长因子激活。PI3K激酶通过对其它分子的作用能够有效地调控细胞对胰岛素的敏感程度。当PI3K激酶被激活之后，胰岛素能够更有效地促进葡萄糖被转运至细胞内部。

通过自20世纪90年代末开始开展的一系列研究发现，PI3K激酶也在肿瘤的发生发展过程中起到了主要作用。据Cantley介绍，因为发现PI3K激酶与抑癌基因PTEN（该基因最初发现于1997年，后来发现在很多晚期肿瘤细胞当中，这个基因基本上都会出现缺失的情况）有关，所以它一下子成为了每一位从事肿瘤研究的科研工作者“雷达监视器屏幕”上的一个重要目标。

当科研人员们开始研究PTEN基因的抑癌机制时，他们了解到PTEN基因能够拮抗PI3K激酶的作用。即PTEN基因的编码产物能够将被PI3K激酶磷酸化修饰的脂肪分子去磷酸化，这也就等于抑制了PI3K激酶的作用。美国约翰霍普金斯大学的遗传学家Victor Velculescu研究发现，在结肠癌、乳腺癌、肺癌、脑癌、卵巢癌以及其它一些癌症细胞中，PI3K激酶常常发生突变，能够绕过可以将其失活的正常代谢途径，继续发挥作用。

据Cantley介绍，现在科学家们已经发现了两条以级联方式激活PI3K激酶途径的作用机制，即制造出类似于PTEN基因突变的作用机制或者是提高血液里胰岛素和胰岛素样生长因子浓度的方式。大部分肥胖者和II型糖尿病患者体内的胰岛素和胰岛素样生长因子的浓度都偏高。如果PI3K激酶信号通路的活性升高，细胞就能够摄取更多的葡萄糖，转而采用Warburg发现的有氧糖酵解高糖代谢模式。这是一种低效率的供能方式，但是细胞无所谓，因为有了胰岛素的帮助，它们不愁找不到葡萄糖“货源”。

那么肿瘤细胞里的情况是什么样呢？据Cantley介绍，在肿瘤细胞里，由于采用的是有氧糖酵解方式，所以葡萄糖的碳骨架没有被彻底分解，于是最后会被转化为脂肪酸。

正常的脂肪细胞在利用葡萄糖时也会这么做。脂肪细胞会将脂肪酸转化为甘油三酯（triglyceride, TG），并且以甘油三酯的形式将这些碳骨架保存下来。但是肿瘤细胞则会将这些脂肪酸用于子代肿瘤细胞胞膜的合成。葡萄糖分子还可以用于新生DNA和蛋白质的合成。所以说肿瘤细胞是以牺牲供能效率的方式获得了大量可以用于子代细胞合成的原料。这对于肿瘤细胞来说可是一笔相当划算的买卖，因为葡萄糖反正多的是。据Dang介绍，要记住肿瘤细胞的最终目的是快速进行复制，所以我们才会看到这种情况，肿瘤细胞在获取能量的同时也能够获得合成新细胞所需要的一切材料。它们实在是聪明。

现在有科学家建议应该像糖尿病分型那样将肿瘤细胞也分为两类，即胰岛素依赖型肿瘤细胞和胰岛素非依赖型肿瘤细胞。Pollak认为，如果细胞没有发生突变，PI3K激酶信号通路的活性没有增强，那么这种肿瘤细胞就属于胰岛素依赖型肿瘤细胞。不过Pollak又补充指出，但是如果PI3K激酶发生了突变，那么肿瘤细胞的增殖能力就会变得很强，侵袭力也会变得非常高，并且它们会对周围环境里的胰岛素水平变得不再敏感。

最近，美国麻省理工学院白头研究所（MIT's Whitehead Institute）的David Sabatini和现在就职于美国波士顿儿童医院（Children's Hospital Boston）的Nada Kalaany共同取得的研究成果进一步证实了PI3K激酶信号通路的作用。他们两人在2009年发现，PI3K激酶能够决定肿瘤细胞是否对卡路里限制措施有反应。他们在小鼠动物模型上模拟出多种人体肿瘤模型，然后让这些小鼠处于半饥饿状态，结果发现有一些肿瘤的体积缩小了，但是另外一些肿瘤则没有反应。研究发现，在那些肿瘤体积缩小的小鼠体内，PI3K激酶信号通路的活性较低，而肿瘤体积没有缩小的小鼠体内的PI3K激酶信号通路的活性则要高得多。

Sabatini认为，对于那些PI3K激酶信号通路发生了突变，活性大大增强的肿瘤细胞来说，卡路里限制疗法根本不起作用，或者疗效甚微。这是因为不论是否限制了卡路里

的摄取，胰岛素信号通路都处于活化状态，所以这些肿瘤细胞对周围环境中胰岛素水平的变动也不太敏感。**Sabatini**指出，对于肥胖者，有很多致癌因素存在，但是其中之一就是高胰岛素血症（**hyperinsulinemia**），即他们血液循环中的胰岛素水平过高，这对于动物和人来说都是一个非常重要的致癌因素。因为这就等于提高了**PI3K**激酶信号通路的活性。这种激活效应不是通过突变的方式达到的，而是通过过多的胰岛素刺激达到的。

Dang认为，现在真相已经开始逐渐浮出水面，简而言之，我们只需要解决这么一个问题，即很多常见的致癌基因被激活之后是不是会促进肿瘤细胞大量摄取葡萄糖，并且让肿瘤细胞转而采取**Warburg**所发现的有氧糖酵解供能方式。

是因还是果？

这其实又回到了最初的问题，即**Warburg**效应是促使肿瘤形成的原因还是因为突变促使肿瘤细胞采用了**Warburg**供能方式。目前担任美国纽约斯隆-凯特林纪念癌症中心（**Memorial Sloan-Kettering Cancer Center**）主席的**Craig Thompson**研究这个问题已经十几年了。他和**Cantley**都相信，在肿瘤发生过程中最先出现的是胰岛素信号通路的活性增强，然后才会出现**Warburg**效应，接下来才是遗传突变。**Thompson**课题组已经通过实验证实，可以在健康的小鼠细胞，或者与肿瘤相关的细胞里诱导出**Warburg**效应，只需要激活**PI3K**激酶，提高胰岛素信号通路的活性就够了。据**Thompson**介绍，如果你将一些胰岛素信号通路的组份因子导入细胞当中，那么就可以看到**Warburg**效应。



完美的证明。**Craig Thompson**等人通过激活胰岛素信号通路的方式在小鼠动物模型体内诱导出了肿瘤细胞所采用的那种需要高糖的代谢模式。

据**Thompson**介绍，一旦出现了**Warburg**效应，细胞对葡萄糖的摄入量就会猛增10至20倍，这样导致的结果之一就是产生大量的活性氧分子（**reactive oxygen species**），即活性氧自由基，它们就会让细胞的基因组出现大量的突变。**Cantley**将这一过程形容为一个恶性循环，他指出，葡萄糖代谢速率越快，那么产生的活性氧自由基就越多，对**DNA**的伤害就越大，如果刚好碰巧损伤了**PTEN**基因或者**PI3K**基因，那么葡萄糖代谢的速率就会变得更快，于是产生了一个恶性循环。最终形成了一个癌变的正反馈通路。

但是还是有很多人在这套理论表示怀疑，比如美国麻省理工学院的**Weinberg**就是反对派的代表。**Weinberg**认为胰岛素和胰岛素样生长因子才是肥胖和肿瘤之间的“交通员”。但是他认为胰岛素和胰岛素样生长因子的主要作用不是诱发**Warburg**效应或者促进细胞增殖，而是抑制细胞死亡。**Weinberg**指出，人体防癌的机制之一就是诱导新

出现的肿瘤细胞‘自杀’。其中最主要的机制就是凋亡（apoptosis）途径，而胰岛素和胰岛素样生长因子的作用之一就是激活一种酶，使其释放出一系列的抗凋亡信号。正常情况下也需要很低计量的胰岛素样生长因子给正常细胞提供保护，使它们免于凋亡。关键就在如何把握分寸。

Weinberg还认为，对于绝大多数肿瘤研究学者来说，胰岛素和胰岛素样生长因子对肿瘤的作用还是一个新生事物。他表示，虽然流行病学资料显示肥胖和肿瘤之间有强烈的关联性，但是我们对其中机制的认识还非常肤浅。

原文检索：

GARY TAUBES. (2012) Unraveling the Obesity-Cancer Connection. *Science*, 335:28-32.

G .T. (2012) Cancer Prevention With a Diabetes Pill? *Science*, 335:29.

 YORK/编译

研究前沿

www.LifeOmics.com

OmicLink™ 即用型 ORF 表达克隆

4套已构建表达克隆即订即得

助您迈出基因功能研究第一步



ORF 表达克隆的优势

- ◆ 将约20,000条人源基因插入到慢病毒载体 (Lv105)、哺乳动物载体 (M02)、穿梭克隆等4套载体中构成的现货ORF表达克隆，即订即得；
- ◆ 45,000条人源、小鼠、斑马鱼基因；
- ◆ 100多种适用于不同表达系统的表达载体；
- ◆ 50多种不同功能的蛋白标签；
- ◆ 保证表达框序列正确性。

ORF 表达克隆的应用

- ◆ 蛋白的表达纯化、细胞定位，用于对目的基因或蛋白的功能研究与分析。
- ◆ 原位杂交探针的制作，用于检测组织或器官的基因表达谱。
- ◆ 在蛋白功能研究过程中，用于shRNA和miRNA抑制基因的功能拯救实验。
- ◆ 高通量筛选，可用于功能基因组学、蛋白组学和系统生物学的前沿领域。

生命百态



一场个性的撞击：胆大的海葵擅长打架

科学家们在研究一般海葵（sea anemone）的行为特征时，发现了一个有趣的现象：在它们打架和争夺地盘的时候，往往是“狭路相逢勇者胜”。



为了验证“个子大小不能决定一切”这一古老谚语，普利茅斯大学（Plymouth University）的海洋生物学家经研究发现，有一种海葵在打架争斗时，其个性因素会起着与其体型大小、所用武器战斗力一样关键的作用。并且，这种海葵还可能会在打斗失败之后发生某种行为上的改变，并流露出某种“羞耻”的迹象。

这一系列新发现刊登在《皇家学会学报B》（*Proceedings of the Royal Society B*）上，它能帮助我们对以下问题加深理解：是哪些因素影响了生物界中地盘的争夺和主导权的获得。

来自于普赖茅茨大学海洋科学和工程学学院（School of Marine Science and Engineering）的Mark Briffa博士表示，人们可能不会想到海葵居然也是野蛮的掐架生物，但它们常常为了占据岩石上某些最佳位置而大打出手。而我们所见的是，那些性格较为大胆的海葵很快就能从惊吓之中恢复清醒，然后试图给予对手更猛烈的回击，最终赢取更多的胜利。

研究者在实验室中研究海葵，还沿着德文郡（Devon）和康沃尔郡（Cornwall）的

海岸开展研究。他们用一小束喷射的海水流激起这种生物的惊恐反应，使它们缩回自己的触手；然后再测量其恢复为正常状态所耗费的时间。

Briffa博士指出，海葵通常会‘躲避’大约九分钟的时间——但其中有些明显比别的同胞胆大，而这些受试海葵正是取胜次数最多的赢家。他继续表示，并且，很可能更具有研究意义的是，当他们测量失败者的反应率（即争斗后反应）时，发现它们在比较长的时间里一直保持着退缩的状态以及单一的行为改变。这说明海葵的反应与其打架获胜率有着一定的相关度。

当然，我们少不了要稍微交代一下海葵的背景资料。海葵在美国海岸地区十分常见，它们栖居在岩石的凹槽和水下某些地表构造之中，在这些地方有水流经过，为海葵带来小鱼、小虾以及海洋微生物等丰富美味的食物。而海葵的触手上武装了细小的尖刺，这些尖刺能突释出毒素，从而使其猎物无法动弹。不过，它们还会使用具有特定功能的触手来专门用于打架。海葵的这种斗殴能够在任何地方发生，持续时间从三分钟至两个半小时不等，直至失败者慢慢地撤退到一个可能没那么有利的地方去为止。

Briffa博士指出，这项研究的迷人之处在于，当他们观察诸如海葵这样的简单生物时，却能在其掐架的时候，看到在比它们复杂得多的生物种群中所能见到的个性特征，以及同类型的决策方式。

原文检索：

<http://www.physorg.com/news/2011-12-personality-clash-scientists-bold-sea.html>
原文题目：Personality clash: scientists discover 'bold' sea anemones excel at fighting

 文佳/编译

裸滨鼠为何不怕酸痛？

裸滨鼠并非是最机灵的动物。它们住在地下，与其它老鼠相比更像是《指环王》三部曲中的咕嚕姆（Gollum）。然而，它们却引起了科学家们的兴趣，原因是这种小动物具有某些有趣的特质。比如说，它们能活20年，而且从没有哪只裸滨鼠得过癌症。



图 裸滨鼠 (*naked mole-rat*, *Heterocephalus glaber*) 正在吃东西 (图片来源: Wikipedia)

或许, 更为有意思的是, 由于裸滨鼠是如此亲密地一块儿住在地下, 它们窝巢里的二氧化碳已经达到了足以杀死大多数其它哺乳动物的水平。由于里面的氧气水平也很低, 那么随之出现了一种被人们证实足以引起大多数动物疼痛的环境, 这种疼痛的原因是酸性物质在动物体内的组织中的积聚。可是, 生活在其间的裸滨鼠却对酸痛没一点儿感觉, 这一现象使科学家们迷惑了数年之久。其中大多数人猜测, 裸滨鼠只是拥有与其它哺乳动物类型不同的疼痛感受器。

但是, 正如柏林麦克斯·德尔布吕克分子医学中心 (Max

Delbrück Center for Molecular Medicine) 的 Gary Lewin 等人在《科学》杂志 (*Science*) 发表的论文中所写, 事实并非如此。研究表明, 裸滨鼠某种特定钠通道具有种族特异性的变异。

我们知道, 动物要对某些刺激 (比如酸灼烧) 产生感觉, 就得在其组织中具备感觉神经元, 感觉神经元的末端有一些被称为疼痛感受器的通道, 它们能够控制动物感觉到的信息向神经元传导, 亦即是负责将电信号输送至大脑。这些通道能够让动物感觉到的东西通过, 或是“砰”地一声关闭以阻碍这些信息的传递, 这取决于刺激的起因。如果是酸性物质的刺激, 对于大多数哺乳动物而言, 其疼痛感受器处于兴奋状态; 一部分哺乳动物虽然是关闭状态, 但却能让足够的感觉信息通过传导通道, 以使大脑感受到由酸性物质产生的疼痛。但奇怪的是, 研究小组居然在裸滨鼠身上也发现了这种特别的现象, 这意味着他们得去寻找别的通道来解释这一现象。在这项研究中, 他们要寻找的这一通道是另一种被称为 **NaV1.7** 的钠通道。他们发现, 在给予裸滨鼠酸性物质的时候, 这一通道关闭了, 如此一来酸痛的感觉就无法传递给大脑, 因此它们也就无法感受到“酸痛”。

这项新研究意味着研究小组发现了一个现象, 即某一动物不需要具备一种特定类型的疼痛感受器来摆脱酸痛, 但必须在 **NaV1.7** 通道上发生改变, 从而指引信息通过并传导至下游神经元。这一发现非常重要, 因为它能为减轻人类所经历的某些特定类型的疼痛 (如关节炎引起的炎症) 指引方向。

原文检索:

<http://www.physorg.com/news/2011-12-uncover-mole-rats-oblivious-acid.html>

原文题目: Researchers uncover reason why mole rats are oblivious to acid pain

 文佳/编译

孤独使静水椎实螺的记忆受影响

孤独对你来说不是什么好事。来自加拿大卡尔加里大学（University of Calgary）霍奇基斯脑研究所（Hotchkiss Brain Institute）的Sarah Dalesman指出，过去人们已经证明，孤立会以一种压力的形式起作用，这种压力往往对哺乳动物的学习和记忆形成能力产生负性影响。但是，对于那些拥有比人类简单得多的大脑的动物（比如，静水椎实螺



螺（great pond snail, *Lymnaea stagnalis*）而言，这种孤立感又会如何影响它们的记忆呢？据Sarah Dalesman称，孤立确实影响软体动物的行为。她解释说，这种螺是雌雄同体的动物，也就是说具备了雄性和雌性的性器官——它们通常成为某一种与同伴相反的性别，相互之间轮流充当雄性的角色。不过，如果把静水椎实螺单独隔离8天之后，这种动物就只呈现雄性的角色。既然这种孤立性的隔离能对静水椎实螺的简单行为引起如此显著的影响，那么由此造成的孤独感可能会怎样影响静水椎实螺长期记忆形成的能力呢？这正是Dalesman及其项目负责人Ken Lukowiak希望获知的问题。

但是，当Dalesman测试静水椎实螺在8天隔离期之后的长期记忆时，却发现它们似乎未受任何影响。据他所言，当静水椎实螺处于缺氧条件的水中时，它们能够通过训练学会关闭其呼吸管道。具体做法是，不管这种软体动物何时试图伸出其呼吸管道来进行呼吸，研究者都给予它们轻轻一击，算是一种温柔的提醒。于是，他们用这种恰当的训练方法，使得静水椎实螺能够在大约一天的时间内记住这一教训。接下来就是把这些小受训者送到禁闭室的时候了，漫长的思过期之后，两位研究者满以为8天的隔离禁闭会使这些螺儿失去其长期记忆（即8天前学会的训练内容），结果却惊讶地发现这种软体动物极负重望地成功维持了其记忆——受过训练的它们还记得要紧紧地关闭其呼吸管道长达24小时。对此，Dalesman指出，他们几乎就止步于此了。而后她又补充指出，但他们十分确信，那些静水椎实螺当时意识到了自己缺乏与其它个体的联系，于是，他们考虑改变它们所经历的孤立环境条件，或许这样会改变实验的结果。

两位研究者知道，含钙浓度低的水体和食螺动物的气味对于静水椎实螺来说都是不安的——低浓度的钙妨碍螺儿形成长期记忆，而某种食螺的比目鱼的气味则改善它们的记忆。结果，两种因素的组合使得螺儿形成正常的记忆，看起来就像是没有受到任何不安的干扰一样。于是，这两位研究者打算从这儿入手，看看这两种导致静水椎实螺不安的因素要是与孤立因素结合起来，又会如何影响它们的记忆。

令人惊异的是，在低钙水体的条件下，孤立性的隔离反而改善了这种软体动物的记忆。同时，8天的隔离并未影响它们曾经经历过的对食螺动物气味的记忆。但是，当两位研究者将三种不安性因素——隔离禁闭、低浓度的钙和食螺动物的气味结合起来的时候，静水椎实螺即使受过特训也无法（将短期经历）形成长期记忆。对此，Dalesman表示，这是他们首次发现利他性外激素（**kairomones**，食螺动物的气味）不能增强动物记忆的形成；相反，它们的出现似乎还致使其记忆出现卡壳。

因此，孤立确实会影响静水椎实螺形成长期记忆的能力，但这完全依赖于一定的背景条件。在某些情况下，即从其它因素之中取消掉这一条件因素，那么孤立性的隔离反而会改善螺儿的记忆。

实验结果遂人愿了，但这背后又说明了什么呢？Dalesman和Lukowiak猜测，静水椎实螺对孤立的行为反应——在交配时选择充当雄性角色——可能会使它们面临的低钙环境变得没那么紧张。因为它们在作为雄性进行繁殖时，会比作为雌性孵育卵需要较少的钙，从而使得被隔离的螺儿得到减压，从而形成更好的记忆。不过，他们也猜测，若是将以上所述的三种压力源结合起来，就很可能把它们推向崩溃的边缘。Dalesman表示说：“数种不同的环境压力源可能会令螺儿们觉得压力太大以至无法处理，从而再也无法对受训形成某种长期记忆产生足够的注意力。”

原文检索：

Dalesman, S. and Lukowiak, K. (2011). Social snails: the effect of social isolation on cognition is dependent on environmental context. *J. Exp. Biol.* 214, 4179-4185.

 文佳/编译

怀孕给宽吻海豚带来负担

对于任何一位准妈妈来说，在快要分娩之前的几周挺着大腹便便的肚子行动都很不方便。于是，大多数雌性通过调整它们的活动来对付其怀孕后期所产生的较大生理改变。但是，人们一直都未能找到雌性的某种独特的步态改变——比如说改变它们跨步的大小或者频率——与其怀孕后期的生理改变相关。尽管如此，来自加州大学圣他库斯分校（**University of California Santa Cruz**）海洋科学研究所的Shawn Noren却在这个问题上发现了一线曙光，她起先对新生海豚在出生后不久就学会游泳的习性感到十分好奇，可是很快，她就意识到自己得到了一个绝佳的机会来观察怀孕对雌性海豚产生的影

响。于是，Noren在夏威夷岛的寻访海豚活动（Dolphin Quest）中，设法与一群海豚混迹在一块儿，并选定其中两只怀孕的雌性海豚，在其临盆之前分析了怀孕对其流线型体型以及灵活性有何影响。



Noren指出，怀孕的雌性都有巨大的凸起部分，里面的胎儿位于身体的后端。

她戴上水中呼吸设备，在海豚孕妇即将临盆的前两周花了大量时间呆在水下，待海豚在训练员的伴随下平行游过她的摄像镜头时，她就将它们拍摄下来。不仅如此，Noren还拍摄了刚刚生下孩子的海豚妈妈，并继续定期拍摄它们，直至它们的孩子2岁为止。然后，Noren比较了海豚分娩前后的行动情况，结果发现有孕在身的雌性海豚行动较为缓慢，它们游泳的最高速度仅限于 3.54ms^{-1} 。而当它们生完孩子之后，则能够以比这快得多的速度游泳。Noren指出，对于大多数宽吻海豚来说，每秒2-3米的游泳速度比较惬意，但对于怀孕的海豚而言，超过这一速度可不是一件感觉舒服的事情。

Noren还测量了怀孕海豚的腹围，并计算了它们的前半身表面积，从此处她意识到怀孕对海豚产生了巨大的影响，即为它们的前半身增加了高达51%的表面积。随后，当海豚在水域中滑翔时，Noren还测试了它们所经历的种种不便。结果发现，当海豚准妈妈快要分娩时，这种负担加倍了。

除此之外，怀孕的海豚还存在着另一个问题：它们所增加的脂肪是为其哺乳作储备的，这些脂肪也增加了它们的浮力。Noren表示，当海豚要潜下水去捕食猎物时，浮力问题就会变成一个麻烦。于是它们需要额外的能量去克制这种浮力。因此，怀孕会对海豚的流体动力学产生显著的影响，但这种影响是否会改变它们的游泳方式呢？怀孕的海豚是不是会以一种与众不同的步态进行游动？

Noren通过人工计算法得出海豚上浮和下沉时尾鳍（tail fin）的位置，发现怀孕的雌性海豚的尾鳍摆动幅度无法像其生孩子之后所摆动得那么大。研究表明，海豚孕妇的尾鳍摆动幅度减少了13%，为了弥补这一减少了的推动力，它们唯有加速摆动其尾鳍。因此，怀孕的宽吻海豚的确是改变了自己的游动步态。

Noren在发现了怀孕对即将成为妈妈的海豚所产生的影响之后，概述了这些雌性海豚所要面临的额外风险。由于大腹便便的怀孕海豚无法逃脱其天敌的追杀，因而更容易受到攻击；而若是它们受到捕鱼船的追捕，那么也很可能因无法跟上鱼群而被捕捉。面临与它们相似命运的还包括其它种类的雌鱼。在太平洋东部的热带地区，人们仍然用巨大的渔网来捕捉金枪鱼，有孕的雌鱼在这种情况下也命运堪忧。Noren对此表示，捕鱼是一件快速发生的事件，因此在此附近的怀孕雌鱼很可能就在追捕中掉队。而它们通常依赖于鱼群的保护和协作性的摄食方式生活，一旦脱离鱼群，这些怀孕雌鱼很可能就难以再次找回组织了。

原文检索:

Noren, S. R., Redfern, J. V. and Edwards, E. F. (2011). Pregnancy is a drag: hydrodynamics, kinematics and performance in pre- and postparturition bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *J. Exp. Biol.* 214, 4151-4159.



企鹅通过拍打翅膀计算潜水时间

屏住呼吸潜水的动物会面临一种两难的窘境：是继续潜水以发掘更丰富的捕猎机会呢，还是回到水面补充氧气供给呢？这还真是一个问题。来自日本东京大学（University of Tokyo）的Kozue Shiomi及其美国 Scripps Institution of Oceanography 的同事认为，动物何时完成一次潜水很可能不是一个简单的决定。擅长深潜水的动物，如南极帝企鹅



（emperor penguin）早在回到水面之前就已经决定好结束一次潜水了。那么，到底是什么因素使一只会潜水的动物决定何时开始上浮呢？Shiomi、Katsufumi Sato和Paul Ponganis猜测，它们会在用尽肌肉的力量之后才决定返回水面，而不是其潜水时间促使它们返回。于是，他们决定对帝企鹅的潜水姿势进行分析，看它们在开阔的海面自由潜水以及从某个冰洞跳入潜水时的情况，以观察是什么因素促使这种企鹅决定结束潜水的。

这三位科学家从早前的野外考察中收集潜水企鹅的相关数据，并利用这些数据分析了10只随机选择的企鹅的15978次潜水姿势，其中有3只企鹅快速跳入某个冰洞的495次潜水记录。研究小组计算出每只企鹅开始并最终上浮回水面的时间，他们了解到，

几乎所有随机选择的企鹅都在潜水之后5.7分钟左右开始最终上浮回水面。但是，那些潜入冰洞的企鹅却往往在进行U型转弯并回到冰洞口之前，在水下潜伏更长的时间。因此，一定有某些其它的因素引发它们返回水面。

于是，研究小组分析了潜入冰洞的企鹅的潜水加速类型，以计算它们在转而返回冰洞口之前其翅膀拍打的次数。很快，他们了解到企鹅在开始返回水面之前，其翅膀平均拍打237次。对此，Shiomi等人认为，决定这种动物（返回水面）的限制因素并非是流逝的时间，而是它们拍打翅膀的次数，因此很可能是积累性的肌肉工作促发了它们（浮回水面）这一决定。

原文检索：

Shiomi, K., Sato, K. and Ponganis, P. J. (2012). Point of no return in diving emperor penguins: is decision to return time limited by the number of strokes? *J. Exp. Biol.* 215, 135-140.

 文佳/编译

A group of people are performing a human pyramid against a cloudy sky with a bright sun. The pyramid consists of four people standing on the ground, two on their shoulders, and one on top. The text is overlaid on the center of the image.

合办专题专刊
网站广告合作
邮件群发推广

请致电 (020) 32051255