

人类锌指结构新基因 ZNF18的克隆和表达谱分析

郭丽丽¹, 慈宏亮^{1, 2}, 单红爽¹, 邹星¹, 翟永功¹, 李亦平^{1~3}

(1. 北京师范大学生命科学学院生物医学研究所, 北京 100875; 2. 浙江赛尔生物医学研究院, 杭州 310006;

3. 美国哈佛大学牙医学院 Forsyth研究所, 波士顿 02115)

摘要:在很多转录因子中发现的锌指结构,被认为在人类心脏的发育和相关疾病的发生过程中发挥重要的作用。文章报道了克隆和表达分析人类新的锌指蛋白基因 ZNF18。该基因 cDNA 长 2 767 bp, 编码一个有 549 个氨基酸的蛋白, 这一蛋白含有一个 SCAN 结构域, 一个 KRAB 结构域和 5 个连续的 C₂H₂ 型锌指结构域。ZNF18 蛋白与小鼠 Zfp535 有 77% 的同源性。ZNF18 基因定位于人染色体 17p12 ~ p13, 包含 9 个外显子和 8 个内含子。以 ZNF18 全长编码区为探针进行 Northern 杂交, 结果显示 ZNF18 在成体小鼠各组织中广泛表达, 但在心脏中低丰度表达。整体原位杂交结果显示, ZNF18 基因在小鼠胚胎的表达有很高的动态性。ZNF18 主要在 E7.5 小鼠胚胎的胚外组织表达, E8.5 出现了胚胎躯干前端表达。ZNF18 从 E9.0 开始在胚胎的心脏和尾部表达, 尤其在 E10.5 胚胎的心脏高丰度表达。这提示 ZNF18 基因与心脏发育过程可能有密切的关系。

关键词: ZNF18 基因; C₂H₂ 锌指结构域; 胚胎整体原位杂交

中图分类号: Q74, Q78

文献标识码: A

文章编号: 0253 - 9772(2005)04 - 0523 - 08

Molecular Cloning and Expression Analysis of a Novel Human Gene ZNF18

GUO Li-Li¹, CI Hong-Liang^{1, 2}, SHAN Hong-Shuang¹, ZOU Xing¹, ZHAI Yong-Gong¹, LI Yi-Ping^{1~3}

(1. Biomedical Research Institute, College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China;

2. Zhejiang Cell Biomedical Research College, Hangzhou 310006, China; 3. Forsyth Institute, Harvard School of Dental Medicine, Boston, 02115, USA)

Abstract: The zinc-finger motif found in many transcription factors is thought to be important for human heart development and diseases. This study reports cloning and expression analysis of a novel human zinc finger protein ZNF18 cDNA. The ZNF18 cDNA is 2 767 bp in length encoding a 549-amino-acid protein that contains a SCAN-box, a KRAB box and five consecutive C₂H₂ zinc finger motifs. ZNF18 shows high similarity with mouse Zfp535 (identity 77%). The ZNF18 gene is located on human chromosome 17p12 ~ p13 with 9 exons and 8 introns. ZNF18 was ubiquitously expressed in adult mouse tissues except heart as revealed by Northern blot. Whole-mount *in situ* hybridization showed that expression of ZNF18 in mouse embryos was very dynamic. Expression was predominantly in extraembryonic tissues of E7.5 mouse embryo. By E8.5, ZNF18 began to express in anterior of trunk, and became abundant in tail and heart at E9.0, especially in the embryo heart at E10.5. These expression results suggest that ZNF18 may play an important role in the development of embryo heart.

Key words: ZNF18; C₂H₂ zinc finger domain; whole-mount *in situ* hybridization

收稿日期: 2004-03-01; 修回日期: 2005-05-22

基金项目: 浙江赛尔生物医学研究院资助项目 [Supported by Zhejiang Cell Biomedical Research College]

作者简介: 郭丽丽 (1978—), 山东淄博人, 硕士研究生, 研究方向: 分子生物医学。现工作单位: 北京中天诺亚体育科技有限公司。E-mail: lilykuospace@yahoo.com.cn

慈宏亮 (1978—), 吉林省吉林市人, 博士研究生, 研究方向: 分子生物医学。E-mail: hlcj@vip.163.com

郭丽丽、慈宏亮为本文并列第一作者

通讯作者: 李亦平 (1954—), 浙江天台人, 教授, 博士生导师, 研究方向: 分子生物医学。E-mail: ypli@forsyth.org

在细胞分化和胚胎发育中,转录因子通过激活或抑制基因的表达发挥重要的调控作用。转录因子通常包括 DNA 结合结构域和一个或多个效应结构域,它们通过与 DNA 上的特异位点结合发挥作用^[1]。锌指蛋白(zinc finger protein, ZFP)是真核细胞中普遍存在的一类 DNA 结合蛋白,根据其锌指结构的特征,可以分为 C₂H₂ [Cys(2)/His(2)]型、C₃H₄型和 C₄H₄型等。其中 C₂H₂型 ZFP构成一大类转录因子家族。在人类基因组中,约含有 700 个 C₂H₂型 ZFP 转录因子^[2]。C₂H₂ 锌指结构域包括两个保守的半胱氨酸残基和两个保守的组氨酸残基,可以用通式 CX₂CX₃FX₅LX₂HX₃H 表示,通式中 X 代表任何氨基酸。C₂H₂ 锌指结构域与一个锌离子结合并折叠成手指样结构因而得名^[3]。有三分之一的 C₂H₂型 ZFP 含有由约 75 个氨基酸组成的 KRAB (Krüppel associated box) 结构域,这类 ZFP 被称为 KLFs (Krüppel-like factors)。研究表明, KLFs 在细胞生长,分化,胚胎发育和肿瘤生长中发挥重要的作用。例如, KLF2 (Krüppel-like factor 2) 参与了多个细胞信号通路调节。KLF2 通过抑制 WEE1 提高细胞对 DNA 损伤的敏感度,从而调节细胞的生长和凋亡^[4]。很多 C₂H₂型的锌指结构蛋白还包含一个高度保守的氨基酸序列——SCAN 结构域,它由约 80 个氨基酸残基构成,富含亮氨酸区域有 3 个螺旋结构。SCAN 结构域介导自身或者和其他蛋白之间的相互作用^[5,6]。

为了发现有重要功能的人类 KRAB-C₂H₂ 锌指蛋白,我们是用电子克隆的方法克隆了人类 ZNF18。Rousseau Merck 等人曾将 ZNF18 (KOX11) 基因定位在人类第 17 号染色体 17p12 ~ p13,并为之命名^[7]。但是对于 ZNF18 的表达和功能研究一直未见报道。我们通过生物信息学方法分析了 ZNF18 基因,并采用小鼠胚胎整体原位杂交和 Northern 杂交方法观察 ZNF18 在不同胚胎发育阶段和成体小鼠各个组织中的表达。原位杂交结果显示 ZNF18 在小鼠胚胎心脏中高丰度特异表达, Northern 杂交结果显示, ZNF18 在成体小鼠各组织中广泛表达,而在心脏中低丰度表达,这提示 ZNF18 基因与心脏发育过程可能有密切的关系。ZNF18 基因的克隆及其特异的时空表达谱分析,为进一步深入研究其在心脏发育过程中的功能奠定了基础。

1 材料和方法

1.1 材料

健康孕鼠购自北京大学医学动物中心; M-MLV 逆转录酶购于 Invitrogen; 高保真 Pfu DNA 聚合酶购于宝生物工程大连有限公司; 地高辛标记试剂盒购于 Roche; 所有的引物均由北京博润公司合成; 测序工作由上海生工生物工程技术有限公司完成; TRIzol 购于北京鼎国生物技术有限责任公司; [³²P] 购于 Amersham; 随机引物标记试剂盒购于 Promega; pCMV-SPORT6 质粒载体, 大肠杆菌 DH5 为本实验室储存; 其他试剂均为国产分析纯试剂。

1.2 ZNF18 基因的序列克隆

日本的 RIKEN 基因组研究小组于 2001 年公布了 21 076 条小鼠全长 cDNA 的序列, 他们把这些基因分为 9 类, 其中“motif-containing protein”这一类代表着编码具有一定结构域蛋白的 573 条小鼠新基因^[8]。下载类别为“motif-containing protein”的小鼠新基因 (<http://www.gsc.riken.go.jp/e/FANTOM>); 用 BLAST 的方法在人类基因组中搜寻与小鼠新基因具有同源锌指结构的序列片段; 下载人类基因组中与小鼠新基因具有同源序列的片段, 用 GenScan 分析这一片段中可能包含的人类新基因候选基因 (<http://genes.mit.edu/GENSCAN.html>); 用人类新基因候选基因与人类 EST 比较, 确定了这个基因是一个真基因, 得到一个人类新基因 ZNF18。通过 RT-PCR 的方法得到全长 CDS 的人类新基因 ZNF18 的克隆。引物序列 (sense: 5' GACTAAGCTTGACAA TGCCCGTTGACTTGG3', anti-sense: 5' ATACGTCGACTGGCTATTGAAAGGCTTCT3') 将 RT-PCR 产物插入到载体 pCMV-SPORT6 的多克隆位点中, 酶切鉴定, 测序。

1.3 用生物信息学方法对 ZNF18 基因序列特征进行分析

将所得到的序列在 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 用 BLAST (Basic Local Search Tool) 方法与已知序列进行对比, 以确证所得基因是新基因。用 ORF (Open Reading Frame) finder 预测该基因的编码框。使用人类基因组数据库做 BLAST 分析, 找到 ZNF18 基因在人类基因组上的定位, 对其外显子和内含子进行分析。使用 Vector NTI 0 软件对进行序列比对。用 NCBI 数据库以及 Prosite (<http://us.expasy.org/prosite/>) 对蛋白的结构域和可能的功

能进行预测。

1.4 原位杂交

原位杂交参照文献 [9] 中的方法,以 ZNF18 1.6 kb 的编码区为模板,用核酸 DIG 标记试剂盒 (Roche) 制备 DIG 标记的 RNA 探针,分别与 7.5 dpc (days postcoitum, 发现阴栓的当天记为 0.5 dpc, 胚胎用 E0.5 表示), 8.5 dpc, 9.0 dpc, 9.5 dpc 和 10.5 dpc 的小鼠胚胎进行杂交,每个时期原位杂交至少重复 3 次。

1.5 Northern 杂交

用 TRIzol 按照产品说明书一步法提取成年小鼠各组织的总 RNA,用 DEPC 抑制 RNA 的降解,每一电泳泳道取总 RNA 5 μg 进行 1% 甲醛变性凝胶电泳,按常规方法转尼龙膜,膜经 80 °C 2 h 烘干。用随机引物标记试剂盒 (Promega) 对 ZNF18 的 cDNA 片段进行 [³²P]dCTP 探针标记。膜在 50% 甲酰胺, 2 ×SSC, 1% SDS, 10% 硫酸葡聚糖和 0.1 mg/mL

鲑鱼精 DNA 的预杂交液中进行 42 °C 预杂交,标记好的探针经变性处理用于杂交。杂交在无甲酰胺的杂交液中杂交过夜,用 1% SDS, 2 ×SSC 溶液在 42 °C 洗膜两次,再用 1% SDS, 0.2 ×SSC 溶液洗膜两次,室温略干后, -70 °C 下放射自显影,根据杂交信号的强弱进行 X 光片曝光得 Northern 杂交结果。

2 结果

2.1 ZNF18 基因的序列克隆

利用电子克隆的方法,我们得到人类锌指蛋白基因 ZNF18,该基因 cDNA 长 2 767 bp。用 ORF finder 预测 ZNF18 基因的编码框,得到一个 1 650 bp 长的编码区序列,位于 ZNF18 cDNA 606 ~ 2 255 bp 的位置。编码框含有起始密码子 ATG 和终止密码子 TAG,是一个完整的开放阅读框。此外在终止密码子后面有多腺苷酸序列信号 (PolyA Signal: AATAAA) (图 1)。

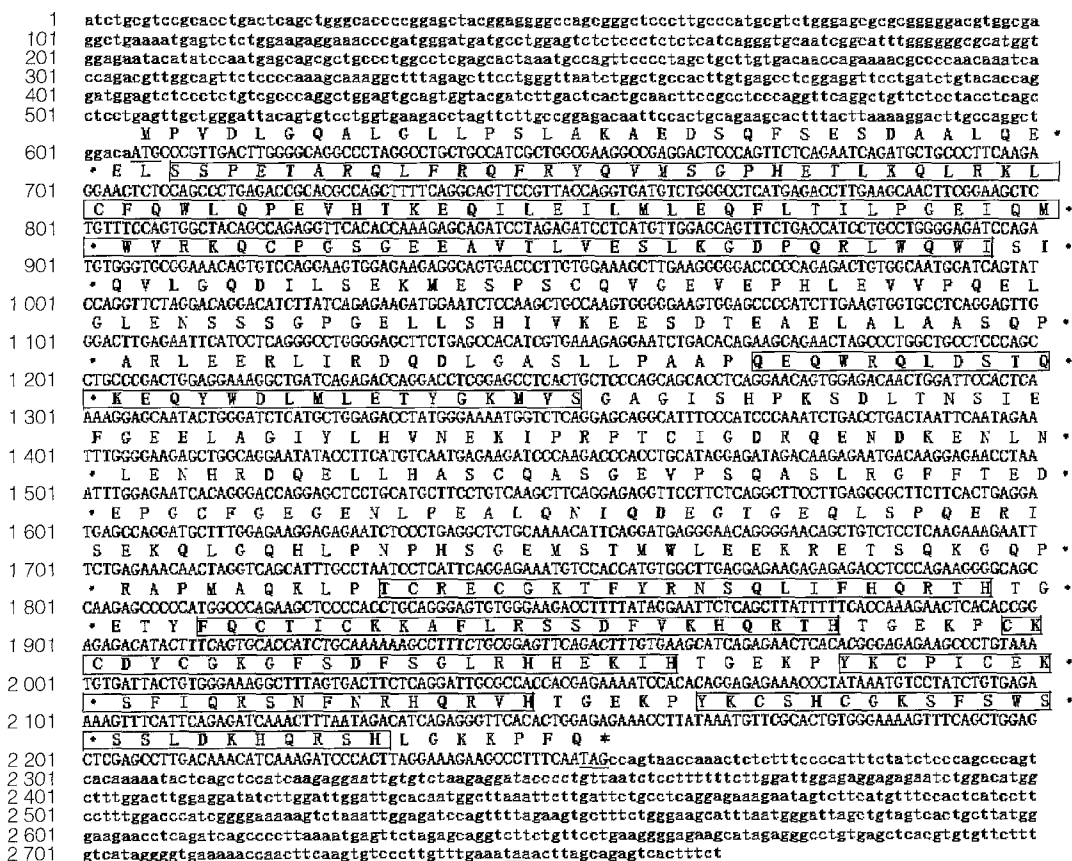


图 1 人类 ZNF18 基因 cDNA 序列

编码区核苷酸序列与对应的氨基酸序列共同列出。保守结构域用边框表示,起始子(ATG),终止子(TAG)以及多腺苷酸信号序列(AATAAA)以下划线表示。

Fig 1 cDNA sequence of the human ZNF18 gene

Coding sequences are shown together with the translated amino acid sequence. Conserved domains are boxed. Initiative code (ATG), stop code (TAG) and polyadenylation signal sequences (AATAAA) are underlined.

2.2 对 ZNF18 序列的生物信息学分析

对 ZNF18 蛋白结构域的分析显示该基因 N 端 35 ~ 130 氨基酸含有一个 SCAN 结构域 (SRE-ZBP, CTfin51, AW-1 and Number 18 cDNA), 222 ~ 249 氨基酸为一个 KRAB 结构域。C 末端含有 5 个连续的 C₂H₂ 型锌指结构域, 每个锌指结构域均包含 22 或 23 个氨基酸, 它们所在的氨基酸位置分别是: 409 ~ 430, 436 ~ 458, 464 ~ 486, 492 ~ 514, 520 ~ 542 (图 2)。这些结构域提示 ZNF18 蛋白可能是一个转录因子。

在人类基因组序列中进行 BLAST 分析, 确定 ZNF18 基因定位于人染色体 17p12 ~ p13, 与 DNAH9 (Dynein, Axonemal, Heavy chain 9) 相邻, 包含 9 个外显子和 8 个内含子 (图 3), 跨越大约 20 kb。起始密码子 ATG 位于第 4 号外显子, 终止密码子 TAG 和多腺苷酸序列信号都位于第 9 号外显子。用 Vector NTI 0 对比 ZNF18 cDNA 和基因组序列, 我们分析了 ZNF18 外显子和内含子的连接位点。ZNF18 的剪接位点基本符合 GT/AG 规则 (表 1)。

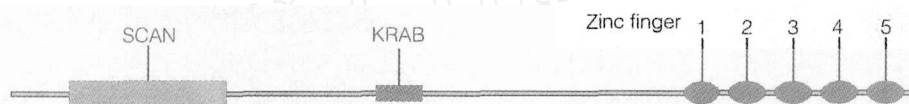


图 2 人类 ZNF18 蛋白的保守结构域

第一个方框表示 SCAN 结构域 (位置: 35 ~ 130); 第二个方框代表 KRAB 结构域 (位置: 222 ~ 249); 5 个连续的椭圆代表 C₂H₂ 型锌指结构 (位置: 409 ~ 430, 436 ~ 458, 464 ~ 486, 492 ~ 514, 520 ~ 542)。

Fig 2 The conserved domains of human ZNF18

The first box represents SCAN domain (Position: 35 ~ 130). The second box represents KRAB box (Position: 222 ~ 249). The five consecutive ellipses represent five C₂H₂ zinc fingers (Position: 409 ~ 430, 436 ~ 458, 464 ~ 486, 492 ~ 514, 520 ~ 542).

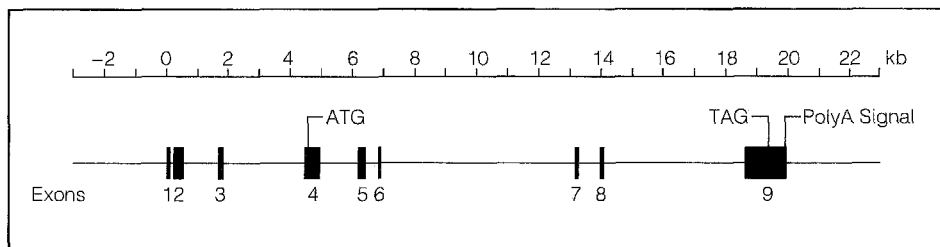


图 3 人类 ZNF18 基因基因组结构示意图

ZNF18 由 9 个外显子和 8 个内含子组成, 跨越大约 20 kb。实心柱图表示外显子。起始子 (ATG), 终止子 (TAG) 以及多腺苷酸信号序列 (PolyA Signal) 均已标出。

Fig 3 Genomic organization of human ZNF18 gene

Schematic diagram of the human ZNF18 gene with flanking regions. The entire gene is composed of 9 exons and 8 introns distributed over approximately 20 kb. Solid bars represent exons. The locations of initiative code (ATG), stop code (TAG) and polyadenylation signal sequences (PolyA Signal) are indicated.

表 1 人类 ZNF18 基因外显子-内含子连接表

Table 1 Exon-Intron junction of human ZNF18 gene

外显子序号及大小 Exon number and size (bp)	5 剪接位点 5' splicing site	内含子序号及大小 Intron number and size (bp)	3 剪接位点 3' splicing site
1 (100)	GACGTGGCGAgtcggggcc	1 (162)	ttcccc taagGGCTGAAAA T
2 (301)	GTACACCA GGtaattgttg	2 (1 130)	tttttttgag ATGGA GTCTC
3 (122)	GGGATTACAGtgcgcacca	3 (2 655)	cccttttttagTGTCTCTGGTG
4 (469)	GTGGCAA TGGtaagcagag	4 (1 279)	tggtctctag ATCA GTA TCC
5 (190)	GCA GA ACTA Gtggagatgg	5 (423)	ctcacttcagCCCTGGCTGC
6 (89)	AGCACCTCA Gtgcagctgac	6 (6 264)	ttttttccagGAACA GTGGA
7 (85)	GTCTCA GGA Gtgcaggtgt	7 (705)	ctctctatagCA GGCA TTTC
8 (111)	ACCTGCA TA Gtgcagtaac	8 (4548)	ctcttttttagGA GA TA GACA
9 (1300)	GTCACTTTC Tactttatttg		

用 VectorNTD 0软件对人类 ZNF18蛋白与小鼠 Zfp535蛋白的氨基酸序列进行比对发现 ZNF18蛋白与小鼠 Zfp535蛋白的同源性 77%, 阳性率 83% (图 4)。

Human ZNF18 (1)	MFVLDLGGALGLLPSLAKAEDSQFSESDAALAEELSSPETARQLFRQFRYQVLSGPHETLQLRKLCPQWLRPEVHTKEQL
Mouse Zfp535 (1)	MFVLDLGGALGLLPSLAKAEDTFSASDAATQRELANPETARQLFRQFRYQVLSGPHETLQLRKLCPQWLRPEVHTKEQL
Human ZNF18 (81)	LELLMLEQLFTLILPGEIQMHWVRKQCPGSGGEAVTLVNESLKGDPQRLNQHWSIQVLGGDILSEKMESPSQ-----VGEV
Mouse Zfp535 (81)	LELLMLEQLFTLILPGEIQMHWVRKQCPGSGGGEAVTLVNESLKGDPQRLNHWISTVQLGGQEIFPEKENLTHCPGDKLEPALEV
Human ZNF18 (155)	EFHLEVVVQELGLENSSSCPGELLSHIVKEESDTEAEALAAASQ-PARLEERLIRDQDLGASTLPAAPQEQWRLDSTQR
Mouse Zfp535 (161)	EFSLVAVPQILPLQNSSATGELLSHGVKEESDMEPELAAASQLPARPEERFVRDQELGTALVPLQEQWRLDSTQR
Human ZNF18 (234)	EQYWDLMLETYGRMWSG-AGISHPKSDLTYSIRFGEELAGTYLHVNEKIPRPTCIGDRQENDKENLMLENHRDQELLHAS
Mouse Zfp535 (241)	EQYWDLMLETYGRMWSGVAGISNSKPLDLTLARFGEELVGLHLHGAEKMARLPCKEDRQENDKENLMLENHRDQGCCLDVF
Human ZNF18 (313)	CQASGEVFSQASLRGFFTEDEFGCFGEENLFEALQNIQDEGTGEQLSPQERISEKQLGQHLPNPHSGEMSTWLEEKRE
Mouse Zfp535 (321)	CQASGEAFPTALSDFFGESEPHRFG-GDSVFEALNHQEGTGAHLFPYERSGRQPGQHTQSSSLGELTALWLEEKRE
Human ZNF18 (393)	TSQKQPRAPMAQKLPTRCCEGKTFYRNSQLFPHQRTHITGETYFQCTICKKAPLRSSDFVKHQRTHTGKPCRCDCYCGK
Mouse Zfp535 (400)	ASQKQARSPMAQKLPTRCCEGKTFYRNSQLVPHQRTHITGETYFHCICKKAPLRSSDFVKHQRTHTGKPCRCDCYCGK
Human ZNF18 (473)	FSDFSGLRHHEKIHITGKPYKCPCEKSFQIRSNFNRRHQRVHTGKPYKCSHCGKSFSSSSLDKHKRSHLGEKPFQ
Mouse Zfp535 (480)	FSDFSGLRHHEKIHITGKPYKCPCEKSFQIRSNFNRRHQRVHTGKPYKCSHCGKQFSSSSLDKHKRSHLGEKMPCF

图 4 人类 ZNF18蛋白与小鼠 Zfp535蛋白序列比对

人类 ZNF18蛋白与小鼠 Zfp535蛋白的同源性 77%, 阳性率 83%。

Fig 4 Alignment of human ZNF18 protein and that of mouse Zfp535 protein. The identity and positives of human ZNF18 and mouse Zfp535 are 77% and 83% respectively.

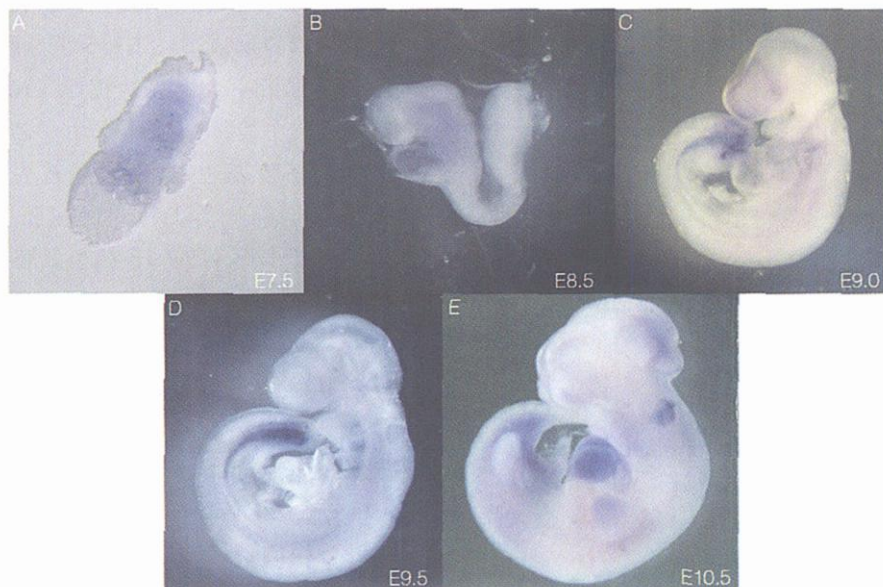


图 5 ZNF18在小鼠胚胎中的整体原位杂交表达谱

ZNF18主要在 E7.5 小鼠胚胎的胚外组织表达 (A), 在 E8.5 胚胎躯干的前端表达 (B)。ZNF18 从 E9.0 开始 (C), 在胚胎的心脏和尾部表达, 并且持续到 E9.5 (D) 和 E10.5 (E) 胚胎, 尤其是 E10.5 (E) 胚胎的心脏。

Fig 5 Expression pattern of ZNF18 in mouse embryos by whole-mount *in situ* hybridization. ZNF18 is expressed predominantly in extraembryonic tissues in 7.5 dpc mouse embryo (A). By E8.5, ZNF18 begins to express in anterior of trunk (B), while by E9.0 (C), ZNF18 becomes abundant in tail and heart which persists at E9.5 (D) and E10.5 (E), especially in the embryo heart at E10.5 (E).

2.3 原位杂交

很多锌指蛋白都在胚胎发育中发挥重要作用,为了研究 *ZNF18* 的功能,我们用整体原位杂交的方法研究了 *ZNF18* 在小鼠胚胎中的表达。用 *ZNF18* 的 1.6 kb 编码区作为探针,分别对小鼠 7.5 dpc 到 10.5 dpc 的胚胎进行原位杂交,发现 *ZNF18* 在胚胎中的表达动态性较强。E7.5 小鼠胚胎的胚内组织没有发现 *ZNF18* 的表达,在这一时期, *ZNF18* 主要在小鼠胚胎的胚外组织表达(图 5, A)。 *ZNF18* 在胚胎组织的表达首先出现在 E8.5 胚胎躯干的前端(图 5, B)。 *ZNF18* 从 E9.0 开始(图 5, C)在胚胎的心脏和尾部表达,并且持续到 E9.5 (图 5, D)和 E10.5 (图 5, E),尤其是 E10.5 (图 5, E) 胚胎的心脏,而在此之前, *ZNF18* 在心脏的表达相对较弱(E9.5, 图 5, D)。此外, *ZNF18* 还在 E9.5 的前脑(图 5, D)和 E10.5 的后脑(图 5, E)有微弱的表达。

2.4 Northern 杂交

为了研究 *ZNF18* 在成体组织中的功能,我们用 Northern 杂交分析了 *ZNF18* 在成体小鼠多个器官中的表达。结果显示, *ZNF18* 在成体小鼠的肝、脾、肺、胃、肾、肌肉和睾丸组织中都有表达,在脾中的表达量最大而在心脏的表达量较低(图 6)。

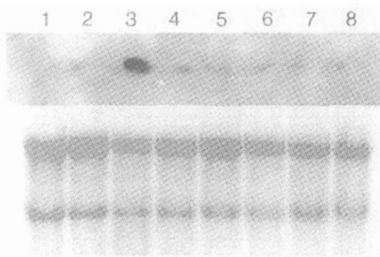


图 6 Northern 杂交分析 *ZNF18* mRNA 在成年小鼠组织中的表达情况

1:心脏; 2:肝脏; 3:脾脏; 4:肺; 5:胃; 6:肾;
7:肌肉; 8:小肠。

Fig 6 *ZNF18* mRNA expression analysis by Northern blot in adult mouse tissues

1: heart; 2: liver; 3: spleen; 4: lung; 5: stomach;
6: kidney; 7: muscle; 8: testine.

3 讨论

虽然 Rousseau-Merck 等人曾将 *ZNF18* (*KOX11*) 基因定位在人类第 17 号染色体 17p12 ~ p13, 并为之命名^[7], 但是对于 *ZNF18* 基因的分析 and 功能研究还没有被报道过。我们用电子克隆的方法

克隆了 *ZNF18*。 *ZNF18* 的 cDNA 全长为 2 767 bp, 含有一个 1 650 bp 的开放阅读框, 编码一个 549 个氨基酸的锌指蛋白。 *ZNF18* 基因定位于人染色体 17p12 ~ p13, 含 9 个外显子和 8 个内含子。利用生物信息学的方法预测 *ZNF18* 含有一个 N 端 SCAN 结构域, 一个 N 端 KRAB 结构域和 C 端 5 个连续的 C₂H₂ 型锌指结构域, 属于典型的 KRAB-C₂H₂ 型锌指蛋白。包含 SCAN 结构域的 KRAB-C₂H₂ 型锌指蛋白还包括: *ZNF213*^[10], *ZNF191*^[11], *ZFP95*^[12] 和 *SKAT-2*^[13] 等。这些基因在细胞的生长, 分化和功能维持上发挥重要的作用。

ZNF18 包含重要的保守结构域提示它可能作为转录因子在体内发挥作用。因此, 我们对 *ZNF18* 在体内的时空表达谱进行了分析, 掌握 *ZNF18* 在胚胎发育阶段和成体组织器官中的表达情况, 为以后进一步研究 *ZNF18* 在体内的作用提供重要的依据。小鼠胚胎整体原位杂交显示, *ZNF18* 在胚胎中的表达具有较强的动态性。E7.5 小鼠胚胎中 *ZNF18* 主要在小鼠胚胎的胚外组织表达(图 5, A)。胚外组织细胞虽然没有直接参与胚胎的构建, 但是通过对胚胎提供分化的信号影响着胚胎的前后轴形成, 胚外组织 BMP 和 Wnt 由前端到后端升高的梯度决定了胚胎的前端的形成^[14]。E7.5 小鼠胚胎中 *ZNF18* 在小鼠胚胎的胚外组织表达提示 *ZNF18* 可能在胚胎囊胚的形成中发挥一定的作用。 *ZNF18* 从 E8.5 开始在小鼠胚胎表达, 这种表达首先出现在 E8.5 胚胎躯干的前端(图 5, B), 此后在胚胎的心脏和尾部表达。E8.5 以后, *ZNF18* 在小鼠胚胎尾部的表达丰度较高, 提示 *ZNF18* 可能与胚胎后端的形成有关。 *ZNF18* 在心脏的表达从 E9.0 开始(图 5, C), E9.5 (图 5, D) 以前表达都相对较弱, 但是在 E10.5 (图 5, E) 心脏的表达变得较强。 *ZNF18* 在器官形成期的特异性加强, 显示了 *ZNF18* 在心脏发育中的重要作用。进一步对 *ZNF18* 在成年小鼠多个组织中的表达进行检测, 意外发现它在心脏的表达很低, 而在脾、肝、肺、胃、肾、肌肉和睾丸中都有表达, 以在脾中的表达最高, 说明 *ZNF18* 在成体小鼠的细胞功能上发挥一定的作用, 但是 *ZNF18* 在心脏发育和功能维持中的作用还需要进一步的研究。 *ZNF18* 基因的克隆及其特异的时空表达谱分析, 对进一步深入研究其在心脏发育过程中的功能奠定了基础。

参考文献 (References):

- [1] Zavel L, Reinberg D. Common themes in assembly and function of eukaryotic transcription complexes *Annu Rev Biochem*, 1995, 64: 533 ~ 561.
- [2] Lander E S, Linton L M, Birren B, Nusbaum C, Zody M C, Baldwin J, Devon K, Dewar K, Doyle M, FitzHugh W, Funke R, Gage D, Harris K, Heaford A, Howland J, Kann L, Lehoczky J, LeVine R, McEwan P, McKernan K, Meldrum J, Mesirov J P, Miranda C, Morris W, Naylor J, Raymond C, Rosetti M, Santos R, Sheridan A, Sougnez C, Stange-Thomann N, Stojanovic N, Subramanian A, Wyman D, Rogers J, Sulston J, Ainscough R, Beck S, Bentley D, Burton J, Clee C, Carter N, Coulson A, Deadman R, Deloukas P, Dunham A, Dunham I, Durbin R, French L, Grafham D, Gregory S, Hubbard T, Humphray S, Hunt A, Jones M, Lloyd C, McMurray A, Matthews L, Mercer S, Milne S, Mullikin J C, Mungall A, Plumb R, Ross M, Showstee R, Sims S, Waterston R H, Wilson R K, Hillier L W, McPherson J D, Marra M A, Mardis E R, Fulton L A, Chinwalla A T, Pepin K H, Gish W R, Chissoe S L, Wendl M C, Delehaunty K D, Miner T L, Delehaunty A, Kramer J B, Cook L L, Fulton R S, Johnson D L, Minx P J, Clifton S W, Hawkins T, Branscomb E, Predki P, Richardson P, Wenning S, Slezak T, Doggett N, Cheng J F, Olsen A, Lucas S, Elkin C, Uberbacher E, Frazier M, Gibbs R A, Muzny D M, Scherer S E, Bouck J B, Sodergren E J, Worley K C, Rives C M, Gorrell J H, Metzker M L, Naylor S L, Kucherlapati R S, Nelson D L, Weinstock G M, Sakaki Y, Fujiyama A, Hattori M, Yada T, Toyoda A, Itoh T, Kawagoe C, Watanabe H, Totoki Y, Taylor T, Weissbach J, Heilig R, Saurin W, Artiguenave F, Bröttier P, Bruls T, Pelletier E, Robert C, Wincker P, Smith D R, Doucette-Stamm L, Rubenfield M, Weinstock K, Lee H M, Dubois J, Rosenthal A, Platzer M, Nyakatura G, Taudien S, Rump A, Yang H, Yu J, Wang J, Huang G, Gu J, Hood L, Rowen L, Madan A, Qin S, Davis R W, Federspiel N A, Abola A P, Proctor M J, Myers R M, Schmutz J, Dickson M, Grimwood J, Cox D R, Olson M V, Kaul R, Raymond C, Shimizu N, Kawasaki K, Minoshima S, Evans G A, Athanasiou M, Schultz R, Roe B A, Chen F, Pan H, Ramser J, Lehrach H, Reinhardt R, McCombie W R, de la Bastide M, Dedhia N, Blocker H, Homischer K, Nordsiek G, Agarwala R, Aravind L, Bailey J A, Bateman A, Batzoglou S, Bimsey E, Bork P, Brown D G, Burge C B, Cerutti L, Chen H C, Church D, Clamp M, Copley R R, Doerks T, Eddy S R, Eichler E E, Furey T S, Galagan J, Gilbert J G, Hamon C, Hayashizaki Y, Haussler D, Hemjakob H, Hokamp K, Jang W, Johnson L S, Jones T A, Kasif S, Kasprzyk A, Kennedy S, Kent W J, Kitts P, Koonin E V, Korf I, Kulp D, Lancet D, Lowe T M, McLysaght A, Mikkelsen T, Moran J V, Mulder N, Pollara V J, Ponting C P, Schuler G, Schultz J, Slater G, Smit A F, Stupka E, Szustakowski J, Thierry-Mieg D, Thierry-Mieg J, Wagner L, Wallis J, Wheeler R, Williams A, Wolf Y I, Wolfe K H, Yang S P, Yeh R F, Collins F, Guyer M S, Peterson J, Felsenfeld A, Wetterstrand K A, Patrino A, Morgan M J, de Jong P, Catanese J J, Osoegawa K, Shizuya H, Choi S, Chen Y J; International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome *Nature*, 2001, 409(6822): 860 ~ 921.
- [3] McCarty A S, Kleiger G, Eisenberg D, Smale S T. Selective dimerization of a C₂H₂ zinc finger subfamily *Mol Cell*, 2003, 11(2): 459 ~ 470.
- [4] Wang F, Zhu Y, Huang Y, McAvoy S, Johnson W B, Cheung T H, Chung T K, Lo K W, Yin S F, Yu M M, Ngan H Y, Wong Y F, Smith D I. Transcriptional repression of WEE1 by Kruppel-like factor 2 is involved in DNA damage-induced apoptosis *Oncogene*, 2005, Feb, 28.
- [5] Williams A J, Khachigian L M, Shows T, Collins T. Isolation and characterization of a novel zinc-finger protein with transcription repressor activity *J Biol Chem*, 1995, 270(38): 22143 ~ 22152.
- [6] Williams A J, Blacklow S C, Collins T. The zinc finger-associated SCAN box is a conserved oligomerization domain *Mol Cell Biol*, 1999, 19(12): 8526 ~ 8535.
- [7] Rousseau-Merck M F, Hillion J, Jonveaux P, Couillin P, Seite P, Thiesen H J, Berger R. Chromosomal localization of 9 KOX zinc finger genes: physical linkages suggest clustering of KOX genes on chromosomes 12, 16, and 19 *Hum Genet*, 1993, 92(6): 583 ~ 587.
- [8] Kawai J, Shinagawa A, Shibata K, Yoshino M, Itoh M, Ishii Y, Arakawa T, Hara A, Fukunishi Y, Konno H, Adachi J, Fukuda S, Aizawa K, Izawa M, Nishi K, Kiyosawa H, Kondo S, Yamanaoka I, Saito T, Okazaki Y, Gojobori T, Bono H, Kasukawa T, Saito R, Kadota K, Matsuda H, Ashburner M, Batalov S, Casavant T, Fleischmann W, Gaasterland T, Gissi C, King B, Kochiwa H, Kuehl P, Lewis S, Matsuo Y, Nikaido I, Pesole G, Quackenbush J, Schriml L M, Staubli F, Suzuki R, Tomita M, Wagner L, Washio T, Sakai K, Okido T, Furuno M, Aono H, Baldarelli R, Barsh G, Blake J, Boffelli D, Bojunga N, Caminci P, de Bonaldo M F, Brownstein M J, Bult C, Fletcher C, Fujita M, Gariboldi M, Gustincich S, Hill D, Hofmann M, Hume D A, Kamiya M, Lee N H, Lyons P, Marchionni L, Mashima J, Mazzarelli J, Mombaerts P, Nordone P, Ring B, Ringwald M, Rodriguez I, Sakamoto N, Sasaki H, Satoh K, Schonbach C, Seya T, Shibata Y, Storch K F, Suzuki H, Toyooka K, Wang K H, Weitz C, Whittaker C, Wilming L, Wynshaw-Boris A, Yoshida K, Hasegawa Y, Kawaji H, Kohtsuki S, Hayashizaki Y. Functional annotation of a full-length mouse cDNA collection *Nature*, 2001, 409(6821): 685 ~ 690.
- [9] Stern C D, Holland P. *In situ* hybridization. In: Wilkinson D G, editor. *Essential Development Biology: A Practical Approach*. IRL Press, Oxford, UK, 1993, 257 ~ 274.
- [10] Chen X, Hamon M, Deng Z, Centola M, Sood R, Taylor K, Kastner D L, Fischel-Ghodsian N. Identification and characterization of a zinc finger gene (ZNF213) from 16p13.3 *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1543(1-2): 105 ~ 112.

phys Acta, 1999, 1444(2): 218~230

- [11] Han Z G, Zhang Q H, Ye M, Kan L X, Gu B W, He K L, Shi S L, Zhou J, Fu G, Mao M, Chen S J, Yu L, Chen Z. Molecular cloning of six novel Knuppel-like zinc finger genes from hematopoietic cells and identification of a novel transregulatory domain KRNB. *J Biol Chem*, 1999, 274(50): 35741~35748
- [12] Dreyer S D, Zheng Q, Zabel B, Wintepacht A, Lee B. Isolation, characterization, and mapping of a zinc finger gene, *ZFP95*, containing both a SCAN box and an alternatively spliced KRAB A

domain. *Genomics*, 1999, 62(1): 119~122

- [13] Blanchard A D, Page K R, Watkin H, Hayward P, Wong T, Bartholomew M, Quint D J, Daly M, Garcia-Lopez J, Champion B R. Identification and characterization of SKAT-2, a novel Th2-specific zinc finger gene. *Eur J Immunol*, 2000, 30(11): 3100~3110
- [14] Lu C C, Brennan J, Robertson E J. From fertilization to gastrulation: axis formation in the mouse embryo. *Curr Opin Genet Dev*, 2001, 11(4): 384~392

热带亚热带微生物遗传多样性与 基因资源的发掘利用研讨会

经海南省省科协批准,定于2005年11月1-4日在海南省三亚市召开“热带亚热带微生物遗传多样性与基因资源的发掘利用”研讨会。会议由海南省生物工程协会承办,《遗传学报》《遗传》编辑部协办。

大会主题为“热带亚热带微生物遗传多样性与基因资源的发掘利用”,着重围绕“我国热带亚热带地区微生物资源的生物多样性、分子分类与生态学、功能基因组学及生物技术应用”等开展研讨。

一、会议安排

11月1日 全天报到

11月2-3日 大会报告、专题报告、闭幕式

11月4日 大会组织考察海南尖峰岭原始热带雨林国家保护区。

11月5日 离会

二、会议论文和摘要

会议将编辑论文集。为加强对外交流,论文摘要须用中英文。提交全文的代表其论文要求:A4纸,Word97或Word2000编辑。只提交中英文摘要的代表,限一页(尽量满页)。论文全文或摘要须在9月10日前用Email传给协会秘书处。大会将根据论文和摘要安排报告日程和顺序。过时则请自带摘要复印件200份赴会,如需要会务组帮助复印装订,A4每页收费0.3元。英文摘要可委托会务组翻译,每份60元。论文写作格式参照《遗传学报》《遗传》投稿要求,符合发表要求的论文,将在《遗传学报》或《遗传》上发表,免收审稿费。

三、会议费用

(一)会务费(注册费):正式代表600元/人

(二)研究生会务费(注册费)凭学生证为400元/人,待遇与正式代表一样。

(三)家属会务费(注册费)为400元/人。

(四)会议住宿为四星级标准,标准间每日房费为200元,两人住宿每人每日100元。

四、联系方式

会务组联系方式:

联系地址:北京市海淀区知春路49号希格玛公寓B1601

邮编:100080

电话:010-62556198

传真:010-88099388

E-mail: hnabe@hitar.org

联系人:肖英华女士

请与会代表于2005年9月10日前将报名函发送至会务组,会务组将进一步发出会议第二轮通知和邀请信。

海南省生物工程协会

2005年7月15日