

- 1989; **168**: 701
- 3 Pilipenko E V, Blinov V M, Agol V I *et al.* *Nucleic Acids Res.* 1989; **17**: 5701
 - 4 Pellelier J, Sonenberg N. *Nature*, 1988; **334**: 320
 - 5 Jang S K, Krausslich H G, Wimmer E *et al.* *J Virol.* 1988; **62**: 2636
 - 6 Jang S K, Davics M V, Wimmer E *et al.* *J Virol.* 1989; **63**: 1651
 - 7 Jackson R J, Howell M T, Kaminski A. *Trends Biochem Sci.* 1990; **15**: 477
 - 8 Pilipenko E V, Gmyl A P, Agol V I *et al.* *Cell*, 1992; **68**: 119
 - 9 Kaminski A, Howell M T, Jackson R J *et al.* *EMBO J.* 1990; **9**: 3753
 - 10 Sanger D V, Newdon S E, Clarke B E *et al.* *Nucleic Acids Res.* 1987; **15**: 3305
 - 11 Sonenberg N. *Curr Topics Micro Immunol.* 1990; **161**: 23
 - 12 Pallon J G, Porro E B, Nadeel-Ginard B *et al.* *Genes Dev.* 1993; **7**: 393
 - 13 Meerovitch K, Pellelier J, Sonenberg N *et al.* *Genes Dev.* 1989; **3**: 1026
 - 14 Pestova T V, Heellen C V T, Wimmer E *et al.* *J Virol.* 1991; **65**: 6194
 - 15 Gebhard J R, Ehrenfeld E. *J Virol.* 1992; **66**: 3101
 - 16 Hellen C U T, Witherell G W, Wimmer E *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993; **90**: 7642
 - 17 Meerovitch K, Svitkin Y V, Sonenberg N *et al.* *J Virol.* 1993; **67**: 3798
 - 18 Gottlieb E, Steitz J A. *EMBO J.* 1989; **8**: 841
 - 19 Borman A M, Howell M T, Jackson R J *et al.* *J Gen Virol.* 1993; **74**: 1775

- 20 Svitkin Y V, Meerovitch K, Sonenberg N *et al.* *J Virol.* 1994; **68**: 1544
- 21 Macejak D G, Sarnow P. *Nature*, 1991; **353**: 90
- 22 Oh S K, Scott M P, Sarnow P *et al.* *Genes Dev.* 1992; **6**: 1643
- 23 Elroy-Stein O, Moss B. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; **87**: 6743

Internal Initiation of Eukaryotic mRNA Translation. Li Tong, Wang Enduo (*State Key Laboratory of Molecular Biology, Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai 200031, China*).

Abstract The initiation of translation is very important in the process of protein synthesis. On the major eukaryotic mRNAs template, initiation of translation is completed by a cap-dependent mechanism. Recent works demonstrate; a set of animal viruses mRNAs appear to have a different initiation mode based on a cap-independent internal initiation mechanism. These mRNAs contain some conserved secondary structure in 5' untranslated region. Some specific protein factors can stimulate translation through the conserved site.

Key words eukaryote, translation, internal initiation mechanism

真核细胞基因转录抑制的分子机理

屠 郑* 张志文

(北京医科大学生理系, 北京 100083)

梁克珊

(河北省职工医学院生物化学教研室, 保定 074000)

摘要 基因转录水平的调控是个复杂的过程, 该方面的研究多集中于转录激活的机制上, 但转录抑制也

* 现通讯地址: 北京市东单三条5号, 中国医学科学院基础医学研究所, 北京 100005.

收稿日期: 1994-11-29, 修回日期: 1995-04-07

在基因表达中起重要作用. 研究发现, 核小体可抑制 RNA 聚合酶、转录因子与基因的结合, 阻断转录起始. 另外, 基因转录抑制因子也可特异性地作用于转录过程. 依作用机理, 这些因子又可分为被动抑制因子和主动抑制因子两种. 前者主要通过竞争性地结合基因的 DNA 结合位点或削弱激活因子与 DNA 结合的能力而减慢转录速率; 后者通过与基因阻遏元件结合, 直接抑制转录的起始.

关键词 基因转录, 核小体, 基因转录抑制因子

真核细胞基因的转录通常是在以核小体为基本单位的染色质上进行的. 转录需要有 RNA 聚合酶及一些转录因子的参与. 基因表达在转录水平的调控是一个复杂过程, 主要由众多顺式作用元件和反式作用因子彼此相互作用而实现. 因此, 染色质结构的改变, 组蛋白的修饰, 以及各种调控因子之间的相互作用都将对真核细胞 mRNA 的转录产生影响. 近年来, 抑制转录的因素越来越引起人们的重视, 其抑制机理也逐渐明了. 本文从以下三方面对此领域的研究进展作一简要综述: a. 核小体在转录中的抑制作用; b. 抑制因子在转录中的作用及机制; c. 同一基因编码的激活和抑制因子.

1 核小体在转录中的抑制作用

核小体是染色质的基本结构单位. 一个核小体是由 1.8 圈大约 150 个 bp 的 DNA 缠绕着一个组蛋白八聚体 (其中 H₂A、H₂B、H₃、H₄ 各两分子) 组成的. 组蛋白 H₁ 连接于核小体之间, 并与 20 bp 左右的 DNA 相连. 另外, 尚有一些非组蛋白共同组成核蛋白体复合物. 核小体结构通常是稳定的. 在转录过程中, 核小体的结构往往会阻碍 RNA 聚合酶和其他转录因子与 DNA 链的结合, 并且在一定程度上影响转录起始复合物沿 DNA 链的移动. 当核小体处于核心启动子 (core promoter) 位置时, 将会抑制转录起始. 离体试验表明: 核小体可抑制 RNA 聚合酶 III (pol III) 催化的转录延伸^[1], 也可以使 RNA 聚合酶 II (pol II) 催化的转录过程中出现中断位点 (pause sites)^[2]. 从转录后的 mRNA 片段的平均长度上看, 核小体可严重影响转录延伸.

在真核生物体内的转录中, 一般观察不到核小体对 RNA 聚合酶的抑制作用. 为什么呢?

在体内的转录中, 无论是转录的起始或延伸过程, RNA 聚合酶或其他一些转录因子都会促使核小体产生相应的结构变化, 来解除其对转录的抑制.

在转录起始过程中, 核小体的变化方式一般有两种: 持续移位或排除 (persistent displacement and exclusion) 以及诱导移位 (induced displacement)^[3]. 在持续移位方式中, 基因启动子处需有一个较恒定的无核小体的结构疏松区域 (nucleosome-free region). 这种结构可能是组成性因子 (constitutive factor) 通过促使核小体移位或排除核小体形成的. 处于此区的元件可与转录因子相结合, 使转录得以实现. 以持续移位方式转录的一个例子是果蝇的热休克启动子 (heat shock promoters). 当其染色质结构改变后, 在无核小体的结构疏松区, 普遍性转录因子和 CT 因子 (GAGA 因子) 得以与核心启动子结合, 同时恢复了 5' 上游热休克调控元件的亲合能力^[4].

在诱导移位中, 核小体的组蛋白占据上游调控因子结合位点和核心启动元件, 但在各种调控因子直接或间接的诱导下, 核小体产生移位, 让出结合位点和启动元件, 使转录过程得以实现. 例如: 酵母 PHO₅ 启动子 (包括于 4 个核小体位置中) 在被 PHO₂ 和 PHO₄ 蛋白激活时, 核小体即产生移位.

还有一些基因可同时应用这两种变化方式. 如: 酿酒酵母的双向 GAL1/GAL10 基因的上游调控元件中就发现核小体结构疏松区. 这区域被组成性因子 GRF₂ 占据, 其中包括诱导因子 GAL4 的结合位点. 而 GAL1/GAL10 基因的 TATA 盒包含于核小体结构中, 需要诱导核小体移位, 转录才能进行. 这样, 转录过程中, GAL1/GAL10 基因上游调控元件采用核

小体结构持续移位方式, 而转录时其核心启动子则采用诱导移位方式^[5].

对于转录延伸过程中核小体结构的变化, Lin 和 Wang^[6]在 1987 年提出了一种双超螺旋结构域的模式 (twin supercoiled domain model), 目前被一些研究结果所支持. 这种模型假设: RNA 聚合酶在沿 DNA 链移动过程中, 可引起其前方局部区域的转录基因产生正超螺旋 (positive supercoiling), 而其后方的基因区域则产生负超螺旋 (negative supercoiling). 产生这种局部区域变化需要 DNA 的旋转. DNA 双螺旋结构的轻微转动, 会造成环绕组蛋白八聚体的 DNA 超螺旋结构产生负超螺旋, 同时使其周围的 DNA 代偿性地产生正超螺旋. 已知, 负超螺旋结构有利于核小体的形成, 而正超螺旋结构则可能造成核小体结构的破坏 (这种破坏有利于转录因子与 DNA 的结合). 因此, 当 RNA 聚合酶催化转录时, 其前面的 DNA 发生正超螺旋, 有利于转录的进行; 而其后的 DNA 产生负超螺旋, 有利于核小体的重新形成. 最近, 在研究核小体对酿酒酵母 HSP₈₂ 基因的转录的影响时的发现间接支持这种模式^[7].

2 抑制因子在转录中的作用及机制

真核细胞中的转录是通过 RNA 聚合酶与转录起始因子相结合, 形成转录起始复合物而进行的. 特异的基因转录因子与基因启动子、增强子等调控元件相结合调控转录. 而转录抑制因子也是通过基因中的特异序列来抑制转录. 这些转录抑制因子可分为两大类: 被动抑制因子和主动抑制因子.

2.1 被动抑制因子

被动抑制因子主要是通过竞争 (competition) 和中和 (titration) 等机理抑制转录的.

a. 竞争: 转录抑制因子可与激活因子竞争 DNA 结合位点, 也可与其形成空间阻碍, 从而影响转录的进行. 例如: 起负调控作用的蛋白与 GC 盒结合抑制各种基因的转录, 就是通过转录因子 SP1 竞争 DNA 结合位点而实现

的. 除了这种抑制因子与激活因子之间的竞争外, 在不同的激活因子之间也存在竞争抑制. 这种竞争抑制在转录因子的核受体家族 (nuclear receptor family) 中是普遍存在的. 典型的一例就是, 鸡卵清蛋白上游启动子转录因子 (COUP-TF) 对雌激素诱导的小鼠催乳素基因转录的抑制^[8]. 小鼠催乳素基因的雌激素反应元件 (mERM) 与 COUP-TF 和雌激素受体激活元件 (ERBE) 有部分重叠. 当突变 COUP-TF 结合元件或内源性 COUP-TF 减少时, mERM 对雌激素的反应性增加. 而在转染细胞中 COUP-TF 表达载体高效表达时, 可以阻断 mERM 对雌激素刺激的反应. 其分子机制为 COUP-TF 与雌激素受体共同竞争 mERM 上的结合区, 因而产生相互抑制.

b. 中和: 一些转录因子与抑制蛋白结合后, 形成蛋白复合物, 降低或改变了其原有的 DNA 结合活性. 如: 在脂肪细胞分化过程中, CAAT/增强子元件结合蛋白 (C/EBP) 即为一例^[9]. C/EBP 同源蛋白 (C/EBP homologous protein, CHOP) 可与 C/EBP 构成异质二聚体. 但 CHOP 的 DNA 结合域中有两个氨基酸与 C/EBP 不同, 这就导致了 CHOP 在 DNA 结合上的缺陷, 进而影响了异质二聚体 CHOP-C/EBP 与 DNA 的结合. 在脂肪细胞成熟时, CHOP 的表达量增加, 抑制了 C/EBP 的转录活性. 另外, 在肌肉细胞分化过程中, 转录因子 Ap1 与 HLH 转录因子 (myoD1), 生肌调节因子 myogenin 的相互抑制也是一例^[10].

转录抑制因子还可以改变转录激活因子的性质和 DNA 亲和力. 在酿酒酵母的 GAL4-GAL80 系统中, GAL4 是控制半乳糖代谢基因的转录因子. GAL4 与 GAL80 形成复合物后, 在无半乳糖诱导时, GAL80 可以通过阻断 GAL4 的转录激活活性, 来抑制基因的转录.

2.2 主动转录抑制因子

主动转录抑制因子往往通过与基因调控区的阻遏元件结合直接抑制转录起始, 而不通过抑制特定的激活因子. 具有这种性质的抑制因子包括: 果蝇的发育调节因子 kruppel (Kr)、

even-skipped (eve)、engrailed (ed)、人类 *kruppel* 相关因子 YY1、*wilms* 肿瘤基因产物 WT1 及人类 bZIP 蛋白 E4BP4^[11]。甲状腺素受体 (THR) 在缺少配基时, 也会起抑制转录的作用。转录抑制蛋白在结构上可塑性较强, 将其分子中结构域或蛋白质片段与其他蛋白质分子的 DNA 结合域重新组合, 可找到抑制因子中与负调节元件结合而阻遏转录的蛋白质片段。现已发现 *eve*、*en*、c-ErbA、V-ErbA、WT1 的转录阻遏区同源性较低, 但均富含丙氨酸、谷氨酸和脯氨酸, 有的还含有少量带正电荷氨基酸, 提示主动转录抑制蛋白的作用具有基因特异性。

转录抑制的分子基础目前尚不完全清楚, 但已知一些抑制因子可降低基础转录。这提示: 抑制因子有可能直接抑制转录的起始, 即直接影响起始前复合物 (preinitiation complex, PIC) 的形成。离体分析表明: 这些因子降低基础转录率。最近的研究发现: 抑制因子的作用与 TFIIID 有关^[12]。主动抑制因子与 TFIIID 结合, 可以形成无活性的起始复合物。TFIIID 的一种抑制因子 Dr1 与果蝇蛋白 Kr、*eve*、*en* 具有一段同源结构域。

抑制因子的另一作用机制为抗增强作用, 即抑制与启动子、增强子结合的转录因子。这可能是由于激活因子与抑制因子之间的相互作用, 造成活化区被封闭所致。另外, 抑制因子也可影响起始因子, 如 TFIIID。这样, 虽然抑制因子不影响基础转录, 但却可阻止增强子或启动子的激活。

主动抑制因子还可以通过影响核小体的结构来抑制转录。如, 可以促进组蛋白 H1 的整合, 促使核小体覆盖核心启动子或使染色质结构更加紧密等^[13]。

应该引起注意的是, 有些抑制因子会出现一定的定位特异性, 即在不同的结合部位会产生不同的效果。如: YY1 与 P₅ 启动子上游元件结合, 则抑制转录, 而与 P₅ 启动子起始元件结合则起促进转录作用 (离体情况)^[14]。同样的, WT1 抑制很多基因, 但对某种启动子却起激活

作用^[15]。

3 同一基因产生的激活与抑制因子

近年来的研究发现, 有些激活和抑制因子是由同一基因编码的。导致同一基因编码出两种功能截然不同的产物, 其机制主要有以下两种:

3.1 外显子的不同拼接 (alternative splicing)

在含有多个外显子、内含子的基因中, 不同的外显子组合可编码不同功能的蛋白质, 如图 1a。原癌基因 *erb A α* 编码核甲状腺受体 α 亚

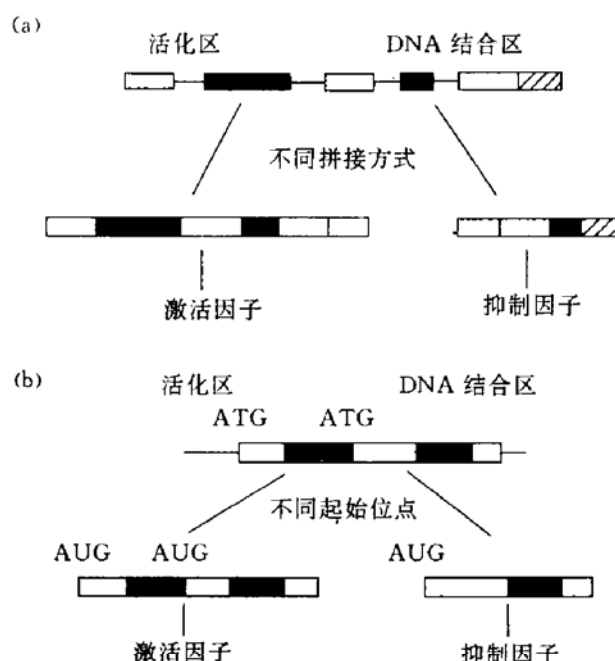


图 1 同一基因产生激活与抑制因子的模式图

(a) 外显子以不同方式拼接模式; (b) 不同的转录起始位点模式。

型。其 N 端片段中含有 DNA 结合区, C 端片段则含有配基结合区。erb A α 基因外显子的不同组合方式, 可产生两种不同的转录产物 α_1 、 α_2 。两种产物编码的蛋白质在 N 端 370 个氨基酸是相同的。但在 C 端, α_1 编码 40 个氨基酸, α_2 编码 120 个氨基酸。功能分析显示: α_1 、 α_2 均可与靶 DNA 结合, 但 α_2 不能与甲状腺激素 (TH) 结合。在 TH 存在的条件下, α_2 受体的表达, 将抑制 α_1 对 TH 的反应。其抑制机制可能有三种: a. α_2 可与 α_1 竞争 DNA 结合位点。

b. α_1 、 α_2 形成无活性的可与 DNA 结合的异质二聚体. c. α_2 与 α_1 竞争一些必要的转录辅助因子. 从以上分析可以看出: 造成两种受体产生不同功能的原因是转录过程中, *erb A α* 基因 3' 端的配基结合区出现了不同的组合方式^[16].

3.2 转录起始位点的不同

在无内含子的基因中, 常常也会由于转录起始位点的不同而产生不同的产物. 如图 1b. 转录从上游活化区开始, 与从基因内部 AUG 信号开始, 将会产生不同性质的产物. Descombes 和 Schibler^[17] 在研究转录因子 LAP 时发现, 它的一种抑制形式 LIP 就是由于转录从不同起始点开始形成的. 与 LAP 相比, LIP 缺少 N 端的活化区域. 当 LAP 与 LIP 形成异质二聚体时, LIP 削弱或抑制 LAP 的转录活性. 原因可能为异质二聚体中只含有一个转录活化区域.

参 考 文 献

- Morse R H. TIBS, 1992; 17: 23
- Izban M G, Luse D S. Genes Dev, 1991; 5: 683
- Workman J L, Bachman A R. TIBS, 1993; 18: 90
- Gilmour D S, Thomas G H, Elgin S C R. Science, 1989; 245: 1487
- Fedor M J, Lue N F, Kornberg R D. J Mol Biol, 1988; 204: 109
- Lin L F, Wang J C. Proc Natl Acad Sci USA, 1987; 84: 7024
- Lee M S, Gazzard W T. EMBO J, 1991; 10: 607
- Lin L F, Yang N, Teng C T. Mol Cell Biol, 1993; 13: 1836
- Ron D, Habener J F. Genes Dev, 1992; 6: 439
- Bengal E, Ransone L, Scharfmann M *et al.* Cell, 1992; 68: 507
- Cowell I G. TIBS, 1994; 19: 38
- Inodtzoza J A. Cell, 1992; 70: 477
- Hages J J, Wolffe A P. Bioassay, 1992; 14: 597
- Seto E, Shi Y, Chang L S *et al.* Nature, 1991; 354: 243
- Wang Z Y, Qiu Q Q, Deuel T F. J Biol Chem, 1993; 268: 9172
- Koeing R J, Lazaz M A, Hodin R A *et al.* Nature, 1989; 337: 659
- Descombes P, Schibler U. Cell, 1991; 67: 569

The Molecular Mechanisms of Gene Transcription Repression in Eukaryote. Tu Zheng, Zhang Zhiwen (*Department of Physiology, Beijing Medical University, Beijing 100083, China*); Liang Keshan (*Work's Medical College of Hebei Province, Baoding 074000, China*).

Abstract The control of gene expression is a complex process and most studies on the regulation of the transcription were focus on the mechanisms of transcription activation. However, transcription repression is also an important factor in the regulation of gene expression. Recent studies have found that transcription of certain genes can be downregulated in two ways. First, nucleosome may pose an obstacle to form transcription complex. Second, a set of repressive molecules inhibit transcription in a gene-specific manner. These repressors are fallen into two classes: passive repressors decrease the activity of one or more positive transcription factors by competing for DNA binding sites or by reducing DNA binding activity of the positive factors. Active repressors, on the other hand, have intrinsic repressing activity and directly inhibit transcription initiation.

Key words gene transcription, nucleosome, repressive factor of gene transcription