

一个新的人类乙酰转移酶基因 *hNATL* 的克隆与表达谱研究*

邹 星^{1,*} 慈宏亮^{1,2,**} 陈 微³ 李亦平^{1,2,3,***}

(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 从小鼠 cDNA 序列入手, 依据同源分析的电子克隆方法得到一个包含 N 末端乙酰转移酶结构域的人类新基因 *hNATL* (Human NAT Like)。*hNATL* 的 cDNA 长 1803bp, 编码区 621bp, Genbank 登陆号 AY632082。*hNATL* 编码的蛋白长 206 个氨基酸残基, 包含有 N 乙酰转移酶结构域。*hNATL* 基因定位于人染色体 17q25.2 区, 包括 6 个外显子和 5 个内含子。基因表达汇编分析结果显示, *hNATL* 在人脑和生殖腺中高表达。Northern 杂交显示, 在成年小鼠中 *hNATL* 在心脏、脾脏和卵巢中出现表达。整体原位杂交的结果显示, *hNATL* 特异表达于 E7.5 和 E8.5 的小鼠胚胎脑部和 HH10 期鸡胚胎的头部。上述结果提示, *hNATL* 对胚胎期脑的发育和成体中重要器官行使正常功能发挥十分重要的作用。

关键词: N 末端乙酰转移酶结构域 胚胎发育 整体原位杂交

真核生物蛋白质一般都存在翻译后修饰, 其中最普遍的途径之一是乙酰化。在各种不同的真核生物蛋白质中大约 85% 存在乙酰化修饰^[1], 通常都是通过 N 末端乙酰转移酶 (N-terminal acetyltransferase, NAT) 将乙酰辅酶 A 的乙酰基团转移到蛋白质 N 末端残基的 α 氨基上来实现。一般认为, N 末端的乙酰化有助于维持蛋白质的稳定性^[2]。对酿酒酵母 N 末端乙酰转移酶 NAT1 的研究表明, 其功能的缺失将导致 MATa 菌株结合型异常和贫营养状态下的酵母不能进入 G0 期^[3]。另有研究发现, NAT1 的缺陷还会导致酵母染色体不稳定^[4]。与酵母 NAT1 同源的人类新基因已经被我国科学家克隆^[5]。N 末端乙酰转移酶与其它蛋白质之间广泛的相互作用提示我们真核生物利用一套相同的系统进行广泛的乙酰化修饰^[6]。

核心组蛋白的乙酰化与基因转录激活等功能之间的关系很早就引起人们的关注, 但是直到发现组蛋白乙酰转移酶 (HAT) 后, 才对其机制有了比较深入的了解。具有 HAT 功能的蛋白和蛋白复合体有多种, 包括 HATA/Gcn5p, p300/CBP, p/CAF, ACTR, SRC1, TAF II 250, Elp3 等, 但它们在结构上有一个共同特征, 都包含有一个 N 末端乙酰转移酶结构域 (GNAT, Pfam00583)^[7]。

随着人类基因组计划的基本完成, 各类生物信息学数据库和软件层出不穷, 利用 Internet 上的信息资源克隆新基因的策略也在不断发展。当前, 国际上相当数量的基因克隆都是从 EST 分析开始的^[8]。自从 Riken 基因组研究小组开展小鼠全 cDNA 文库测序工作以来, 已经发现大量功能未知的小鼠新基因^[9,10]。这其中有许多基因包含有特定的保守功能结构域。由于小鼠基因在序列和功能上都与人高度同源, 小鼠经常作为人类重要基因功能研究的模型动物。我们利用发表的小鼠基因序列, 通过同源查找与电子克隆, 得到一个包含有 N 末端乙酰转移酶结构域的人类新基因 *hNATL* (Human NAT Like), 并对其做了表达谱初步研究。整体原位杂交的结果显示, *hNATL* 特异表达于 7.5dpc 和 8.5dpc 的小鼠胚胎脑部和 HH10 期鸡胚胎的头部。Northern 杂交结果显示该基因在成年小鼠多种组织心脏、脾脏和卵巢中有表达, 我们的结果提示, *hNATL* 对胚胎期脑的发育和成体中心脏、脾脏和卵巢行使正常

本文 2005 年 6 月 9 日收到。2005 年 10 月 30 日接受。

* 浙江赛尔生物医学研究院资助项目。

** 并列第一作者。

*** 通讯作者, Tel: 010-58806656, E-mail: YPLi@forsyth.org

功能发挥重要的作用。

1 材料和方法

1.1 材料

健康小鼠购于北京大学医学部实验动物中心。受精鸡卵购于当地种蛋供应厂。Sephadex G-50 购于 Amersham。E7.5 小鼠胚胎(发现阴栓的当天记为 0.5dpc, 胚胎用 E0.5 表示)cDNA 文库购于 Clontech。消减试剂盒购于 Invitrogen。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。DIG 标记试剂盒购于 Roche。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 购于鼎国公司。DIG Nucleic Acid Labeling Kit 购于 Roche。pBluescript II SK(-)本实验室保存。其它试剂均为国产分析纯产品。

1.2 人类新基因 *hNATL* 的电子克隆及序列分析

根据文献^[11]中的方法进行电子克隆得到人类新基因 *hNATL*。方法简述如下:2001 年日本的 RIKEN 基因组研究小组公布了 21,076 条小鼠全长 cDNA 的序列^[9], 根据与已知基因的同源性, 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。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序列的片段。在得到的人类基因组同源序列片断上, 我们定位到一个包含有 N 末端乙酰转移酶结构域的人类新基因 *hNATL*。用 RT-PCR 的方法克隆 *hNATL* 至 pBlueScriptII SK(+).

1.3 用生物信息学方法对 *hNATL* 基因序列特征进行分析

用 ORF (Open Reading Frame)finder 预测 *hNATL* 的编码框。使用人类基因组数据库做 BLAST 分析, 找到 *hNATL* 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 NTI9.0 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^[11]中的方法, 以扩增的全长基因为模板, 用地高辛核酸标记与检测试剂盒

制备 DIG 标记的 RNA 探针, 与不同发育天数的小鼠胚胎及鸡胚胎进行杂交。

1.5 Northern 杂交

Northern 杂交按照常规方法进行。用 TRIZOL 按照产品说明书一步法提取成年小鼠各组织的总 RNA, 每一电泳泳道取总 RNA 5 μ g 进行 1%甲醛变性凝胶电泳, 按常规方法转尼龙膜烘干。用随机引物标记试剂盒(Promega)对 *hNATL* 的 cDNA 片断进行 [α^{32} P]dCTP 探针标记。经过预杂交后杂交过夜, 经洗膜后-70℃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 *hNATL* 基因的电子克隆

我们利用电子克隆方法得到人类新基因 *hNATL*。*hNATL* 的 cDNA 长 1803bp, 编码区 621bp, 编码框含有起始密码子 ATG 和终止密码子 TGA, 是一个完整的开放阅读框, 在终止密码子后面有多腺苷酸序列信号 (PolyA Signal: ATAAA)(图 1-a)。*hNATL* 编码的蛋白长 206 个氨基酸残基, 氨基酸 78-161 的位置包含有 N 乙酰转移酶结构域 (Acetyltransferase_1 domain)(图 1-b)。在 Genbank 数据库与已知基因作比较, 发现 *hNATL* 是一个人类新基因, 我们向 Genbank 数据库提交该基因, 获得登陆号 AY632082。

2.2 *hNATL* 基因的基因组结构

在人类基因组序列中进行 BLAST 分析, 确定 *hNATL* 基因定位于人染色体 17q25.2 区, 跨越约 6kb, 包括 6 个外显子和 5 个内含子, 起始密码子 ATG 位于第 1 号外显子, 终止密码子 TGA 和多腺苷酸序列信号都位于第 6 号外显子(图 2)。

2.3 蛋白同源性比对

用 Vector NTI9.0 软件对人类 *hNATL* 和小鼠 *1110028N05Rik* 基因蛋白序列进行序列比对显示它们的同源性为 73.4%, 说明二者是不同物种间的同源基因(图 3)。

2.4 虚拟 Northern 杂交结果

将 *hNATL* 基因提交到 NCBI 基因表达汇编 (GEO) 数据库, 查询到其可靠度最高的特异性序列标签 (Tag) 为 CCTCAGTATA。将此 Tag 提交 SAGE 数据库, 我们发现在所有含此标签的 SAGE 文库中, 脑组织、乳腺(癌)、卵巢(癌)和前列腺(癌)来源的文库出现频率非常高, 而其它组织(肝, 肺, 肾, 心血管

M R L N Q N T L L L G K K V V L V P Y T S E H V P R Y H E W M
 1 GGCTACCATGAGGTTGAATCAGAACACCTTGTGCTGGGGAAGAAGGTGCTCTGTACCTACACCTCGGAGCATGTGCCAGGTACCAAGAGTGGATG
 K S E E L Q R L T A S E P L T L E Q E Y A M Q C S W Q E D A D K C T .
 101 AAATCAGAGGAGTGCAGCGTTTGACAGCCTCGGAGCCGCTGACCTGGAGCAGGAGTATGCCATGCAGTGCAGCTGGCAGGAAGATGCAGACAAGTGTA
 • F I V L D A E K W Q A Q P G A T E E S C M V G D V N L F L T D L E •
 201 CCTTCATTGTGCTGGATGCCGAGAAGTGGCAGGCCAGCCAGGCCAGCCGAGAGAGCTGCATGGTGGGAGATGTGAACCTCTTCTCAGATCTAGA
 • D L T L G E I E V M I A E P S C R G K G L G T E A V L A M L S Y G
 301 AGACCTCACCTTGGGGAGATCGAGGTGATGATTGCAGAGCCAGCTGCAGGGGTAAAGGGCTTGGCACTGAGGCCGTTCTCGCATGTGTCTTACGGA
 V T T L G L T K F E A K I G Q G N E P S I R M F Q K L H F E Q V A T .
 401 GTGACCAAGCTAGGTCTGACCAAGTTTGGGCTAAATTTGGGCAAGGAATGAACCAAGCATCCGGATGTTCCAGAACTTCACTTTGAGCAGGTGGCTA
 • S S V F Q E V T L R L T V S E S E H Q W L L E Q T S H V E E K P Y .
 501 CGACAGTGTTCCTCAGGAGTGACCCCTCAGACTGACAGTGAAGTGGTCCGAGCATCAGTGGCTTCTGGAGCAGACCCAGCCAGTGAAGAGAAGCCTTA
 • R D G S A E P C *
 601 CAGAGATGGGTCGGCGGAGCCCTGCTGATGGCTGGGCTTGTGGGCGAGCCACTCTGTGTGAGCAGGGTGTGGGCCATACACTTCAAAGACCAGAGCCC
 701 TGCACTGGGAGAGTGCTCTGGCCAGGCTGGGAATCACCTTTCGAGGCCCTTACAGCTCTGGCGGGCTTGTGTGGCTCCCTCCAGCTAGTGGTGTG
 801 GCTGAGCAGACTCCAGGGCCAGGGCCAGTTCCCTTCTCCCTCCCGGCAACCCAGACCCAGACTCTAGGAAGCTGGAATGGAGGGCAGGGATCCATGG
 901 GAGATGTCGGGATGAAGTGGGAGCCGAGGTGCAGGGGACCTGGAACATGGATGGGAGTGGACAGGCCTTCTCTCTAGAGGCCAGAGGTGCTGCCCT
 1001 GGCTGGGAGTGAAGCTCCAGCAGTACCAGCTTCTGATTTTCCGTTTGGTCCGTGTGAAGAGCTACCAAGAGCCAGCCAGCTCACAGTGTCCACTCAA
 1101 GGGCAGCTTGGTCTCTTGTCTGCAGAGGCAGGTGTGTGACCTGGGAACCTTGACCCGGGAACAACAGGTGGTCCAGAGTGAAGTGTGGCTGGCCCC
 1201 TCAACCTAGTGTCCGTCTCTCTCTCTGAGGCCAGTCTTGAGTTTAAAGGCATTAGTGTAGATACAGCTCTGTGGCTGGAACACCCCTCTGCT
 1301 GATAAAGCTCAGGGGCACTGAGGAAGCAGAGGCCCTTGGGGTGCCCTCTGAAGAGAGCGTCAGGCCATCAGCTCTGTCCCTCTGGTGTCCACGT
 1401 CTGTTCTCACCTCCATCTCTGGGAGCAGTGCACCTGACTGGCCACGGGGGAGTGGAGGCACAGGCTCAGGGTGGCCGGGTACCTGGCACCTTA
 1501 TGGCTTACAAGTAGAGTTGGCCAGTTTCTTCCACCTGAGGGGAGCACTCTGACTCTAACAGTCTTCTTGGCCCTGCCATCATCTGGGGTGGCTGGC
 1601 TGTCAAGAAAGCCGGGATGCTTTCTAAACACAGCCAGAGGCTTGTAGGGCATCTTCCAGGTGGGAAACAGTCTTAGATAAGTAAGGTGACTTGC
 1701 CTAAGGCCTCCAGCACCTTGATCTTGGAGTCTACAGCAGACTGCATGTGAACAACCTGGAACCGAAACATGCTCAGTATAAAACAACATTATAAA
 1801 ACG



图 1 *hNATL* 全长 cDNA 序列及所编码的蛋白

a: 人类新基因 *hNATL* 的全长 cDNA 序列。起始密码子 ATG, 终止密码 TGA 和多聚腺苷酸信号 (PolyA Signal) 用下划线标出, 保守结构域用边框表示。b: 人类新基因 *hNATL* 的保守结构域。Acetyltransf_1 结构域用六边形表示。

Fig.1 The full-length cDNA sequence of *hNATL* and its coding protein

a: The full-length cDNA sequence of *hNATL*. The initiative code ATG, stop code TGA and polyadenylation signal (PolyA Signal) are underlined. Conserved domain was boxed. b: Conserved domain of novel human gene *hNATL*. Acetyltransf_1 motif was boxed.

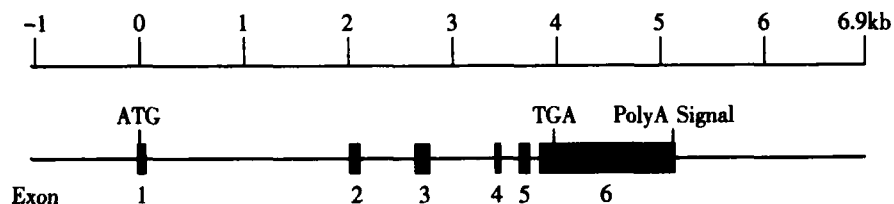


图 2 *hNATL* 基因组定位

hNATL 基因定位于人染色体 17q25.2 区, 约跨越 6kb。黑色方块代表外显子。起始密码子 ATG, 终止密码 TGA 和多聚腺苷酸信号在图中标出

Fig.2 Genomic organization of *hNATL* gene

The *hNATL* gene is located on 17q25.2, distributed over approximately 6kb. Solid bars represent exons. The locations of initiative code ATG, stop code TGA and polyadenylation signal (PolyA Signal) are indicated.

内皮等)来源的文库中出现很少(图 4)。

2.5 *hNATL* 在成年小鼠中的表达谱

为了研究 *hNATL* 基因在成年小鼠中可能的功

能, 我们首先应用 Northern 杂交的方法, 研究 *hNATL* 在成年小鼠中的表达谱, 结果显示, 在成年小鼠中, *hNATL* 在心脏、脾脏和卵巢中的出现表达,

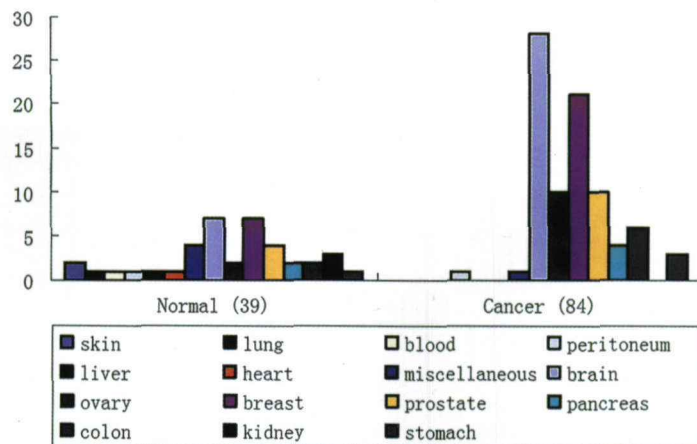
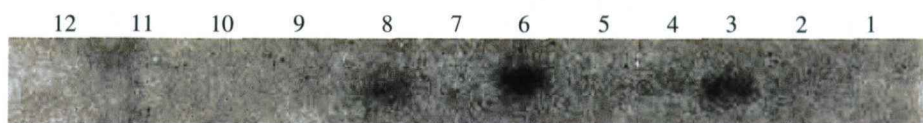
```

hNATL      (1) MRLNQNTLLGKKVVLVPYTSEHVPRYHEWMKSEELQRLTASEPLTLQEYAMQCSWQEDADKCTFIVLDAEKWQAQPGATEESC
1110028N05Rik (1) MKLNQNTMLVGKKVVLVPYTSEHVPRYHEWMKSEELRHLTASEQLTLQEYEMQCSWCEDEDKCTFIVLDAEKWQAQPRPPEESC

hNATL      (86) MVGDVNLFLTDLEDLTLGEIEVMIAEPSRCRGKGLGTEAVLAML SYGVTTLGLTKFEAKIGQGNEPSIRMFQKLHFEQVATSSVFQ
1110028N05Rik (86) MVGDVNLFLTDLEDLTLGEIEVMIAEPSYRRQGLGTEASLLIMSYGVTKLGLTKFEAKIGQGNEPSIRMFQKLHFKQVAMSNVFQ

hNATL      (171) EVTLRLTVSESEHQWLLLEQTSHEEKPYRDGSAEPC-----
1110028N05Rik (171) EVTLRLAVSEPERKWLLLEQTSHEERPYRTRKAEPVTATLSEQKSWNCPLPRPDGCMGDTSAVSSVCARLS

```

图3 人类 *hNATL* 和小鼠基因 *1110028N05Rik* 蛋白序列的相似性比较Fig.3 Alignment of human *hNATL* protein with that of mouse protein *1110028N05Rik*图4 *hNATL* 的基因表达连续分析结果Fig.4 Serial analysis of gene expression for *hNATL*图5 Northern 杂交分析 *hNATL* mRNA 在成年小鼠组织中的表达情况

1: 脑 2: 睾丸 3: 心脏 4: 肺脏 5: 肝脏 6: 脾脏 7: 肾脏 8: 卵巢 9: 胸腺 10: 骨骼肌 11: HOC (破骨细胞肿瘤) 12: ROB30。

Fig.5 *hNATL* mRNA expression analysis by Northern blot in adult mouse tissues

1: brain; 2: testis; 3: heart; 4: lung; 5: liver; 6: spleen; 7: kidney; 8: ovary; 9: thymus; 10: skeletal muscle; 11: HOC; 12: ROB30.

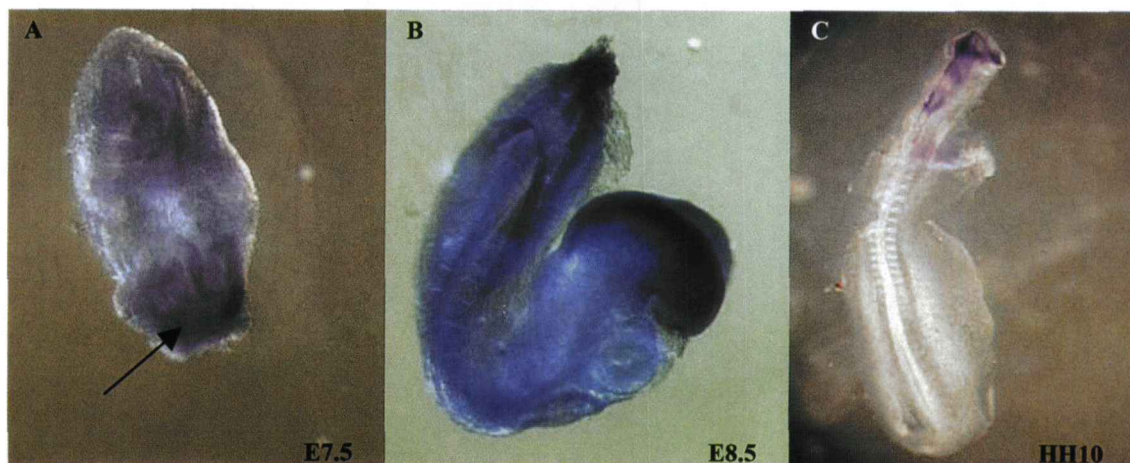


图6 在小鼠和鸡胚中进行的整体原位杂交

A: *hNATL* 在 E7.5 小鼠胚胎的 AVE 表达。B: *hNATL* 在 E8.5 小鼠胚胎的前脑和中脑特异性表达。C: *hNATL* 在 HH10 期的鸡胚脑部和神经管的前端表达。

Fig.6 Whole-mount in situ hybridization of mice and chicken embryos

A: *hNATL* was expressed in AVE of E7.5 mouse embryo. B: *hNATL* was expressed in the forebrain and midbrain of E8.5 mouse embryo. C: *hNATL* was expressed in brain and anterior nerve tube of HH10 chicken embryo.

而在其他组织和细胞系中没有出现表达。提示该基因对小鼠心脏、脾脏和卵巢的功能正常行使发挥一定的作用(图 5)。

2.6 *hNATL* 在小鼠胚胎中的表达谱

由于 NAT 功能蛋白与基因的转录调控都有很大的联系,为了观察该新基因在胚胎发育时可能的作用,我们用不同时期的小鼠胚胎通过整体原位杂交的方法研究 *hNATL* 在小鼠胚胎中的表达谱。结果发现, *hNATL* 在 E7.5 小鼠胚胎的前内脏内胚层(AVE)出现表达(图 6-A),在 E8.5 小鼠胚胎的前脑和中脑有高丰度的表达(图 6-B)。而 9.5dpc 以后的胚胎中,该基因不再有明显的组织特异性(数据未显示)。HH10 期的鸡胚胎整体原位杂交结果亦表明,该基因在头部强烈表达(图 6-C)。胚胎早期正是脑部发育形成的关键时期,提示我们该基因对早期脑的发育有很重要的作用。

3 讨 论

国际上常用的电子克隆策略一般都是从 EST 分析开始,而本研究从日本 RIKEN 基因组研究小组公布的小鼠全长 cDNA 入手,筛选出了一个包含 N 乙酰转移酶结构域的人类新基因 *hNATL*。GNAT 全称 GCN5-related N-acetyltransferase,是一个大的蛋白家族。许多具有组氨酸乙酰转移酶活性的转录激活因子都是该家族的成员,包括 GCN5, ESA1, CBP/p300, TAFII250, Tip60, ACTR 和 SRC-1 等,其中以酵母 yGCN5 了解得最为清楚。研究表明, yGCN5 通过乙酰化 H3 组蛋白的 Lys14 和 H4 组蛋白的 Lys8、Lys16,使得核小体组蛋白与 DNA 模板之间的稳定性减弱,从而推动转录的激活^[7]。*hNATL* 在蛋白一级结构水平上含有一个 GNAT 结构域,推测可能参与基因转录激活的调控。

GEO 是 NCBI 建立起来的一个基因表达数据仓库和在线资源,用于从任何物种或人造的来源检索基因表达数据。来自于 Microarray, 高密度寡核苷酸 array (HAD), 杂交膜(filter) 和 SAGE 的许多类型的基因表达数据都被接受、登记和存档,作为一个公共数据集合。虚拟 Northern 杂交实际上是对 GEO 结果数据库进行查询,其结果是对测定对象中特定基因表达情况的真实反映。人组织虚拟 Northern 的结果中, *hNATL* 特异性标签 CCTCAGTATA 在许多脑(肿瘤)组织和生殖腺来源的标签库中频繁出现说明 *hNATL* 可能在这些组织中有较高的表达量。

通过 Northern 杂交和胚胎整体原位杂交,我们研究了 *hNATL* 在胚胎发育和成体组织中的时空表达谱。我们观察到在 E7.5 中, *hNATL* 在脑部形成的区域前内脏内胚层(AVE)有较高的特异性表达,在 E8.5 的小鼠胚胎中, *hNATL* 在脑部形成的区域有较高的特异性表达。而在 E9.5 之后的胚胎中,表达的特异性消失,出现普遍表达。E7.5 小鼠胚胎神经板(Neural plate, NP) 开始出现,随后晚期神经板(Late neural plate, LNP), 早期头部折叠(Early head fold, EHF), 晚期头部折叠(Late head fold, LHF) 依次出现,进入脑发育过程^[12],提示 *hNATL* 可能在胚胎发育时期对于脑的形成起重要作用。HH10 期鸡胚整体原位杂交结果进一步表明, *hNATL* 在脑和神经索发育时非常活跃,有很强的表达。对 *hNATL* 在成年小鼠多个组织中的表达进行检测,发现它在心脏、脾脏和卵巢的出现高丰度表达,而在脑中检测到表达,提示 *hNATL* 可能对心脏、脾脏和卵巢行使正常功能发挥一定的作用。

脑是生物体中最复杂的器官,与其他器官相比脑具有独特的基因表达谱,脑和神经系统的发育亦非常复杂,受到很多基因的调控,如 Hox, PAX, LIM, POU, Emx, Dlx, ApoE-epsilon4^[13], pADHC-9^[14] 等,它们都参与了脑及神经系统的发育,其中的很多成员与脑相关疾病和肿瘤的发生相关。*hNATL* 在胚胎脑部特异表达,但是在成体脑组织中 *hNATL* 并没有表达,在虚拟 Northern 中, *hNATL* 在正常的脑组织中表达量较低,但是脑肿瘤中的表达量明显升高,提示 *hNATL* 不但在胚胎脑的发育中发挥重要的作用,而且可能与肿瘤的发生存在一定的联系。*hNATL* 在胚胎脑部和脑肿瘤中的高表达,加上其在成体脑中的沉默,提示 *hNATL* 基因可能是一个重要的转录调控因子,在脑的发育和肿瘤的发生中发挥重要的作用,其表达受到严格的控制。对 *hNATL* 基因的研究将有助于我们进一步揭示脑和神经系统的发育,以及相关疾病的分子机制。

参 考 文 献

- [1] Driessen, H.P., W.W. de Jong, G.I. Tesser & H. Bloemendal, 1985, The mechanism of N-terminal acetylation of proteins. *CRC Crit Rev. Biochem.*, 18(4): 281-325.
- [2] Matsuura, S., M. Arpin, C. Hannum, E. Margoliash, D.D. Sabatini & T. Morimoto, 1981, *In vitro* synthesis and posttranslational uptake of cytochrome c into isolated mitochondria: role of a specific addressing signal in the apocy-

- tochrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **78**(7): 4368–4372.
- [3] Mullen, J.R., P.S. Kayne, R.P. Moerschell, S. Tsunasawa, M. Gribskov, M. Colavito-Shepanski, M. Grunstein, F. Sherman & R. Sternglanz, 1989, Identification and characterization of genes and mutants for an N-terminal acetyltransferase from yeast. *EMBO J.*, **8**(7): 2067–2075.
- [4] Ouspenski, I.I., S.J. Elledge & B.R. Brinkley, 1999, New yeast genes important for chromosome integrity and segregation identified by dosage effects on genome stability. *Nucleic Acids Res.*, **27**(15): 3001–3008.
- [5] 何云刚、谢永芳、陈 瑶、钱 伟、赖建华、谭德勇, 2002, 一个新的人类 N 末端乙酰转移酶基因的克隆及其表达。生物化学与生物物理学报, **34**(3): 353–357。
- [6] Polevoda, B. & F. Sherman, 2000, Nalpha-terminal acetylation of eukaryotic proteins. *J. Biol. Chem.*, **275**(47): 36479–36482.
- [7] Trievel, R.C., J.R. Rojas, D.E. Sterner, R.N. Venkataramani, L. Wang, J. Zhou, C.D. Allis, S.L. Berger & R. Marmorstein, 1999, Crystal structure and mechanism of histone acetylation of the yeast GCN5 transcriptional coactivator. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**(16): 8931–8936.
- [8] 李铁石、常智杰、傅新元、刘 力, 2002, 基于 Internet 网生物信息资源特定基因同源新基因克隆策略。生命科学, **14**(4): 234–237。
- [9] Kawai, J., A. Shinagawa, K. Shibata, M. Yoshino, M. Itoh, Y. Ishii, T. Arakawa, A. Hara, Y. Fukunishi & H. Konno, et, al, 2001, Functional annotation of a full-length mouse cDNA collection. *Nature*, **409**(6821): 685–690.
- [10] Okazaki, Y., M. Furuno, T. Kasukawa, J. Adachi, H. Bono, S. Kondo, I. Nikaido, N. Osato, R. Saito & H. Suzuki, et, al, 2002, Analysis of the mouse transcriptome based on functional annotation of 60,770 full-length cDNAs. *Nature*, **420**(6915): 563–573.
- [11] 付佳琪、王 峦、陈 微、慈宏亮、李亦平, 2004, 人类新基因 *ceg1* cDNA 的克隆及表达研究。实验生物学报, **37**(5): 409–417。
- [12] Bard, J. L., M. H. Kaufman, C. Dubreuil, R. M. Brune, A. Burger, R. A. Baldock & D. R. Davidson, 1998, An internet-accessible database of mouse developmental anatomy based on a systematic nomenclature. *Mech. Dev.*, **74**(1–2): 111–120.
- [13] Parasuraman, R., P. M. Greenwood & T. Sunderland, 2002, The apolipoprotein E gene, attention, and brain function. *Neuropsychology*, **16**(2): 254–274.
- [14] May, P. C., S. A. Johnson, J. Poirier, M. Lampert-Etchells & C. E. Finch, 1989, Altered gene expression in Alzheimer's disease brain tissue. *Can. J. Neurol. Sci.*, **16**(4 Suppl): 473–476.

CLONING AND EXPRESSION ANALYSIS OF HUMAN N-ACETYLTRANSFERASE DOMAIN CONTAINING GENE *hNATL**

ZOU Xing^{1,*} CI Hong Liang^{1,2,**} CHEN Wei³ LI Yi Ping^{1,2,3,***}

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

² Zhejiang Cell Biomedical Research College, Hangzhou 310006;

³ Forsyth Institute, Harvard School of Dental Medicine, Boston 02115, USA)

ABSTRACT A novel human gene *hNATL* (Human NAT Like) was cloned by *in silico* cloning and RT-PCR. *hNATL* cDNA is 1803bp in length with a 621bp coding region, and the Genbank accession No. is AY632082. *hNATL* encodes a protein of 206 amino acid residues which containing a N-acetyltransferase domain. *hNATL* is located on human chromosome 17q25.2 with 6 exons. Serial analysis of gene expression revealed that *hNATL* was highly expressed in human brain and gonad, while *hNATL* was expressed in heart, spleen and gonad of adult mouse. Whole-mount *in situ* hybridization showed that *hNATL* specifically expresses in E7.5 and E8.5 mouse embryo brains and in HH10 stage chicken embryo brain. These results suggest that *hNATL* may play an important role in the development of embryo brain and may also be important for function of adult brain and gonad.

Key words: N-acetyltransferase domain. Embryo development. Whole-mount *in situ* hybridization

* Supported by Foundation of Zhejiang Cell Biomedical Research College.

** These authors contributed equally.

*** Corresponding author, Tel: 010-58806656, E-mail: YPLi@forsyth.org