

转录激活蛋白的分子结构研究进展

冯 博

(同济医科大学分子生物学研究室, 武汉 430030)

提 要

在转录激活蛋白分子中, DNA 结合区和转录激活区分别位于两个结构域中。DNA 结合区有三种基本结构, 即螺旋-转折-螺旋结构、锌指结构和亮氨酸拉链结构。DNA 结合区的结构特征决定着 DNA-蛋白质相互作用的特异性。转录激活区为带负电的亲水性 α -螺旋结构, 激活作用的强弱取决于激活区的负电性和空间结构。

关键词 转录激活蛋白, 结构, 调控

真核基因转录是按照精细的时空顺序进行的。对转录激活蛋白(transcriptional activator)的大量研究为阐明基因转录的调控机制提供了重要线索。近年来, 随着体外重组 DNA 技术的迅速发展, 大量的转录激活蛋白及其编码基

因得到分离鉴定。利用基因融合(gene fusion)等技术, 对转录激活蛋白的结构和功能进行了深入研究, 尤其在激活蛋白和 DNA 的相互作用的方式和激活蛋白的激活区结构特征的研究方面取得了令人兴奋的进展。本文试图对这一

中的活性多肽究竟影响胰岛素作用的哪一环节; 它们相互之间是否又有内在的联系; 它们与某些神经肽的关系又将如何; 凡此等等, 这一切都有待于进一步研究。胰脏中活性多肽的不断发现, 以及对它们的结构、功能和作用机理的深入研究, 无疑在理论研究和临床实践中都有其重要的意义。

参 考 文 献

- 1 Tatemoto K, Rokaeus A, Jornvall H *et al.* *FEBS Lett*, 1983; 164: 124
- 2 Xiao W Fu, Sun A M. *Diabetologia*, 1987, 30(7): 521A
- 3 Hermansen K. *Diabetologia*, 1987; 30(7): 530A
- 4 Yanaihara N, Kadowaki M, Yagi N *et al.* In: Shiba T, Sakaibara S eds. *Peptide chemistry*, 1987, Osaka (Japan): Protein Research Foundation, 1988: 487—490
- 5 Ekblad E, Hakanson R, Sundler F *et al.* *Br J Pharm*, 1985; 86: 241
- 6 LeRoith D, Shiloach J, Roth J *et al.* *J Biol Chem*, 1981; 256(13): 6533
- 7 Tatemoto K, Efendic S, Mutt V *et al.* *Nature (Lond)*,

- 1986; 324: 476
- 8 Eiden L E. *Nature (Lond)*, 1987; 325: 301
- 9 Huttner W B, Benedum U M. *Nature (Lond)*, 1987; 325: 305
- 10 Iacangelo A, Fischer-Colbrie R, Koller K J *et al.* *Endocrinology*, 1988; 122: 2339
- 11 戚正武. 生物化学杂志, 1986; 2(2): 1
- 12 Efendic S, Tatemoto K, Mutt V *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987; 84: 7257
- 13 Ostenson C G, Efendic S. *Diabetologia*, 1987; 30(7): 565A
- 14 Cooper G J S, Willis A C, Clark A. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987; 84: 8628
- 15 Cooper G J S, Leighton B, Dimitriadis G D *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988; 85: 7763
- 16 Nishi M, Chan S J, Nagamatsu S *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989; 86: 5738
- 17 Olefsky J M. *Diabetes*, 1981; 30: 148
- 18 Joshi L R, Wintraub B D. *Endocrinology*, 1983; 113: 2145
- 19 Sulss P M, Schneyer A L, Franke M A *et al.* *Endocrinology*, 1987; 120: 1477
- 20 Dahl K D, Bicsak T A, Hsueh J W. *Science*, 1988; 239: 72

[本文于1989年11月20日收到, 1990年5月26日修回]

领域的研究进展作简要综述。

一、转录激活蛋白的 DNA 结合区和转录激活区位于两个不同的结构域

转录激活蛋白是调节基因转录水平的反式作用因子 (trans-acting factor)。它和位于基因调控区的顺式作用因子 (cis-acting element) 结合,便可作用于转录起始复合物 (transcriptional initiation complex), 从而激活基因的转录。某种转录激活蛋白只能和相应的顺式调控区结合, 激活特定的基因的转录。因此, 激活蛋白分子必须具有两个功能位点——特异的 DNA 结合位点 (DNA binding site) 和转录激活位点 (transcriptional activating site)。早期的实验证明, 原核生物的 λ 抑制子 (λ repressor) 的 DNA 结合位点与转录激活位点是处于同一个结构域内^[1]。DNA 结合位点与转录激活位点是处于同一个结构域内^[1]。但这种情况仅限于原核生物。大量研究表明, 在真核生物中 DNA 结合位点和转录激活位点是位于同一分子的不同结构域中, 并可以用基因重组的方法使这两个区彼此分开而不影响各自的功能。这方面的知识最初来源于对酵母转录激活蛋白及其基因的研究。GAL 4 是酵母半乳糖代谢中的一个调节蛋白, 对半乳糖代谢酶的表达起转录激活作用。GAL 4 的 DNA 结合区位于肽链的

氨基末端, 该区具有特异地结合 DNA 的能力, 但无转录激活作用^[2]。Ptashne 等人将 GAL 4 和 GCN 4 (另一种酵母转录激活蛋白) 分别和来源于细菌的 lex A 蛋白的 DNA 结合区融合, 得到的融合蛋白能在酵母细胞中识别并结合 lex A 特异的 DNA 位点, 并激活转录^[3,4]。Webster 等人也进行了类似的工作。他们将 GAL 4 和 GCN 4 的转录激活区分别与雌激素受体的 DNA 结合区融合, 这类激活蛋白便能识别雌激素受体特异的 DNA 顺序, 激活受雌激素调节的基因的转录^[5]。所有的实验均表明, 真核生物的转录激活蛋白的转录激活区与 DNA 结合区是彼此分开的。转录激活蛋白作用的特异性是由 DNA 结合区作用的特异性决定的, 而转录激活区的作用则是非特异的。

二、转录激活蛋白的 DNA 结合区结构

转录激活蛋白和特定的 DNA 调控区相互识别和结合的过程是真核基因组织特异性表达的基础。分子生物学家们一直都在努力探讨这种蛋白质-DNA 相互作用的分子机理。目前还没有找到二者相互作用的密码对应关系。对大量的转录激活蛋白结构的研究表明, 以下三种基本结构普遍存在于激活蛋白的 DNA 结合区, 即螺旋-转折-螺旋结构 (helix-turn-helix)、锌指结构 (zinc finger) 和亮氨酸拉链结构

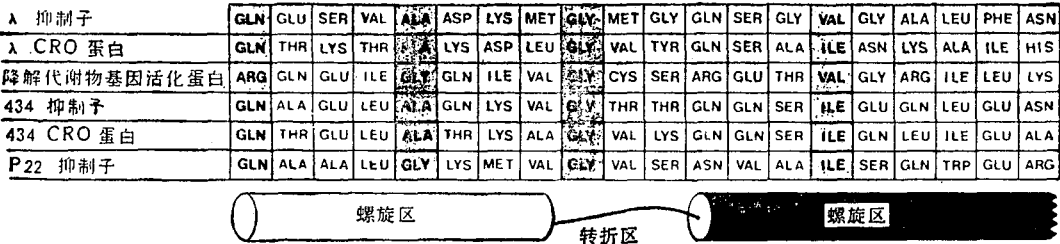


图 1 几种激活蛋白的螺旋-转折-螺旋结构中氨基酸顺序的同源性^[6]

保守的氨基酸残基用黑体字表示。图中的圆柱表示对应于氨基酸顺序的两个 α -螺旋区。细线表示两个螺旋之间的转角区 (leucine zipper)。

X-光晶相学研究首先证实了原核生物的 α 抑制子、Cro 蛋白和 CAP 等调控蛋白的 DNA 结合区可以形成两个串联的 α -螺旋结构, 即螺旋-转折-螺旋结构^[6]。图 1 列出了几

种形成螺旋-转折-螺旋结构肽链的氨基酸组成。后来发现, 这种结构也存在于真核生物, 如酵母的 MAT α_2 调节蛋白和高等动物的 Homeo 盒 (Homeo box) 蛋白家族^[7,8]。这类激活蛋白以二聚体的形式存在。在 DNA-蛋白

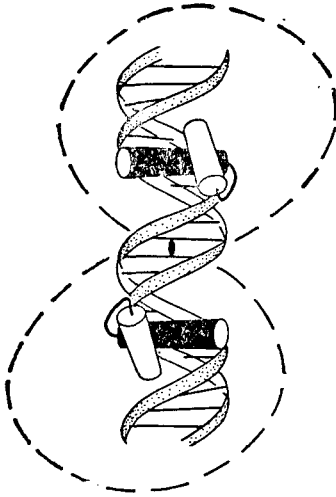


图2 激活蛋白分子中的螺旋-转折-螺旋结构和 DNA 的相互作用^[6]

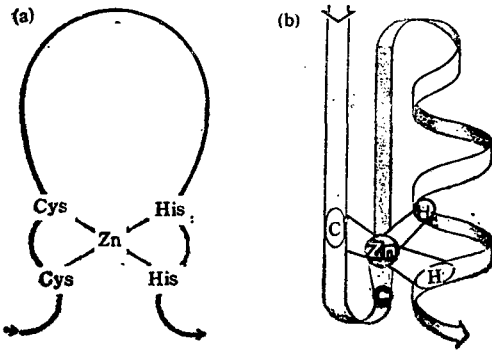


图3 激活蛋白分子中的锌指结构^[20]

(a) Miller 模型^[9] (b) Berg 模型^[10]

质复合物中,两个 α -螺旋(“识别”螺旋)的氨基酸侧链 DNA 碱基对发生顺序特异性结合。位于另一 α -螺旋中的氨基酸和 DNA 中的磷酸戊糖骨架发生非特异性结合。

锌指结构 1985 年由 Miller 提出,以后 Berg 又进一步完善。锌指结构又分为两大类,一类是以 TFIIIA (RNA 聚合酶 III 转录因子 A) 为代表的 C_2H_2 结构,即两个相邻的胱氨酸残基和两个相邻的组氨酸残基之间相隔 12 个氨基酸残基,在锌离子作用下形成如图 3 a 的指状结构伸出蛋白分子表面^[9]。Berg 参考金属蛋白的分子结构,提出了更为复杂的锌指结构模型,如图 3 b。

锌指结构的另一类型是 C_x 结构,即分子

中具有两个以上的重复胱氨酸残基供锌离子结合^[11]。体内外实验均证实,锌指结构和 DNA 的结合有密切关系。发生在 GAL 4 锌指区的点突变可以导致 GAL 4 功能的丧失,在体外不再结合 DNA^[12]。还有人用糖皮质激素的锌指区代替雌激素受体的锌指区,便可使这种杂合蛋白获得糖皮质激素受体特异的 DNA 结合能力^[13]。

各种具有锌指结构的转录激活蛋白和 DNA 结合的情况多不相同^[20]。如锌指结构蛋白 TFIIIA 有 9 个锌指结构,与 5 s RNA 基因的调控区(约 50 pb)结合,调节 5 s RNA 的转录。TFIIIA 的每个锌指和 DNA 双螺旋大沟内约 5 个核苷酸结合。ADR 1 (乙醇脱氢酶基因的调节蛋白)有两个锌指结构,它以二聚体形式识别并结合 22 bp 的回文结构。而 Sp1 有三个锌指结构,它的 DNA 结合区是 10 bp 的 GC 盒 (GC box) 非回文结构,而不是预想的 15 bp。进一步确定锌指数、识别的核苷酸与亲和力之间的关系具有十分重要的意义。

1988 年, Landschaltz 等人研究了 CyC 3 (细胞色素 C 基因调节蛋白)和癌基因产物 MyC、V-jun、V-fos 以及 CBP (CCAAT 盒结合蛋白, CCAAT Binding protein)的氨基酸顺序,发现这些激活蛋白分子既不能形成螺旋-

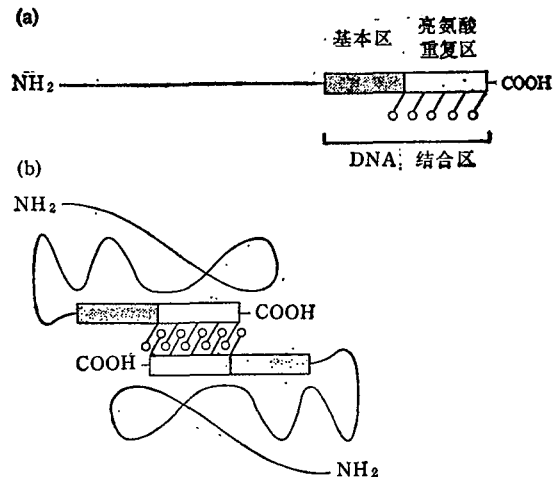


图 4

(a) 激活蛋白分子中的亮氨酸拉链结构^[14] (b) 激活蛋白分子通过亮氨酸拉链形成二聚体^[14]

转折-螺旋结构,也不能形成象 TFI_{II}A 那样的锌指结构,但它们的肽链顺序又有一定的同源性。他们根据这些蛋白肽链顺序的同源性,提出了第三类 DNA 结合区的结构,即亮氨酸拉链结构^[4],如图 4 a。在此结构中,每隔 6 个氨基酸出现一个亮氨酸。该区形成一个 α -螺旋结构。亮氨酸位于螺旋的一侧,形成一个疏水面,象一个拉链。两个相同或不同的激活蛋白分子单位均可通过亮氨酸拉链形成二聚体,如图 4 b。一些带相反电荷的氨基酸或疏水氨基酸形成盐桥或疏水键稳定 α -螺旋结构^[4]。例如, fos 蛋白和 jun 蛋白就是通过亮氨酸拉链形成异源二聚体 (heterodimer),这种 fos-jun 杂合分子具有更强的 DNA 结合能力。如果取代 jun 分子中的亮氨酸拉链结构里的亮氨酸残基, jun 便失去结合 fos 的能力^[5]。CBP 也是以异源二聚体的形式存在的,而且这种形式已被证实是 CBP 结合 DNA 所必须的^[6]。

对于一种转录激活蛋白而言,其 DNA 结合区只具备上述三种结构的一种。而具有同一种结构的不同激活蛋白之间在细微结构上存在着差异,这种差别决定了各自结合 DNA 的特异性。DNA 结合区为什么会存在三大类型?是否还有第四种结构?这些问题尚有待于进一步探讨。

三、转录激活蛋白的转录激活区结构

如果说转录激活蛋白的 DNA 结合区是千差万别的,那么,转录激活区的结构却具有相当的共性。一种转录激活蛋白的激活区可以被另一种转录激活蛋白的激活区所代替,而不影响其激活功能。那么,是什么决定了激活区的功能呢?首先,激活作用的强弱和激活区的负电性有关。体外缺失分析表明,GCN 4 的激活区由分布在 60 个氨基酸范围内的负电区构成^[4]。GAL 4 的激活区较分散,分布在 100 个氨基酸范围内,由两个负电区组成,其中每一个负电区和 GAL 4 DNA 结合区融合后,都能象完整的 GAL 4 一样有效的激活转录^[2]。突变造成 GAL 4 激活区的负电性增加可以导致激活功能的增

加^[7]。另一个精彩实验是将大肠杆菌基因组片段随机地与 GAL 4 的 DNA 结合区的编码基因融合,从中筛选出具有 GAL 4 转录激活功能的重组子。结果表明,这类转录激活蛋白的激活区虽长短不一,氨基酸组成也各不相同,但都具有负电性的特征^[8]。实验证明,激活区的负电性不是该区结构的唯一特征。激活区的空间结构,即 α -螺旋结构也是激活功能的发挥所必须的。所有的转录激活蛋白激活区以及上述的由大肠杆菌基因组编码的“人工”激活区均可以形成亲水性的 α -螺旋。螺旋的一面是酸性氨基酸残基,另一面是疏水氨基酸残基^[8]。Ptashne 按照带负电的亲水 α -螺旋结构特征成功地人工设计了有功能的转录激活区,而具有相同氨基酸组成,但不能形成 α -螺旋结构的肽链则不具有转录激活功能^[8]。Lech 等人还发现,磷酸化作用可能通过增加转录激活区的负电性来增强激活功能^[9]。这种调节方式为环境信号影响转录蛋白的功能,进而调节基因的表达提供了一种途径。

转录激活区的结构上的共性提示,激活区可能具有共同的作用的靶位点或靶蛋白。这些靶位点可能是某些共同的转录因子或 RNA 聚合酶本身。RNA 聚合酶 II 的大亚基 C-端的重复 7 肽结构 CT7n [Tyr Ser Pro Thr Ser Pro Ser]_n。可以形成富含羟基的亲水性。Paul 曾设想,CT7n 可能是转录激活蛋白酸性激活区作用的靶位点^[11]。最近,有实验证实,抗 CT7n 的单克隆抗体可能阻断转录的起始。在体外,GCN 4 可以直接和 RNA 聚合酶 II 发生结合。这些证据均支持 RNA 聚合酶 II 是转录激活蛋白的靶蛋白。转录激活蛋白激活转录的机制尚有待于进一步研究。

小 结

转录激活蛋白和 DNA 的特异性识别与结合是转录调控的重要环节。这一环节作用的高度特异性是由激活蛋白的 DNA 结合区的特殊结构所决定的。为什么会存在三种形式的蛋白结构与 DNA 相互作用是一个值得探讨的问

癌基因与抗癌基因

邓 国 仁

(北京市肿瘤防治研究所, 北京 100034)

提 要

本文从癌基因和抗癌基因两个领域概述了目前国内外的研究成果和方向。癌基因的研究不但可使人们从分子水平认识肿瘤多阶段发展的机理以及细胞生长、分化调节的机制,而且还有可能对肿瘤的诊断、预后判断及生物化学治疗起推动作用。抗癌基因(或称抑癌基因)则是参与维持细胞正常功能的另一组基因。虽然目前识别、克隆出的抗癌基因不多,它们的生物功能也不十分清楚,但是可以预见抗癌基因的研究必将极大地促进细胞功能调控及肿瘤基因治疗研究的发展。

关键词 肿瘤,癌基因,抗癌基因

1982 年,美国麻省理工学院 Weingberg 和国立癌症研究所 Barbacid 等人首次从人膀胱癌细胞中克隆出活化的癌基因 c-Ha-ras^[1,2],这引起了人们对癌基因研究的普遍关注。几年来,越来越多的实验室加入了癌基因研究的行

列。随着研究的深入开展,人们对癌基因的激活与肿瘤形成、进展的关系,对细胞生长分化的调控有了进一步的认识。更重要的是在这一研究进程中,人们开始认识到机体内部还存在着另一套抑制细胞生长,抑制肿瘤形成的基因。从

螺旋-转折-螺旋作为与 DNA 相互作用的蛋白质结构单位广泛存在于原核生物和真核生物。这些调控蛋白大多数与发育有关。如原核生物的 λ 抑制子、 λ Cro 蛋白等是噬菌体选择不同的生活周期的重要调节蛋白;真核生物中的 MAT α 2 是调控酵母生活周期的主要因子;众多的 homeo 盒(homeo box)蛋白家族与高等生物的发育分化有关。锌指结构则可能是一种最原始的核酸-蛋白质相互作用形式。如 TFIIIA 既能结合 DNA;又能结合 RNA。从理论上讲,重复出现的锌指结构和 DNA 链的相互作用是一种简单的形式。亮氨酸拉链结构存在于癌基因 jun, fos, myc 中是一个很有意义的发现。已知 jun 和 fos 蛋白是通过亮氨酸拉链形成异源二聚体与 DNA 结合并发挥转化细胞的作用。对亮氨酸拉链蛋白的研究将是很

有意义的。

参 考 文 献

- 1 Bushman A *et al.* *Cell*, 1988; 54: 191
- 2 Ma J *et al.* *Cell*, 1987; 48: 847
- 3 Brent R *et al.* *Cell*, 1985; 43: 729
- 4 Hope I A *et al.* *Cell*, 1986; 46: 885
- 5 Webster N *et al.* *Cell*, 1988; 52: 169
- 6 Robin P W *et al.* *TIBS*, 1986; 11: 71
- 7 Porter M *et al.* *Nature*, 1986; 320: 766
- 8 Hon-sum Ko *et al.* *Cell*, 1988; 55: 135
- 9 Miller *et al.* *EMBO*, 1985; 4: 1609
- 10 Berg. *PNAS*, 1988; 85: 99
- 11 Huckaby *et al.* *PNAS*, 1987; 84: 8380
- 12 Johnston *et al.* *PNAS*, 1987; 84: 2401
- 13 Green, Chambon. *Nature*, 1987; 325: 75
- 14 Landschaltz *et al.* *Science*, 1988; 240: 1759
- 15 Schuermann M *et al.* *Cell*, 1988; 56: 507
- 16 Lewis A C *et al.* *Cell*, 1988; 53: 11
- 17 Gill G, Ptashne M. *Nature*, 1988; 334: 721
- 18 Giniger E, Ptashne M. *Nature*, 1987; 330: 670
- 19 Lech K *et al.* *Cell*, 1988; 52: 179
- 20 Ronald M *et al.* *Cell*, 1988; 52: 1
- 21 Paul B S. *Nature*, 1988; 333: 216

[本文于1989年10月12日收到,1990年3月2日修回]