

酵母的铁 / 铜转运系统及其相关基因

印莉萍 曲占良 邱泽生

(首都师范大学生物系 北京 100037)

关键词 酵母, 铁 / 铜转运系统

分类号 Q93 文献标识码 C 文章编号 0253-2654(1999)-04-0299-03

对于研究高等生物的铁 / 铜转运机制来说, 单细胞真核生物酵母是一个非常理想的细胞模型, 因为它易于操作和进行突变体的筛选工作。对于各种特异突变体的研究为我们揭开细胞生命活动的基因控制秘密作出了极大的贡献。酵母细胞与原核生物的吸铁机制不同, 它不能分泌铁载体来完成对外界环境中铁营养元素的吸收利用, 也就是说它不能直接吸收外界环境中的 Fe(III) 氧化物, 而是采取另外一种方式来进行铁元素的吸收和利用。近几年研究表明酵母细胞积累外界环境中的铁元素必须由两个步骤来完成: (1) 位于细胞质膜上的 Fe(III) 还原酶将 Fe(III) 还原成为能被细胞直接吸收的 Fe(II) 形式^[1]; (2) Fe(II) 再被一种低亲和力和高亲和力的转移吸收系统转运到细胞质内^[2], 而高亲和力的转移吸收系统与铜的转运有关。现在认为铁跨膜运输的形式是 Fe(II), 据资料表明酵母细胞的吸铁 / 铜

系统所涉及到的有关基因有: *fre1*, *fre2*, *fir1*, *fei3*, *fet4*, *ctr1* 和 *ccc2* 等几个基因克隆。它们的特性及功能现概述如下:

1 将 Fe(III) 还原成为 Fe(II) 的两种质膜还原酶基因: *fre1* 和 *fre2*

酵母在将铁元素吸收到细胞内之前, 通过细胞质膜上的两种 Fe(III) 还原酶将 Fe(III) 还原成为 Fe(II) 形式。*fre1* 和 *fre2* 分别编码质膜上的两种 Fe(III) 还原酶, FRE1 是一个分子量为 78.8kD 的蛋白多肽, 含有 686 个氨基酸残基, 此蛋白的氨基酸序列与人吞噬细胞的细胞色素 b558 具有同源性, 是一种氧化还原酶, 它们同样具有与 NADH 或 NADPH 电子供体发生作用的氨基酸保守序列, 它们都与细胞质膜内外的电子

1998-06-12收稿, 1998-08-10修回

传递有关。尽管 *fre2* 与 *fre1* 的基因序列不近相同,但是它们所编码的蛋白质氨基酸序列却极为同源,并且具有相似的疏水跨膜区域,它们对 Fe(II) 都有还原作用,同样也受到外界环境中缺铁胁迫的诱导而增强表达。

2 酵母质膜上的 Fe(II) 转运蛋白基因: *ftr1* 和 *fet4*

酵母细胞的质膜上存在着两种对外界 Fe(II) 底物具有不同亲和力的吸收系统,其中一个是对 Fe(II) 具有高亲和力的吸收系统 (FTR1)^[3],另一个是对 Fe(II) 具有低亲和力的吸收系统 (FET4)^[4]。*ftr1* 编码质膜上的一种透性酶,它与 FET3 一起完成对 Fe(II) 的跨膜运输, FTR1 是一种亲水性蛋白质,在其 N-端具有前导序列,而且具有六个跨膜疏水区域,基因序列被定位于酵母第五条染色体上。此蛋白与其它一些功能相关的蛋白序列比较表明在含有 5 个氨基酸区域具有同源性,其序列为 REG(L/M)E,此保守位点位于亲水区域,其中的 G 被认为能与 Fe(II) 结合,*ftr1* 开放读码的长度为 1.7kb,在外界环境缺铁胁迫下,此蛋白被诱导增强表达。FTR1 具有双重功能:(1)一部分是多铜氧化酶 FET3 活性所必需的;(2)另一部分是对 Fe(II) 的跨膜运输具有专一选择性。酵母细胞的 Fe(II) 低亲和力吸收系统是由 FET4 基因编码的,此低亲和力吸铁系统依赖时间、温度及 Fe(II) 的浓度,而且对 Fe(II) 具有极强的专一性,它所确定的多肽链也同样具有六个疏水跨膜区域,每个疏水跨膜区域都大于 20 个氨基酸。同时实验表明 FET4 系统与 FTR1 系统是彼此分开互不干扰的,这一点是通过特定的基因突变体得到证实的。FET4 基因的开放读码长度为 1656bp,其蛋白质含有 552 个氨基酸,分子量约为 63kD。*fet4* 的过度表达增加了对 Fe(II) 的吸收,但没有增加高亲和力吸铁系统,相反,使 FTR1 吸收 Fe(II) 的速率下降,这可能 FET4 提供给酵母细胞的铁量增加的缘故,因为它们作用的底物相同。FET4 基因发生突变时,FTR1 的活性反倒增强。

3 参与酵母铁转运系统的铜转运基因: *fet3*, *ctr1* 和 *ccc2*

FET3 参与酵母细胞质膜上的高亲和力吸铁系统,它与 FTR1 一起组成吸铁蛋白复合物负责对 Fe(II) 特异地转运。此基因的突变使得 Fe(III) 还原酶的活性保持正常,而对高亲和力 Fe(II) 吸收系统影响极大。近年来

研究表明细胞对铜的吸收是铁高亲和力吸收系统正常运转的必要条件^[5]。*fet3* 编码一种对铁吸收所必需的依赖铜离子参与的 Fe(II) 氧化酶。FET3 能够接受通过 CTR1 和 CCC2 两种转铜蛋白运送的 Cu^{2+} 而获得其氧化活性^[6]。FET3 和血浆铜蓝蛋白一样都需要有 Cu^{2+} 作为辅基才具有氧化活性,而且 FET3 的氧化活性又与 FTR1 的吸铁过程是密不可分的,当 FET3 发生基因突变时,FTR1 的吸铁功能也被中断^[3]。

酵母对 Fe(II) 的特异吸收需要 FET3 活性的参与,FET3 的活性又必须以 Cu^{2+} 作为此酶的辅基,这样细胞就必须从外界环境中吸收得到 Cu^{2+} 。在酵母细胞中与 Cu^{2+} 运输有关的基因有: *ctr1* 和 *ccc2*。*ctr1* 编码酵母细胞质膜上的具有多重跨膜区域的质膜蛋白,此蛋白对 Cu^{2+} 具有高亲和力的吸收功能。含有 406 个氨基酸残基,其氨基酸的序列分析表明它具有富含 Met 和 Ser 区域,其中包括 11 个 Met X₂ Met 保守序列,此保守序列在细菌的铜代谢相关蛋白中也存在,CTR1 蛋白被定位于细胞质膜上。CCC2 基因产物负责细胞内的 Cu^{2+} 运输,它被证明是 Cu^{2+} 运输有关的 P-型 ATPase 家庭的成员^[7],负责将 Cu^{2+} 从细胞质进入到能够分泌的细胞器中,使 Cu^{2+} 能够顺利地 FET3 蛋白相结合,获得 Cu^{2+} 而具有 Fe(II) 氧化活性的 FET3 与 FTR1 一起通过膜流运动被装配到细胞质膜上。

4 酵母细胞的吸铁机制

酵母细胞外界环境中 Fe(III) 化合物首先经细胞质膜上的 FRE1 和 FRE2 的还原作用将其还原成为可溶性的能被 Fe(II) 吸铁系统吸收的 Fe(II) 形式。质膜上高亲和力吸铁系统是由 FET3 和 FTR1 组成的复合物,而低亲和力吸铁系统是由基因 *fet4* 编码。FTR1 的运输功能需要 FET3 蛋白的氧化活性,而 FET3 的氧化活性又必须获得来自 CTR1 和 CCC2 依次传递的自由 Cu^{2+} 。 Cu^{2+} 的运输被认为首先由质膜上的 CTR1 将 Cu^{2+} 转运到细胞质,尔后再由 CCC2 将细胞质中的 Cu^{2+} 穿过细胞内膜进入到某些细胞器的空腔中,这样,在这些细胞器中将 FET3 和 FTR1 组装成吸铁复合物之后通过膜流运动将此吸铁复合物整合到细胞质膜上。

近年来,在酵母的线粒体中还发现了两种与转运铁元素有关的基因: *mfi1* 和 *mfi2* (Mitochondrial Fe Transporter)。这两个基因的氨基酸序列分析表明它们之间具有 55% 的相同氨基酸和 75% 的相似性,同时它

们都具有六个疏水跨膜区域,蛋白的N-末端存在有锚定信号,序列中还存在着两个组氨酸簇,实验表明这两个蛋白具有影响细胞质中铁元素水平的能力,线粒体可能是细胞内部铁元素的贮存场所^[8],这两种基因与转运其它金属离子的蛋白之间具有同源性,这些蛋白对金属离子的运输可能与质膜的pH值梯度有直接关系,这种向细胞器中的积累运输避免了细胞受到重金属离子的伤害,而且,当细胞处于缺铁胁迫时,线粒体中的铁可能会重新释放到细胞质中再被利用。

参 考 文 献

[1] Dancis A, Roman D G, Anderson G J *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992, **89**: 3869~3873.

- [2] Eide D, Davis - Kaplan S, Jorclan L *et al. J. Biol. Chem.* 1992, **267**: 20774~20781.
- [3] Stearman R, Yuan D S, Yamaguchi - Jwai Y *et al. Science*, 1996, **271**(15): 1552~1557.
- [4] Dix D R, Bridgham J T, Broderius M A *et al. J. Biol Chem*, 1994, **269**(42): 26092~26099.
- [5] de Silva D, Askwith C, Eide D *et al. J Biol Chem.* 1995, **70**:1089~1101.
- [6] Askwith C, Eide D *et al. Cell.* 1994, **76**:403~410.
- [7] Fu D, Beeler T J, Dunn T M. *Yeast.* 1995, **11**: 283~292.
- [8] Li L T, Kaplan J. *J Biol Chem.* 1997, **272**(45): 28485~28493.