

真核生物RNA聚合酶组装及其生物学意义*

刘雪琴 马卢杰 曾 培 谢德宝 肖生林 曾凡力**

(河北农业大学生命科学学院, 保定 071001)

摘要 RNA聚合酶负责RNA生物合成,是维持机体细胞生长和器官发育的重要调控机器.真核生物主要通过3种多亚基RNA聚合酶(RNAPI、RNAPII和RNAPIII)进行基因转录.RNA聚合酶II由10个核心亚基组成,分子质量约为520 ku.RNA聚合酶结构已经解析,但其组装过程却还不清楚.RNA聚合酶各亚基无法完成体外自我组装,说明细胞内其装配过程需要组装因子帮助.RNA聚合酶组装是一个复杂的生物学过程,近年来组装因子的鉴定和发现使RNA聚合酶组装研究成为热点.在酿酒酵母中发现的组装因子有Rba50、Bud27和GPN蛋白家族等.其中GPN蛋白家族是重要的GTP酶(GTPase)家族,从古细菌到酵母以及高等真核生物中都存在,且高度保守.近期研究发现,Rba50在动植物的同源蛋白(RPAP1和IYO)与细胞分化和发育有关.GPN等组装因子编码基因的突变与细胞发育及恶性肿瘤发生发展密切相关.本文对真核生物RNA聚合酶组装最新进展做出综述,以期为RNA聚合酶组装机制的最终阐明及其与疾病发生的关联研究提供基础.

关键词 RNA聚合酶, 组装因子, GPN蛋白家族, 疾病发生, 酿酒酵母

中图分类号 Q7

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0031

RNA聚合酶(RNA Polymerase, RNAP)负责生物体RNA合成,是决定细胞命运、维持生命活动的关键复合酶之一.在原核生物和古细菌中仅有一种RNA聚合酶,合成mRNA、rRNA和tRNA等所有RNA^[1].真核生物至少有3种不同RNA聚合酶,其中RNA聚合酶II(RNAPII)合成mRNA及部分noncoding RNA^[1],是决定基因表达、细胞命运及器官发育等生命活动的关键调控机器^[2-5].Roger D. Kornberg利用酵母作为模型,通过结构生物学、生物化学及酵母遗传学技术阐明了RNAPII复合体结构,揭示了真核生物转录的分子机制,因此获得2006年度诺贝尔化学奖.转录分子机制的研究对于癌症等重大疾病发生机制以及干细胞的分化调节均具有重大的实际意义.

RNAPII复合体结构与功能研究已相对清晰,但其体外组装一直无法实现,这暗示细胞内RNAPII完整结构需要组装因子帮助装配.RNAPII核心由10个亚基构成,分子质量约为520 ku^[1].然而10个核心亚基如何组装成为RNAPII复合体的机制还不明确,其主要原因在于长期以来缺乏组装因子的鉴定.近年来,由于酵母Rba50、Bud27、

GPN家族等RNAPII组装因子的鉴定,RNAPII复合体的组装机制研究逐渐成为热点^[6-9].此外,近期疾病关联研究表明,GPN家族基因突变与癌症等重大疾病密切相关,是癌症治疗新的重要候选靶标^[10-14].

最近本课题组及其他课题组分别在酿酒酵母和拟南芥等物种中确定Rba50和GPN蛋白家族直接参与RNA聚合酶II的组装^[8-9].酿酒酵母Rba50同源蛋白在动植物中直接参与细胞分化^[11].GPN家族物种保守性以及缺失后致死的表型暗示GPN蛋白在RNA聚合酶II组装等重要生物学过程中起必需作用.最新报道Gpn1和Gpn3之间形成异二聚体,共同协助RNAPII入核^[15].Gpn3是乳腺癌细胞生长发育的关键蛋白质,突变后影响乳腺癌细胞的生长^[11].本文对真核生物RNA聚合酶组装的研究进展,尤其是以酿酒酵母为例对RNAPII组装的过

* 国家自然科学基金(31801039)和河北农业大学科技发展基金(2018KYYJ01)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 0312-7528593, E-mail: fanli.zeng@pku.edu.cn

收稿日期: 2020-02-11, 接受日期: 2020-02-24

程做出综述, 以期为研究疾病发生发展提供模式依据。

1 真核生物RNA聚合酶结构

真核生物细胞核内基因转录的执行依赖3种主要的RNA聚合酶复合体, RNA聚合酶I(RNAPI)、RNA聚合酶II(RNAPII)和RNA聚合酶III(RNAPIII)。3种RNA聚合酶在功能上不同: RNA聚合酶I存在于细胞核的核仁中, 转录产物是除5S rRNA外的各种rRNA; RNA聚合酶II存在于细胞核质内, 负责转录mRNA; RNA聚合酶III位于细胞核质内, 转录产物是tRNA、5S rRNA和snRNA。RNAPI、II、III分别包含14、12、17个亚基, 且具有类似的10亚基组成的核心, 其中最大的两个亚基组成它们的活性中心^[16]。其中Rpb1是RNAPII最大亚基, 在其羧基末端结构域(CTD)上包含大量重复的7肽序列^[17]。重复序列的数量随着生物的复杂性增加, 酵母和人类的重复序列分别为26和52个^[17]。重复序列中第2位丝氨酸残基的磷酸化是真核生物RNAPII功能保守的原因之一^[18]。除细胞核RNA聚合酶之外, 真核生物线粒体和叶绿体中还存在不同RNA聚合酶。

此外植物中还存在特异性RNA聚合酶, RNA聚合酶IV(RNAPIV)和RNA聚合酶V(RNAPV), 它们分别合成小干扰RNA(siRNA)^[9, 19]和基因间长非编码RNA^[9]。RNAPIV和RNAPV的亚基组成大部分类似于RNAPII^[20-21]。RNA聚合酶的结构和功能已研究清楚, 但其组装等生物学发生过程仍不清晰。

2 RNA聚合酶组装及其核转运

由于真核生物RNA聚合酶与原核生物聚合酶亚基的相似性, 真核生物RNA聚合酶的大致组装过程可参照细菌RNA聚合酶的生化研究。原核生物RNA聚合酶早期生化研究表明, 其组装开始于两个 α 亚基的结合, $\alpha\alpha$ 二聚体再与 β 亚基结合形成 $\alpha\alpha\beta$ 组装中间体^[22]。最后 β' 可能与 ω 一起结合 $\alpha\alpha\beta$ 形成聚合酶的核心 $\alpha_2\beta\beta'\omega$ ^[22](图1)。 ω 亚基不是

必需的, 但可以稳定 β' 亚基^[23]。由 β 和 β' 亚基组成的聚合酶活性中心裂缝只在最后的组装步骤中完成, 从而限制酶的活性。基于原核RNA聚合酶组装及真核RNA聚合酶结构的研究, 目前真核生物RNA聚合酶组装基本可分为Rpb3亚复合体-Rpb2亚复合体-Rpb1亚复合体3步。与RNA聚合酶II的结构和组装类似, RNA聚合酶I和III也呈现出高度相似规律^[24]。

遗传学及生化实验证明, 真核生物RNAPII复合体组装发生在细胞质, 组装完成后聚合酶再被转入细胞核执行转录功能。在酵母中的工作开启了真核生物RNA聚合酶II体内组装的研究。利用酵母3个最大亚基Rpb1、Rpb2、Rpb3的突变体进行脉冲标记实验发现, Rpb1的结合是发生在Rpb2与Rpb3结合之后^[25]。Rpb6则在Rpb1的组装中维持其稳定性, 这与原核生物RNA聚合酶的组装很类似^[23]。总结起来RNAPII在细胞内的组装过程可大致分为3步, 即RNAPII的3个亚复合体的逐步组装。以Rpb3为核心的Rpb3亚复合体(含Rpb3、Rpb10、Rpb11和Rpb12)首先组装, 接着以Rpb2为核心的Rpb2亚复合体(含Rpb2和Rpb9)与Rpb3亚复合体组装, 最后Rpb1亚复合体(含Rpb1、Rpb5、Rpb6和Rpb8)与前述的组装复合体结合完成RNAPII复合体的组装^[7, 26]。

最近研究表明, RNAPII复合体组装发生在细胞质, 需要组装因子的参与^[27]。这些组装因子是帮助RNAPII各亚基正确组装的关键蛋白质, 组装完成后即脱离复合体, 并不是复合体的组成成分。而生物体大复合物在体内的形成基本都需要一些中间组装因子的帮助。在人细胞中通过亲和纯化技术获得了RNA聚合酶的一系列互作蛋白质, 它们可能参与聚合酶的稳定、组装和转运等过程^[27]。

3 RNA聚合酶组装因子

真核生物RNAPII组装是一个多步骤、多因子参与的复杂调控过程。RNAPII组装以及转运都需要特定的组装因子以及转运蛋白参与。在过去的研究中, 已对聚合酶结构有了很清楚的了解, 包括每个亚基在复合体中的位置及相互作用, 然而这些亚基是如何组装成完整复合物并从细胞质传递到细胞核的还不清楚。RNAPII亚基在体外无法完成组装, 因此这些因子是完成体内组装所必需的。

在RNAPII组装和转运研究中, Iwl1和Rtp1是参与RNAPII入核的重要蛋白质^[28-29]。Crm1是参与

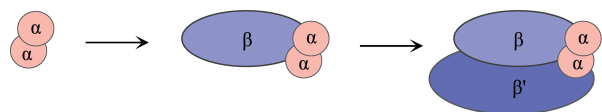


Fig. 1 RNA polymerase assembly in prokaryote

图1 原核生物RNA聚合酶组装

出核的蛋白质(图2). Bud27、Rba50、RPAP2和GPN蛋白家族等是目前发现并鉴定的组装因子(表1). 其中Rba50是人RPAP1的酵母同源蛋白, 在参与RANPⅡ组装过程中与Rpb3和Rpb11亚基相

互作用^[16, 30-33], 为调控基因表达和细胞分化的关键因素^[33-36]. RPAP2(人RNA聚合酶Ⅱ相关蛋白2)(表1)与RNA聚合酶Ⅱ亚基Rpb6直接相互作用, 参与前体mRNA3'端的形成^[37].

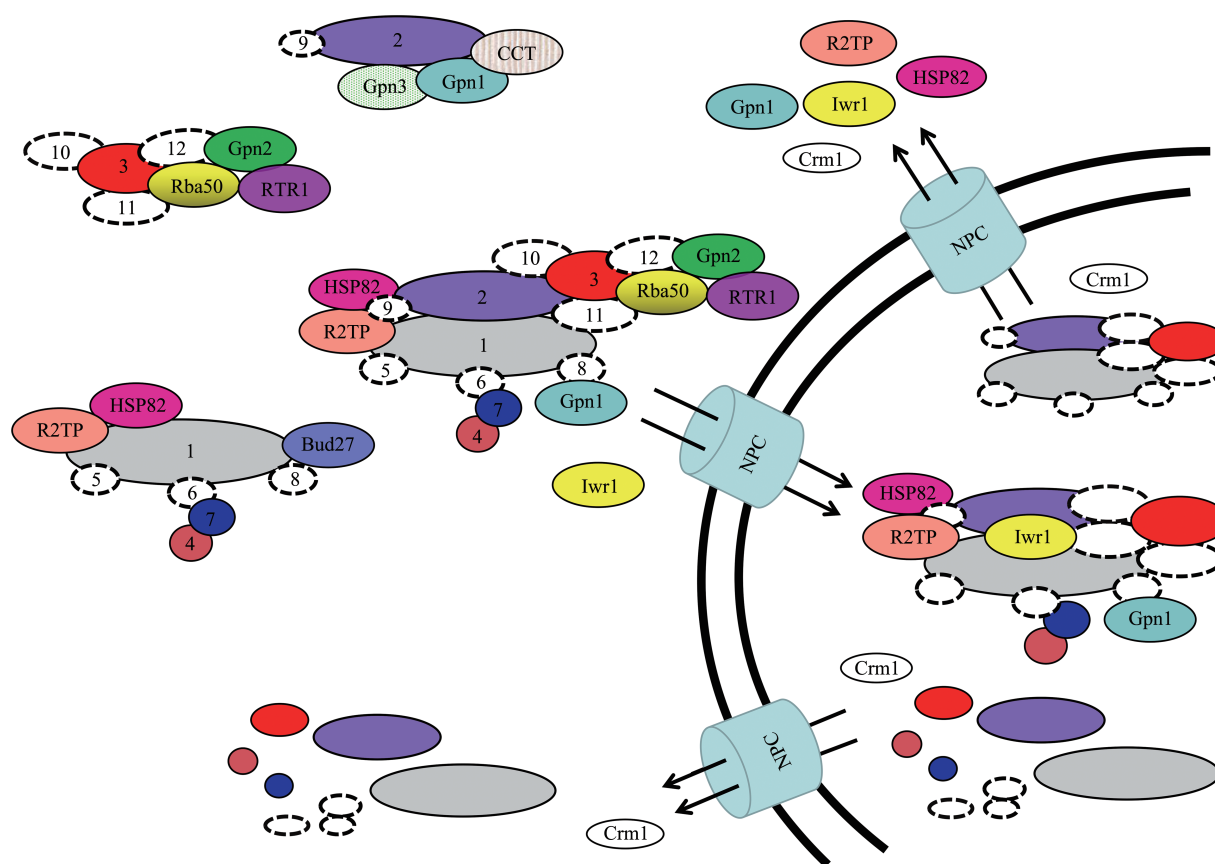


Fig. 2 Known assembly factors and their roles in RNA polymerase assembly

图2 已知组装因子及其参与RNA聚合酶组装过程

拟南芥中通过正向遗传学筛选和生化分析发现, IYO和QQT2参与植物RNA聚合酶PolⅣ的组装^[9]. IYO是酿酒酵母Rba50的同源蛋白, QQT2是酿酒酵母Gpn1的同源蛋白^[9]. 该研究发现IYO和QQT2在植物RNA聚合酶PolⅢ和PolⅣ的组装中也起重要作用^[9]. 本课题组研究发现, Rba50与Gpn2相互作用, 且过量表达Rba50可以回复*gpn2^{ts}*温度敏感突变体中Rpb1的核定位^[8]. 当Rba50突变时, Rpb3亚复合物的装配被抑制, 从而导致Rpb1细胞核积累. Rba50和Gpn2都是将Rpb3和Rpb12聚集在一起以组装Rpb3亚复合体的重要组装因子^[8]. 这同时暗示, GPN蛋白家族以及其他组装因子存在协同互作机制组装RNA聚合酶. 条件性阻断人细胞RNAPⅡ组装进程, 研究人员结合蛋白

质组学鉴定到GPN GTP酶家族的3个成员Gpn1、Gpn2和Gpn3能结合Rpb1或Rpb3亚复合物^[4, 8, 27]. 这表明这些组装因子具有非常保守的组装功能.

GPN蛋白家族是一个发现较晚的重要GTP酶(GTPase)家族, 包括Gpn1、Gpn2和Gpn3. GPN蛋白之间表现出高度的序列相似性, 3种蛋白质都含有一个鸟嘌呤核苷酸结合区^[18]. 这3个蛋白质的编码基因均为细胞生长必需, 敲除均致死, 这表明Gpn1、Gpn2和Gpn3蛋白执行生命活动的必需功能, 且三者之间功能上是非冗余的^[38]. GPN蛋白从古细菌到酵母以及高等的真核生物中都存在, 且非常保守. 古细菌GPN蛋白只有一种且分子质量很小, 相对于真核生物没有C端区域^[39]; 在人类的

Gpn1 中, C 端区域还包含一个核输出信号^[36]. 此外, 研究发现 GPN 蛋白可以聚合形成蛋白质复合体, 包括同二聚体 (古细菌和真核生物) 和异二聚体 (真核生物)^[27], 然而 GPN 蛋白聚合现象与 RNA 聚合酶组装之间的关系还未知.

Table 1 RNA polymerase assembly factors and nuclear transporters
表1 RNA聚合酶组装因子及核转运蛋白

人	酵母	描述	参考文献
Gpn1	Npa3 (Gpn1)	参与RNA聚合酶II组装及转运, Gpn1缺失致Rpb1细胞质积累	[7,19,40]
Gpn2	Gpn2	参与RNA聚合酶II和III的组装	[7-8,25]
Gpn3	Gpn3	参与RNA聚合酶II组装, Gpn3缺失致Rpb1细胞质积累	[7,19,40]
RPAP1	Rba50	参与RNA聚合酶II组装, 与Rpb2、Rpb3和Rpb11相互作用	[7-8,40]
URI/RMP	Bud27	参与RNA聚合酶I、II和III组装, 与Rpb5相互作用	[7,41]
RPAP2	Rtr1/Rtr2	参与RNA聚合酶II的核转运, 与Rpb6相互作用	[2,7,37]
GrinL1a	-	参与RNA聚合酶II组装	[7,40]
HSP90	HSP82	参与RNA聚合酶I和II组装	[7,27]
Rtp1	Rtp1	参与RNA聚合酶II, Rpb2和Rpb3亚复合体的组装	[7,28]
SLC7A60S	Iwr1	参与RNA聚合酶II和III的核转运	[7,29]
CCT复合物		与GPN1和RNA聚合酶II亚基相互作用	[7]
R2TP复合物		参与RNA聚合酶II组装	[7,27]
微管		微管不完整导致Rpb1细胞质积累	[7]

酵母和人细胞的研究工作表明, GPN 蛋白家族在 RNA 聚合酶的亚基稳定、转运及胞质定位等生物学发生过程中发挥重要作用^[40]. 人体细胞中的 Gpn1 和 Gpn3 有一定的序列相似性, 物理关联性和蛋白质表达水平的相互依赖性^[41]. 最近研究发现, Gpn1 和 Gpn3 的相互作用与 RNAPII核转运有关^[11, 42-43]. 酿酒酵母 Gpn2 或 Gpn3 突变以及人细胞中 Gpn1 或 Gpn3 基因敲除均观察到 RNAPII亚基在细胞质中聚集^[6, 37, 44-46]. 这些结果说明, GPN 蛋白参与 RNAPII的细胞核转运, 是 RNAPII关键组装因子.

作为较新的 GTP 酶家族, GPN 蛋白在组装 RNAPII过程中的 GTP 酶活性调控研究也十分匮乏. 酿酒酵母中 GPN 家族基因的突变导致基因组不稳定 (癌症的关键表征之一). 大数据关联分析发现 GPN 家族基因突变与结肠癌、鳞状上皮细胞癌等恶性肿瘤的发生密切相关^[13]. 因此, 深入研究酿酒酵母 GPN 蛋白家族的分子功能及活性调控, 对解析真核生物 RNA 聚合酶组装机制及基因调控具有新的重要科学意义, 也为 GPN 家族关联的重要疾病发生机制的阐明提供理论基础.

4 RNA聚合酶组装缺陷与疾病发生

RNA 聚合酶是机体基因转录的关键复合体, 其精确转录调控是确保细胞正常生长发育的必要条

件. 研究发现, RNAPIII亚基 POLR3G 富含于干细胞和癌细胞, 当 POLR3G 缺失时, 会导致前列腺癌细胞分化, 抑制癌细胞增殖和活力^[47]. 植物特有的 RNAPIV和 RNAPV控制 DNA 甲基化, DNA 甲基化是一种重要的表观遗传机制, 具有可调节基因表达、沉默转座因子、保护基因组稳定性等重要作用^[9]. 当转录调控发生异常, 将会影响机体的正常发育, 引发疾病的发生.

RNA 聚合酶正确组装是基因转录的前提, 组装一旦发生缺陷将影响基因转录、蛋白质表达, 从而导致基因组不稳定, 引发癌症发生发展. 最近研究报道 GPN 蛋白家族、RPAP1 等在维持细胞正常分化和发育中发挥关键调控作用. Gpn1 突变导致大量基因转录受损, 影响细胞发育^[6]. Gpn3 是乳腺癌细胞增殖和生存的必需蛋白质, 过表达可以缩短乳腺癌患者预期寿命^[11], 表达受到抑制时, 会影响非致瘤细胞株的生长^[18], 可作为癌症治疗的新靶点. RPAP1 是限制干细胞分化速率的关键蛋白质^[33, 35-36], 对于细胞识别基因的表达和细胞生存至关重要, 缺失会使细胞去分化, 诱导细胞重新编程, 扰乱分化^[5]. RPAP1 参与的细胞命运调控可能与它作为 RNA 聚合酶组装因子密切相关. 另外参与 RNA 聚合酶组装及转运相关的蛋白质如 RPAP2 在肌原纤维肌病 (MFM) 的肌纤维细胞质聚集, 其免疫染色可作为 MFM 疾病诊断工具^[48]. R2TP 复

合物和HSP90 (表1) 最近也被认为是治疗癌症的重要靶点^[49]. 因此研究RNA聚合酶组装是一个极其重要的生物化学热点.

目前, RNA聚合酶组装及其与疾病发生还存在一系列关键机制待阐明: RNAPI、II和III组装过程中需要哪些组装因子, 它们是如何协同工作的? 是否还有其他RNAPI、II和III组装中间体? RNAP II的3个组装亚复合体各自组分是如何组装的? 3个组装亚复合体又是如何组装完整? 聚合酶组装和拆卸如何协调? GPN家族蛋白、RPAP1等基因突变如何参与疾病发生过程? 本课题组利用模式生物酿酒酵母进行遗传学筛选, 研究RNA聚合酶的组装过程, 为研究其组装的中间过程奠定一定基础, 为疾病发生发展提供思路.

参 考 文 献

- [1] Bushnell D A, Kornberg R D. Complete, 12-subunit RNA polymerase II at 4.1-Å resolution Implications for the initiation of transcription. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**(12): 6969-6973
- [2] Kornberg R D. The molecular basis of eukaryotic transcription. *Cell Death Differ*, 2007, **104**(32): 12955-12961
- [3] Liu X, Bushnell D A, Kornberg R D. RNA polymerase II transcription: structure and mechanism. *BBA-Gene Regul Mech*, 2013, **1829**(1): 2-8
- [4] Sims R J, Mandal S S, Reinberg D. Recent highlights of RNA-polymerase-II-mediated transcription. *Curr Opin Struct Biol*, 2004, **16**(3): 263-271
- [5] Lynch C J, Bernad R, Calvo I, *et al.* The RNA polymerase II factor RPAP1 is critical for mediator-driven transcription and cell identity. *Cell Reports*, 2018, **22**(2): 396-410
- [6] Staresincic L, Walker J, Dirac-Svejstrup A B, *et al.* GTP-dependent binding and nuclear transport of RNA polymerase II by Npa3 protein. *J Biol Chem*, 2011, **286**(41): 35553-35561
- [7] Wild T, Cramer P. Biogenesis of multisubunit RNA polymerases. *Trends Biochem Sci*, 2012, **37**(3): 99-105
- [8] Zeng F, Hua Y, Liu X, *et al.* Gpn2 and Rba50 directly participate in the assembly of the Rpb3 sub-complex in the biogenesis of RNA polymerase II. *Mol Cell Biol* 2018, **38**(13): 18-91
- [9] Li Y, Yuan Y, Fang X, *et al.* A role for MINIYO and QUATRE-QUART2 in the assembly of RNA polymerases II, IV, and V in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2018, **30**(2): 466-480
- [10] Seshagiri S, Stawiski E W, Durinck S, *et al.* Recurrent R-spondin fusions in colon cancer. *Nature*, 2012, **488**(7413): 660-664
- [11] Lara-Chacón B, Guerrero-Rodríguez S L, Ramírez-Hernández K J, *et al.* Gpn3 is essential for cell proliferation of breast cancer cells independent of their malignancy degree. *Technol Cancer Res Treat*, 2019, **18**: 1-11
- [12] Lesseur C, Diergaarde B, Olshan A F, *et al.* Genome-wide association analyses identify new susceptibility loci for oral cavity and pharyngeal cancer. *Nat Genet*, 2016, **48**(12): 1544-1550
- [13] Barbosa-Camacho A A, Mendez-Hernandez L E, Lara-Chacon B, *et al.* The Gpn3 Q279* cancer-associated mutant inhibits Gpn1 nuclear export and is deficient in RNA polymerase II nuclear targeting. *FEBS Lett*, 2017, **591**(21): 3555-3566
- [14] Zanders E D. Human drug targets: a compendium for pharmaceutical discovery. West Sussex, England: John Wiley & Sons, Ltd. 2015: 11-22
- [15] Cristobal-Mondragon G R, Lara-Chacon B, Santiago A, *et al.* FRET-based analysis and molecular modeling of the human GPN-loop GTPases 1 and 3 heterodimer unveils a dominant-negative protein complex. *FEBS J*, 2019, **286**(23): 4797-4818
- [16] Jeronimo C, Langelier M F, Zeghouf M, *et al.* RPAP1, a novel human RNA polymerase II-associated protein affinity purified with recombinant wild-type and mutated polymerase subunits. *Mol Cell Biol*, 2004, **24**(16): 7043-7058
- [17] Hampsey M H. Molecular genetics of the RNA polymerase II general transcription machinery. *Microbiol Rev*, 1998, **62**(2): 465-503
- [18] Calera M R, Zamora-Ramos C, Araiza-Villanueva M G, *et al.* Parcs/Gpn3 is required for the nuclear accumulation of RNA polymerase II. *Bba-Mol Cell Res*, 2011, **1813**(10): 1708-1716
- [19] Kanno T, Huettel B, Mette M F, *et al.* Atypical RNA polymerase subunits required for RNA-directed DNA methylation. *Nat Genet*, 2005, **37**(7): 761-765
- [20] Ream T S, Haag J R, Wierzbicki A T, *et al.* Subunit compositions of the RNA-silencing enzymes Pol IV and Pol V reveal their origins as specialized forms of RNA polymerase II. *Molecular Cell*, 2009, **33**(2): 192-203
- [21] Law J A, Vashisht A A, Wohlschlegel J A, *et al.* SHH1, a homeodomain protein required for DNA methylation, as well as RDR2, RDM4, and chromatin remodeling factors, associate with RNA polymerase IV. *Plos Genet*, 2011, **7**(7): e1002195
- [22] Ishihama A. Subunit of assembly of *Escherichia coli* RNA polymerase. *Adv Biophys*, 1981, **14**: 1-35
- [23] Minakhin L, Bhagat S, Brunning A, *et al.* Bacterial RNA polymerase subunit omega and eukaryotic RNA polymerase subunit RPB6 are sequence, structural, and functional homologs and promote RNA polymerase assembly. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(3): 892-897
- [24] Werner F, Grohmann D. Evolution of multisubunit RNA polymerases in the three domains of life. *Nat Rev Microbiol*, 2011, **9**(2): 85-98
- [25] Kolodziej P A, Young R A. Mutations in the three largest subunits of yeast RNA polymerase II that affect enzyme assembly. *Mol Cell Biol*, 1991, **11**(9): 4669-4678
- [26] Cramer P, Armache K J, Baumli S, *et al.* Structure of eukaryotic RNA polymerases. *Ann Rev Biophys*, 2008, **37**(1): 337-352
- [27] Boulon S, Pradet-Balade B, Verheggen C, *et al.* HSP90 and its R2TP/prefoldin-like cochaperone are involved in the cytoplasmic assembly of RNA polymerase II. *Mol Cell*, 2010, **39**(6): 912-924
- [28] Gomez-Navarro N, Peiro-Chova L, Rodriguez-Navarro S, *et al.*

- Rtp1p is a karyopherin-like protein required for RNA polymerase II biogenesis. *Mol Cell Biol*, 2013, **33**(9): 1756-1767
- [29] Czeko E, Seizl M, Augsburg C, *et al.* Iwr1 directs RNA polymerase II nuclear import. *Mol Cell*, 2011, **42**(2): 261-266
- [30] Giaever G, Chu A M, Ni L, *et al.* Functional profiling of the *Saccharomyces cerevisiae* genome. *Nature*, 2002, **418**(6896): 387-391
- [31] Ito T, Chiba T, Ozawa R, *et al.* A comprehensive two-hybrid analysis to explore the yeast protein interactome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(8): 4569-4574
- [32] Jeronimo C, Forget D, Bouchard A, *et al.* Systematic analysis of the protein interaction network for the human transcription machinery reveals the identity of the 7SK capping enzyme. *Mol Cell*, 2007, **27**(2): 262-274
- [33] Sanmartín M, Sauer M, Muñoz A, *et al.* A molecular switch for initiating cell differentiation in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 2011, **21**(12): 999-1008
- [34] Muñoz A, Mangano S, González-García M P, *et al.* RIMA-dependent nuclear accumulation of IYO triggers auxin-irreversible cell differentiation in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2017, **29**(3): 575-588
- [35] Sanmartín M, Sauer M, Muñoz A, *et al.* MINIYO and transcriptional elongation: lifting the roadblock to differentiation. *Transcription*, 2012, **3**(1): 25-28
- [36] Contreras R, Kallemi P, González-García M P, *et al.* Identification of domains and factors involved in MINIYO nuclear import. *Front Plant Sci*, 2019, **10**(1044): 1-12
- [37] Wani S, Hirose Y, Ohkuma Y. Human RNA polymerase II-associated protein 2 (RPAP2) interacts directly with the RNA polymerase II subunit Rpb6 and participates in pre-mRNA pre-mRNA 3'-end formation. *Drug Discov Ther*, 2014, **8**(6): 255-261
- [38] Minaker S W, Filiatrault M C, Ben-Aroya S, *et al.* Biogenesis of RNA polymerases II and III requires the conserved GPN small GTPases in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 2013, **193**(3): 853-864
- [39] González-González R, Guerra-Moreno J A, Cristóbal-Mondragón G R, *et al.* Human Gpn1 purified from bacteria binds guanine nucleotides and hydrolyzes GTP as a protein dimer stabilized by its C-terminal tail. *Protein Expr Purif*, 2017, **132**: 85-96
- [40] Guerrero-Serrano G, Castaneda L, Cristobal-Mondragon G R, *et al.* Npa3/ScGpn1 carboxy-terminal tail is dispensable for cell viability and RNA polymerase II nuclear targeting but critical for microtubule stability and function. *Bba-Mol Cell Res*, 2017, **1864**(3): 451-462
- [41] Mendez-Hernandez L E, Perez-Mejia A E, Lara-Chacon B, *et al.* Gpn1 and Gpn3 associate tightly and their protein levels are mutually dependent in mammalian cells. *Febs Lett*, 2014, **588**(21): 3823-3829
- [42] Di Croce L. Regulating the shuttling of eukaryotic RNA polymerase II. *Mol Cell Biol*, 2011, **31**(19): 3918-3920
- [43] Méndez Hernández L E, Robledo Rivera A Y, Macías Silva M, *et al.* Gpn3 is polyubiquitinated on lysine 216 and degraded by the proteasome in the cell nucleus in a Gpn1-inhibitable manner. *Febs Lett*, 2017, **591**(22): 3757-3770
- [44] Forget D, Lacombe A A, Cloutier P, *et al.* The protein interaction network of the human transcription machinery reveals a role for the conserved GTPase RPAP4/GPN1 and microtubule assembly in nuclear import and biogenesis of RNA polymerase II. *Mol Cell Proteomics*, 2010, **9**(12): 2827-2839
- [45] Carre C, Shiekhattar R. Human GTPases associate with RNA polymerase II to mediate its nuclear import. *Mol Cell Biol*, 2011, **31**(19): 3953-3962
- [46] Reyes-Pardo H, Barbosa-Camacho A A, Pérez-Mejía A E, *et al.* A nuclear export sequence in GPN-loop GTPase 1, an essential protein for nuclear targeting of RNA polymerase II, is necessary and sufficient for nuclear export. *Biochim Biophys Acta*, 2012, **1823**(10): 1756-1766
- [47] Petrie J L, Swan C, Ingram R M, *et al.* Effects on prostate cancer cells of targeting RNA polymerase III. *Nucleic Acids Res*, 2019, **47**(8): 3937-3956
- [48] Guglielmi V, Marini M, Masson E F, *et al.* Abnormal expression of RNA polymerase II-associated proteins in muscle of patients with myofibrillar myopathies. *Histopathology*, 2015, **67**(6): 859-865
- [49] Kakiyama Y, Kiguchi T, Ohazama A, *et al.* R2TP/PAQosome as a promising chemotherapeutic target in cancer. *J Dent Sci*, 2020, **56**(1): 38-42

Eukaryotic RNA Polymerase Assembly and Its Biological Significance*

LIU Xue-Qin, MA Lu-Jie, ZENG Pei, XIE De-Bao, XIAO Sheng-Lin, ZENG Fan-Li**

(College of Life Sciences, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China)

Abstract RNA polymerase is responsible for RNA biosynthesis and is an important regulatory machine for maintaining cell growth and organ development. Eukaryotes mainly transcribe genes through three kinds of multi-subunit RNA polymerase (RNAPI, RNAPII and RNAPIII). RNA polymerase II consists of 10 core subunits, the molecular size of which is about 520 ku. Structure and function of RNA polymerases have been clarified, but their assembly process are not clear. RNA polymerase subunits can not be completely self-assembled *in vitro*, indicating that this process in cells needs the help of assembly factors. RNA polymerase assembly is a complex biological process. In recent years, the identification and functional analysis of assembly factors have made RNA polymerase assembly a hot spot. The assembly factors found in *Saccharomyces cerevisiae* are Rba50, Bud27 and GPN protein family. Among them, GPN protein family is an important GTPase family, which exists in archaea, yeast and higher eukaryotes, and is highly conserved. Recent studies have found that Rba50 homologous proteins (IYO and RPAP1) in plants and animals are related to cell differentiation and tissue development. Mutations in assembly factors such as GPNs are closely related to cell development and cancer development. This article reviews the latest progress of RNA polymerase assembly in eukaryotes, with a view to provide a basis for the final elucidation of RNA polymerase assembly mechanism and its association with disease occurrence.

Key words RNA polymerase, assembly factor, GPN family, disease, budding yeast

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0031

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (31801039) and a starting grant from Hebei Agricultural University(2018KYYJ01).

** Corresponding author.

Tel: 86-312-7528593, E-mail: fanli.zeng@pku.edu.cn

Received: February 11, 2020; Accepted: February 24, 2020