

Z-DNA and Human Diseases

Wenqi Zhou¹, Shizhe Chen¹, Tianjun Ma¹, Jinming Li^{2*}, Yanfang Guo^{2*}

¹Eight-Year, First School of Clinical Medicine, Southern Medical University, Guangzhou

²School of Basic Medical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou

Email: *guoyanfang@gmail.com, [jmli@smu.edu.cn](mailto:jimli@smu.edu.cn)

Received: Jan. 24th, 2014; accepted: Mar. 14th, 2014; accepted: Mar. 23rd, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Z-DNA structure was found by Rich et al. in 1979. Being different from the common B-DNA structure, Z-DNA has its own special conformation and biological functions, and the research on Z-DNA arrests more and more attentions in the recent years. It has been reported that Z-DNA plays important roles in gene regulation, tumor pathogenesis and viral infections.

Keywords

Z-DNA, Z-DNA Binding Protein, Human Disease, Gene Regulation

Z-DNA与人类疾病

周文琪¹, 陈诗哲¹, 马天骏¹, 李金明^{2*}, 郭艳芳^{2*}

¹南方医科大学第一临床医学院八年制, 广州

²南方医科大学基础医学院生物信息学系, 广州

Email: *guoyanfang@gmail.com, [jmli@smu.edu.cn](mailto:jimli@smu.edu.cn)

收稿日期: 2014年1月24日; 修回日期: 2014年3月14日; 录用日期: 2014年3月23日

摘要

Z-DNA在1979年被Rich等人发现, 它处于高能状态而不稳定, 不同于传统的B-DNA, Z-DNA以其特殊的构象和重要生物学功能越来越受到人们关注, 与其作用相关的Z-DNA结合蛋白也备受关注。Z-DNA有其特殊的序列和形成条件, 其重要生物学功能也逐渐被揭开面纱, 在基因调控、肿瘤发生与病毒感染中都

*通讯作者。

有重要作用。

关键词

Z-DNA, Z-DNA结合蛋白, 人类疾病, 基因调控

1. 概述

Z-DNA 是一种左手螺旋的双链 DNA, 因其糖磷酸骨架排列呈 Z 型而得名[1] [2]。早在 1971 年, Pohl 等就发现高盐溶液与低盐溶液中 d(GC)_n 的圆二色性色谱完全相反[3], 这个谜底在 1979 年由 Rich[4]发现, 他通过 X 射线衍射法测得 Z-DNA 结晶片段中各原子的位置, 从而证实了 Pohl 的猜想, 即存在这种与传统 B-DNA 模型不同的左旋 Z 型构象的 DNA。

2. 形成条件与转换特点

Z-DNA 是一种高能的 DNA, 且形成短暂, 很容易变回 B-DNA, 这也给它的研究带来了一定的麻烦。目前, 单晶体 X 射线衍射法(single-crystal X-ray)、扫描隧道显微镜(STM)、圆二色谱(circular dichroism, CD)和琼脂糖凝胶双向电泳可在体外鉴定 Z-DNA[5]。

如今也有很多方法促进和维持 Z-DNA 的形成, 如高盐状态下, 一价或二价阳离子, 如 Na⁺、Mg²⁺、Ca²⁺和 Ba²⁺等能有效屏蔽 Z-DNA 所需的高能, 使 Z-DNA 稳定。又如多胺类(精胺、腐胺和精咪)、化学修饰剂(甲基化剂和卤化剂)、稀土元素[6]等均利于 Z-DNA 形成并稳定。此外, 负超螺旋在细胞内也是刺激形成 Z-DNA 的原因, 负超螺旋在生物系统的 DNA 代谢中很常见, 包括复制, 转录等。转录时, RNA 聚合酶在 DNA 双链上移动产生负超螺旋, DNA 双链解开, 从而产生反向扭转力使 Z-DNA 稳定[2]。而在体内, Z-DNA 常需要一些特定结构域的蛋白质来稳定其构象, 即 Z-DNA 结合蛋白。最近研究还发现荧光碳点可促进 B-DNA 向 Z-DNA 的转换, 且具有序列和构象特异性, 偏好于结合 DNA 深沟的 GC 序列[7]。

DNA B-Z 的转变备受关注, 不仅因为它重要的生物特性, 还因为它与疾病和 DNA 纳米技术关系密切[8]。DNA 纳米技术可利用 DNA 的 B-Z 转换来设计和产生人工核酸结构, 并用于生物合成[9]。

关于 B-Z 转换时的结构变化, 韩国一个研究小组发现, 每当一个 DNA 片段从 B-DNA 转变为 Z-DNA 时, 就有两个 B-Z 连接形成, 在两种 DNA 片段之间, 出现连续的碱基堆积现象, 然后连接处的一对碱基对断裂, 两侧各有一个碱基被挤出, 这些被挤出去的碱基可能是 DNA 修饰位点[10]。而且 DNA 的这种变换几乎只破坏并挤出了双链中一对碱基对, 结构破坏小, 这样的 B-Z 连接通常较稳定。

3. 结构与分布特点

尽管上述各种条件可以促使 Z-DNA 的形成, Z-DNA 的核苷酸序列仍有其特点, 即嘌呤与嘧啶的交替排列[7]。最常形成 Z-DNA 的是 d(GC)_n, 其次是 d(TG)_n 的重复序列, 而 d(AT)则不太利于 Z-DNA 形成, 可能与 A-T 碱基对中氨基缺乏, 不能在螺旋沟内与水分子形成氢键, 而使附近水分子呈无序状态有关[11]。此外, 除了这种交替排列的嘌呤-嘧啶序列, 其他序列如 d(GGGC)_n 也有转变为 Z-DNA 构象的潜力[12]。这些具有形成 Z-DNA 潜在能力的区段称为潜在 Z-DNA, 如今也有一些程序可以探测这些潜在的 Z-DNA 序列, 如 Z-Hunt[13]。

在 Z-DNA 结构中, 嘌呤是顺式构象, 而嘧啶是反式构象, 这样交替的顺反式构象就 Z-DNA 的骨架呈 Z 型[1], B-DNA 的嘌呤和嘧啶则都是反式构象。同时与 B-DNA 相比, Z-DNA 的只有一条深沟, B-DNA

有主沟和副沟之别，且 Z-DNA 较纤细，排列较紧密，每个螺旋比 B-DNA 多 1~2 个碱基对。

此外 Z-DNA 的分布也有其偏好，潜在的 Z-DNA 序列常在基因的 5' 末端发现，大部分分布于转录位点附近或启动子区域，估计 80% 的基因转录起始位点都有易于形成 Z-DNA 的序列[13]。但也有研究发现他们在鉴定的 186 个 Z-DNA 热点中，有 46 个位于着丝粒区域，只有 2 个位于启动子区域。总之，这都暗示这样的 Z-DNA 序列与基因调控有着一定关系。

4. Z-DNA 的生物学功能

4.1. 与转录的关系

Z-DNA 不能形成核小体[14]，这样一种位于转录起始位点附近的结构能招来转录因子，转录就能发生，它不仅能够激活转录，同时也能抑制转录。

研究发现集落刺激因子-1(CSF-1)基因的转录需要 Z-DNA 构象的存在[10] [15]。在 c-MYC 基因启动子附近的 3 个 DNA 片段仅在其处活性转录时才与抗 Z-DNA 抗体结合，如果 C-MYC 停止转录，这些片段就回复到 B-DNA。此外，Nie 等[16]也发现 ADAR1 通过与核因子 90(NF90)作用，能上调 NF90 介导的靶基因的转录，NF90 与 ADAR1 及其 Z-DNA 结合域的作用在这个过程中有着重要作用[17]。

Z-DNA 的转录抑制可能是由于在转录过程中 Z-DNA 阻滞了转录机器的缘故。例如在体外，启动子附近的 Z-DNA 构象(CG)16 负超螺旋序列将大肠杆菌 RNA 聚合酶被阻挡在这个序列边界，只有当 Z-DNA 序列转变为 B-DNA 时，转录机器才能通过[18]。此外，一段包含 Z-DNA 元件的序列，很可能不能召集相关的转录因子[5]；再者，Z-DNA 结合蛋白可能与靶 DNA 序列的亲合力更高，而将干扰转录因子与靶 DNA 的结合。可见 Z-DNA 的这种抑制作用机制较多，还有待进一步研究分析。

4.2. 遗传不稳定性

2006 年，Wang 等[19]发现(CG)14 形成的 Z-DNA 在细菌和哺乳动物细胞中能高度诱导遗传不稳定，其他研究也发现 Z-DNA 频繁出现在染色体断裂热点中[1]，暗示 Z-DNA 造成的遗传不稳定性与其参与染色体断裂和异位有关系。在哺乳动物细胞中，这样的 Z-DNA 能诱发其附近的 DNA 双链断裂，导致整个重复序列和侧翼的突变报告基因大面积删除，这与白血病和淋巴瘤中染色体断裂点的结果相一致，这也许这类疾病染色体基因异位现象的诱因，而同时这种细胞环境，如活化的转录可能增加 Z-DNA 相关的遗传不稳定性[19]。推测 Z-DNA 诱导的遗传不稳定性和复制滑动有关[5]。

4.3. 基因重组

William 等做的黑粉菌实验指出，Z-DNA 在基因重组中起非常重要的过渡作用。黑粉菌中的 *rec1* 酶能使染色体在第一次配对后互换片段，它催化的配对反应促使 Z-DNA 的形成，这种酶与 Z-DNA 的亲合力是它与 B-DNA 的 75 倍，这一紧密结合是这一时期的主要特征[20]。此外，Z-DNA 诱导的遗传不稳定性可能会促进基因重组，如酵母中的 GT 序列(34bp)能够促进减数分裂重组[21]，另一方面，由 Z-DNA 诱导的 DNA 双链断裂也很可能导致基因重组，如非等位姐妹染色单体会发生交换。

5. 与人类疾病

5.1. 自身免疫疾病

在自身免疫疾病中，已发现有抗 Z-DNA 的抗体存在[22]。多胺配合转录因子，促进 Z-DNA 构象形成和转录起始，多胺诱导的 Z-DNA 表现出一定的致病作用，尤其是在血清循环里的 DNA，它能促进 DNA 与抗 DNA 抗体的作用。如红斑狼疮病人体内升高的多胺促进 DNA 和抗 DNA 抗体的结合，从而形成免

疫复合物[23]。所以抑制多胺的药物能够治疗涉及 Z-DNA 的人类自身免疫疾病[1]。

5.2. 阿尔兹海默症

阿尔兹海默症(AD)是老年人最常见的痴呆症,其特点是神经元脱失,神经纤维缠结以及老年斑。Suram[24]等发现 AD 大脑海马区出现 Z-DNA,而在年龄相仿的对照组中没有这种现象,AD 患者体内多胺的升高可能与这种 DNA 构象改变有关。另外,人类基因组序列分析发现在 AD 特异性基因,如 PS1, PS2 及 APOE 的 5'端有富含 GC 的潜在 Z-DNA 序列[25]。 β 淀粉样蛋白是其重要致病因素[26]。2004 年, Hegde[27]研究认为 $A\beta$ 可促进 DNA 向类似 Z-DNA 的构象改变,猜测 $A\beta$ 促进 Z-DNA 构象形成并稳定该构象, Z-DNA 也在 AD 的病理学中有扮演重要的角色。但 2010 年, Jie Geng[25]等实验发现 $A\beta$ 多聚体(非单体)可能促进 DNA 的 Z-B 转变,同时使用 $A\beta$ 聚合抑制剂姜黄素能阻滞 DNA 的 Z-B 转变,而 Z-DNA 的形成使 $A\beta$ 聚合停留在低聚物阶段,阻滞其纤维化。

5.3. 血液系统疾病

血液系统肿瘤(如白血病,淋巴瘤,骨髓瘤)普遍的基因改变是染色体异位,免疫球蛋白和 T 细胞受体基因是这种异位常见的的作用位点,因为这些基因在相关血细胞中有激活剂,且 DNA 双链断裂也可在这些基因处自然发生。这些致癌基因的断裂热点常位于能够形成 Z-DNA 或其他非 B-DNA 的区域[1]。如 t(12;21)(p13;q22)异位(融合 ETV6 和 AML1 基因)是婴幼儿 B 细胞前体急性淋巴细胞白血病最常见的染色体异位,而 ETV6 基因的交替嘌呤-嘧啶 Z-DNA 序列附近发现了一些断裂点[28]。

5.4. 肿瘤

致癌物常攻击 DNA 的鸟嘌呤残基,而对于 Z-DNA 构象的稳定,顺式鸟嘌呤起着重要作用, Z-DNA 中顺式鸟嘌呤上的 N7 和 C8 暴露于主链外,易受到致癌剂攻击[19]。Z-DNA 还可能与金属离子诱导的癌变有关,与镍等金属离子结合能稳定 Z-DNA 的结构,同时这种与 DNA 的反应也许会造成选择性的伤害,最终产生致癌作用[1]。此外, Z-DNA 结合蛋白,比如 ADAR1,在不同的肿瘤中表达不同,可能上调,也可能下调。总之, Z-DNA 及其结合蛋白与肿瘤的关系是不容忽视的,具体机制还需在未来的研究中继续探索。

6. 展望

从 Z-DNA 发现以来,有关于它的研究不断报导,它的价值也逐渐被人们认识。目前的研究证据足以证明 Z-DNA 及 Z-DNA 结合蛋白与许多病理过程有关,使得人们可从另一个新的角度认识各种疾病的机制。虽然 Z-DNA 在体内的作用机制并不那么明朗,但其重要作用已不容置喙,未来的研究则主要是更全面地探索它在体内的作用机制,为疾病研究及药物研发提供更完备科学的依据。

基金项目

国家自然科学基金面上项目(31371290);广东省高校人才引进专业(粤财字 2011-430);高等学校博士学科点专项科研基金(20124433120006);广东省优秀青年人才培养项目(LYM11040)。

参考文献 (References)

- [1] Wang, G. and Vasquez, K.M. (2007) Z-DNA, an active element in the genome. *Frontiers in Bioscience*, **12**, 4424- 4438.
- [2] Du, Y and Zhou, X. (2013) Targeting non-B-form DNA in living cells. *The Chemical Record*, **13**, 371-384.
- [3] Pohl, F.M., Jovin, T.M., Baehr, W. and Holbrook, J.J. (1972) Ethidium bromide as a cooperative effector of a DNA structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **69**, 3805-3809.

- [4] Wang, A.H., et al. (1979) Molecular structure of a left-handed double helical DNA fragment at atomic resolution. *Nature*, **282**, 680-686.
- [5] Boyer, A.S., Grgurevic, S., Cazaux, C. and Hoffmann J.S. (2013) The human specialized DNA polymerases and non-B DNA: Vital relationships to preserve genome integrity. *Journal of Molecular Biology*, **425**, 4767-4781.
- [6] Geng, J. and Qu, X. (2010) Recent progress report on DNA BZ transition modulated by rare earth-amino acid complex and Alzheimer's disease amyloid beta. *Journal of Rare Earths*, **28**, 820-823.
- [7] Malfoy, B., et al. (1986) Nucleotide sequence of an heterochromatic segment recognized by the antibodies to Z-DNA in fixed metaphase chromosomes. *Nucleic Acids Research*, **14**, 3197-3114.
- [8] Feng, L., et al. (2013) Lighting up left-handed Z-DNA: Photoluminescent carbon dots induce DNA B to Z transition and perform DNA logic operations. *Nucleic Acids Research*, **41**, 7987-7996.
- [9] Qu, X., et al. (2000) Allosteric, chiral-selective drug binding to DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**, 12032-12037.
- [10] Ha, S.C., et al. (2005) Crystal structure of a junction between B-DNA and Z-DNA reveals two extruded bases. *Nature*, **437**, 1183-1186.
- [11] Doluca, O., Withers, J.M. and Filichev, V.V. (2013) Molecular engineering of guanine-rich sequences: Z-DNA, DNA triplexes, and G-quadruplexes. *Chemical Reviews*, **113**, 3044-3083.
- [12] Feigon, J., et al. (1985) Z-DNA forms without an alternating purine-pyrimidine sequence in solution. *Science*, **230**, 82-84.
- [13] Schroth, G.P., Chou, P.J. and Ho, P.S. (1992) Mapping Z-DNA in the human genome. Computer-aided mapping reveals a nonrandom distribution of potential Z-DNA-forming sequences in human genes. *The Journal of Biological Chemistry*, **267**, 11846-11855.
- [14] Garner, M.M. and Felsenfeld, G. (1987) Effect of Z-DNA on nucleosome placement. *Journal of Molecular Biology*, **196**, 581-590.
- [15] Liu, R., Liu, H., Chen, X., Kirby, M., Brown, P.O. and Zhao, K. (2001) Regulation of CSF1 promoter by the SWI/SNF-like BAF complex. *Cell*, **106**, 309-318.
- [16] Nie, Y., Ding, L., Kao, P.N., Braun, R. and Yang, J.H. (2005) ADAR1 interacts with NF90 through double-stranded RNA and regulates NF90-mediated gene expression independently of RNA editing. *Molecular and Cellular Biology*, **25**, 6956-6963.
- [17] Barraud, P. and Allain, F.H. (2012) ADAR proteins: Double-stranded RNA and Z-DNA binding domains. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, **353**, 35-60.
- [18] Peck, L.J. and Wang, J.C. (1985) Transcriptional block caused by a negative supercoiling induced structural change in an alternating CG sequence. *Cell*, **40**, 129-137.
- [19] Wang, G., Christensen, L.A. and Vasquez, K.M. (2006) Z-DNA-forming sequences generate large-scale deletions in mammalian cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**, 2677-2682.
- [20] Yang, L., Wang, S., Tian, T. and Zhou, X. (2012) Advancements in Z-DNA: Development of inducers and stabilizers for B to Z transition. *Current Medicinal Chemistry*, **19**, 557-568.
- [21] Treco, D. and Arnheim, N. (1986) The evolutionarily conserved repetitive sequence d(TG.AC)n promotes reciprocal exchange and generates unusual recombinant tetrads during yeast meiosis. *Molecular and Cellular Biology*, **6**, 3934-3947.
- [22] Leng, M. (1985) Left-handed Z-DNA. *Biochimica et Biophysica Acta*, **825**, 339-344.
- [23] Thomas, T.J. and Thomas, T. (1994) Polyamine-induced Z-DNA conformation in plasmids containing (dA-dC)n.(dG-dT)n inserts and increased binding of lupus autoantibodies to the Z-DNA form of plasmids. *Biochemical Journal*, **298**, 485-491.
- [24] Suram, A., Rao, K.S., Latha, K.S. and Viswamitra, M.A. (2002) First evidence to show the topological change of DNA from B-dNA to Z-DNA conformation in the hippocampus of Alzheimer's brain. *Neuromolecular Medicine*, **2**, 289-297.
- [25] Geng, J., Zhao, C., Ren, J. and Qu, X. (2010) Alzheimer's disease amyloid beta converting left-handed Z-DNA back to right-handed B-form. *Chemical communications (Cambridge, England)*, **46**, 7187-7189.
- [26] Hardy, J. and Selkoe, D.J. (2002) The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: Progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, **297**, 353-356.
- [27] Hegde, M.L., et al. (2004) First evidence for helical transitions in supercoiled DNA by amyloid Beta Peptide (1-42) and aluminum: A new insight in understanding Alzheimer's disease. *Journal of Molecular Neuroscience*, **22**, 19-31.
- [28] Thandla, S.P., et al. (1999) ETV6-AML1 translocation breakpoints cluster near a purine/pyrimidine repeat region in the ETV6 gene. *Blood*, **93**, 293-299.