

聚腺苷二磷酸核糖基化作用与真核生物的基因表达与调控

陈德风 赵西林

(南开大学分子生物学研究所,天津 300071)

提 要

聚腺苷二磷酸核糖基化作用与许多重要生命活动相关,本文着重介绍其在基因表达与调控中可能发挥的作用。聚腺苷二磷酸核糖基化作用可能通过调节染色体结构与功能或通过对 RNA 聚合酶及 HMG、A24 蛋白等的修饰作用来调节转录活动,并对转录物的加工也有一定影响;此外,该作用还与某些激素诱导的特异性基因表达有关,并且可能参与了增强子序列对基因表达的调节过程。

关键词 聚腺苷二磷酸核糖基化作用,基因表达,转录调控

聚腺苷二磷酸核糖基化作用 [poly(ADP-ribose)ation 简称为聚 ADPR 化作用]是生物体内在聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 [poly(ADP-ribose) polymerase, EC2.4.2.30, 简称为聚 ADPR 聚合酶]催化下,以 NAD^+ 为底物,对蛋白质进行翻译后修饰,从而使聚腺苷二磷酸核糖共价连接到受体蛋白上去的过程^[1,2]。自 1966 年在动物组织中发现了聚 ADPR 聚合酶以来,对聚 ADPR 化作用的研究进展很快;迄今为止,已陆续在所有形式的真核生物及一些病毒中发现有聚 ADPR 化作用^[2,3]。聚 ADPR 聚合酶不仅在真核生物中普遍存在,而且在一定范围内具有进化上的保守性^[3]。越来越多的实验证据表明:聚 ADPR 化作用在染色质功能与结构的调节(如:细胞周期中染色质的凝聚与松弛,DNA 的复制、修复、重组、重排,RNA 的转录,姊妹染色单体交换、染色体畸变等)、肿瘤发生与细胞转化、发育与细胞分化等许多重要生命过程中发挥着不可低估的作用^[2,4,5]。随着研究的逐步深入,人们注意到聚 ADPR 化作用主要发生在细胞核内,并且可能参与了基因的表达与调控活动;为此,本文拟将聚 ADPR 化作用在基因表达与调控中可能发挥的作用及作用的分子机制问题综述如下。

一、聚 ADPR 化作用对转录活动的调节

任何基因的表达都是从转录开始的,而聚 ADPR 化作用与转录活动相关已被许多研究成果证实。最早的发现是 Revel 等 1962 年报道的,他们在代偿性肾肥大组织中发现了尼克酰胺刺激的 NAD^+ 水平升高抑制 RNA 合成的现象^[6]。这一工作的延续导致了聚 ADPR 聚合酶的发现。现在看来, NAD^+ 水平升高后 RNA 合成受到抑制的现象直接缘于聚 ADPR 化作用对转录活动的抑制。70 年代初, Goff 等发现: T4 噬菌体感染受体菌后能通过一系列连续步骤使宿主 RNA 聚合酶逐步被 ADPR 化,从而引起宿主基因转录与表达的关闭,致使宿主 RNA 聚合酶为噬菌体增殖所用^[7]。与此相似, Muller 等在动物组织中也发现了 DNA 依赖性 RNA 聚合酶的聚 ADPR 化作用^[8],且 RNA 聚合酶被聚 ADPR 化后,转录水平明显降低;他们还发现用黄体酮刺激鹌鹑输卵管组织可使 RNA 聚合酶的聚 ADPR 化修饰得到去除,转录水平也随之回升。由于输卵管组织受黄体酮刺激会引起某些基因特异性表达,因此,聚 ADPR 化作用可能控制着基因的转录。

后来,人们又发现聚 ADPR 聚合酶能抑制克隆的 rDNA 的随机转录^[9],这进一步说明聚 ADPR 化作用对转录活动可能具有负调节作用。Taniguchi 等人的工作为聚 ADPR 化作用对转录活动有负调节性提供了更为直接的实验证据^[10];他们通过在完整细胞内诱导 DNA 损伤的方法来提高聚 ADPR 化作用的活性,并考查随后的 RNA 合成情况;结果发现:在 DNA 损伤剂诱导聚 ADPR 化活性升高之后, RNA 聚合酶活性明显降低, rRNA 与 mRNA 的合成同样受到抑制;但这种抑制效应可被聚 ADPR 聚合酶的特异性抑制剂所去除。Slattery 等发现聚 ADPR 聚合酶与转录调节因子 TFIIC^[9] 非常相似,二者在色谱行为、分子量大小以及催化以 NAD⁺ 为底物形成聚 ADPR 的酶活性等方面均具有惊人的相似性,所以二者很可能是同一种物质^[11]。TFIIC 是一种能够结合到 DNA 模板缺口上从而抑制 RNA 聚合酶在缺口处起始随机转录的因子,该因子为体外转录体系所必需;而聚 ADPR 聚合酶也是通过其 DNA 结合区结合到 DNA 缺口处从而抑制随机转录^[11,12]。由此可见,聚 ADPR 聚合酶可能直接参与了转录活动的调节。

除了参与转录活动外,聚 ADPR 化作用还可能与转录物的加工过程相关。Costantini 等发现在用聚 ADPR 聚合酶的抑制剂处理鼠肾细胞时,18S 与 28S rRNA 出现不均衡积累现象^[13]。后来发现这种现象是由于 28S rRNA 和 32S 前体 RNA 的稳定性降低造成的,因为正常情况下体内一系列的核酸酶及不均一性核 RNA 结合蛋白都是被聚 ADPR 化了的^[14],这种修饰作用使它们与 RNA 的亲合性下降,从而保证了 28S rRNA 与 32S 前体 RNA 的稳定性。当聚 ADPR 化作用被抑制之后,由于各种各样的核酸酶与 RNA 的亲合性增强,结果使大分子 RNA 被降解。

二、聚 ADPR 化作用与基因的特异性表达

1983 年, Kimura 等发现细胞内聚 ADPR

化作用水平的变化与某些基因的特异性表达有关^[15];他们注意到:当用抑制聚 ADPR 合成的药物处理培养的鼠垂体 GH3 细胞时,生长激素与催乳激素的基因表达水平升高,并且这种刺激作用与用甲状腺素类似物——三碘甲酰氨基酸 (T3) 刺激生长激素的合成相类似。当用 N'-甲基尼克酰胺处理细胞时,只有生长激素与催乳激素表达水平提高,其他基因的表达几乎不受影响。这表明聚 ADPR 化作用在基因的特异性表达方面可能具有一定的调节作用。

类固醇类激素与甲状腺类激素等许多激素类物质是直接作用于细胞核的;也就是说这些激素的生物学效应是直接通过基因的特异性表达来实现的。Tanuma 等发现糖皮质激素在刺激某些基因的特异性表达的同时,能够使细胞核内的聚 ADPR 化作用发生逆转,大量的聚 ADPR 从受体蛋白上降解下来^[16]。结合前面 Muller 等用黄体酮刺激鹌鹑输卵管组织引起 RNA 聚合酶聚 ADPR 化水平降低的现象^[8]以及刚提到的聚 ADPR 合成的抑制与甲状腺类激素刺激基因特异性表达的等效性^[15],我们不难得出这样的结论:聚 ADPR 化作用可能控制着基因的特异性表达。前面提到转录调节因子 TFIIC 具有抑制缺口诱导性随机转录,确保特异性基因转录正确起始的能力,这也为聚 ADPR 化作用参与特异性基因表达提供了佐证^[11]。

三、聚 ADPR 化作用参与基因表达调控的一些有力的间接证据

任何基因的表达都是与染色质结构的改变密切相关的,而大量的实验证据表明:聚 ADPR 化作用在染色质结构变化过程中发挥着极其重要的作用^[2,17]。许多与染色质有关的蛋白的聚 ADPR 化作用^[1,2]也为其参与基因的表达调控提供了又一重要线索。正如组蛋白的乙酰化、磷酸化可能通过调节核小体结构而参与了真核生物的基因表达与调控一样,组蛋白的聚 ADPR

1) TFIIC:RNA polymerase II 转录补催因子 C, 详见参考文献 [12]。

化有可能是调节基因表达的又一重要方式。组蛋白聚 ADPR 化与其磷酸化、乙酰化在时间、空间上的一致性^[18,19],以及聚 ADPR 化作用对组蛋白磷酸化具有调节作用的发现^[20],为上述观点提供了有力证据。

许多研究成果表明: HMG 与 A24 蛋白参与了基因表达的调节;而 HMG 与 A24 蛋白的聚 ADPR 化^[21,22]可能会影响它们在基因表达调节方面的功能^[13,16]。由于细胞核中只有一小部分蛋白质发生聚 ADPR 化作用,且修饰后的蛋白质在染色质上的分布不是随机的,具有不均一性的特点,并与乙酰化、磷酸化区域高度重合^[18,19],所以聚 ADPR 化作用可能与染色质上的功能活性区域相联系。有些研究还表明:聚 ADPR 聚合酶优先分布于转录活性区域,但 Hough 等发现转录活性区域与聚 ADPR 化作用高发区的重合性并不很严格^[23];看来聚 ADPR 化作用与转录的关系仍比较复杂。

四、可能的分子机制问题

综合现有的研究成果,我们认为聚 ADPR 化作用对基因的表达具有负调节作用。这种负调节作用可能是由以下几种原因造成的。

1. RNA 聚合酶的聚 ADPR 化抑制了其 DNA 模板的结合能力,导致转录水平下降。

2. 调节 RNA 转录的某些蛋白的聚 ADPR 化作用(如:TFIIIC、HMG、A24 蛋白等)抑制了 RNA 的合成。

3. 组蛋白 H1 通过聚 ADPR 化形成二聚体^[24]并结合其他组蛋白的聚 ADPR 化而引起了染色质局部浓缩,包装更加紧密,抑制了转录因子与 DNA 模板的结合。但 Murcia 等最近提出了又一种观点:组蛋白的聚 ADPR 化不能导致染色质凝聚、浓缩,而是通过静电效应影响了其与 DNA 的亲合力,最终导致染色质丝局部松弛^[17]。虽然上述观点彼此很矛盾,但它们都表明聚 ADPR 化作用可能是通过调节染色质结构变化而参与了基因的表达调控活动。

还有一种可能的机制是聚 ADPR 化作用与增强子(enhancer)作用有关。因为类固醇

类激素与甲状腺类激素都可能是通过增强子序列来引出某些基因的特异性表达的,而在激素作用过程中又都伴有聚 ADPR 从受体蛋白上的去除现象;另外,增强子对基因表达的调节与聚 ADPR 化作用都只在真核生物及一些病毒中普遍存在,所以聚 ADPR 化作用很可能参与了增强子对基因表达的调节。最近, Kun 等在分子水平上研究了 DNA、组蛋白及聚 ADPR 聚合酶间的相互作用问题^[25],他们发现聚 ADPR 聚合酶与 DNA 的结合可能具有一定的序列或(和)构象选择性,因为该酶能以 3—4 倍的高比例优先结合到 SV40 DNA 的两个特殊酶解片段上去。有趣的是这两个酶解片段都是富含 A-T 的,并且每个片段中都含有几短段连续的 6—16bp 的 A-T 序列。由于基因的调节区域都是富含 A-T 的,而连续的几短段 A-T 序列则是启动子、增强子或上游位点活化序列中常有的结构;又由于启动子在原核与真核生物中都普遍存在,而增强子、上游位点活化序列则与聚 ADPR 聚合酶一样,仅在真核生物及一些病毒中存在,所以聚 ADPR 聚合酶很可能是通过与增强子序列的相互作用来调节基因的表达的。

本文承焦瑞身先生审阅,特此致谢。

参 考 文 献

- 1 Hayaishi O, Ueda K. *Ann Rev Biochem*, 1977; 46: 95
- 2 Ueda K, Hayaishi O. *Ann Rev Biochem*, 1985; 54: 73
- 3 Scovassi A I, Izzo R, Franchi E *et al. Eur J Biochem*, 1986; 159: 77
- 4 Moss J, Vaughan M. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, 1988; 61: 303
- 5 Althaus & Richter. *Mol Biol Biochem Biophys*, 1987; 37: 1
- 6 Revel M, Mandel P. *Cancer Res*, 1962; 22: 456
- 7 Goff C G. *J Biochem*, 1975; 77: 7p
- 8 Muller W E G, Zahn R K. *Mol Cell Biochem*, 1976; 12: 147
- 9 Kurl R N, Samson T J. *Nucleic Acid Res*, 1985; 13: 89
- 10 Taniguchi T, Agemori M, Kameshita I *et al. J Biol Chem*, 1982; 257: 4027
- 11 Slattey E, Dignam J D, Matsui T *et al. J Biol Chem*, 1983; 258: 5955
- 12 Ohtsuki M. *FEBS Lett*, 1984; 168: 275
- 13 Costantini M G, Johnson G S. *Exp Cell Res*, 1981; 132: 443

纤溶酶原活化物抑制剂

武彩云 孙乐琴

(南京大学生物化学系,南京 210008)

提 要

纤溶酶原活化物抑制剂 (PAI) 能专一性地抑制纤溶酶原活化物, 在纤溶系统中起重要的调节作用。本文综述了四种 PAI 的来源、性质、基因结构、生理功能及与疾病的关系。

关键词 纤溶酶原活化物抑制剂

蛋白酶抑制剂约占血浆总蛋白的 10%, 它们调节结缔组织转换 (turnover)、血凝、纤溶、补体激活、炎症反应等活动^[1,2]。其中纤溶酶原活化物抑制剂 (plasminogen activator inhibitor, PAI) 是一类对纤溶酶原活化物 (plasminogen activator, PA) 专一的蛋白酶抑制剂, 在纤溶系统中起重要的调节作用。

早在 1963 年 Brakman 等人就在孕妇血中发现了一种 PAI, 它只抑制 PA 而不抑制纤溶酶 (plasmin)。1982 年以前由于缺少足够的证据, 人们曾怀疑专一性的 PAI 是否有必要存在。因为 PA 活性受许多机制的调节, 如从血管壁的释放及迅速的肝清除, 与纤维蛋白专一性的反应和单链 PA 的蛋白水解激活; 而且整个纤溶系统的活性强烈地受到 plasmin 抑制剂 α_2 -抗纤溶酶 (血浆中含量达 0.06mg/ml) 及 α_1 -抗胰蛋白酶的调节。近几年随着对 PA 研究的

深入, 对专一性 PAI 的存在已经不再有了^[1,2]。事实上, 在纤溶系统中, plasmin 和 PA 各有其专一性的抑制剂, 它们分别在不同水平上调节纤溶活性(如图 1)。

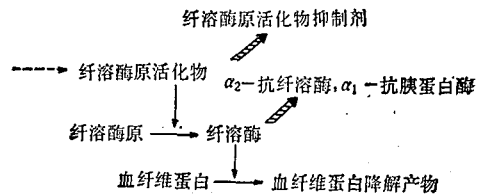


图 1 纤溶系统

从免疫学特性看, PAI 至少可分成四类: 内皮细胞型 PAI (PAI-1)、胎盘型 PAI (PAI-2)、尿型 PAI (PAI-3) 和蛋白酶 nexin (protease nexin, PAI-4), 它们对纤溶系统的调节功能还未完全搞清^[1,2]。

14 Kostka G, Schweiger A. *Biochem Biophys Acta*, 1982; 696: 139

15 Kimura N, Cathala G, Baxter J D *et al. DNA*, 1983; 2: 195

16 Tanuma S, Johnson L D, Johnson G S. *J Biol Chem*, 1983; 258: 15371

17 Murcia G, Hulesky A, Lamarre D *et al. J Biol Chem*, 1986; 261: 7011

18 Wong M, Miwa M, Smulson M *et al. Biochemistry*, 1983; 22: 2384

19 Malik N, Wong M, Smulson M E. *Biochemistry*, 1984; 23: 3721

20 Ushiroyama T, Tanigawa Y, Tsuchiya M *et al. Eur J Biochem*, 1985; 151: 173

21 Tanuma S, Johnson G S. *J Biol Chem*, 1983; 258: 4067

22 Okayama H, Hayaishi O. *Biochem Biophys Res Commun*, 1978; 84: 755

23 Hough C J, Smulson M E. *Biochemistry*, 1984, 23: 5016

24 Stone P R, Lorimer III W S, Kidwell W R. *Eur J Biochem*, 1977; 81: 9

25 Sastry S S, Kun E. *J Biol Chem*, 1988; 263: 1505

[本文于1990年6月8日收到, 11月2日修回]