酵母 RNA 聚合酶 II 转录活性的调控研究进展

曹 雪 松

(山东聊城师范学院生物系 聊城 252059)

关键词：RNA 聚合酶 II，转录，阻遏蛋白

中图分类号：Q933 文献标识码：A 文章编号：0253-2654(2000)-01-060-04

真核生物基因转录活性的调控过程十分复杂，许多蛋白质在这一过程中发挥作用。酵母中对 RNA 聚合酶 II 转录活性的调控可分为以下 4 种类型：(1)阻遏物的直接抑制作用；(2)阻遏物的间接抑制作用；(3)激活物的直接活化作用；(4)激活物的亚细胞定位调节作用。本文拟就近来酵母中 RNA 聚合酶 II 转录活性的上述 4 种调控机制的研究进展作一综述。

1 阻遏蛋白的直接抑制作用

1.1 半乳糖代谢作用的调控 目前对于酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)利用半乳糖(包括摄取、转运、代谢等)的过程以及相关酶基因的调控途径已基本了解清楚。半乳糖在透性酶的作用下被酵母细胞吸收后，经过 Leloir 氏途径转化成葡萄糖-6-磷酸(G-6-P)。该途径包括 6 种结构基因编码的催化酶及 3 种调节基因编码的调控蛋白(表 1)。其中每种结构基因(统称为 *GAL* 基因)的启动子部位至少包含一个(大多数情况下包含多个)转录激活物 Gal4p 的结合位点，Gal4p 与其结合位点的结合(此种状态称为 UAS_G)与否及其本身的转录状态受细胞所摄取不同碳源的调节。

当酵母在只含有葡萄糖的培养基上生长时，*GAL*

收稿日期：1998-11-13，修回日期：1999-02-22

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

表1　酵母中半乳糖代谢的相关基因

基因	蛋白质功能	染色体位置	表达条件及相对量		
结构基因			Glu	Gly	Gal
GAL1	半乳糖激酶	II	—	—	+++
GAL2	半乳糖透性酶	XII	—	—	+++
PGM2	磷酸葡萄糖变位酶	XIII	+	+	++
GAL7	半乳糖-1-磷酸尿苷转移酶	II	—	—	+++
GAL10	UDP-葡萄糖4-差向酶	II	—	—	+++
MEL1	α-半乳糖苷酶	II	—	+	++
调节基因					
GAL3	诱导因子	IV	—	+	++
GAL4	转录活化因子	XVI	+/−	+	+
GAL80	转录抑制子	XIII	+	+	++

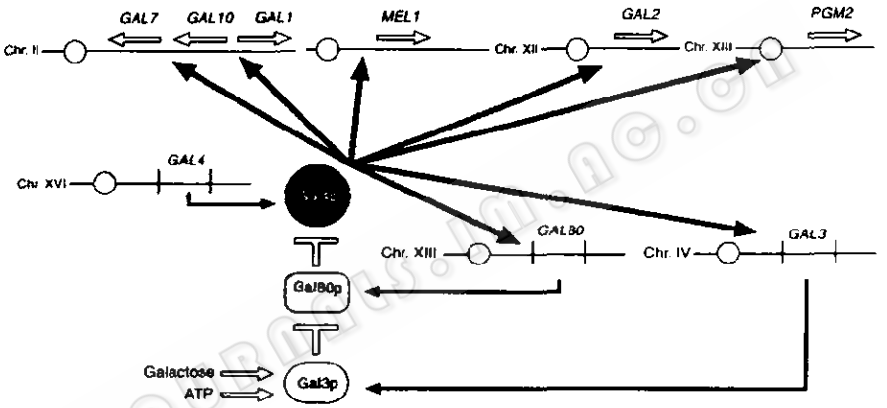

图1　*Gal*基因的调控机制

"→"表示激活，"⊤"表示抑制，Chr为染色体

基因的转录活性很低。此时阻遏物 Miglp 结合到 *GAL* 基因及 *GAL4* 基因的启动子上，由于 *GAL* 基因上游 Gal4p 结合位点被占据，Gal4p 的转录活化能力丧失，导致 *GAL* 不能被转录[1]。葡萄糖还可引起 Gal4p 的转录活性降低，目前已知这是由于 Gal4p 上的葡萄糖应答结构域(glucose responsive domain)对其本身的转录活性具抑制作用[2]。由于 *GAL* 基因不表达，特别是缺乏半乳糖透性酶(Gal2p)，因而半乳糖不能透过膜而进入细胞内。所以，虽然半乳糖作为唯一碳源可激活 *GAL* 基因活性(见下文)，但在葡萄糖和半乳糖的混合培养基上，酵母的 *GAL* 基因同样不表达[1]。

当以甘油作为碳源时，*GAL* 基因同样不被转录。此时虽然 Gal4p 结合到 *GAL* 基因上游的 UAS_G 序列上，但 Gal4p 的转录活性被阻遏蛋白 Gal80p 所掩盖(图 1)。Gal80p 可与 Gal4p 的主要转录活性结构域结合，并且排斥 TATA 盒结合蛋白 (TBP) 和转录因子 TFIIB 与 Gal4p 结构域的结合，所以 Gal4p 此时同样失去了转录激活物功能。

半乳糖为碳源时，*GAL* 基因的转录被激活并且大量表达。如此时 *GAL* 1、7、10 每种 mRNA 各占总 poly(A)$^+$RNA 的 0.25%～1%[3]。体外实验显示 Gal4p 可与 TBP 和 TFIIB 相互作用，当用不同的 Gal4p 突变型与 TBP 和 TFIIB 反应时，Gal4p 激活转录能力的强弱与其和 TBP、TFIIB 的相互作用强弱具有相关性。目前一般认为在半乳糖诱导条件下，Gal80p 从 Gal4p 上被释放出来，因而 Gal4p 上的转录激活结构域得以暴露并激活 *GAL* 基因

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn

的转录. 但也有一些证据显示 Gal80p 与 Gal4p 在半乳糖存在的条件下仍然相互结合[4,5]. 所以除了以上的 Gal80p 脱离 Gal4p 以活化 Gal4p 的转录活性途径外,有可能还存在另一种激活转录的途径,即在半乳糖诱导条件下,虽然 Gal80p 仍与 Gal4p 结合,但 Gal80p 此时发生构型改变,从而使 Gal4p 的活性结构域得以暴露或活化并产生作用,并激活相关基因的转录.

1.2 *GAL* 基因的开启 *GAL* 基因从甘油培养条件下的抑制状态到半乳糖诱导下的活性表达的转变过程是比较快的. 当向培养基中加入半乳糖 20～30min 后, *GAL* 7、10 即可达到最高水平的表达,而且这个过程可在缺乏蛋白质合成的情况下产生[6]. 目前利用基因突变并结合体外细胞抽提和免疫沉淀等实验已初步弄清了半乳糖代谢过程中 3 种主要调控蛋白 Gal4p、Gal80p 和 Gal3p 间的相互关系及其对 *GAL* 基因的转录调控作用(图 1). 细胞外的半乳糖和 ATP 与 Gal3p 结合后, Gal3p 与 Gal80p 结合,这使得 Gal4p 释放并结合到 *GAL* 结构基因的上游启动子处,从而启动相关基因的转录过程. 其中 Gal80p 是转录激活物 Gal4p 的阻遏物.

2 阻遏物的间接抑制作用

这种抑制类型表现为阻遏物不直接与激活物本身产生作用,而是通过与细胞内基本转录系统或其中的某个组成分子发生相互作用而表现抑制效应. 这种负调控方式比上述的特异性、直接调控方式更具有普遍意义. 现以抑制复合体 Ssn6p(Cyc8p)-Tup1p 对基因的调控为例予以说明. Ssn6p-Tup1p 复合体包括 1 个 Ssn6p 分子和 4 个 Tup1p 分子,体内实验破坏 *SSN6* 或 *TUP1* 基因将产生细胞聚集成团、缺乏质粒保留能力、形成孢子和温度敏感性生长等表型变化. 说明 Ssn6p-Tup1p 复合体具有调节多种基因的功能.

2.1 Ssn6p-Tup1p 的募集 Ssn6p 和 Tup1p 不是 DNA 结合蛋白,但当这两种蛋白连接上 DNA 结合域后(如细菌的 LexA 蛋白),两者都表现出转录阻遏物的功能. LexA-Tup1p 可在缺乏 Ssn6p 的情况下抑制转录,而 LexA-Ssn6p 只在 Tup1p 存在的条件下才具有抑制转录的功能[7,8]. 说明 Tup1p 具有抑制转录功能,而 Ssn6p-Tup1p 复合体可能通过与 DNA 结合蛋白结合而被引导到特定的基因部位. 如阻遏物 α2(α细胞中抑制特定基因表达的蛋白)或 Mig1p(分解代谢抑制蛋白)等 DNA 结合蛋白可与 Ssn6p 分子中的一个或多个四、三混合多肽重复(tetratricopeptide repeat, TPR)片段产生相互反应[9],故可以推测 DNA 结合蛋白与 Ssn6p-Tup1p 复合体结合(募集作用)后,再与 DNA 结合,但目前对这种结合过程的细节尚不清楚.

2.2 Ssn6p-Tup1p 的抑制作用 目前已知染色体中核小体对转录具抑制作用,而 α2 蛋白对转录的抑制作用也与核小体有关, α2 蛋白与核小体联接后,使核小体定位在 TATA-盒上,从而排斥转录酶与 TATA-盒的结合[10]. Tup1p 可直接与组蛋白 H3 和 H4 的氨基端发生作用,已知酵母中基因的抑制状态与组蛋白 H4 的非乙酰化形式有关,而组蛋白处于非乙酰化状态下, Tup1p 与组蛋白的反应最强[11]. 由此可概括出 Ssn6p-Tup1p 复合体在基因转录中的抑制作用途径. 序列特异性的 DNA 结合蛋白结合到目标基因的上游,并募集 Ssn6p-Tup1p 复合体到启动子部位,该复合体与特定的组蛋白结合,并组成核小体结构,从而阻止聚合酶与 DNA 的结合,目标基因的转录被抑制.

3 激活物的直接活化作用

3.1 血红素对基因的调控 在有氧刺激下, Hap1p 蛋白可结合到 DNA 上而激活一系列基因的表达,如细胞色素 C 同型编码基因 *CYC1* 和 *CYC7*. 上述结合作用受血红素的调节. Hap1p 包含 3 个功能区: DNA 结合域、活化域及血红素应答域(HRD). 其中 HRD 与血红素的调控有关, HRD 的缺失将产生 *CYC1* 的组成型表达,说明血红素通过与 Hap1p 的结合而对基因产生影响. 由缺乏血红素的细胞中可分离到含 Hap1p 的高分子量复合体(HMC)[12],血红素可促使 Hap1p 脱离 HMC,并且 2 个 Hap1p 可形成二聚体. 由此可以推测在缺乏血红素的条件下, Hap1p 通过其分子上的 HRD 与 HMC 结合,这阻止了 Hap1p 与 DNA 的结合. 当血红素含量增加时, Hap1p 从 HMC 上释放出来,并形成二聚体,然后结合到 DNA 上而激活基因的转录.

4 激活物的亚细胞定位及调节作用

酵母细胞在磷酸盐饥饿的情况下分泌酸性磷酸酶,而在含磷酸盐的培养条件下,此酶不分泌,编码此酶的基因是 *PHO5*. 不同培养条件下对 *PHO5* 基因的调控主要与激活物 Pho4p 有关. 当培养基富含磷时, *PHO5* 被抑制,此时该基因启动子内的 4 个核小体结构阻止 RNA 聚合酶与 DNA 的结合[13]. 当磷饥饿时,

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

Pho4p 与 Pho2p 形成复合体，并结合到 *PHO5* 启动子上，破坏该区域的核小体结构，启动 *PHO5* 的转录[13]。在富含磷的培养条件下，Pho4p 在其他调控蛋白(Pho80p 与 Pho85p 复合体)的作用下产生磷酸化反应，此时 Pho4p 失去激活转录的功能。磷酸化的 Pho4p 主要位于细胞质中，而去磷酸化的 Pho4p 主要位于细胞核中[14]。所以磷酸化作用抑制 Pho4p 激活转录的功能可能是通过减少其在细胞核中的浓度而实现的。在这个例子中，Pho4p 除作为激活物直接结合到启动子上而激活基因转录外，其本身在细胞中的位置对其调控活性亦具有直接的影响。

参 考 文 献

[1] Nehlin J O, Carlberg M, Ronne H. EMBO J, 1991, **10**:3373～3377.

[2] Stone G, Sadowski I. EMBO J, 1993, **12**:1375～1385.

[3] St John T P, Davis R W. J Mol Biol, 1981, **152**:285～315.

[4] Parthun M R, Jaehning J A. J Biol Chem, 1990, **265**:209～213.

[5] Leuther K K, Johnston S A. Science, 1992, **256**:1333～1335.

[6] Perlman D, Hopper J E. Cell, 1979, **16**:89～95.

[7] Keleher C A, Redd M J, Schultz J *et al*. Cell, 1992, **68**:709～919.

[8] Tzamarias D, Struhlk. Nature, 1994, **369**:758～761.

[9] Smith R L, Redd M J, Johnson AD. Genes Dev, 1995, **9**:2903～2910.

[10] Simpson R T. Nature, 1990, 343～389.

[11] Edmondson D G, Smith M M, Roth SY. Genes Dev, 1996, **10**:1247～1259.

[12] Zhang L, Guarente L. J Biol Chem, 1994, **269**:14643～14647.

[13] Svaren J, Horz W. Trends Biochem Sci, 1997, **22**:93～97.

[14] O′Neill E M, Kaffman A, JollyER *et al*. Science, 1996, **271**:209～212.

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn