

人类 β 珠蛋白基因簇表达的转录调控*

杨友云 朱定尔

(湖南医科大学分子生物学研究中心, 中国长沙, 410078)

摘要 人类 β 珠蛋白基因簇的表达具有明显时空调控特征, 即具有严格的红系组织特异性和不同发育阶段特异性, 同时尚需精确调控, 以使 α β 珠蛋白链合成比趋向平衡并定量聚合成功能蛋白 **k** 血红蛋白. 因此, 它是研究真核基因表达调控及基因表达与细胞分化关系的理想模型. 本文拟综述在转录水平人类 β 珠蛋白基因表达调控研究的进展, 并对该领域的发展方向进行预测, 以期逐步深入研究并最终阐明其表达调控机制. 并籍此文报道近年来我们在此领域研究的新成果、新概念.

关键词 β 珠蛋白基因簇表达, 转录调控, δ 、 β - 基因间调控区或网络, 顺式作用元件, 基质结合区

分类号 Q753

The Transcription Regulation of The Expression of Human β - Globin Gene Cluster

Yang Youyun Zhu Dinger

(Molecular Biology Research Center, Hunan Medical University, Changsha, Hunan, 410078, PRC)

Abstract The expression of human β - globin gene cluster is definitely regulated with strict developmental stage and tissue lineage specificities as well as the delicated control of the biosynthetic equilibrium of α / β globins in order to be polymerized for their function protein **k** hemoglobin. The expression and regulation of the human β - globin gene cluster is an ideal model for studying the regulation of the eukaryotic gene expression and its relation with cell differentiation. This paper presents a latest review of the progress of the studies of expression and its regulation of β - globin gene cluster at transcription level and some advanced studies are discussed as well. By the way, we would like to report excitedly some of our recent research achievements and novel concepts in this field.

Key words β - globin gene cluster expression, transcription regulation, δ 、 β intergene regulatory region or network, Cis- acting element, Matrix attachment region

* 本文系国家自然科学基金资助项目 39400072 号, 及卫生部医学重点科技项目 88111058 号.

收稿日期: 1997-10-28. 作者: 杨友云, 男, 34 岁, 医学博士, 在读博士后, 助理研究员; 朱定尔, 男, 68 岁, 教授, 博士生导师及博士后导师.

真核基因表达调控是分子生物学的核心领域。基因表达调控至少在6个不同水平进行,其中DNA转录水平调控是基因表达调控的关键环节。基因表达的转录调控是顺式作用元件和反式作用因子之间相互作用的结果,因此,对顺式作用元件和反式作用因子的结构和功能的研究,对阐明基因表达、细胞发育和分化机制及某些疾病包括肿瘤在内的发病机理有着十分重要的意义,也是人类基因治疗及基因工程技术的重要基础。

人类 β 珠蛋白基因簇是真核生物基因组具代表性的基因家族,其表达具明显时空调控特点,即具严格的红系组织特异性和不同发育阶段特异性。此外,其表达尚需精确调控以使 α/β 珠蛋白链合成比趋向平衡,定量聚合成功能蛋白 k 血红蛋白。它是研究真核基因表达调控及基因表达与细胞分化关系的理想模型。本文就其在转录水平上的表达调控研究进展作扼要综述如下:

1 β 珠蛋白基因簇组织结构及表达特点

人类珠蛋白基因簇包括 α -珠蛋白基因簇和 β -珠蛋白基因簇,它们分别位于16号染色体短臂和11号染色体短臂上^[1]。人类 β 珠蛋白基因簇包括5个功能基因,以5'- ϵ - γ - δ - β 3'按照发育中表达顺序依次排列在11号染色体短臂上约82kb的DNA序列中,其核苷酸序列已完全阐明^[2]。

在胚胎发育早期,胚胎型 ϵ 珠蛋白基因首先在卵黄囊中表达;继之,胎儿型 γ 珠蛋白基因在胎肝中表达,这是 β 珠蛋白基因簇表达的第一个开关。在胎儿出生前后, γ 珠蛋白基因表达逐渐减少,成人型 β 珠蛋白基因伴随在骨髓中表达升高;出生约12~18周后,主要是 β 珠蛋白基因表达,并伴有少量 γ 和 δ 珠蛋白基因表达^[3],这是 β 珠蛋白基因簇表达的第二个开关。至今仍不清楚为何 β 珠蛋白基因簇中5个功能基因的排列顺序与它们在人胚胎发育过程中的表达次序完全一致。

2 β 珠蛋白基因簇表达调控的顺式作用元件

β 珠蛋白基因簇的表达是以红系细胞分化为基础,受多种不同顺式作用元件和反式作用因子相互作用、相互制约、按时空特异性结合形成的互连网络。所谓顺式作用元件是指对同一DNA链上的基因活性产生影响的DNA序列,它与特异性反式作用因子结合或与多种调控因子共同作用,包括启动子、增强子、抑制子以及位点控制区(locus control region, LCR)等。近年我们在 β -珠蛋白基因5'旁侧远端上游发现 δ 和 β 珠蛋白基因间序列中存在较复杂和较大范围的抑制子和增强子顺式作用元件调控区,称之为 δ/β 基因间调控区或调控网络(δ/β -intergene regulatory region/network, δ/β -IRR or IRN)。反式作用因子是指远离受调控的基因外的其它基因编码的各种蛋白质因子^[4]。不同的反式作用因子与各种顺式作用元件的相互作用,包括DNA-蛋白质、蛋白质-蛋白质及DNA-DNA的相互作用,是实现基因表达调控的基本原理,也是构成相互作用调控网络或复合体的基础。

1) 启动子:是RNA聚合酶结合和进行精确有效地转录所必需的DNA序列,一般位于转录起始点上游约100~200bp DNA范围内。启动子区含高度保守性的序列称为盒(box)。典型的 β 珠蛋白基因启动子区含有三个保守盒的基序^[5],它们是位于帽位上游约-30bp处的

TATA 盒, 又称 Hogness-Goldberg 序列; 位于 -70~-90bp 处的 CCAAT 盒以及 -95~-120bp 处的 CACCC 盒. 这些保守盒序列中若发生突变将影响基因的正常转录, 导致 β -地中海贫血(β -地贫)^[6,7]. 此外, δ 珠蛋白基因启动子区域中没有完整的 CCAAT 盒, 也没有 CACCC 盒, 与它一直处于低水平表达有关. 我们曾在湖南省发现中国人中首例 δ - β 融合珠蛋白基因(Lepore-Boston 基因), 因系含 δ 珠蛋白启动子, 在稳定表达系统中经定量 RT-PCR 比较研究其表达水平, 表明这也是其表达低下的重要原因.

2) 增强子及/或抑制子: 是一类无位置和方向性, 但能特异地增强或减少基因转录的 DNA 序列. 目前已在 ϵ 珠蛋白基因 5' 旁侧 -392~-177bp DNA 序列内鉴定出一个抑制子, 在 -446~-419bp DNA 序列内还含有一个红系专一和发育时期特异的正调控元件 ϵ -PRE (erythroid and stage-specific positive regulatory element)^[8,9]; 在 $\Delta\gamma$ 珠蛋白基因 5' 旁侧 -730~-382bp DNA 序列中鉴定出 2 个抑制子^[10], 在其 5' 非翻译区还分别存在一正调控元件和一负调控元件^[11]; 1996 年, Acuto^[12] 等在人类 δ 珠蛋白基因上游 1kb 处的 383bp DNA 片段中鉴定出一增强子序列, 它在成人期红细胞中能特异地增强 β 珠蛋白基因的表达; 另外, 在 β 珠蛋白基因 5' 旁侧 -338~-233bp、-610~-490bp DNA 序列中各存在一抑制子^[13]; 在 -160bp 处存在可被二甲亚砜(DMSO) 诱导的增强子; 在 β 珠蛋白基因 3' 端第二个外显子中 EcoR 位点附近及其 polyA 位点下游 550~800bp DNA 区域中各存在一增强子^[14]. 我们采用缺失分析, 在 HeLa 细胞稳定表达系统中可检出 β 珠蛋白基因 5' 旁侧帽位上游 -1559~-2282bp 之间的 723bp DNA 片段中存在有抑制子活性; 用竞争性凝胶滞留分析(competitive gel retardation assay, CGRA), 可见此 723bp 片段与 HeLa 细胞核抽提物确能反应生成一电泳延缓的 DNA-蛋白质结合区带, 并可被其探针 723bp 片段本身及用限制性酶切的一个小片段(310bp) 完全被竞争消失; 用荧光素酶报告基因短暂表达系统检测, 证明此 310bp 片段确能抑制 β 甚至 δ 珠蛋白启动子的功能, 提示 723bp 抑制区中 310bp 确系核蛋白结合部位. 而在 -814~-1559bp 之间的 745bp DNA 片段中存在有增强子活性, 随后对此 745bp 片段进行荧光素酶报告基因短暂表达检测, 发现 745bp DNA 片段用限制性酶切割为 3 个 DNA 小片段(188bp, 280bp 及 178bp), 在 HeLa 细胞中均被检出有不同程度的增强子活性, 表明此 745bp 片段中含有较广泛的具增强子活性的顺式元件或序列. 由上述研究结果可知 δ 和 β 珠蛋白基因间的冗长序列中确存在有复杂的顺式作用元件调控区或网络(即 δ - β -IRR 或 IRN).

3) 位点控制区: 是存在于 ϵ 珠蛋白基因 5' 上游约 6~25kb 的一段 DNA 序列^[15]. 该 DNA 序列中含有 5 个红系特异性的 DNase 高敏位点(Hypersensitive sites, 5'HS1-5), 分别依次位于 ϵ 珠蛋白基因上游 -6.1kb, -10.9kb, -14.7kb, -18.0kb 和 -21.4kb 处; 另一 3'HS-1 位点位于 β -珠蛋白基因下游约 20kb 处. 5'HS5 属组成性位点, 5'HS1~4 则系红系特异性位点. 天然缺失导致与之相连的完整 β 珠蛋白基因簇在胎儿及成人红细胞中均不能活化; 同时, 缺失处 3' 旁侧约 200kb 范围内的染色质结构也将发生改变^[16]. 将 LCR 与 β 类珠蛋白基因相连时, 能介导与整合位点无关的红系组织特异性的高效表达. 对 LCR 的 HSs 结构分析, 发现其位点中均含有 GATA-1, AP-1/NF-E2 以及 CACCC 等结合基序, 每个 HS 中结合基序数目及空间排列不尽相同^[5]. 用重组 DNA 及转基因鼠技术检测大片段 140kb, 单个 5'-HSs 位点缺失如 5'HS3 缺失可使 ϵ 基因的表达减少, 而 γ 表达增加; 缺失 5'HS2 则影响甚小. LCR 复合物的形成, 也不需要所有 5'HSs 位点. 5'HS5 和 5'HS1 在短暂表达系统、稳定表达系统以及转基因动物中均无增强子活性^[17]; 而整个 LCR 以及 5'HS2~4 则具有增强子活

性. LCR 究竟如何调节 β 珠蛋白基因簇表达目前尚不完全清楚, 推测①LCR 与 DNA 结合蛋白结合后, 能改变染色质构型, 使其下游基因处于活化的染色质中^[19, 20]. ②LCR 可能与 β 珠蛋白基因簇中各基因的 5' 近端某些调控区域相互作用, 形成环状(loop) 结构, 从而有效地调节基因转录.

由于特定基因的顺式作用元件结构在机体不同细胞内几乎完全相同, 单纯用顺式作用元件不能解释基因表达的组织特异性和发育阶段特异性等特征, 即顺式作用元件本身单独并不能调控基因的表达, 它需要与反式作用因子等相互作用, 并与其它顺式作用元件协同配合才能发挥其调控基因表达的作用.

3 β 珠蛋白基因簇表达调控的反式作用因子

研究表明, 完整的反式作用因子一般至少含两个不可少的结构域, 即与顺式作用元件基序结合的结合结构域和转录活化结构域, 并通过后者发挥转录活化功能. 与人类 β 珠蛋白基因表达调控有关的反式作用因子可分为 3 类: 通用转录因子、红系特异性反式作用因子及发育阶段特异性反式作用因子.

1) 通用转录因子: 是一类构成转录起始复合物所必需的反式作用因子, 通常结合在启动子的保守序列上, 如 TATA 盒、CCAAT 盒及 CACCC 盒等. 与 TATA 盒结合的蛋白因子为聚合酶 转录因子 TF_D, 现已知 TF_D 是由“TATA 盒结合蛋白”(TATA-box binding protein, TBP) 和至少 8 种相关因子(TBP associated factors, TAF) 所组成的蛋白质复合体. 这里包含有 TBP 与 TATA 盒的 DNA-蛋白质以及 TAF 与 TBP 的蛋白质-蛋白质间的相互作用. 与 CCAAT 结合的蛋白因子(CCAAT binding factors, CBFs) 较多, 至少还有 5 种具不同亲和力的结合蛋白质^[5, 21], 如 CP₁、CP₂、CTF/NF₁(CCAAT-binding transcription factor/nuclear factor 1) 等. CP₁ 能与 α 、 β 及 γ 基因启动子以高亲和力结合, 发挥转录激活作用; 而 CTF/NF₁ 与 CCAAT 结合后, 可抑制某些正调节因子(例如 CP₁) 与其结合. 因此, CTF/NF₁ 具有转录抑制作用. 而与 CACCC 结合的有 SP₁ 等^[5].

2) 红系特异性因子: GATA-1 是第一个被鉴定的红系特异性反式作用因子^[22], 以前曾称为 GF-1 (Globin Factor 1), NF-E₁ (Nuclear Factor-Erythroid 1) 及 EF-1 (Erythroid Factor 1) 等^[23]. 因它的结合基序为 (T/A)GATA(A/G), 故统一命名为 GATA-1. GATA-1 是一锌指蛋白, 它不仅能反式激活携带其结合位点的报告基因, 而且还能与 YY₁ 协同作用, 形成一完整阻遏物, 以抑制 ϵ 基因的表达^[10]. 它与其他蛋白因子协同作用, 介导 LCR 与单个基因发生联系^[24], 因此, 它在红系细胞的分化、发育及特异性基因表达中起一重要作用. 红系核因子 2 (nuclear factor-erythroid 2, NFE2) 是另一个被鉴定的红系特异性反式作用因子, 它是一个异源二聚体蛋白和亮氨酸拉链蛋白^[25], 其结合基序为 TGAGTCA, 与普通转录因子 AP₁ (Activator protein 1) 有共同的结合基序. NFE2 能与 LCR 中的 HS2 位点结合, 从而介导 HS2 的增强子活性.

3) 发育阶段特异性因子: 已鉴定的人发育阶段特异性因子有如下 2 种: ①红系 Kruppel 样因子(Erythroid Kruppel-like factor, EKLF), 因其与 Kruppel 基因锌指区有高度同源性而得名^[26]. EKLF 有 3 个锌指结构域, 其结合基序为 CCNCNCCCN, 这些基序出现在基因启动子和位点控制区上. 它与 β 珠蛋白基因启动子结合部位是在 CACCC 盒延伸的 9bp 结合基序

(CCACACCCT) 上. EKLF 在红系发育的各个阶段均有表达^[27], 但在成人红系组织中的表达明显高于胎儿红系组织^[28], 因此, 它是一种红系发育阶段富集的反式作用因子. EKLF 基因敲除的动物实验证明它是 γ 到 β 转换过程中绝对需要的反式作用因子^[29]. ②发育阶段选择蛋白 SSP(stage selector protein, SSP)^[12], 它是胎儿发育阶段特异性的, 为一异源二聚体蛋白, 在人类 γ 珠蛋白基因启动子及其 5' 非翻译区上存在有与其结合的发育阶段选择元件(stage selector element, SSE), 它可能促进 HS2 与 γ 珠蛋白基因启动子间的选择性相互作用^[26], 从而调节 ϵ 到 γ 的基因开关.

4 β 珠蛋白基因簇表达调控模型的评论和展望

经过约 30 年来对 β 珠蛋白基因簇表达调控的研究, 目前对其真正的调控机制尚不完全清楚. 为了解释已获的研究结果, 迄今根据不同作者有限的部分实验结果的推测和设想, 已提出多个调控模型, 包括自主性调控模型、竞争性调控模型、非往复性竞争性调控模型、HS 分工模型以及 HS 复合物模型等. 这些模型几乎都是未能完全用实验证明的“假说”, 不够充分说明基因表达调控的复杂机制. 即使已获部分实验结果, 大多系在细胞或转基因鼠用小片段 DNA (几个 kb) 序列克隆载体进行基因转移的研究. 直至最近(1996 年)才见用大片段 DNA (140kb) YAC 克隆进行转基因鼠研究报道^[30]. 体外 (或细胞内) 的实验结果在整体并不能完全重复, 小片段 DNA 克隆载体的基因转移研究结果与大片段 (如 140kb) 比较也不尽同, 而过去常规研究的结果或多或少出现某些矛盾难以说明, 最基本的事实是真核基因的表达与调控是极为复杂的生命现象, 不可能通过某个基因 DNA 的顺式作用元件和其特异性的核蛋白反式作用因子简单的相互作用便能予以阐明, 也许还涉及更广泛的 DNA-蛋白质、蛋白质-蛋白质以及 DNA-DNA (或 RNA) 复杂的相互作用和补充作用 (recruitment) 及/或互连网络. 理论上基因及其表达是生命最根本的基础, 自然也会涉及细胞内外甚至机体内外发生的种种与生命相关的事件. 除基因 DNA 的结构与功能外, 还涉及染色体、染色质、胞核和核膜及核骨架 (基质)、细胞和细胞膜以及相关组织和器官 (如内分泌腺) 等的分子结构与功能 (包括空间结构与功能).

我们近年进行珠蛋白基因表达调控的多项研究, 发现在 δ 、 β 珠蛋白基因间 5' - β 基因旁侧约 0.8kb 上游的 DNA 片段存在系列增强子和抑制子活性; 发现含一 310bp DNA 片段的新抑制子区, 它确能与 HeLa 细胞核抽提物结合形成单一特异性的凝胶电泳延缓区带和抑制 α β 甚至 δ 珠蛋白基因启动子活性. 其本身竟包含有 9 个富含 AT 的基质结合区 (Matrix Attachment Regions, MARs) 的核心基序, 3 个富含 AT 的回文序列 (即反向重复序列); 并且尚含多种 AAAAT 或 TAAAA 串联重复序列和甲基化的 CG 位点等, 甚至还有已知启动子和某些顺式作用元件. 此外, 片段上下游也存在有不同性质和不同程度的类似分布, 这种情况似较少见. 明显提示此 DNA 片段序列可能参予构建核基质网络, 也很可能在 β 珠蛋白基因簇表达调控中起一重要而又复杂的“互连网络”作用, 当然也使人们不得不设想: 这一 310bp 转录调控序列 (包括其上下游序列) 是构建 β -珠蛋白基因及/或基因簇的复杂调控网络机构. 因此我们称之为“ δ 、 β 珠蛋白基因间调控网络”; 此“调控网络”假说或许是解释珠蛋白基因表达调控复杂性的合理机制之一.

参 考 文 献

- 1 Bunn HF, Forget BG. Hemoglobin: Molecular, Genetic and Clinical Aspects. Philadelphia: Saunders, 1986, 690.
- 2 Collins FS et al. The molecular genetics of human hemoglobin. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 1984, 31: 315.
- 3 Karlsson S, Nienhis AW. Developmental regulation of human globin gene. *Annu Rev Biochem*, 1985, 54: 1071 ~ 1108.
- 4 敖世洲等. 真核生物基因的结构与功能. 科学出版社, 1989, 36
- 5 Evans T, Felsenfeld G, Reitmen M. Control of globin gene transcription. *Annu Rev Cell Biol*, 1990, 6: 95 ~ 124
- 6 Kulozik AE, Bella-Koch A, Bail S, et al. Thalassemia intermedia: Moderate reduction of β globin gene transcriptional activity by a novel mutation of the proximal CACCC promoter element (C → T). *Blood*, 1991, 77(9): 2054 ~ 2058
- 7 Surrey S, Delgrosso K, Malladi P, et al. Functional analysis of a β - γ globingene containing a TATA box mutation from a Kurdish Jew with β thalassemia. *J Biol Chem*, 1985, 260: 6507 ~ 6510
- 8 Cao SX, Gutman P, Dave HP, G et al. Identification of a transcriptional silencer in the 5' flanking region of the human ϵ -globin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1989, 86: 5306 ~ 5309
- 9 Trepicchio WL, Dyer MA, Baron MH. Developmental region of the human embryonic β -like globin gene is mediated by synergistic interactions among multiple tissue and stage-specific elements. *Mol Cell Biol*, 1993, 13: 7457 ~ 7468
- 10 Stamatoyannopoulos G, Josephson B, Zhang JW et al. Developmental regulation of human γ -globin genes in transgenic mice. *Mol Cell Biol*, 1993, 13: 7636 ~ 7644
- 11 Amrolia PJ, Cunningham JM, Neye P et al. Identification of two novel regulatory elements within the 5' untranslated region of the human A γ -globin gene. *J Biol Chem*, 1995, 270(12): 12892 ~ 12898.
- 12 Acuto S, Urzi G, Schimmenti S et al. An element upstream from the human δ -globin encoding gene specifically enhances β -globin reporter gene expression in murine erythroleukemia cells. *Gene*, 1996, 168: 237 ~ 241
- 13 Berg PE, Williams DM, Qian RL et al. A common protein binds to two silencers 5' to the human β -globin gene. *Nucl Acids Res*, 1989, 17(21): 8833 ~ 8852.
- 14 Antoniou M et al. The human β -globin gene contains multiple regulatory regions: identification of one promoter and two downstream enhancers. *EMBO J*, 1988, 7(2): 377
- 15 Forrester WC, Takegawa S, Papayannopoulou T et al. Evidence for a locus activation region: the formation of developmentally stable hypersensitive sites in globin-expressing hybrids. *Nucl Acids Res*, 1987, 15: 10159 ~ 10177
- 16 Forrester WC et al. A deletion of the human β -globin locus control region causes a major alteration in chromatin structure and replication across the entire β -globin locus. *Genes Dev*, 1990, 4: 1637
- 17 Collis P et al. Definition of the minimal requirements within the human beta-globin gene and the dominant control region for high level expression. *EMBO J*, 1990, 9: 233
- 18 Fraser P et al. Each hypersensitive site of the human β -globin locus control region confers a different developmental pattern of expression on the globin genes. *Genes Dev*, 1993, 7: 106

- 19 Townes T. M et al. Human globin locus activation region(LAR): Role in temporal control. Trends Genet, 1990, 6: 219
- 20 Felsenfeld G. Chromatin as an essential part of the transcriptional mechanism. Nature, 1992, 355: 219 ~ 224
- 21 Ronchi AE, Bottardi S, Mazzucchelli C et al. Differential binding of the NFE3 and CP1/NFY transcription factors to the human γ - and ϵ - globin CCAAT boxes. J Biol Chem, 1995, 270: 21934 ~ 21941
- 22 Tsai SF, Martin DI, K Zon LI et al. Cloning of cDNA for the major DNA- binding protein of the erythroid lineage through expression in mammalian cells. Nature, 1989, 339: 446 ~ 451
- 23 Evans T, Reitman M, Felsenfeld G. An erythrocyte- specific DNA- binding factor recognizes a regulatory sequence common to all chicken globin genes. Proc Natl Acad Sci USA, 1988, 85: 5976 ~ 5980
- 24 Merika M, Orkin ST. Functional synergy and physical interactions of the erythroid transcription factor GATA- 1 with the Kruppel family proteins Sp1 and EKLF. Mol Cell Biol, 1995, 15: 2437 ~ 2447
- 25 Andrews NC, Bormage HE, Davidson MB et al. Erythroid transcription factor NF- E2 is a haematopoietic- specific basic- leucine zipper protein. Nature, 1993, 362: 722 ~ 728
- 26 Miller IJ, Bieker JJ. A novel, erythroid cell- specific murine transcription factor binds to the CA CCC element and is related to the Kruppel family of nuclear proteins. Mol Cell Biol, 1993, 13: 2776 ~ 2786
- 27 Nuez B, Michalovich D, Bygrave A et al. Defective haematopoiesis in fetal liver resulting from inactivation of the EKLF gene. Nature, 1995, 375: 316 ~ 318
- 28 Donze D, Townes TW, Bieker J. Role of erythroid Kruppel- like factor in human γ - to β - globin gene switching. J Biol Chem, 1995, 270: 1955 ~ 1959
- 29 Perkins AC, Sharpe AH, Orkin SH et al. Lethal β - thalassaemia in mice lacking the erythroid CA CCC- transcription factor EKLF. Nature, 1995, 375: 318 ~ 322
- 30 Peterson KP, Clegg CH, Navas PA, et al: Effect of deletion of 5'HS3 or 5'HS2 of the human β - globin locus control region of the developmental regulation of globin gene expression in β - globin yeast artificial chromosome transgenic mice. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(13): 6605 ~ 6609.