

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学号: 21620141152482

UDC\_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

**Snail 调控肝癌孤儿核受体 Nur77 启动子  
的甲基化**

**Snail regulates hepatocellular carcinoma orphan nuclear  
receptor Nur77 promoter methylation**

李英萍

指导教师姓名: 吴 乔 教授

专 业 名 称: 细胞生物学

论文提交日期: 2017 年 04 月

论文答辩时间: 2017 年 05 月

学位授予日期: 2017 年 月

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2017 年 05 月

# 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

# 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

## 目 录

摘 要 .....	1
Abstract .....	2
前 言 .....	3
1 孤儿受体 Nur77 .....	3
1.1 Nur77 的发现 .....	3
1.2 Nur77 的结构 .....	3
1.2.1 TAD .....	4
1.2.2 DBD .....	4
1.2.3 LBD .....	4
1.3 Nur77 的表达与分布 .....	4
1.4 Nur77 与蛋白的相互作用 .....	5
1.5 Nur77 的磷酸化 .....	5
1.6 Nur77 的生物学功能 .....	6
1.6.1 Nur77 与增殖 .....	6
1.6.2 Nur77 与凋亡 .....	6
2 DNA 甲基化修饰 .....	7
2.1 DNA 甲基化的发现 .....	7
2.2 甲基转移酶 .....	8
2.3 从头甲基化的定位机制 .....	8
2.3.1 PWWP 结构与从头甲基化靶向机制 .....	9
2.3.2 转录抑制因子与从头甲基化靶向机制 .....	9
2.3.3 RNAi 与从头甲基化靶向机制 .....	10
2.4 DNA 甲基化的生物学功能 .....	11
2.4.1 DNA 甲基化抑制基因表达 .....	11
2.4.2 DNA 甲基化抑制转录延伸 .....	11
3 锌指转录因子 Snail .....	12
3.1 Snail 的发现 .....	12

3.2 Snail 的结构 .....	13
3.3 Snail 活性的调控 .....	13
3.4 Snail 的生物学功能 .....	13
3.4.1 Snail 诱导 EMT .....	13
3.4.2 Snail 在中胚层形成和诱导细胞运动的作用 .....	14
3.4.4 Snail 调控细胞粘附 .....	15
3.4.5 Snail 是肿瘤进程的标志物和抗侵袭药物靶点 .....	16
3.4.6 Snail 与纤维化和伤口愈合 .....	16
3.4.7 Snail 影响细胞增殖和存活 .....	16
<b>4 本文研究的目的、思路及意义 .....</b>	<b>17</b>
<b>材料与方法 .....</b>	<b>18</b>
<b>1 实验材料 .....</b>	<b>18</b>
1.1 主要试剂 .....	18
1.2 主要仪器 .....	19
1.3 细胞株 .....	20
1.4 小鼠品系 .....	20
1.5 组织样品 .....	20
<b>2 实验方法 .....</b>	<b>20</b>
2.1 质粒构建 .....	20
2.1.1 扩大目的基因 .....	20
2.1.2 胶回收 .....	21
2.1.3 酶切鉴定 .....	21
2.1.4 连接 .....	22
2.1.5 质粒转化 .....	22
2.1.6 质粒提取 .....	22
2.1.6.1 小提 .....	22
2.1.6.2 中提 .....	23
2.1.7 感受态制备 .....	23
2.2 细胞培养 .....	24
2.2.1 复苏 .....	24

2.2.2 传代.....	24
2.2.3 冻存.....	25
2.3 细胞转染.....	25
2.4 制备蛋白样品.....	25
2.5 Western Blot.....	26
2.6 细胞/组织中 RNA 的提取.....	26
2.6.1 样品准备.....	26
2.6.2 RNA 提取.....	27
2.6.3 逆转录.....	27
2.7 荧光素酶活性检测.....	27
2.8 甲基化实验.....	28
2.9 染色质免疫共沉淀 (ChIP) .....	29
2.10 病毒包装和感染.....	30
2.11 石蜡切片.....	31
2.11.1 肝脏石蜡包埋.....	31
2.11.2 免疫组化.....	31
2.11.3 IRS 免疫组化评分方法 .....	33
2.12 小鼠模型.....	33
2.13 克隆形成实验.....	33
<b>结果与分析.....</b>	<b>34</b>
<b>1 肝癌组织中 Nur77 基因表达水平低于正常肝组织 .....</b>	<b>34</b>
<b>2 Nur77 抑制肝癌细胞的增殖 .....</b>	<b>37</b>
<b>3 Nur77 启动子在肝癌组织及细胞中发生甲基化 .....</b>	<b>42</b>
<b>4 Snail 调控 Nur77 启动子的甲基化.....</b>	<b>44</b>
<b>5 Snail 招募去乙酰化酶和 DNA 甲基转移酶至 Nur77 启动子 .....</b>	<b>51</b>
<b>讨论与总结.....</b>	<b>54</b>
<b>参考文献.....</b>	<b>56</b>
<b>在学期间发表论文.....</b>	<b>67</b>
<b>致谢.....</b>	<b>67</b>

---

**Table of Content**

<b>Abstract in Chinese</b> .....	1
<b>Abstract in English</b> .....	2
<b>Introduction</b> .....	3
<b>1 Orphan receptor Nur77</b> .....	3
1.1 Discovery of Nur77.....	3
1.2 Structure of Nur77 .....	3
1.2.1 TAD.....	4
1.2.2 DBD .....	4
1.2.3 LBD.....	4
1.3 Expression and distribution of Nur77 .....	4
1.4 Interaction of Nur77 with proteins.....	5
1.5 Nur77 phosphorylation .....	5
1.6 Biological function of Nur77 .....	6
1.6.1 Nur77 and proliferation.....	6
1.6.2 Nur77 and apoptosis .....	6
<b>2 DNA methylation</b> .....	7
2.1 Discovery of DNA methylation .....	7
2.2 Methyltransferase.....	8
2.3 De novo DNA methylation .....	8
2.3.1 PWWP domain and de novo DNA methylation.....	9
2.3.2 Transcriptional repressor and de novo DNA methylation.....	9
2.3.3 RNAi and DNA methylation.....	10
2.4 Biological function of DNA methylation.....	10
2.4.1 DNA methylation inhibits gene expression .....	10
2.4.2 DNA methylation inhibits transcription elongation.....	11
<b>3 Zinc finger transcription factor Snail</b> .....	12
3.1 Discovery of Snail.....	12
3.2 Structure of Snail .....	13
3.3 Regulation of Snail activity .....	13
3.4 Biological function of Snail .....	13
3.4.1 Snail induces EMT.....	13
3.4.2 Snail affects mesoderm formation and cell motion .....	14

---

3.4.4 Snail regulates cell adhesion .....	15
3.4.5 Snail is the tumour process marker .....	16
3.4.6 Snail and fibrosis .....	16
3.4.7 Snail affects cell proliferation .....	16
<b>4 Purpose and significance of this thesis .....</b>	<b>17</b>
<b>Materials and methods.....</b>	<b>18</b>
<b>1 Materials .....</b>	<b>18</b>
1.1 Chemicals and reagents.....	18
1.2 Equipments .....	19
1.3 Cell lines .....	20
1.4 Mice .....	20
1.5 Clinical samples .....	20
<b>2 Methods.....</b>	<b>20</b>
2.1 Plasmid struction.....	20
2.1.1 Expand objective gene .....	20
2.1.2 Rubber recovery .....	21
2.1.3 Enzyme digestion identification .....	21
2.1.4 Connection .....	22
2.1.5 Plasmid transformation .....	22
2.1.6 Plasmid extraction.....	22
2.1.6.1 Plasmid mini preparation .....	22
2.1.6.2 Plasmid medium preparation .....	23
2.1.7 Competent cells.....	24
2.2 Cell culture.....	24
2.2.1 Recovery .....	24
2.2.2 Generation.....	24
2.2.3 Restoration .....	25
2.3 Cell transfection .....	25
2.4 Protein extraction .....	25
2.5 Western Blot.....	26
2.6 Cells/tissue RNA extraction.....	27
2.6.1 Preparation .....	27
2.6.2 RNA extraction .....	27



---

2.6.3 Reverse transcription .....	27
2.7 Luciferase assay .....	28
2.8 Methylation assay .....	28
2.9 Chromatin immunity precipitate (ChIP) .....	30
2.10 Lentivirus and infection .....	30
2.11 Paraffin section.....	31
2.11.1 Liver paraffin embedding.....	31
2.11.2 Immunohistochemistry.....	32
2.11.3 IRS system .....	33
2.12 Mice model .....	33
2.13 Clony formation .....	34
<b>Results and analysis .....</b>	<b>35</b>
<b>1 The expression of Nur77 in carcinoma is lower than para-carcinoma ....</b>	<b>35</b>
<b>2 Nur77 represses hepatic cell proliferation .....</b>	<b>38</b>
<b>3 Nur77 promoter methylation in liver cancer .....</b>	<b>42</b>
<b>4 Snail regulates Nur77 promoter methylation .....</b>	<b>45</b>
<b>5 Snail recruits deacetylase and methyltransferase to Nur77 promoter.....</b>	<b>51</b>
<b>Discussion.....</b>	<b>54</b>
<b>References.....</b>	<b>56</b>
<b>Publications.....</b>	<b>66</b>
<b>Acknowledgement.....</b>	<b>67</b>

## 摘要

Nur77 隶属于类固醇/甲状腺/视黄酸核受体超家族，在细胞增殖、凋亡过程以及肠癌、黑色素瘤的发生发展中发挥着重要的作用。但是，有关 Nur77 与肝癌的研究却比较少。基于 Oncomine 数据库信息，本文研究发现，在临床组织样品中，癌旁组织中 Nur77 的表达远远高于对应肝癌组织中的表达。我们从基因修饰入手，通过甲基化抑制剂 ADC 梯度给药实验最终将目标指向 DNA 甲基化。通过序列比对我们发现，Nur77 启动子上含有转录抑制因子 Snail 特异性结合的 E-box 结构 (CAGGTG)。通过构建稳转过表达或者敲低 Snail 的肝癌细胞，Nur77 在 mRNA 水平、蛋白水平及其启动子活性都与 Snail 呈现一种负相关变化。通过一系列的 ChIP 实验结果，我们证明了在肝癌细胞中，Nur77 启动子与染色质重构因子 HDAC1、HDAC2 和 DNA 甲基转移酶相结合，使得 Nur77 启动子发生 H3K9 去乙酰化和甲基化，由此降低了 Nur77 转录活性，导致 Nur77 在肝癌组织中低表达。

综上所述，本文研究阐明并完善了转录抑制因子 Snail 对 Nur77 启动子的调控，进而影响 Nur77 基因的表达。由于 Snail 能够结合到 Nur77 启动子上的 E-box 结构，招募染色质重构因子和甲基转移酶，使 Nur77 启动子发生 H3K9 去乙酰化和甲基化，降低 Nur77 基因表达。因此，Nur77 可成为一个早期检测乃至治疗肝癌的新型靶点，为肝癌的检测和治疗提供新思路。

关键词：Nur77；Snail；DNA 甲基化；肝癌；启动子

## Abstract

Nur77 is a member of the steroid/thyoid/retinoid nuclear receptor superfamily. Although it plays an important role in cell proliferation, apoptosis, development of colon cancer and melanoma, there is less study focused on Nur77 and hepatocarcinoma. Based on the Oncomine Database information, we found that the expression of Nur77 in para-carcinoma is higher than that in paired carcinoma in clinical samples. Using ADC, the inhibitor of DNA methyltransferase, to treat liver cancer cells, we found a DNA methylation occurred in the Nur77 promoter. By means of sequence alignment, there are five E-boxes (CAGGTG) in the Nur77 promoter, which is responsible for the transcriptional repressor Snail specific binding to Nur77 promoter. Upon overexpression or knockdown of Snail in liver cancer cells, Nur77 was negatively regulated by Snail in mRNA level, protein level and its promoter activity. With a series of ChIP assays, we proved that the Nur77 promoter is combined with chromosome remodelers HDAC1, HDAC2 and DNA methyltransferase, which results in Nur77 promoter acetylation and DNA methylation, thereby decreasing the transcription activity of Nur77, finally inhibiting expression of Nur77 in liver cancer.

In summary, our study clarifies that the transcription repressor Snail can affect Nur77 expression by regulating Nur77 promoter. Snail binds to Nur77 promoter E-box, then recruits chromosome remodelers and DNA methyltransferase to the Nur77 promoter, thereby leading to Nur77 promoter deacetylation in H3K9 and DNA methylation, finally repressing the expression of Nur77. Therefore, Nur77 may be a novel target for liver cancer detection and treatment in clinical, and our study further provides a new strategy to detection and treatment of HCC.

**Key Words:** Nur77; Snail; DNA methylation; Liver cancer; Promoter

## 前言

### 1 孤儿受体 Nur77

Nur77, 也称为 TR3、NGFI-B<sup>[1]</sup>、TIS1<sup>[2]</sup>和 N10<sup>[3]</sup>, 由立早基因 NR4A1 编码, 属于类固醇/甲状腺/视黄酸核受体超家族的一员<sup>[4]</sup>。因其具备核受体特殊的结构特征, 并且目前还没有找到特异性的体内配体, 所以被称为孤儿核受体 (orphan nuclear receptor)。

#### 1.1 Nur77 的发现

1985 年, 为了研究基因在控制细胞生长中所发挥的作用, Lester F.Lau 在 BALB/c 3T3 细胞中, 用过量血清或生长因子进行刺激, 对特定时期基因的表达情况做了一系列实验。他发现, 在过量血清刺激下, 一些基因在几分钟之内便开始表达, 然后又迅速下降。纯化的生长因子和肿瘤促进剂也可以刺激这些基因的表达。由于这些基因在受到外界一定刺激后能迅速地被短暂激活, 并且不需要其他新蛋白的合成, 所以被称为立早基因 (immediate-early gene)<sup>[5]</sup>。1988 年, 他们对所有立早基因的 cDNA 文库进行研究, 分离得到 Nur77。1989 年, Watson 等人在大鼠 PC12 细胞中通过神经生长因子 (NGF) 的刺激, 提取得到了 Nur77 同源物 NGFI-B 的 cDNA, 其编码的蛋白有 61 KD<sup>[6]</sup>。1989 年, Chang 通过类固醇受体超家族 DNA 结合结构域的同源探针在人前列腺 cDNA 文库中提取出了 Nur77 (他称之为 TR3, testicular receptor 3)。TR3 编码的蛋白有 64 KD, 其与小鼠的 Nur77 具有高度同源性<sup>[7]</sup>。

#### 1.2 Nur77 的结构

作为类固醇/甲状腺/视黄酸核受体超家族的一员, Nur77 在结构上可以划分为五个区: A/B、C、D、E 和 F 区, 从功能上可以划分为 N 端的转录激活区 (TAD), 中部的 DNA 结合区 (DBD), 以及 C 端的配体结合区 (LBD)<sup>[8]</sup>。



图 1 Nur77 结构示意图<sup>[8]</sup>

Fig.1 Schematic structure of Nur77

### 1.2.1 TAD

Nur77 的 N 端是其转录激活结构域(amino-terminal transaction domain, TAD), 包括 A/B 区, 其中 AF-1 (activation function-1) 结构域不仅能够通过一些转录辅激活因子的招募来提高转录激活能力<sup>[9]</sup>, 而且因其含有很多磷酸化位点, 所以可以被磷酸化来影响转录激活能力<sup>[10]</sup>。

### 1.2.2 DBD

Nur77 的中部是 DNA 结合结构域 (DNA binding domain, DBD), 包括 C 区, 其氨基酸序列保守性最强。该区含有两个锌指结构域和两个核定位序列, 前者控制 Nur77 与 DNA 的结合, 后者控制 Nur77 的定位<sup>[11]</sup>。

### 1.2.3 LBD

Nur77 的 C 端是配体结合结构域 (ligand binding domain, LBD), E 区的一部分, 是 Nur77 与配体直接结合的部位, 但至今其特异性配体还没有找到。E/F 区还包含一个 AF-2 结构域以及三个核输出信号序列<sup>[12]</sup>。

## 1.3 Nur77 的表达与分布

作为一种立早基因, Nur77 可以被血清、表皮生长因子<sup>[13]</sup>等刺激诱导并迅速地短暂高表达<sup>[14]</sup>。此外, 诸如一些凋亡因子<sup>[15]</sup>、成纤维细胞生长因子<sup>[16]</sup>以及血小板表皮生长因子<sup>[17]</sup>也可以发挥类似的作用。

Nur77 在很多组织器官中都有表达，例如：肾上腺、肝脏、肌肉、脂肪<sup>[18]</sup>，并且发挥着很大的调控作用。另外，Nur77 在癌/癌旁组织中的表达存在一定的差异。例如，在胰腺癌中，Nur77 的表达为癌组织高于癌旁组织<sup>[19]</sup>；而在肝癌中，则是癌旁高于癌组织<sup>[20]</sup>。

#### 1.4 Nur77 与蛋白的相互作用

研究表明，Nur77 可以通过与很多酶、底物蛋白质发生结合，引起 Nur77 或者底物蛋白生物活性的改变，从而调控它们的生理活性。例如，当 Nur77 与甲基化酶 PRMT1 的催化活性结构域结合时，就会使其甲基化活性被抑制<sup>[21]</sup>。而当糖皮质激素受体（glucocorticoid receptor, GR）与 Nur77 的 DBD 结合时，Nur77 的转录活性就会被抑制。当 GR 的第 461 位赖氨酸（Lys）突变为精氨酸（Arg）时，在不激活 AP-1 和 NF- $\kappa$ B 的情况下，仍然可以抑制 Nur77 的转录活性，进一步证明 GR 不是通过调控 Nur77 上游基因来影响 Nur77，而是通过直接与 Nur77 相互结合来抑制其转录激活活性的<sup>[22]</sup>。当乙酰化酶 p300 与 Nur77 相互结合时，p300 的乙酰基转移酶的活性就会被抑制，其下游蛋白如 ER、AR、GR 等转录因子的乙酰化受到抑制，进一步抑制了它们的转录激活活性<sup>[23]</sup>。

#### 1.5 Nur77 的磷酸化

磷酸化修饰是 Nur77 一种重要的翻译后修饰，共 598 个氨基酸残基的 Nur77，包含 69 个丝氨酸残基（Ser）、29 个苏氨酸残基（Thr）以及 15 个酪氨酸残基（Tyr），如此高的比例为其发生磷酸化修饰提供了可能<sup>[24]</sup>。研究表明，PKA 使得 Nur77 第 327、340、350 位丝氨酸发生磷酸化，其中，第 327 和 350 位丝氨酸的磷酸化会导致 Nur77 结合 DNA 的活性下降，进而影响其转录活性<sup>[25]</sup>。磷酸化修饰对 Nur77 亚细胞定位也有一定的影响。NGF 刺激 PC12 细胞时，MAPK 会磷酸化 Nur77 第 105 位丝氨酸，暴露出其 DND 区域的核输出信号，导致 Nur77 转运到细胞浆<sup>[26]</sup>。

## 1.6 Nur77 的生物学功能

### 1.6.1 Nur77 与增殖

作为一种受到生长因子刺激的立早基因，Nur77 在细胞增殖过程中发挥着既可以促进增殖又可以抑制增殖的双向作用。一方面，由于 Nur77 蛋白水平会在生长因子和有丝分裂原刺激下提高，Nur77 一般被认为是促进增殖的。例如，在肺癌细胞系中，Nur77 在血清的刺激下，可以促进增殖<sup>[27]</sup>。在前成脂肪细胞中，Nur77 调控 Cyclin D 和 Cyclin E，促进细胞的增殖<sup>[28]</sup>。我们实验室发现，蛋白异构酶 Pin1 可以使 Nur77 异构化，募集 p300 进而使 Cyclin D2 表达提高，促进了细胞的增殖。另一方面，Nur77 在一些情况下也会抑制细胞的增殖。在研究血管平滑肌细胞增殖的实验中，对小鼠进行颈动脉结扎，发现过表达 Nur77 的转基因小鼠血管平滑肌细胞增殖速度比野生型小鼠慢；而低表达 Nur77 的转基因小鼠则表现出血管平滑肌细胞比野生型小鼠增殖快的现象<sup>[29]</sup>。我们实验室在肝癌的研究中发现，无论是细胞、小鼠还是临床组织中，Nur77 都会抑制增殖。

### 1.6.2 Nur77 与凋亡

1994 年，通过比较负显性突变体 DN-Nur77 小鼠和表达 Nur77 小鼠提取的胸腺细胞的凋亡率，发现后者的凋亡率高于前者，Woronicz 首次证实了 Nur77 促进细胞凋亡这一现象<sup>[30]</sup>。

关于 Nur77 调控凋亡的机制，至今存在两种观点。一种观点认为 Nur77 可以启动与凋亡相关的基因表达，进而来诱导凋亡的发生。作为一种转录因子<sup>[31]</sup>，在 TPA 诱导 LNCaP 细胞凋亡的过程中，Nur77 表达提高，启动了凋亡相关基因 E2F1 的表达，进而实现了凋亡的发生<sup>[32]</sup>。另外一种观点则认为，Nur77 是通过靶向线粒体进而触发细胞凋亡的发生。当 Nur77 靶向定位到线粒体膜时，线粒体膜通透性增强，会释放诸如 caspases 酶前体、细胞色素 C 等凋亡前体分子，同时，一种激活核酸酶的凋亡诱导因子的释放也会增强，最终启动了凋亡生理现象<sup>[33]</sup>。

## 2 DNA 甲基化修饰

所谓 DNA 甲基化 (DNA methylation) 是指通过 DNA 甲基转移酶的作用, 基因组 CpG 岛内二核苷酸的胞嘧啶第 5 位碳原子共价结合一个甲基基团。作为一种基因修饰, DNA 甲基化很早便为人所知, 并且是一种稳定的、可遗传的修饰。很多高等生物细胞中, 在 DNA 合成之后, 胞嘧啶会发生甲基化修饰<sup>[34]</sup>。很多研究结果表明, DNA 甲基化会导致染色体结构、DNA 与蛋白质相互作用方式、DNA 构象和 DNA 稳定性等的改变, 进一步调控基因的转录表达。DNA 甲基化修饰在表观遗传学和表观基因组学研究中占有重要地位。

### 2.1 DNA 甲基化的发现

1961 年, Josse<sup>[35]</sup>和 Swartz<sup>[36]</sup>在研究 DNA 序列时发现, 很多动物的 DNA 序列中, CpG 序列的含量总是低于理论计算得到的含量。例如, 在人的 DNA 中, 当鸟嘌呤 (G) 和胞嘧啶 (C) 的总含量占 DNA 脱氧核糖核苷酸含量的比例为 0.4 时, 按照数学概率计算得到 CpG 的比例应当是  $0.2 \times 0.2 = 0.04$ 。然而, 实际上 CpG 出现的概率为 0.008, 即远远低于理论值。基于这种情况, 1977 年, Salser 等提出, CpG 含量的降低是由于 DNA 发生了甲基化修饰, 因为在动物中, CpG 是主要的甲基化序列。近年来, 新的科研进展也再次证明这一观点<sup>[37]</sup>。

随着对基因组甲基化研究的深入, 科学家发现, 无论是原核生物还是真核生物, 基因组都存在甲基化修饰。在原核生物中, DNA 甲基化在胞嘧啶和腺嘌呤脱氧核糖核苷酸残基上, 并且会发生在一些持家系统中<sup>[38]</sup>。然而, 在多细胞真核生物中, 甲基化几乎限定在胞嘧啶脱氧核糖核苷酸残基上, 并且与限制染色体状态和抑制基因表达相关<sup>[39]</sup>。科学家还发现, 在小鼠中, 甲基化对于生长发育至关重要, 因为当靶向敲除 DNA 甲基转移酶时会导致小鼠致死<sup>[40]</sup>。

在机体处于正常状态时, 人类基因组中的垃圾序列含有数量比较少 CpG 二核苷酸序列, 而且常常是甲基化状态。在人类基因组中, 大小介于 100-1000 bp 并且含有数量较多 CpG 二核苷酸序列的 CpG 岛往往是非甲基化状态, 负责一半以上基因组的编码。在结构基因中, CpG 含量比较高, 约 60%~90% 的 CpG 结构会发生甲基化, 当 CpG 没有被甲基化, 会以成簇的形式组成 CpG 岛。结构基



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库