

KRAB 型锌指蛋白的进化及在物种演化中的功能

王进龙, 王建, 田春艳

军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 国家蛋白质科学中心(北京), 国家蛋白质组学重点实验室, 蛋白质药物
国家工程研究中心, 北京 102206

摘要: C2H2 型锌指蛋白家族是目前发现的哺乳动物中最大的转录/转录调控因子家族, 由一小群古老的含有真核锌指结构的转录因子经过多次基因复制和功能分化演化而来。KRAB 型锌指蛋白(KRAB-containing zinc finger proteins, KRAB-ZFPs)作为 C2H2 型锌指蛋白家族中最大的亚家族, 最早出现在四足脊椎动物, 并随物种的进化数量快速增长, 在人类中占据 C2H2 型锌指蛋白的 60%左右。在物种演化中, 进化压力主要改变 KRAB-ZFPs 的 DNA 结合能力, 而 KRAB-ZFPs 介导的转录抑制能力则稳定存在。同时, 多种 KRAB-ZFPs 能够与 KRAB 相关蛋白 1(KRAB-associated protein 1, KAP1)协同作用沉默哺乳动物中反转录元件的活性, 并与之协同进化, 严格限制反转录原件的跳跃能力。本文综述了 KRAB-ZFPs 的数量倍增、锌指结构的灵活多变、KRAB-ZFPs/KAP1 的转录抑制能力和反转录元件的跳跃性在促进哺乳动物调控网络的差异、基因组稳定性的变化和物种进化中的作用, 旨在进一步揭示 KRAB-ZFPs 在推动物种稳定演化中的特点和功能。

关键词: KRAB; 锌指; KRAB-ZFPs; 进化; KAP1; 转座子

Evolution of KRAB-containing zinc finger proteins and their roles in species evolution

Jinlong Wang, Jian Wang, Chunyan Tian

State Key Laboratory of Proteomics, National Center for Proteomics Science (Beijing), China National Engineering Research Center for Protein Drugs, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 102206, China

Abstract: The C2H2 zinc finger protein family, one of the largest families of transcription factor/transcriptional regulator in mammal, arose from a small ancestral group of eukaryotic zinc finger transcription factors through many repeated gene duplications accompanied by functional divergence. As the biggest subfamily of C2H2 zinc finger protein family, Kruppel-associated box-containing zinc finger proteins (KRAB-ZFPs) appeared at the period oftetrapod, expand rapidly along with species evolution, and take about 60% of the total C2H2 zinc finger proteins in human.

收稿日期: 2016-06-07; 修回日期: 2016-08-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31270799), 北京市自然科学基金项目(编号: 5142019)和国家国际科技合作专项项目(编号: 2014DFB30020)
资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 31270799), Beijing Municipal Natural Science Foundation(No. 5142019)

and International Science & Technology Cooperation Program of China(No. 2014DFB30020)]

作者简介: 王进龙, 硕士研究生, 专业方向: 生物化学与分子生物学。E-mail: wang993476@163.com

通讯作者: 王建, 博士, 副研究员, 研究方向: 蛋白质相互作用、炎症与免疫调控。E-mail: wangj@bmi.ac.cn

田春艳, 博士, 副研究员, 研究方向: 基因的转录调控。E-mail: tiancy@bmi.ac.cn

DOI: 10.16288/j.yczs.16-056

网络出版时间: 2016/9/22 13:52:35

URI: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20160922.1352.002.html>

During species evolution, the DNA binding ability of KRAB-ZFPs is changed while the KRAB-ZFPs-mediate transcriptional repression ability maintains stable under the evolution pressure. Moreover, multiple KRAB-ZFPs function synergistically with KAP1 on transcriptional silencing of retroelements, and the coevolution between KRAB-ZFPs and target retrotransposons restrict the jumping ability of the retroelements. In this review, we summarize the roles of KRAB-ZFPs duplication, the flexibility of zinc finger structure, transcriptional repression of KRAB-ZFPs/KAP1 and retroelement “jump” in promoting the divergence in regulatory network, stable genome change and species evolution, in order to reveal the characters and functions of KRAB-ZFPs in driving species evolution stably.

Keywords: KRAB; zinc finger; KRAB-ZFPs; evolution; KAP1; transposons

在哺乳动物进化过程中, 大部分的转录因子家族具有结构和功能的保守性, 而作为目前哺乳动物中最大的转录调控因子家族, C2H2 型锌指蛋白家族却具有种系特异性^[1,2]。C2H2 型锌指蛋白起源于一小群古老的含有真核锌指结构的转录因子, 随后经过多次基因的复制和功能分化, 最终进化出多种 C2H2 型锌指蛋白亚家族^[3]。根据 N 端结构域的不同, C2H2 型锌指蛋白家族基因可分为 4 个亚家族, 分别是指相关盒(Finger-associated boxes, FAX)型亚家族、指相关重复子(Finger-associated repeats, FAR)型亚家族、pox 病毒和锌指(Pox virus and zinc fingers, POZ)型亚家族和 Krüppel 相关盒(Krüppel-associated box, KRAB)型亚家族。KRAB 型锌指蛋白(KRAB-ZFPs)是 C2H2 型锌指蛋白家族中最大的亚家族, 占人类 C2H2 型锌指蛋白总数的 60%^[4,5]。

经典的 KRAB-ZFP 结构由两部分组成, 分别是 N 端的 KRAB 结构域和 C 端串联重复的锌指结构域(ZNFs)。KRAB 结构域主要与 TRIM 家族(tripartite motif family)的 KAP1 相互作用, 共同行使基因转录抑制的功能, 而锌指结构域主要介导锌指蛋白与 DNA 序列的结合。

目前多数 KRAB-ZFPs 家族的基因功能依然未知, 但是 KRAB-ZFPs 的普遍作用机制为: 通过 KRAB 结构域与 KAP1 结合, 并以 KAP1 为支架蛋白, 招募异染色质蛋白 1(Heterochromatin protein 1, HP1)、组蛋白去乙酰化酶(Histone deacetylases, HDACs)和部分组蛋白甲基转移酶(比如 SET 结构域分歧分子 1(SET domain bifurcated 1, SETDB1))等形成转录沉默复合物, 通过锌指结构域与基因组的特异位点或与其他转录因子结合, 在相应位点形成异染色质, 诱发基因沉默^[6,7]。同时, 在胚胎形成早期, KRAB-

ZFPs 和 KAP1 通过共同介导组蛋白甲基化、组蛋白去乙酰化和 DNA 甲基化等, 诱发内源反转录元件的特异性沉默, 导致染色体表观遗传修饰的广泛变化, 从而维持基因组的稳定性^[8]。

KRAB-ZFPs 家族是 C2H2 型锌指蛋白家族中进化上最年轻、数量最大的亚家族。此家族出现于四足脊椎动物时期, 并进化迅速, 其数目在人类基因组中高达 423 种(表 1), 数量明显多于小鼠(*Mus musculus*), 而人和小鼠的 C2H2 型锌指蛋白的基因数量远远多于其他在进化上更低等的物种^[3,9]。KRAB-ZFPs 的数量之所以急剧增加, 是由于此家族成员以种系特异性方式发生复制、扩增和缺失, 因此物种间直系同源的锌指蛋白也存在一定的差异。同时 KRAB-ZFPs 在基因组中成簇分布, 90% 的 KRAB-ZFPs 分布于染色体的 65 个基因簇上, 尤其是在 19 号染色体上有 231 个基因分布在 10 个基因簇上。而 C2H2 型锌指蛋白的其他几种亚家族成员却常常单独存在^[4]。以 BTB 结构域(Broad-Complex, Tramtrack 和 Bric-a-brac)为 N 端专有结构域的 POZ 型锌指蛋白存在于从酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)到人几乎所有物种中, 不具有世系特异性, 在基因组中也不成簇分布^[1]。基于 KRAB-ZFPs 家族在进化中的独特性, 本文通过对其进化特点及其在物种演化中的功能进行了综述, 以期加深人们对 KRAB-ZFPs 功能的了解。

1 KRAB-ZFPs 在物种进化中的作用

KRAB-ZFPs 基因是由后口动物和棘皮动物时期的 Meisetz(*PRDM9*)基因进化而来。Meisetz 最初的功能是作为 H3K4 甲基转移酶发挥转录激活作用, 而非 KRAB-ZFPs 常见的转录抑制作用^[10,11]。随后,

表 1 锌指蛋白家族和结构域信息汇总

Table 1 Summary of Poly-ZF family and domain

物种	Poly-ZF	BTB	KRAB	SCAN
人(<i>Homo sapiens</i>)	712	50	423	53
小鼠(<i>Mus musculus</i>)	583	44	219	38
牛(<i>Bovine</i>)	482	41	106	28
狗(<i>Canis lupus familiaris</i>)	329	41	61	17
原鸡(<i>Gallus gallus</i>)	224	26	33	0
非洲爪蟾(<i>Xenopus laevis</i>)	347	30	21	0
斑马鱼(<i>Barchydanio rerio var</i>)	405	46	0	0
红鳍东方鲀(<i>Takifugu rubripes</i>)	364	41	0	0
黑腹果蝇(<i>Drosophila melanogaster</i>)	251	11	0	0
冈比亚按蚊(<i>Anopheles gambiae</i>)	263	9	0	0
玻璃海鞘(<i>Ciona intestinalis</i>)	103	7	0	0
秀丽隐杆线虫(<i>Caenorhabditis elegans</i>)	108	1	0	0

注：表中展示了多种物种中锌指蛋白的总数以及含有 BTB、KRAB 和 SCAN 结构域成员的数目^[3,9]。

在四足脊椎动物的进化过程中, KRAB-ZFPs 在每一类脊椎动物中以种系特异性方式发生复制、扩增和缺失, 其数目和种类均出现相互独立地增加, 最终导致一大批种系特异性锌指蛋白涌现出来, 因此直系同源的锌指蛋白也会表现出一定程度的 DNA 指纹差异^[12]。同时, KRAB-ZFPs 这种种系特异的数量增加与生物的复杂度密切相关, 以人鼠为例, 人类细胞转录组水平上 KRAB-ZFPs 基因的 mRNA 丰度远高于小鼠。

KRAB-ZFPs 家族在胞内调控网络复杂度形成中也发挥着巨大作用。与其他组织器官相比, 大脑和胚胎中 C2H2 型锌指蛋白的表达在种类和丰度上都占有优势, 而在癌组织中 C2H2 型锌指蛋白的表达明显减少^[13], 表明组织解剖结构复杂度越高, 相应的胞内调控网络的复杂程度和精细程度也越高, 而细胞的恶化也往往与胞内调控网络的简单化相关^[13]。所以锌指蛋白和癌症发生、生物进化密切相关, 锌指蛋白的数量倍增推动了生物进化进程^[12,13]。

新倍增的 KRAB-ZFPs 基因肯定需要某些机制保证其在基因组中稳定存在和继续演化。Vogel 等^[14]发现, 在 CBX1(异染色质蛋白 1 β , HP1 β)形成的异染色质结构中包含有 KRAB-ZFPs 基因, 而 CBX1 又与 KRAB-ZFPs 基因的 3'末端处发生特异性结合。已知异染色质蛋白具有抑制裂殖酵母配型位点和

rDNA 重复序列非正确重组及果蝇减数分裂重组的功能^[15,16]。因此, 异染色质环境增强了 KRAB-ZFPs 基因的 C 端锌指区串联重复 DNA 结构的稳定性, 促进了 KRAB-ZFPs 的遗传稳定性。事实上第 19 号染色体中几乎所有 KRAB-ZFPs 基因都可以被 CBX1 结合^[14], 由此可以推测 CBX1 对维持 KRAB-ZFPs 基因稳定复制和推动 KRAB-ZFPs 基因数量膨胀性增长具有重要意义。

2 N 端结构域的演化

KRAB 结构域主要介导 KRAB-ZFPs 与蛋白质(比如共抑制子或其他转录因子)之间的相互作用, 而引起相关基因的转录抑制^[17]。KRAB 结构域主要由一个 A 框和一个 B 框组成。A 框主要通过结合共抑制子发挥转录抑制作用, B 框可增强 A 框的抑制效应^[18]。

通常情况下, 根据 KRAB 结构域的不同, KRAB-ZFPs 可分为 3 个亚型(A+B、A+b 和 A), 其中 KRAB A+b 和 KRAB A 亚型是由 KRAB A+B 亚型分化而来, 但 KRAB A+B 亚型依然是人类 KRAB 型锌指蛋白的最主要成员^[19](图 1)。在小鼠中 KRAB 结构域中 A 框是保守的, 却常常缺失 B 框。A 框和 B 框是由分隔开的外显子翻译而来, 这种模块化方式在一定程度上促进了 KRAB-ZFPs 新功能的获得。在一些 KRAB-ZFPs 中还出现有不常见的 KRAB-BL 和 KRAB-

C 结构域^[9]。

有些 KRAB-ZFPs 蛋白的 N 端还有一个保守的 SCAN 结构域(源于最初揭示这种结构域的文章中介绍的含此种结构域的 4 个分子的名字: SRE-ZBP、CTfin51、AW-1 和 Number 18 cDNA), 按照模块结构分为两类: 分别是 SCAN-KRAB-(C2H2)_x 和 KRAB-SCAN-KRAB-(C2H2)_x(图 1)。在 SCAN-KRAB-(C2H2)_x 中, SCAN 结构域位于 KRAB 结构域的 N 端, 而 KRAB 结构域有 A+B 和 A 两种形式, 依然行使转录抑制的功能。在 KRAB-SCAN-KRAB-(C2H2)_x 中, SCAN 结构域位于两个 KRAB 结构域之间^[1]。SCAN 结构域具有介导 SCAN 型锌指蛋白形成同源或异源二聚体的作用, 但是不具备转录激活或抑制功能。

哺乳动物和蜥蜴(*Anolis carolinensis*)等爬行动物的一些 KRAB-ZFPs 中含有 SCAN 结构域, 而蟾蜍(*Xenopus laevis*)和鸡(*Gallus gallus*)中却未出现。说明在羊膜动物分支时期 KRAB-ZFPs 才获得 SCAN 结构域, 随后又在某些物种中丢失^[20]。SCAN 结构域与 gag 衣壳蛋白的 C 端高度同源, 预示着 SCAN 结构域可能由一个反转录转座子插入 KRAB-ZFPs 基因中并稳定存在引起。

3 锌指结构对生物进化适应性的影响

转录调控网络的差异是导致物种间表型差异的一个重要决定因素^[21]。顺式作用元件或反式作用因

子的改变是决定生物调控网络进化的两种方式^[22]。

发生在转录因子中的突变可能会影响多个基因的表达, 因此反式作用因子的改变更有可能是导致物种差异的决定性因素。KRAB-ZFPs 的锌指在数目和氨基酸序列上都表现了很强的灵活性^[23]。因此, 在决定物种进化中, KRAB-ZFPs 基因可能发挥着重大作用。

人类 KRAB-ZFPs 基因中串联重复的锌指平均数目约为 8 个, 最大数目可高达 36 个。串联重复的锌指结构域通常是由 KRAB-ZFPs 基因 3'末端的单个外显子编码而成^[3,9,24]。

锌指与 DNA 结合的模型如下: 单个锌指的 α 螺旋直接与 3 个连续核苷酸和反义互补链上对应的 1 个核苷酸相互作用^[25]。锌指的环状结构包含有 2 个半胱氨酸和 2 个组氨酸, 这 4 个氨基酸残基分别位于正四面体的顶角, 与四面体中心的锌离子配位结合, 稳定锌指结构。一般来说, 锌指的串联重复特性赋予了 KRAB-ZFPs 特异结合一长串核苷酸序列的能力, 增强了 KRAB-ZFPs 基因的特异性。在 KRAB-ZFPs 中, 并不是所有锌指都参与结合核苷酸序列, 有些还参与介导与其他蛋白质的相互作用^[26]。

除了特异识别特定的 DNA 位点, C2H2 型锌指蛋白还能以模块化方式适应性识别新的位点。这种结合模型在多个子囊菌类物种间是普遍存在的。在果蝇属物种的直系同源转录因子中, C2H2 型锌指的 DNA 结合差异普遍存在, 而且这种差异是以渐进的、进化可行性的方式发生^[27]。目前没有直接证据证实

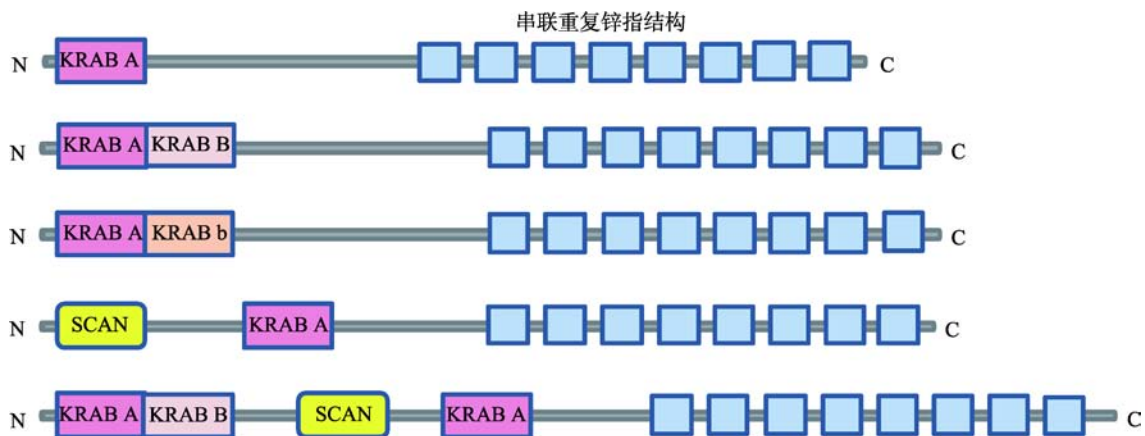


图 1 KRAB 型锌指蛋白的基本结构示意图

Fig. 1 Schematic diagram of KRAB-containing zinc finger proteins

锌指蛋白的实际锌指数目为 4~36 个, 平均数目为 8 个; 大部分 KRAB 结构域含有 A 框和 B 框, 有些则含有变异体形式的 b 框, 还有一些成员包含有 SCAN 结构域; N 表示 N 端, C 表示 C 端。

该模型在哺乳动物中是否存在。因此, 锌指蛋白这种适应性结合新位点的特性缓和了自然选择的阴性多效性, 增强了物种的进化适应性。

在灵长目动物演化过程中, ZNF91 和 ZNF93 都通过改变自身的锌指结构域改变转录抑制能力。在 1200~800 万年前, ZNF91 经历了增加 7 个锌指的结构变化, 获得了抑制 SINE-VNTR-Alu 复合元件(Short interspersed element -variable number tandem repeat -Alu, SVA)反转录转座子的能力。而 ZNF93 在 1800~1200 万年前通过去除 4 个锌指, 进一步提高了抑制长散在元件(Long interspersed nuclear elements 1, L1)转录活性的能力^[24]。目前, 关于哺乳动物中 KRAB-ZFPs 基因锌指结构变化的研究依然很少。

在进化过程中, KRAB-ZFPs 基因锌指区的频繁倍增或缺失和序列低保守性最终导致转录因子形成新的特异性结合^[23]。因此锌指区结构的这种重复型和灵活性增强了锌指蛋白的适应性。

4 KRAB-ZFPs/KAP1 与反转录转座子的共进化与物种进化

人类基因组的一半以上来源于移动元件, 而大部分移动元件是由反转录转座子的延伸产生。反转录转座子被认为是古老病毒感染宿主后遗留的痕迹, 其转录产生的 RNA 中间产物发生逆转录后, 形成的 DNA 产物与基因组整合导致反转录转座子的延伸^[28]。L1 是人类基因组中唯一具有活性的自发性转座子, 在人类基因组中约有 500 000 个拷贝, 一共组成了染色体 DNA 总量的 20%^[29]。转座子的跳跃大多是中性的, 但也可能导致正常基因失活甚至引发癌症, 而且生殖细胞系的转座子跳跃还可能导致不育。因此, 自然选择更倾向于通过某些机制阻止转座子的跳跃活性, 保证转座子只能伴随基因组进行复制。

在人类胚胎细胞中, 与 KRAB-ZFPs 协同作用的 KAP1 可以抑制 L1 元件中两个谱系的转录活性, 这两个谱系分别是在 2680~760 万年前和 560~380 万年前进入人类祖先基因组中^[30~32]。在小鼠中, KRAB-ZFPs 中的 ZFP809 能够结合插入到基因组中的小鼠白血病病毒 DNA 元件, 并招募 KAP1 抑制病毒元件活性^[33,34], 同时小鼠胚胎干细胞中的 Gm6871(一种 KRAB-ZFP)也能够与 L1 结合^[31]。说明在机体中,

KRAB-ZFPs 这个快速进化的蛋白家族可能参与全面的 L1 重组调控。同时, KRAB-ZFPs 与反转录转座子之间存在共进化关系。在人类祖先的基因组中, 当反转录转座子 SVA 和 L1 开始延伸时, ZNF91 和 ZNF93 迅速进化, 并分别抑制它们的活性; 随后, SVA 和 L1 也会不断进化, 以摆脱这两种蛋白的抑制^[24]。Lukic 等^[35]证实, 能够结合反转录元件的人类 KRAB-ZFPs 基因簇大多位于 19 号染色体的拷贝数目变异(Copy number variations, CNV)热区, 这也就保证了一大批多样化的串联重复锌指的涌现。因此, 这些 KRAB-ZFPs 具备有多样化的 DNA 结合亲和力和保守的转录抑制功能。在人类基因组中, 这种可抑制内源反转录元件活性的 KRAB-ZFPs 基因数量高达 195 种, 而且它们对反转录元件亲和力的获得与这些元件的基因组入侵几乎发生在同一时间^[35]。

内源反转录元件入侵到基因组之后, 首先受到机体 RNA 干扰等机制的不完全限制, 这样依然会有少量反转录转座发生, 随后一些 KRAB-ZFPs 基因发生进化并结合反转录元件, 导致了反转录元件的活性受到完全抑制。然后极少数反转录元件序列以累积突变的形式摆脱 KRAB-ZFPs 的限制, 重新获得转座活性, 逐步代替原来反转录元件, 并占据优势^[36]。新型转座子又进一步刺激新型 KRAB-ZFPs 基因的涌现。从进化的时间尺度来看, 古老的反转录元件会因不断积累突变, 逐渐失去反转录转座的潜能, 而少数元件因行使对宿主有利的功能, 最终在基因组中得到保留, 比如通过提供启动子或者增强子, 从而联通某些转录网络或一些执行生理功能的蛋白。因此, KRAB-ZFPs/KAP1 体系与反转录元件之间动态的相互作用保证了基因组的稳定进化^[36]。

以上内容印证一个观点: KRAB-ZFPs 基因的数量增长和进化限制了新入侵反转录转座子的活性, 而这些反转录转座子通过积累突变又进一步刺激种系特异性 KRAB-ZFPs 基因数目的快速增加。KRAB-ZFPs 与 KAP1 以普遍机制诱发转录抑制后, 还能进一步招募 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferases, DNMTs), 使转座子出处产生稳定的沉默标志^[6,7,37,38]。在个体发育过程中, 即使反转录转座子不再持续表达, 这种沉默标志依然能够维持下去^[37]。

在物种趋异的过程中, 种群积累突变, 最终导

致彼此不相容,产生杂交不育或子代生存不能。这种物种间不相容,主要是由等位基因两个或多个位点间有害的相互影响引起,被称为杜布赞斯基-缪勒模型(Bateson-Dobzhansky-Muller incompatibilities, BDMIs)^[39]。合子后生殖隔离是 BDMIs 的一种主要形式,而引起哺乳动物间 BDMIs 现象的分子机制仍不清楚。Nowick 等^[40]认为,涉及 BDMIs 现象的基因应该有以下 3 种倾向:(1)加速进化;(2)通过与 DNA、RNA 或蛋白质相互作用,影响染色质的构象调控基因的表达;(3)参与精子发生。而 KRAB-ZFPs 基因家族满足这些要求,因此很有可能在哺乳动物的合子后生殖隔离中发挥作用。ZNF9(Prdm9)就是 KZNF-ZFPs 家族中鉴定到的第一个哺乳动物杂交不育基因^[40-43]。通过解析涉及杂交不亲和的分子通路和相互作用网络,进一步研究 KRAB-ZFPs 功能也是一个重要的研究策略。

5 结语与展望

目前, KRAB 型锌指蛋白的相关研究主要集中于单个基因功能和机制,或者通过比较几种已知基因组序列的物种中 KRAB 型锌指蛋白家族的异同,总结一些 KRAB-ZFPs 基因的基本特征。此外, Jacobs 等^[24]发现,在灵长类的演化过程中,反转录转座子 SVA/L1 与其控制基因 ZNF91/93 之间上演一场控制与逃脱控制的进化竞争,在一定程度上拓宽了人们对 KRAB-ZFPs 与物种进化之间的认识。但是,此家族在进化和多种生理病理过程中的功能需要进一步深入研究。

首先,关于 KRAB-ZFPs 家族演化的机制和动力与物种进化之间的关系,目前仍知之甚少。目前仍然难以解释在进化适应性中,转录因子与 DNA 结合特异性是如何改变的^[23,27]。低等生物中,锌指蛋白可以适应性识别新的 DNA 位点,增加了人们对 ZF-DNA 结合的理解,但是这些理论也不一定完全适用于高等动物。Persikov 等^[44]创建了锌指结构与 DNA 结合的文库,有利于人们成功地设计、发现和预测锌指结构与 DNA 的相互作用,将为人们设计和改造 DNA 结合特异性锌指蛋白提供了巨大的帮助。

同时,驱动 KRAB-ZFPs 数目快速增长和结构灵活多变的进化力量依然是个谜, KRAB-ZFPs 最初可

能是一种获得性的、用于对抗外源 DNA 的基因组监管系统,最终进化形成完善的 KRAB-ZFPs/KAP1 体系,并与 L1 相互作用共同推动基因组进化^[45]。反转录转座子与 KRAB-ZFPs/KAP1 体系之间的此消彼长可能是推动物种分化、生殖隔离产生和新物种形成的动力之一。

其次,尽管人和小鼠中已鉴定或通过生物信息分析预测到上百种 KRAB-ZFPs 的 DNA 和蛋白质序列,但是此家族大多数成员的生物学功能尚未阐释^[45]。

KRAB-ZFPs 基因家族具有丰富的生物学功能,广泛参与调控神经发育、认知、胚胎发育、核仁维持、生殖、分化、免疫调节、细胞增殖、凋亡、癌变和细胞周期等生理生化过程^[19,46-48]。比如 Apak (ZNF420)作为 p53 的负调控因子,抑制 p53 介导的细胞凋亡过程^[49,50]; ZFP57 在维持人与小鼠胚胎的基因组印记中具有重要功能; ZFP568 是神经干细胞维持和脑容量调节基因^[51]; ZNF157 调节小鼠乳腺发育^[52]。此外, KAP1 和 rs12(Zfp429)也分别与肝脏代谢、性别分化有关^[53,54]。KRAB-ZFPs 在以上多种生理病理过程中功能的研究将成为 KRAB-ZFPs 研究领域的重点和热点。

参考文献(References):

- [1] Collins T, Stone JR, Williams AJ. All in the family: the BTB/POZ, KRAB, and SCAN domains. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(11): 3609-3615. [DOI]
- [2] Stubbs L, Sun Y, Caetano-Anolles D. Function and evolution of C₂H₂ zinc finger arrays. *Subcell Biochem*, 2011, 52: 75-94. [DOI]
- [3] Emerson RO, Thomas JH. Adaptive evolution in zinc finger transcription factors. *PLoS Genet*, 2009, 5(1): e1000325. [DOI]
- [4] Tadepally HD, Burger G, Aubry M. Evolution of C₂H₂-zinc finger genes and subfamilies in mammals: species-specific duplication and loss of clusters, genes and effector domains. *BMC Evol Biol*, 2008, 8: 176. [DOI]
- [5] Tian CY, Zhang LQ, He FC. Progress in the study of KRAB zinc finger protein. *Hereditas (Beijing)*, 2006, 28(11): 1451-1456.
田春艳, 张令强, 贺福初. KRAB 型锌指蛋白(KZNF)的研究进展. *遗传*, 2006, 28(11): 1451-1456. [DOI]
- [6] Schultz DC, Ayyanathan K, Negorev D, Maul GG, Rauscher FJ. SETDB1: a novel KAP-1-associated histone

- H3, lysine 9-specific methyltransferase that contributes to HP1-mediated silencing of euchromatic genes by KRAB zinc-finger proteins. *Genes Dev*, 2002, 16(8): 919–932. [DOI]
- [7] Ivanov AV, Peng H, Yurchenko V, Yap KL, Negorev DG, Schultz DC, Psulkowski E, Fredericks WJ, White DE, Maul GG, Sadofsky MJ, Zhou MM, Rauscher FJ. PHD domain-mediated E3 ligase activity directs intramolecular sumoylation of an adjacent bromodomain required for gene silencing. *Mol Cell*, 2007, 28(5): 823–837. [DOI]
- [8] Rowe HM, Trono D. Dynamic control of endogenous retroviruses during development. *Virology*, 2011, 411(2): 273–287. [DOI]
- [9] Huntley S, Baggott DM, Hamilton AT, Tran-Gyamfi M, Yang S, Kim J, Gordon L, Branscomb E, Stubbs L. A comprehensive catalog of human KRAB-associated zinc finger genes: insights into the evolutionary history of a large family of transcriptional repressors. *Genome Res*, 2006, 16(5): 669–677. [DOI]
- [10] Birtle Z, Ponting CP. Meisetz and the birth of the KRAB motif. *Bioinformatics*, 2006, 22(23): 2841–2845. [DOI]
- [11] Kono H, Tamura M, Osada N, Suzuki H, Abe K, Moriwaki K, Ohta K, Shiroishi T. *Prdm9* polymorphism unveils mouse evolutionary tracks. *DNA Res*, 2014, 21(3): 315–326. [DOI]
- [12] Liu H, Chang LH, Sun Y, Lu XC, Stubbs L. Deep vertebrate roots for mammalian zinc finger transcription factor subfamilies. *Genome Biol Evol*, 2014, 6(3): 510–525. [DOI]
- [13] Vinogradov AE. Human more complex than mouse at cellular level. *PLoS One*, 2012, 7(7): e41753. [DOI]
- [14] Vogel MJ, Guelen L, de Wit E, Peric-Hupkes D, Lodén M, Talhout W, Feenstra M, Abbas B, Classen AK, van Steensel B. Human heterochromatin proteins form large domains containing KRAB-ZNF genes. *Genome Res*, 2006, 16(12): 1493–1504. [DOI]
- [15] Westphal T, Reuter G. Recombinogenic effects of suppressors of position-effect variegation in *Drosophila*. *Genetics*, 2002, 160(2): 609–621. [DOI]
- [16] Cam HP, Sugiyama T, Chen ES, Chen X, FitzGerald PC, Grewal SIS. Comprehensive analysis of heterochromatin-and RNAi-mediated epigenetic control of the fission yeast genome. *Nat Genet*, 2005, 37(8): 809–819. [DOI]
- [17] Vissing H, Meyer WK, Aagaard L, Tommerup N, Thiesen HJ. Repression of transcriptional activity by heterologous KRAB domains present in zinc finger proteins. *FEBS Lett*, 1995, 369(2–3): 153–157. [DOI]
- [18] Lupo A, Cesaro E, Montano G, Zurlo D, Izzo P, Costanzo P. KRAB-zinc finger proteins: a repressor family displaying multiple biological functions. *Curr Genomics*, 2013, 14(4): 268–278. [DOI]
- [19] Urrutia R. KRAB-containing zinc-finger repressor proteins. *Genome Biol*, 2003, 4(10): 231. [DOI]
- [20] Emerson RO, Thomas JH. Gypsy and the birth of the SCAN domain. *J Virol*, 2011, 85(22): 12043–12052. [DOI]
- [21] King M, Wilson A. Evolution at two levels in humans and chimpanzees. *Science*, 1975, 188(4184): 107–116. [DOI]
- [22] Nadimpalli S, Persikov AV, Singh M. Pervasive variation of transcription factor orthologs contributes to regulatory network evolution. *PLoS Genet*, 2015, 11(3): e1005011. [DOI]
- [23] Looman C, Åbrink M, Mark C, Hellman L. KRAB zinc finger proteins: an analysis of the molecular mechanisms governing their increase in numbers and complexity during evolution. *Mol Biol Evol*, 2002, 19(12): 2118–2130. [DOI]
- [24] Jacobs FMJ, Greenberg D, Nguyen N, Haeussler M, Ewing AD, Katzman S, Paten B, Salama SR, Haussler D. An evolutionary arms race between KRAB zinc-finger genes *ZNF91/93* and *SVA/L1* retrotransposons. *Nature*, 2014, 516(7530): 242–245. [DOI]
- [25] Brayer KJ, Segal DJ. Keep your fingers off my DNA: protein-protein interactions mediated by C2H2 zinc finger domains. *Cell Biochem Biophys*, 2008, 50(3): 111–131. [DOI]
- [26] Hoffmann A, Ciani E, Boeckardt J, Holsboer F, Journot L, Spengler D. Transcriptional activities of the zinc finger protein Zac are differentially controlled by DNA binding. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(3): 988–1003. [DOI]
- [27] Siggers T, Reddy J, Barron B, Bulyk ML. Diversification of transcription factor paralogs via noncanonical modularity in C2H2 zinc finger DNA binding. *Mol Cell*, 2014, 55(4): 640–648. [DOI]
- [28] Cordaux R, Batzer MA. The impact of retrotransposons on human genome evolution. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(10): 691–703. [DOI]
- [29] Brouha B, Schustak J, Badge RM, Lutz-Prigge S, Farley AH, Moran JV, Kazazian HH Jr. Hot L1s account for the bulk of retrotransposition in the human population. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(9): 5280–5285. [DOI]
- [30] Rowe HM, Jakobsson J, Mesnard D, Rougemont J, Reynard S, Aktas T, Maillard PV, Layard-Liesching H, Verp S, Marquis J, Spitz F, Constam DB, Trono D. KAP1 controls

- endogenous retroviruses in embryonic stem cells. *Nature*, 2010, 463(7278): 237–240. [DOI]
- [31] Castro-Diaz N, Ecco G, Coluccio A, Kapopoulou A, Yazdanpanah B, Friedli M, Duc J, Jang SM, Turelli P, Trono D. Evolutionally dynamic L1 regulation in embryonic stem cells. *Genes Dev*, 2014, 28(13): 1397–1409. [DOI]
- [32] Turelli P, Castro-Diaz N, Marzetta F, Kapopoulou A, Raclot C, Duc J, Tieng V, Quenneville S, Trono D. Interplay of TRIM28 and DNA methylation in controlling human endogenous retroelements. *Genome Res*, 2014, 24(8): 1260–1270. [DOI]
- [33] Wolf D, Goff SP. TRIM28 mediates primer binding site-targeted silencing of murine leukemia virus in embryonic cells. *Cell*, 2007, 131(1): 46–57. [DOI]
- [34] Wolf D, Goff SP. Embryonic stem cells use ZFP809 to silence retroviral DNAs. *Nature*, 2009, 458(7242): 1201–1204. [DOI]
- [35] Lukic S, Nicolas JC, Levine AJ. The diversity of zinc-finger genes on human chromosome 19 provides an evolutionary mechanism for defense against inherited endogenous retroviruses. *Cell Death Differ*, 2014, 21(3): 381–387. [DOI]
- [36] Imbeault M, Trono D. As time goes by: KRABs evolve to KAP endogenous retroelements. *Dev Cell*, 2014, 31(3): 257–258. [DOI]
- [37] Quenneville S, Turelli P, Bojkowska K, Raclot C, Offner S, Kapopoulou A, Trono D. The KRAB-ZFP/KAP1 system contributes to the early embryonic establishment of site-specific DNA methylation patterns maintained during development. *Cell Rep*, 2012, 2(4): 766–773. [DOI]
- [38] Rowe HM, Friedli M, Offner S, Verp S, Mesnard D, Marquis J, Aktas T, Trono D. De novo DNA methylation of endogenous retroviruses is shaped by KRAB-ZFPs/KAP1 and ESET. *Development*, 2013, 140(3): 519–529. [DOI]
- [39] Orr HA. Dobzhansky, Bateson, and the genetics of speciation. *Genetics*, 1996, 144(4): 1331–1335. [DOI]
- [40] Nowick K, Carneiro M, Faria R. A prominent role of KRAB-ZNF transcription factors in mammalian speciation?. *Trends Genet*, 2013, 29(3): 130–139. [DOI]
- [41] Hayashi K, Yoshida K, Matsui Y. A histone H3 methyltransferase controls epigenetic events required for meiotic prophase. *Nature*, 2005, 438(7066): 374–378. [DOI]
- [42] Mihola O, Trachtulec Z, Vlcek C, Schimenti JC, Forejt J. A mouse speciation gene encodes a meiotic histone H3 methyltransferase. *Science*, 2009, 323(5912): 373–375. [DOI]
- [43] Ségurel L, Leffler EM, Przeworski M. The case of the fickle fingers: how the PRDM9 zinc finger protein specifies meiotic recombination hotspots in humans. *PLoS Biol*, 2011, 9(12): e1001211. [DOI]
- [44] Persikov AV, Wetzel JL, Rowland EF, Oakes BL, Xu DJ, Singh M, Noyes MB. A systematic survey of the Cys₂His₂ zinc finger DNA-binding landscape. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(3): 1965–1984. [DOI]
- [45] Wolf G, Greenberg D, Macfarlan TS. Spotting the enemy within: Targeted silencing of foreign DNA in mammalian genomes by the Krüppel-associated box zinc finger protein family. *Mob DNA*, 2015, 6: 17. [DOI]
- [46] Itokawa Y, Yanagawa T, Yamakawa H, Watanabe N, Koga H, Nagase T. KAP1-independent transcriptional repression of SCAN-KRAB-containing zinc finger proteins. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 388(4): 689–694. [DOI]
- [47] Santoni de Sio FR. Kruppel-associated box (KRAB) proteins in the adaptive immune system. *Nucleus*, 2014, 5(2): 138–148. [DOI]
- [48] Ma ZF, Yang D, He FC, Jiang Y. Review for the regulatory functions of KRAB zinc finger proteins in embryonic development and tumorigenesis of higher vertebrates. *Hereditas (Beijing)*, 2010, 32(5): 431–436.
马占福, 杨冬, 贺福初, 姜颖. KRAB 型锌指蛋白在高等脊椎动物胚胎发育和肿瘤发生、发展中的调控功能. *遗传*, 2010, 32(5): 431–436. [DOI]
- [49] Tian CY, Xing GC, Xie P, Lu KF, Nie J, Wang J, Li L, Gao M, Zhang LQ, He FC. KRAB-type zinc-finger protein Apak specifically regulates p53-dependent apoptosis. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(5): 580–591. [DOI]
- [50] Yuan L, Tian CY, Wang HY, Song SS, Li DY, Xing GC, Yin YX, He FC, Zhang LQ. Apak competes with p53 for direct binding to intron 1 of p53AIP1 to regulate apoptosis. *EMBO Rep*, 2012, 13(4): 363–370. [DOI]
- [51] Chien HC, Wang HY, Su YN, Lai KY, Lu LC, Chen PC, Tsai SF, Wu CI, Hsieh WS, Shen CKJ. Targeted disruption in mice of a neural stem cell-maintaining, KRAB-Zn finger-encoding gene that has rapidly evolved in the human lineage. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47481. [DOI]
- [52] Oliver CH, Khaled WT, Frend H, Nichols J, Watson CJ. The Stat6-regulated KRAB domain zinc finger protein Zfp157 regulates the balance of lineages in mammary glands and compensates for loss of Gata-3. *Genes Dev*, 2012, 26(10): 1086–1097. [DOI]
- [53] Krebs CJ, Larkins LK, Price R, Tullis KM, Miller RD, Robins DM. *Regulator of sex-limitation (Rsl)* encodes a pair of KRAB zinc-finger genes that control sexually dimorphic liver gene expression. *Genes Dev*, 2003, 17(21): 2664–2674. [DOI]
- [54] Bojkowska K, Aloisio F, Cassano M, Kapopoulou A, Santoni de Sio F, Zangger N, Offner S, Cartoni C, Thomas C, Quenneville S, Johnsson K, Trono D. Liver-specific ablation of Krüppel-associated box-associated protein 1 in mice leads to male-predominant hepatosteatosis and development of liver adenoma. *Hepatology*, 2012, 56(4): 1279–1290. [DOI]