

TBP 与 TBP 相关因子

俞 峻 王 均 贾弘提

(北京医科大学生物化学与分子生物学系, 北京 100083)

摘要 真核细胞中, 一定数量和种类的 TBP 相关因子与 TBP 结合成多蛋白复合物——基本起始因子 SL1、TFIID、TFIIIB, 分别指导三类基因的转录。因此, TBP 是一种通用转录因子, 而 TAFs 则具有聚合酶和启动子特异性, 起辅助转录激活因子的作用。在转录起始过程中, 前者在种属间高度保守的 C 端独特结构可直接识别 TATA 元件, 或通过 TAFs 与 DNA 结合; 而后者有的作为 TBP 结合 DNA 的媒介, 有的作为转录起始复合物组装时其他 TAFs 与 TBP 相互作用的桥梁, 有的则作为转录激活蛋白与 TBP 联系的纽带, 介导转录激活蛋白对基因转录的激活作用。

关键词 基本起始因子, TBP, TAFs, 转录激活

真核基因转录起始过程极为复杂, 需 RNA 聚合酶 I、II、III 分别与 SL1 (RNA Pol I promoter selectivity factor)、TFIID (transcription factor II D)、TFIIIB (transcription factor III B) 等基本起始因子 (general initiation factors) 形成转录起始复合物。这些基本起始因子均属多蛋白复合物, 由 TATA 盒子结合蛋白 (TATA-box binding protein, TBP) 和各自独有的一套 TBP 相关因子 (TBP-associated factors, TAFs) 组成。TBP 为 SL1、TFIID 和 TFIIIB 三种基本转录因子所共有, 是一种通用转录因子,

而 TAFs 则具有启动子特异性和聚合酶特异性, 参与起始不同类型 RNA 的转录。很多转录激活因子 (transcriptional activators) 以 TAFs 为中介物, 与 TBP 通用转录因子相互作用, 控制转录起始复合物的组装或影响其稳定性, 调节基因转录, 故这些 TAFs 又称辅助激活因子 (coactivator)^[1~3]。

1 转录起始因子概述

真核转录起始研究首先始于 RNA Pol II 和 Pol III。1980年, Roeder 及其同事研究人类

表1 三类基因转录调节序列特点及参与转录的起始因子

	Pol I	Pol II	Pol III	
转录产物	rRNA	mRNA	snRNA	tRNA/5S rRNA
基因调节序列	核心启动子不含 TATA 元件, 上游含 GC 元件	启动子含 TATA 元件或 Inr 结构	上游调节序列含 TATA 元件、PSE 或 DSE	下游调节序列含 A、B 或 C 元件、上游不含 TATA 元件
转录起始因子	SL1 (TBP/TAFs) UBF	TFIID (TBP/TAFs) TFIIA TFIIB TFIIE TFIIF TFIIG/J TFIIH TFIIJ	TFIID (TBP/TAFs) TFIIIB (TBP/TAFs) PSP	TFIIIB (TBP/TAFs) TFIIIC TFIIIA (5S rRNA)

细胞中哪些成分为纯化的 Pol II 和 Pol III 转录起始所必需, 并希望以此判别不同的聚合酶是否需要相同的转录因子. 他们利用磷酸纤维素 (PC) 层析法分离到 4 种组分: PC-A~PC-D. 以腺病毒主要晚期启动子 (AdMLP) 基因作为模板发现, PC-A、PC-C、PC-D 三种组分为 Pol II 转录所必需, 分别被命名为 TFIIA、TFIIB 和 TFIID. 利用 Pol III 转录 tRNA、腺病毒基因和 5 S rRNA 则需要 PC-B 和 PC-C, 二者分别被命名为 TFIIIB 和 TFIIIC. PC-C 组分经 DES_2 进一步层析分离得到两种独立的成分, 即 TFIIB 和 TFIIIC^[4].

此后许多研究表明, RNA Pol I、Pol II 和 Pol III 转录起始分别需要多种基本转录因子参与 (表 1), 转录起始即是这些因子在启动子上顺序集结的多步骤过程^[5].

从表 1 可看出三类基因转录均需 TBP 与各自独特的一套 TBP 相关因子的参与.

2 通用转录因子 TBP

2.1 TBP 的结构与功能

纯化的酵母 TBP 是一条分子量为 27 000 的单链多肽. 酵母 TBP cDNA 克隆成功迅速导致了物种 TBP cDNA 的分离, 如裂殖酵母、*Arabidopsis*、果蝇、小鼠和人等. 克隆的 TBP 分子量从 22 000 (*Arabidopsis*) 至 38 000 (果蝇和人) 不等^[5]. TBP 结构最为显著的特点是, C 端约 180 个氨基酸残基在各物种间高度保守, 而 N 端残基则各异^[6]. 人与酵母 TBP C 端 180 个氨基酸有 81% 的同源性, 各由两个同源性达 40% 的顺向重复序列构成. N 端功能区的长度和序列差异颇大, 可从 18 个氨基酸 (*Arabidopsis*) 到 160 个氨基酸 (人) 或 176 个氨基酸 (果蝇) 不等^[7]. 具有种属特异性的 N 端结构也存在一定的相似之处, 一般均包含 STP-1 (丝氨酸-苏氨酸-脯氨酸富含区) 或 Q-run (谷氨酸不间断延伸区) 等结构^[6].

酵母 TBP C 端保守的功能区由结构高度近似的两个亚区, 通过一假设的二元对称轴连接而成. 每个亚区分别对应一段氨基酸顺向重

复序列, 每个亚区共同组成一个连续的 10 绞反平行 β 片层, 整体构象呈马鞍形^[7]. 从片层 S2 和 S3、S2' 和 S3' 之间分别向马鞍两侧伸出一环状结构, 与微弯的 β 片层一起构成一个圆柱形开口. 在马鞍形向上凸起的表面有两个长的 α 螺旋 (H2 和 H2'), 两个短的螺旋结构 (H1 和 H1') 则分别位于分子的两端. 连接两个亚区的中间区域是 TBP C 端在结构和氨基酸序列上唯一非对称的结构 (图 1).

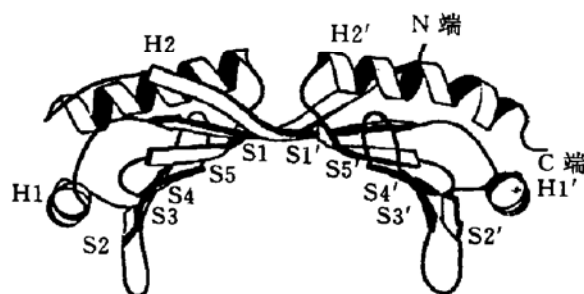


图 1 酵母 TBP C 端功能区二级结构

TBP C 端残基的保守性可划分为亚区间的保守性和种属间的保守性. 两亚区间保守性残基既有亲水性的, 又有疏水性的. 疏水性保守残基大多沿圆柱形开口分布于 β 片层底侧的凹面, 对这些残基进行突变可导致 DNA 结合能力的丧失, 提示这一表面可能是结合 DNA 的部位^[8]. 种属间的保守性残基可存在于单一的亚区, 同时大多数亚区间保守性残基也属于此类. 种属间保守性残基大多也分布于 β 片层的凹面. 存在于种属间, 但不存在于亚区间的保守性残基具有特殊的意义: 它们可能涉及到 TBP 的非对称性功能, 如 TBP 与转录复合物中其他蛋白质, 或 TBP 与 DNA 特异性序列之间的相互作用. 此类残基的基因突变可改变 TBP 识别、结合 DNA 和蛋白质的性质^[7]. 综合结构、生化性质及突变的分析表明, TBP C 端马鞍形的底侧凹陷与结合 DNA 有关, 而突出的上部螺旋表面可能介导与其他蛋白因子的相互作用^[9].

TBP 通过 DNA 双螺旋的小沟与 DNA 相互作用, 这一观点已得到证实. TBP 的长轴与

DNA 螺旋取向一致,使之缠绕在小沟之中,10 绞 β 片层伸展几乎完全可与小沟接触^[7]. TBP 与 TATA 盒子的结合造成 TATA 盒子 3' 端 DNA 链发生折曲及 TATA 序列局部构象的改变,这种改变可能有助于其他转录调节因子的介入. 在不含 TATA 盒子的调节序列中, TBP 与 DNA 发生作用需要通过 TAFs 间接进行^[10]. 一般认为, TBP 的 C 端单独即可完成其基本功能. 但最近发现, 种属特异性很高的 N 端在黑腹果蝇、啤酒酵母中也具有转录活性^[11].

2.2 TBP 在转录激活中的作用

TBP 是一种高度保守的真核转录因子, 可与不含 TATA 盒子的合成 DNA 序列和多种蛋白质相互作用, 在转录调节中发挥多种功能. TBP 与各种 TAFs 相结合, 组成转录因子 TFIID、TFIIB 和 SL1, 分别参与 RNA 聚合酶 II、III、I 的转录起始过程, 调节体内各类 RNA 的平衡.

天然的 TFIID 可介导基本的和激活物依赖性的转录, 而单纯 TBP 则只能维持基本转录, 提示 TFIID 中的 TAFs 成分在激活物介导的转录中具有重要作用^[12] (详见后文). TBP 具有结合多种转录调节因子如 VP16、Zta、E1A、T 抗原、P53 等^[12] 和 RNA Pol II C 端功能区 (CTD) 的作用^[13]. 将人 U6 基因 (Pol III 转录) 的 TATA 盒子转移至 U2 基因 (Pol II 转录的无 TATA 序列基因), 导致 U2 基因被 Pol III 转录, 提示 TBP 与 TATA 序列的相互作用可能对 RNA 聚合酶的选择性具有一定作用^[14]. 许多基因的转录受特异性因子的调节, 其中有些因子是通过与 TBP 相互作用而实现其功能的. 最早发现的 VP16 酸性活化物功能区可与 TBP 相互作用, 将 VP16 单一氨基酸置换使之失活的同时, 它在体外结合 TBP 的能力也发生障碍. 还有许多激活蛋白可与 TBP 结合, 增强 TBP 与 TATA 盒子结合的稳定性^[15]. TBP 还可与一些负性调节因子相互作用, 如 USA (upstream factor stimulatory activity) 中的负性组分 NC1、NC2, HeLa 细胞中克隆的成分 Drl

等^[12].

对 TBP C 端氨基酸进行一系列突变发现, 某些突变可抑制 Pol III 转录, 同时使 Pol II 转录增强, 而另外一些突变的作用则恰恰相反. 引起两类效应的突变位置彼此接近, 提示 Pol II 和 Pol III 特异性转录因子可能通过重叠位点竞争结合 TBP; 同时, 竞争现象还提示体内存在通过修饰 TBP 调节不同类型 RNA 之间平衡的可能机制^[16]. 对 Pol II 和 Pol III 转录产生影响的 TBP 突变对 Pol I 转录没有作用, 这可能是因为参与 Pol I 转录的特异 TAFs 结合 TBP 的位置与前两者不同, 或者 Pol I 的转录完全位于核仁内而独有一套 TBP. 参与 Pol I 转录的重要因子 SL1 虽包含 TBP, 但并不具有结合 DNA 的能力^[17], 因此 TBP 在此的作用可能与它在 TFIID 和 Pol IIIB 中不同, 其 DNA 结合活性可能不是 Pol I 转录所必需, 而是通过 TBP 与其他蛋白 (如 UBF 等) 形成复合物发挥作用^[18]. 最新的研究结果也支持这一设想. 利用人工合成 TATA 序列的寡核苷酸可竞争性抑制 *Acanthamacha castillanii* 的 Pol II 和 Pol III 转录活性, 但对 Pol I 没有影响; 而利用抗 TBP 非保守性 N 端的抗体进行免疫沉淀则对三种 RNA 聚合酶均起抑制作用, 说明 TBP 在三种 RNA 聚合酶的转录中都具有重要作用, 但在 Pol I 中的作用又具有独特的性质^[19].

虽然 TBP 参与多种转录过程已得到证实, 但欲作出 TBP 为所有转录过程所必需这一结论似乎还为时过早. 最近发现, 含有起始子 (Inr) 元件的腺相关病毒 (AAV) P5 启动子只需要 YY1、TFIIB 和 Pol II 三种成分即可启动超螺旋的 AAV P5 模板 DNA 的基本转录, 而不需要 TBP 的参与^[20], 提示了无 TBP 参与转录的可能性. 除参与各种转录起始过程, 近来还发现 TBP 与酵母染色体 DNA 的复制过程有关^[21]. 鉴于转录与复制过程存在解链、多种蛋白因子参与等共同特征, TBP 在两种过程中的角色与功能可能会成为 TBP 研究领域一个新的有趣课题.

3 辅助激活因子——TAFs

3.1 TAFs 参与基本转录因子组成

许多证据提示,基本转录因子 TFIID 是一种多肽复合物,由 TBP 和紧密结合的多肽组成.较早的研究认为,TBP 是转录激活因子的直接作用目标.依照这种作用模式,可以预测纯化的 TBP 应能完全取代 TFIID,辅助转录激活因子的转录激活作用.然而,这种预测至少对于某些转录激活因子并未发生,如哺乳动物转录激活因子 SP1 在仅有 TBP 存在的情况下,只能维持基本的转录活性,但却不能发挥转录增强作用,但在完整的 TFIID 存在时则可使转录活性成倍增强.类似的情况见于多种转录激活因子,如 NTF-1、GAL4-VP16、USF 等^[3].

Tjian 及其同事发现,果蝇 NTF-1 的转录激活作用既需要纯化的 TBP,又需要内源性 TFIID 组分.应用甘油梯度沉淀和免疫沉淀进一步分析证明,TFIID 是包含 TBP 和至少 7 种与 TBP 紧密结合的 TAFs 的多肽复合物.采用尿素变性剂将 TAFs 去除后,TBP 不再支持 NTF-1 的转录增强作用,但仍可维持基础水平的转录活性;将 TAFs 重新结合至 TBP 则可恢复 NTF-1 的转录增强活性.细胞来源不同,其 TAFs 组分多寡及分子量大小不同.采用尿素变性剂或胍使果蝇 TAFs 与 TBP 分离,得到分子量分别为 250 000、150 000、110 000、80 000、60 000、40 000 和 30 000 的多肽^[22].从哺乳类细胞中分离出分子量为 10 000~200 000 不等的 10 种多肽^[23].自菖蒲细胞 P11 的 $0.85 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl 提取物中分离出至少 13 种 TAFs.

在 RNA 多聚酶 I 系统中,加入抗 TBP 抗体可有效地消除 SL1 的转录活性.与 TFIID 一样,仅仅用纯化的 TBP 不能完全恢复转录活性,说明 TBP 只是 SL1 活性的必要成分,但对其表现完整活性却是不充分的,提示除 TBP 外,SL1 中尚有其他组分为其表现活性作贡献.采用尿素或胍从人 SL1 中分离出三种多肽,分子量为 110 000、63 000、48 000^[17].从小鼠 SL1 中分离出分子量为 95 000、68 000 和 48 000 的三

种多肽^[24].

RNA 聚合酶 III 系统的情况较为复杂,经典的 VA₁RNA、tRNA 和 5S rRNA 基因的启动子调控元件位于转录起始点下游,且无明显的 TATA 盒子;而另一些基因,如 U6 和 7SK 基因的调控元件都位于转录起始点上游,并含有 TATA 盒子,其转录激活需要 Pol II 转录激活因子.具有下游启动子的基因通过 A 和 B (或 C) 盒子结合多亚基的 TFIIC,TFIIC 随即结合 TFIIB,TFIIB 负责固定 Pol III 进行转录起始.比较 Pol I、II、III 系统发现,它们在转录激活方面有令人惊讶的相似关系.

UBF ———→ SL1 ———→ Pol I

SP1 ———→ TFIID ———→ Pol II

TFIIC ———→ TFIIB ———→ Pol III

由此,很自然可以想见 TBP 与某些 TAFs 构成 TFIIB.这一推测得到了 Taggar 等人的实验证实:HeLa 细胞抽提物经磷酸纤维素柱及 0.3 mol/L 、 0.7 mol/L 和 1.0 mol/L KCl 分级分离所得三个组分 (P.3、P.7 和 P1.0) 可分别重现 Pol III、II、I 的功能.从不同的磷酸纤维素分离组分中免疫纯化去除 TBP,可得到多聚酶特异的几套 TAFs.例如,从 P.3 组分获得了 TAF-172 和 TAF-L 两种多肽. Taggar 等人提出以下依据表明 TFIIB 是由 TBP、TAF-172 及 TAF-L 组成的多亚基复合体:a.这三种因子在 TFIIC 激活的 Pol III 起始分析试验中可完全有效地取代 TFIIB;b.经模板介入分析 (template commitment assay),TBP-TAF-172-TAF-L 复合物与 TFIIB 毫无二致;c.当 HeLa 核抽提物中 99% 以上的蛋白质处于溶解状态时,TBP、TAF-172 及 TAF-L 可发生大量免疫共沉淀^[25].

3.2 TAFs 具有多聚酶特异性和启动子特异性

实验研究表明,虽然 SL1、TFIID 及 TFIIB 的 TBP 组成完全相同,但是,参与三种基本起始因子的 TAFs 无论在分子量还是在结构上并非完全相同,显然,TAFs 具有多聚酶特异性.实验表明,HeLa 细胞抽提物 P1.0、P.7 和 P.3

组分可分别重现 Pol I、II、III 的转录活性, P. 3 组分却抑制 Pol II 转录, P. 7 组分抑制 Pol III 转录, P1. 0 组分则抑制 Pol II、III 转录. 在有 TAF-L 存在时, TBP-TAF-172 复合物可表现 Pol III 转录活性, 但对含 TATA 盒的 Pol II 转录却不表现活性, 显然, TAF-172 可抑制 TBP 与 TATA 盒子的结合^[25].

人和鼠的 SL1 在转录体系中不能互换, 而转录体系中的其他成分, 如 UBF 和 Pol I 则在人和鼠转录中有相同的活性, 因而 SL1 中 TAFs 可能特异地识别不同的 DNA 序列, 具启动子特异性^[17]. Sharp 曾提出设想: 哺乳类动物细胞中所有的约 2 万种启动子各有一套 TAFs. 我们认为即使 Sharp 的设想成立, 从基因组容量考虑, 各套 TAFs 中可能尚有共同组分存在, 这才是最经济的.

3.3 TAFs 的结构及相互间的作用

目前, 参与果蝇 TFIID 的几乎所有的 TAFs cDNA 都已被克隆, 为各种 TAFs 的结构及其相互作用分析奠定了基础.

最先克隆的果蝇 TFIID 亚基是 TAF₁₁₀, 它与 TFIID 最大的亚基 TAF₂₅₀ 结合, 并与特异转录因子 SP1 的谷氨酰胺富含区相互作用. TAF₂₅₀ 则作为连接 TBP 与其他 TAFs 的核心成分, 直接结合 TBP^[26]. 人的 TAF₂₅₀ 基因与一种称为 CCG1 的基因完全相同, 后者参与细胞周期 G 至 S 相的调节. Wang 等发现人 hTAF₂₅₀ 可解除热敏仓鼠细胞株 tS13 G1 相的抑制, 这一发现为研究细胞周期调节与基础转录机制的联系提供了新的认识. TBP 分子折叠成马鞍形, 马鞍形的凹面结合 DNA, 凸面结合其他蛋白分子 (见 2.1). hTAF₂₅₀ 结合于 TBP 外凸表面的 160 至 339 氨基酸残基上. 如同 TBP 和 TFIID 一样, TAF₂₅₀ 含有一个由 132 个氨基酸残基组成的顺向重复序列, 令人感兴趣的是, 在一系列多功能转录因子中, 发现每一对称的重复序列都包含一段溴区 (bromo-domain), 该区域中的亲水螺旋被认为与蛋白质-蛋白质相互作用有关, TAF₂₅₀/CCG1 即通过分子内该区域的对称结构与其他分子 (如 TBP

和 DNA) 相互作用. TAF₂₅₀/CCG1 还具有以下特点: a. 有几段序列与细菌 δ -因子保守的 2.1、4.1 和 4.2 亚基序列相似; b. 一段 183 个残基的序列有 21% 与酵母蛋白 SW14 完全相同, 39% 相似. SW14 是一种 DNA 结合蛋白, 与某些细胞周期调节基因的活性有关; c. 尚有一段 180 个残基的序列与组成转录因子 NK- κ B 的另一种 DNA 结合蛋白的前体 C 端有 22% 完全相同, 59% 相似^[27].

果蝇 dTAF₈₀ 产物的 C 端与包括 CDC4、PRR4、TUP1 和 G 蛋白 β 亚基在内的一族蛋白质有极高的同源性, 它们均含 4~8 个由连续 40 个氨基酸残基组成的重复单位——WD40 重复序列. dTAF₈₀ 含 7 个连续的 WD40 重复序列, 这些重复序列介导蛋白质-蛋白质相互作用. 在 dTAF₈₀ 和 *Arabidopsis* 基因 COP1 间也发现有相似序列. COP1 编码一种 75 000 转录因子, 内含 4 个 WD40 重复序列及一个锌指结构, 它在 *Arabidopsis* 发育中起负性调节作用. 根据序列相似性推断 dTAF₈₀ 可能是 TFIID 的一种负性调节成分. 实验证明 dTAF₈₀ 不能与 TBP 结合, 也不与 TAF₂₅₀ 或 TBP/TAF₂₅₀ 复合物结合, 而只能与含 TBP、TAF₂₅₀、110 和 60 的复合物结合, 这表明 TAFs 的装配是一有序过程^[28].

Weinzierl 等人克隆、表达了果蝇 dTAF₆₀ 和人 hTAF₇₀, 发现两者近 N 端 2/3 的序列内有两个高度同源区 (84%), 近 C 端 1/3 的序列虽无明显同源, 但 dTAF₆₀ 该段序列内富含丝氨酸, hTAF₇₀ 则富含脯氨酸、丝氨酸和苏氨酸. 早先 Peterson 等发现, 不同物种的 TBP 均由一进化上高度保守的区域加上不同的 N 端序列组成. 由此 Weinzierl 推测, 许多 TAF-TAF 相互作用的功能界面在真核生物早期进化阶段有进化, 而 TAF 序列的其他部分则无多样化的物种特异性. 再根据人与果蝇的 TAF₂₅₀ 也具有高度同源性, 推测人 TFIID 中必定会存在与最初在果蝇中发现的 TAFs 对应的多肽, 尽管分子量可能有明显差别. 在其他 TFIID 亚基存在时, 重组的 hTAF₇₀ 有效地组

装入 TFIIID 复合物. 进一步实验表明, dTAF₆₀ 与 dTBP、hTBP 与 hTAF₇₀ 之间相互作用极弱. 但是, dTAF₆₀ 与 dTBP、 Δ N250 可组成一稳定复合物; 无论 hTBP 存在与否, hTAF₇₀ 均可与 hTAF₂₅₀ 有效结合. 这些结果证明 dTAF₆₀ 或 hTAF₇₀ 与 TAF₂₅₀ 之间相互作用极强. dTAF₆₀ 和 dTAF₁₁₀ 可通过不同的结合位点与 Δ N250 结合; dTAF₄₀ 可直接结合 dTAF₆₀, dTAF₆₀ 如一座桥梁将 dTAF₄₀ 与核心亚基 TAF₂₅₀ 连接起来^[29].

Tokomori 等发现至少有三种 30 000 的蛋白可与 TFIIID 复合物共纯化, 其中之一为 dTAFIIA 大亚基的一水解片段, 另两种是 dTAF_{30 α} 和 dTAF_{30 β} , 抗后两者的特异性抗体可选择性地免疫沉淀整个 dTFIIID 复合物. dTAF₁₁₀ 可通过其 C 端与 dTAF_{30 α} C 端 67 个氨基酸残基相互作用, 使两者紧密结合. dTAF_{30 α} 可借 C 端形成自身多聚体. 此外, dTAF_{30 α} 也能与 dTAF₂₅₀ 和 dTBP 相互作用; 但 dTAF_{30 β} 只能与 dTAF₁₅₀ 和 dTAF₂₅₀ 相互作用, 而不能结合 dTBP^[30].

最近关于 dTAF₁₅₀ 又有新的发现, 其结构与酵母基因产物 TSM-1 相似, 可特异结合核心启动子序列, 是稳定 TFIIID-DNA 复合物的关键^[31].

有关 dTFIIID 各种成分的 TBP-TAF、TAF-TAF 相互作用可归纳如下 (图2):

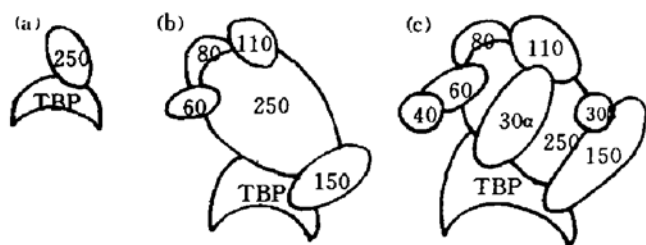


图2 TAF-TAF、TAF-TBP 相互作用

无关, dTAF₈₀ 参与包括 dTBP、dTAF₂₅₀、dTAF₁₁₀ 和 dTAF₆₀ 的复合物; c. dTAF₄₀ 与 dTAF₆₀ 相互作用, 而与 TBP 和其他 dTAF 无关, dTAF_{30 α} 则与 TBP、dTAF₂₅₀ 和 dTAF₁₁₀ 相互作用, 自身也可形成寡聚体, 而 dTAF_{30 β} 只能与 dTAF₂₅₀ 和 dTAF₁₅₀ 相互作用.

图2只是概述了各种实验研究中已知的 TAF-TAF 及 TAF-TBP 相互作用的功能特性, 并非真正代表它们在体内或体外 TFIIID 复合物中的组装顺序.

3.4 TAFs 在转录激活中的作用

TAFs 具有作为辅助转录激活因子的生化特性: a. 通过介导蛋白质-蛋白质相互作用的功能界面, TAFs 可与特异的反式作用因子, 如 SP1、USF 和 GAL4-VP16 等结合, 作为这些反式作用因子激活转录作用的辅助激活物; b. 不同结构和数量的 TAFs 与 TBP 紧密结合, 形成多蛋白复合物 SL1、TFIIID 或 TFIIIB, 分别参与 Pol I、Pol II 或 Pol III 转录; c. TAFs 并不为基本水平的转录所必需或不明显影响基本转录, 这一功能特点提示, TAFs 介导的转录激活反应不可能是转录激活蛋白抗抑制功能的体现^[22].

SP1 分子中有两个富含谷氨酰胺的激活区 (A 和 B 区), Hoey 等发现 TAF₁₁₀ 也含有类似 SP1 的谷氨酰胺富含区, 这样, SP1 即可通过与 TAF₁₁₀ 直接作用激活靶基因转录. SP1-TAF₁₁₀ 相互作用的强度与转录活性有关, 譬如, SP1 通过 A 区与 TAF₁₁₀ 相互作用比通过 B 区者强, 因此 A 区较 B 区具有更强的转录激活能力. TAF₁₁₀ 不与酸性或富含脯氨酸的转录激活蛋白相互作用; SP1 也不与 TAF₂₅₀、TAF₈₀ 或 TAF₄₀ 结合, 提示不同种类的转录激活蛋白可能需要不同的辅助激活因子^[32].

病毒转录激活因子 VP16 具有两个转录激活区, 一为 N 端 412~456 氨基酸残基, 与 TFIIIB 结合, 另一个是 C 端 452~490 氨基酸残基, 与 TAF₄₀ 结合. TAF₄₀ 还通过其 26~222 氨基酸残基与 TFIIIB 结合, VP16、dTAF₄₀ 及 TFIIIB 形成三聚体, 这是首次发现

a. TBP-dTAF₂₅₀ 相互作用, dTAF₂₅₀ 作为核心成分, 协调整个 TAF-TBP 复合物组装; b. dTAF₁₅₀ 结合 TBP 和 dTAF₂₅₀, dTAF₆₀ 和 dTAF₁₁₀ 与 dTAF₂₅₀ 相互作用而与 TBP

TAF 尚可与 TBP 以外的基本转录因子发生联系. 这种三聚体形式可导致 TFIIID-TFIIIB-启动子复合物的构象改变, 从而促进其他基本转录因子如 TFIIA 等参与装配起始复合物. 其间, dTAF₄₀ 是形成稳定的前起始复合物的关键^[33].

雌激素受体基因的两个非酸性转录激活功能区——AF-1和 AF-2与酵母激活因子 GAL4 的 DNA 结合区融合后, 可激活该基因在 HeLa 细胞中的转录. AF-1和 AF-2激活转录所需的辅助因子不同于 VP16酸性激活区所需的辅助因子, 而属另一些 TAFs^[34].

Pol II 特异的复合物 TFIIID 可通过 TBP 与 DNA 相互作用, 引起 TATA 元件周围的染色质结构改变, 加速其他基本转录因子或调节蛋白的组装进程. 此时, TAFs 处于 TBP 马鞍形凸起的表面, 作为远端激活蛋白与 TBP 联系的中介物. 在 Pol I 和大多 Pol III 转录体系, SL1 和 TFIIIB 复合物中的 TBP 马鞍形凹面被化学修饰或与 TAFs 结合, TBP 不能直接与 DNA 序列相互作用, 而是通过 TAFs 与 DNA 相互联系^[25]. 综上所述, 一定数量和种类的 TAFs 与 TBP 结合, 形成 SL1、TFIIID 或 TFIIIB 复合物, 其中有的 TAF 作为 TBP 结合 DNA 的媒介, 有的 TAF 作为 TFIIID 组装时, 其他 TAFs 与 TBP 相互作用的桥梁, 有的则作为转录激活蛋白与 TBP 联系的纽带, 起辅助激活因子的作用. 不同转录激活蛋白需要不同的 TAFs 作辅助转录激活因子. TAFs 种类和数量很多, 分离纯化比较困难, 目前尚难确定不同转录体系中每种 TAF 的详尽作用机制.

参 考 文 献

- 1 Tjian R. Cell, 1993; 72: 7
- 2 Sharp P A. Cell, 1992; 68: 819
- 3 Pugh B F, Tjian R. J Biol Chem, 1992; 267 (2): 679
- 4 White R J, Jackson S P. Trends Genet, 1992; 8: 284
- 5 Conaway R C, Conaway J W. Annu Rev Biochem, 1993; 62: 161
- 6 Sumita K, Makino Y, Tamura T *et al.* Nucleic Acids Res, 1993; 21 (11): 2769
- 7 Chasman D I, Flaherty K M, Kornberg R D *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1993; 90: 8174
- 8 Yamamoto T, Horikoshi M, Roecher R G *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1992; 89: 2844
- 9 Klug A. Nature, 1993; 365: 486
- 10 Struhl K. Science, 1994; 263 (25): 1103
- 11 Hancock J M. Nucleic Acids Res, 1993; 21 (12): 2823
- 12 Chiang C M, Ge H, Roeder R G *et al.* EMBO J, 1993; 12 (7): 2479
- 13 Thompson C M, Koleske A J, Young R A *et al.* Cell, 1993; 73: 1361
- 14 Palmer J M, Folk W R. TIBS, 1990; 15: 300
- 15 Tjian R, Maniatis T. Cell, 1994; 77: 5
- 16 Cormack B P, Struhl K. Science, 1993; 262: 244
- 17 Comai L, Tanese N, Tjian R. Cell, 1992; 68: 965
- 18 Cormack B P, Struhl K. Cell, 1992; 69: 685
- 19 Radebaugh C A, Matthews J L, Paule M R *et al.* Mol Cell Biol, 1994; 14 (1): 597
- 20 Usheva A, Shenk T. Cell, 1994; 76: 1115
- 21 Lue N F, Kornberg R D. Proc Natl Acad Sci USA, 1993; 90: 8018
- 22 Dynlacht B D, Hoey T, Tjian R. Cell, 1991; 66: 563
- 23 Pugh B F, Tjian R. Genes Dev, 1991; 5: 1935
- 24 Eberhard D, Tora L, Egly J-M *et al.* Nucleic Acids Res, 1993; 21 (18): 4180
- 25 Taggart A K P, Timothy S F, Pugh B F. Cell, 1992; 71: 1015
- 26 Weinzierl R O J, Dynlacht B D, Tjian R. Nature, 1993; 362: 511
- 27 Hisatake K, Hasegawa S, Takada R *et al.*, Nature, 1993; 362: 179
- 28 Dynlacht B D, Weinzierl R O J, Admon A *et al.*, Nature, 1993; 363: 176
- 29 Weinzierl R O J, Ruppert S, Dynlacht B D *et al.* EMBO J, 1993; 12 (13): 5303
- 30 Yokomori K, Chen J L, Admon A *et al.* Genes Dev, 1993; 7: 2587
- 31 Verrijzer C P, Yokomori K, Chen J-L *et al.* Science, 1994; 264: 933
- 32 Hoey T, Weinzierl R O J, Gill G *et al.* Cell, 1993; 72: 247
- 33 Goodrich J A, Hoey T, Thut C J *et al.* Cell, 1993; 75: 519
- 34 Brou C, Wu J, Ali S *et al.* Nucleic Acids Res, 1993; 21 (1): 5

The Functions of TBP and TBP Associated Factors in Transcriptional Activation. Yu

Jun, Wang Jun, Jia Hongti (*Department of Biochemistry and Molecular Biology, Beijing Medical University, Beijing 100083, China*).

Abstract General initiation factors SL1, TFIID and TFIIB required for initiation of transcription in the three kinds of classic genes in eukaryotic cells respectively are multiprotein complexes that consist of a universal subunit termed TATA-box binding protein (TBP) and a set of TBP associated factors (TAFs). The C terminal domain of TBP, which is highly conserved in a wide variety of species, interacts directly with TATA element

or binds to DNA through TAFs. TAFs are polymerase—specific and promoter-specific. In transcriptional initiation, some of the TAFs are expected to function as adoptors for TBP-DNA interaction, some of them may serve as bridging proteins that allow the other TAFs interact with TBP in the assembly of transcription initiation complex, and some as coactivators may mediate transcription initiation activated by sequence-specific activators.

Key words general initiation factor, TBP, TAFs, transcriptional activation

反义肽及其在生化分离中的应用

林启山 刘国谏

(中国科学院化学研究所, 北京 100080)

摘要 反义肽是由反义 RNA 编码和翻译的肽。它可与其正义肽分子发生专一性相互作用。近年反义肽的这种特异性结合实例研究, 已为其在生化分离领域应用奠定了基础, 尤其是在色谱亲和配基的选择方面, 可以预见不久以反义肽为配基的亲和色谱将是生物工程产品分离的一种有效手段。

关键词 反义肽, 专一性相互作用, 亲和色谱

1 引言

亲和色谱是最理想的色谱分离模式, 它具有高效、高选择性及分离步骤简单等特点^[1]。然而, 亲和色谱高度的选择性也决定了它的局限性, 一种类型的亲和色谱填料只适合于某种特定的分离对象, 制备适合于某种特定分离对象的亲和色谱填料的关键, 是寻找适合的配基 (ligand)。人们从抗原-抗体、酶-底物、酶-抑制物以及给体和受体的专一性相互作用出发, 利用配对物的专一性相互作用已制得了不少专一性亲和柱, 然而有许多限制性因素影响了这些专一性相互作用更广泛的应用。例如, 作为配基的物质往往制备困难、价格昂贵, 同时以生

物化学制备的配基往往还含有难以除去的杂质, 这些都给亲和色谱的研究提出了新的要求和课题。大家知道, 双螺旋结构的 DNA 由互补的正义 (sense strand) 和反义 (anti-sense strand) 两条链组成, 正义链可以转录成 mRNA, 进而翻译成多肽和蛋白质, 也称正义肽或蛋白质; 反义 DNA 链可转录成反义 RNA, 它所编码和翻译的肽和蛋白质为反义肽 (antisense peptide) (图 1)^[2]。长期以来, 对于反义 DNA 和反义 RNA 的功能并不十分了解, 很早有人推想: 正义肽和反义肽之间应该存在某种互补性相互作用^[3]。直到 1985 年, Bost 等^[4]通过化学方法合