

中介体：结构与功能

吕建新¹⁾ 金龙金¹⁾ 明镇寰^{1,2)*}

(¹⁾温州医学院, 浙江省医学遗传学重点实验室, 温州 325035; ²⁾浙江大学生命科学学院, 杭州 310012)

摘要 中介体, 最早在酵母中发现的由多个蛋白质亚基组成的生物大分子复合物, 是 RNA 聚合酶 II 通用转录装置的基本组分, 在真核 mRNA 合成的活化和阻抑中起着关键作用. 调控信号可以通过中介体构象的改变而传递, 影响转录的起始过程. 近年来的研究已经确定了哺乳动物中介体的亚基组成及其相关活性, 揭示了从酵母到人类中介体结构和功能在进化上惊人的保守性.

关键词 中介体, RNA 聚合酶 II, 通用转录装置, 转录激活, 转录阻抑

学科分类号 Q78

中介体 (Mediator) 是 RNA 聚合酶 II 通用转录装置的重要组成部分, 在真核 mRNA 合成的活化和阻抑中起着关键作用. 中介体最早是在对酵母转录的研究中发现的^[1], 最近的研究已经确定了哺乳动物 (包括人) 中介体的亚基组成及其相关功能活性, 揭示了从酵母到人细胞中的中介体在结构和功能上具有惊人的进化上的保守性^[2,3].

转录研究的一个非常重要的目的是了解转录的调控. 原核生物中关于这方面的研究已经取得了很大进展, 阻抑蛋白和活化蛋白基于细胞内外因子的刺激, 与邻近启动子的 DNA 序列结合而直接对 RNA 聚合酶发挥作用. 阻抑蛋白阻止了 RNA 聚合酶对启动子的结合, 而活化蛋白则通过与聚合酶的相互作用增强了聚合酶与启动子的亲和性并引起启动子-聚合酶复合物从封闭型向开放型的转变, 从而促进转录的起始. 真核生物中也有类似的转录调控, RNA 聚合酶结构上具有同源性, 真核的一组通用转录因子与原核 RNA 聚合酶中的 sigma 因子以相似的方式在启动子识别、解链、流产式起始和启动子逃逸中发挥作用, 胞内或环境的信号影响调节蛋白的状态, 从而对转录产生影响. 但真核生物具有独特的转录装置, 转录调控的情况远比原核生物复杂. 与原核中调节蛋白能直接靶定于 RNA 聚合酶不同, 除了复杂的真核染色质结构外, 真核调节蛋白与 RNA 聚合酶的相互作用还需要由多个亚基组成的蛋白质复合体——中介体来介导. 真核生物中介体的存在反映了真核转录调节中更大的复杂性.

1 中介体的结构

1.1 酵母中介体的结构

中介体是多个蛋白质亚基组成的生物大分子复合物, 真核生物中介体的结构很保守. 酵母的中介体有 2 种主要的类型: 一种类型称为核心中介体, 由 21 个亚基组成, 分子质量约为 1 Mu, 具有一种伸展的、长约 40 nm 的新月形状^[4]. 中介体结构的外观可以区分为 3 个部分: 头部、中部和尾部 (图 1); 另一种类型除了组成核心中介体的 21 个亚基外, 还包含由 Srb8 (Med12, 按中介体术语的新命名法^[5])、Srb9 (Med13)、Srb10 (Cdk8) 和 Srb11 (CycC) 等 4 个亚基组成的一个特别的 Srb8-11 组件. Srb8-11 组件对 RNA 聚合酶 II 活力具有抑制作用, 涉及对部分基因表达的负调控. 所以含有 Srb8-11 组件的中介体在转录的阻抑中起作用, 而不含这个组件的核心中介体则在转录的激活中起作用.

1.2 哺乳动物的中介体

第一个被分离的哺乳动物中介体是甲状腺激素受体相关蛋白 (thyroid hormone receptor associated protein, TRAP)^[6]. 从已分离到的哺乳动物中介体中鉴定出了大约 30 种不同的亚基, 其中有些是在酵母中未曾发现的. 对多种哺乳动物中介体进行的序列比对显示, 在哺乳动物中介体复合物的亚基和几乎所有的酵母中介体亚基间存在广泛的同源性. 正

* 通讯联系人.

Tel: 0571-88273604, E-mail: zhming@mail.hz.zj.cn

收稿日期: 2005-07-28, 接受日期: 2005-07-29

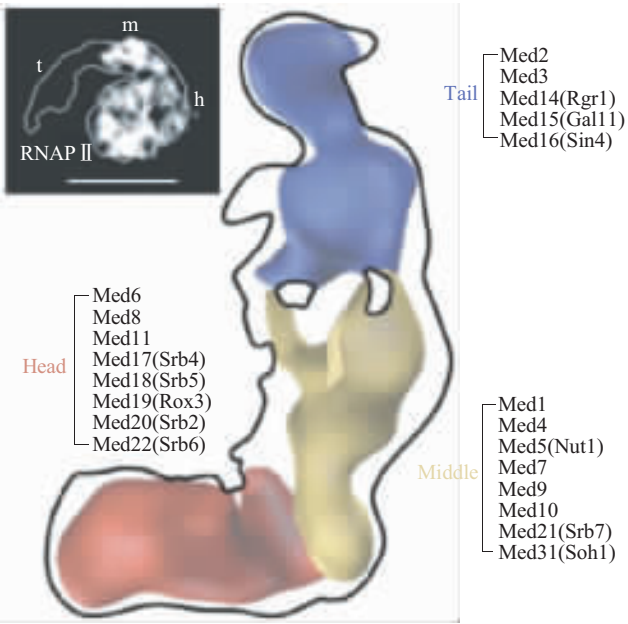


Fig.1 Diagram of yeast core Mediator complex and Mediator-RNA pol II complex structure^[4]
图 1 酵母核心中介体复合物及中介体-RNA 聚合酶 II 复合物结构示意图^[4]

是中介体在生物进化上的这种保守性，为了研究、交流上的一致和避免使用中的混乱，2004 年人们提出了对中介体的统一命名法^[5]。哺乳动物中介体因其组成亚基情况不同可以多种形式存在，一般将其分为两大类型：一类是较小的，如 PC2 和 CRSP 等，相当于酵母的核心中介体，不含 Srb8-11 组件，分子质量为 500 ~ 700 ku。一类是较大的，分子质量在 1~2 Mu，如 TRAP、ARC 等，含有能起激酶作用的 Srb8-11 组件的全部或部分亚基。这两种类型的中介体复合物的亚基组成不同，含有不同激酶组件的较大的中介体复合物可对不同类型的基因转录起调节作用^[7]。

图 2 表示人中介体的 2 种类型，PC2 是不含 Srb8-11 组件的中介体复合物，TRAP 是含有 Srb8-11 组件的中介体复合物。其中红色亚基表示出现在大多数分离到的 PC2 中的比较保守的亚基，分布于中介体的头部和中部。蓝色亚基保守性较低，与复合物的核心部分联系较松散，分布于中介体的尾部。在人细胞的核提取物中，TRAP 是主要的类型。PC2 是与 RNA 聚合酶 II 相互作用中的活性形式，TRAP 一般情况下不与 RNA 聚合酶 II 形成复合物，但在转录前起始复合物 (preinitiation complex, PIC) 的组装中可与其瞬间相连^[8]。

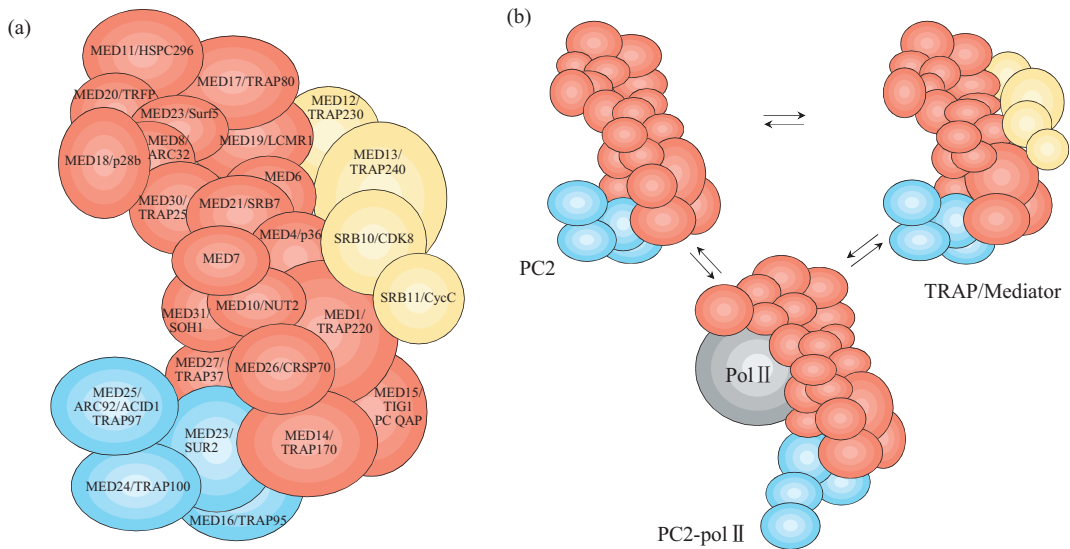


Fig.2 Major forms of the human Mediator^[9]
图 2 人中介体复合物的主要类型^[9]

(a)含有 Srb8~11 组件的 TRAP. (b)不含 Srb8~11 组件的 PC2 及其与 TRAP 和 RNA 聚合酶 II 间的联系.

2 中介体的功能

2.1 中介体和 RNA 聚合酶 II 之间的相互作用

真核生物蛋白编码基因的转录由 RNA 聚合酶 II 负责, 转录开始前需要在启动子部位形成一个转录前起始复合物 PIC, 中介体在 PIC 的形成中扮演着重要角色. 已有的研究表明, 中介体伸展造成的构象改变会产生一个用以对包括 RNA 聚合酶 II 在内的 PIC 组分进行募集和组装的表面, 这是中介体在转录调节中发挥作用的一个重要方面^[9]. PIC 的形成涉及蛋白质-DNA 的相互作用, 涉及众多的蛋白质-蛋白质的相互作用, 其中包括中介体与 RNA 聚合酶 II 相互作用形成 RNA 聚合酶 II 全酶复合物的过程. 酵母中介体-RNA 聚合酶 II 复合物的结构是最早被研究的. 虽然目前复合物三维结构的低分辨率还不能直接确定 RNA 聚合酶 II 在复合物中取向的某些细节, 但相关的实验结果已经揭示了 RNA 聚合酶 II 在全酶复合物中的某种特定的取向(图 1 的左上图). 中介体的中部和头部与聚合酶有多处直接接触, 而中介体的尾部则从聚合酶伸展出来, 只有其接近中部的区域与酶有接触. 中介体与聚合酶的相互作用主要涉及聚合酶背面的 Rpb3~Rpb11 亚基区域和 Rpb1、Rpb2 和 Rpb12. 除了与中介体有着广泛的接触外, RNA 聚合酶 II 的大约 75% 的表面仍然可以与 PIC 的其他组分相互作用, 涉及与中介体作用的 RNA 聚合酶 II 的背面与启动子上游序列也存在相互作用^[11].

中介体与 RNA 聚合酶 II 的联系和功能的发挥主要涉及聚合酶大亚基 Rpb1 的羧基端结构域(carboxy terminal domain, CTD). CTD 由多个 Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser 7 肽重复单位组成, 聚合酶中 CTD 的缺失在体内和体外试验中都会造成转录活化功能的丧失. CTD 的磷酸化状态调节 RNA 聚合酶 II 在转录中的作用, 其非磷酸化形式与启动子起始复合物的形成相关, 而磷酸化形式则与转录的延伸相关. 对 CTD 进行磷酸化的激酶是一种依赖于细胞周期蛋白的激酶 Kin28, 即通用转录因子 TF II H 的一个亚基. 中介体中具有激酶活力的 Srb8-11 组件也能与 TF II H 协同对 CTD 第 5 位丝氨酸残基进行磷酸化而活化转录. 中介体复合物与非磷酸化的 CTD 形式直接相互作用, 而不能与磷酸化的 CTD 形式结合, 所以在转录延伸开始后 RNA 聚合酶 II 就脱离了与中介体的接触^[12].

中介体亚基的翻译后修饰可能影响中介体的功

能, 从而影响其对转录的影响. 如 Kin28 激酶不仅对 CTD 进行磷酸化, 而且也能对中介体的亚基 Med4 和 Med16 等进行磷酸化, Med4 的磷酸化则对中介体的组装产生影响^[13].

Srb8~11 组件直接影响中介体与 RNA 聚合酶 II 的相互作用. 酵母中只有缺失 Srb8~11 的核心中介体才可与 RNA 聚合酶 II 形成全酶复合物. 哺乳动物的情况相似, 只有不含 Srb8~11 组件的较小的中介体才能与 RNA 聚合酶 II 大亚基的 CTD 相互作用. 核心中介体与 RNA 聚合酶 II 的相互作用和与 Srb8~11 组件的相互作用彼此具有排斥性.

中介体还具有种的特异性, 尽管酵母和哺乳动物的 RNA 聚合酶 II 的 CTD 结构域序列具有极大的相似性, 但实验中一起温育的酵母中介体与哺乳动物 RNA 聚合酶 II 之间不会形成中介体-RNA 聚合酶 II 全酶形式.

2.2 中介体与转录激活

基因特异的活化蛋白通过将通用转录因子募集到启动子而激活转录. 中介体在这一过程中作为活化蛋白和 RNA 聚合酶 II 通用转录装置间的桥梁发挥作用(图 3)^[14], 中介体的尾部结构域与活化蛋白能发生直接的相互作用, 而其头部和中部则与 RNA 聚合酶 II 相互作用. 中介体作为桥梁, 从增强子或其他顺式元件将调节信号传递到 RNA 聚合酶 II 通用转录装置. 几乎所有 RNA 聚合酶 II 负责转录的基因的调控都需要中介体的参与. 中介体的不同亚基可以是不同活化蛋白的转录活化结构域(transcription activation domains, TADs)作用的靶标, 从而调节不同类型基因的转录. 某些中介体亚基对于众多的基因转录具有调控作用, 而一些中介

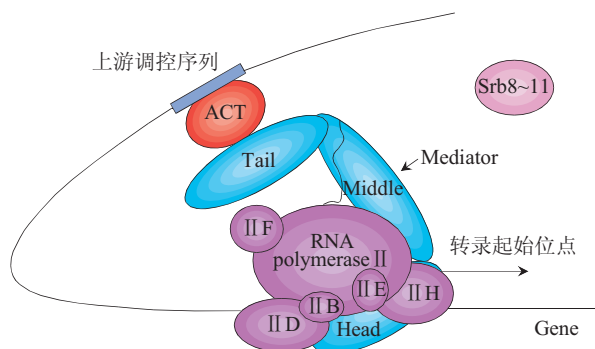


Fig.3 Mediator functions as a bridge between gene-specific activators (ACT) and the general pol II transcription machinery^[14]

图 3 中介体作为活化蛋白和 RNA 聚合酶 II 通用转录装置间的桥梁发挥作用^[14]

体亚基则只涉及对特定基因的转录调控。

研究表明, 真核细胞中, 中介体的募集与通用转录因子和 RNA 聚合酶 II 的募集是分别进行的. 中介体首先被募集, 中介体被募集后可能会在启动

子上与 TBP、TF II A、TF II E 及 TF II H 等结合形成一种在转录起始后仍能保持的支架结构, 可以重复组装有功能的 PIC 而促成转录的重复起始 (图 4)^[15].

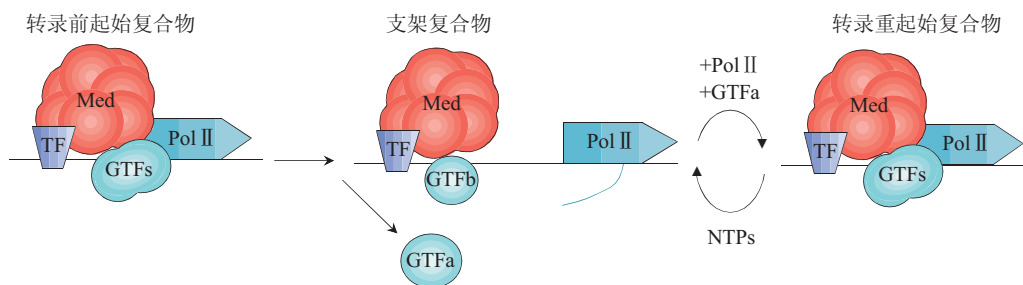


Fig.4 Mediator as a component of a “scaffold” for transcription reinitiation^[15]

图 4 中介体是转录重新起始的支架结构的重要组成部分^[15]

2.3 中介体与转录阻抑

中介体也在转录阻抑中发挥作用. 酵母中 Tup1~Ssn6 辅阻抑蛋白复合物是通过与序列特异的 DNA 结合蛋白而与靶启动子相连的, Srb8~11 组件中的 Srb10 即是这样一种 DNA 结合蛋白, Tup1~Ssn6 通过与 Srb10 的直接相互作用而将含有 Srb8~11 的中介体募集到启动子. Srb8~11 对转录具有负作用, 其激酶活性对于 Tup1 控制的转录的充分阻抑是必要的. 图 5 表示含有 Srb8~11 组件的中介体在转录阻抑中的作用模式^[16].

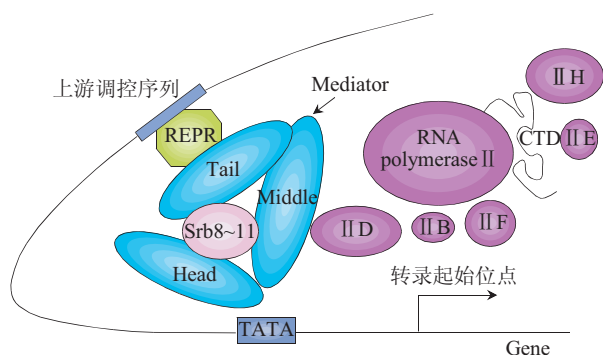


Fig.5 Model of transcription repression for Mediator containing Srb8~11 module^[16]

图 5 含有 Srb8~11 组件的中介体在转录阻抑中的作用模式^[16]

同样地, 含有 Srb8~11 组件的哺乳动物中介体也能发挥阻抑功能, 其功能的发挥有赖于 Srb8~11 组件具有的激酶活力. 它可以通过对 RNA 聚合酶 II 和中介体亚基的磷酸化干扰中介体复合物结合 RNA 聚合酶 II 的能力, 也可以通过磷酸化使一种或多种通用起始转录因子失活, 如对 TF II H 的周

期蛋白 H 亚基进行磷酸化而使 TF II H 丧失对 CTD 的激酶活力, 抑制 TF II H 在转录中的活性^[17].

2.4 中介体对转录进行调节的机制

中介体调节 RNA 聚合酶 II 负责的转录的详细机制尚未完全了解, 但有一点是明确的, 即在该机制中存在一个在中介体、转录活化蛋白或阻抑蛋白、RNA 聚合酶 II、通用转录因子和其他辅转录因子之间相互作用的复杂的网络.

图 6 表示目前对中介体在转录调控中如何发挥作用提出的一种机制^[18]. 该机制认为在转录中: (1) 与 DNA 结合的活化蛋白首先将中介体募集到转录起始位点, (2) TF II B、TF II D 与 DNA 和中介体相互作用, 为 RNA 聚合酶 II 的募集建立了一个平台, (3) RNA 聚合酶 II 和 TF II F 的相伴募集促使中介体的构象发生大的改变, 使得 RNA 聚合酶 II-TF II F 结合到中介体-DNA-TBP-TF II B 复合物上, (4) TF II E、TF II H 加入复合物, TF II H 的解旋酶活力导致启动子的活化, 使 DNA 模板链触及 RNA 聚合酶 II 的活化部位, (5) 经过流产式转录阶段后, RNA 聚合酶 II 或 RNA 聚合酶 II-TF II F 复合物从启动子上逃逸, 留下了一个平台(支架复合物), 其能促进新的前起始复合物快速组装并在新的 RNA 聚合酶 II-TF II F 复合物进入后重新起始转录, (6) 重复第 (5) 阶段的过程.

中介体复合物结构和功能的研究已经取得了很大的进展, 至今已有 30 多种中介体亚基被发现并对它们进行了研究, 中介体研究的进展使我们对真核生物转录调节有了一个更加清晰的理解, 但尚有很多问题有待继续深入研究^[19,20]. 这些问题包括: 存

在多少种在功能上有别的中介体形式参与 RNA 聚合酶 II 负责的转录调节? 哪些亚基在协调中介体与细胞中不同类型活化蛋白的相互作用中发挥着主要作用? 哺乳动物中介体复合物促进 RNA 聚合酶 II 转录活化的细节? 与中介体相关的所有的酶活力及

其功能? 很明显, 有必要从整体上对中介体复合物功能进行更多的研究, 以获得中介体在 RNA 聚合酶 II 负责的转录中究竟如何发挥调控作用的一个比较完整的概念.

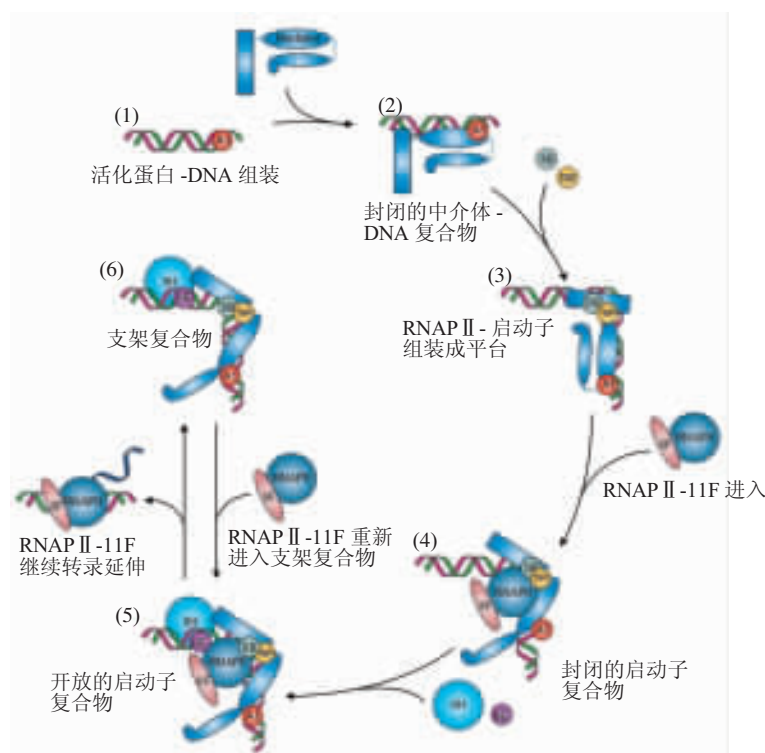


Fig.6 A possible mechanism for transcription regulation by Mediator^[10,18]

图 6 中介体参与转录调节的一种可能机制^[10,18]

参 考 文 献

- Kim Y J, Björklund S, Li Y, *et al.* A multiprotein mediator of transcriptional activation and its interaction with the C-terminal repeat domain of RNA polymerase II. *Cell*, 1994, **77** (4): 599-608
- Boyer T G, MARTIN M E D, LEES E, *et al.* Mammalian Srb/Mediator complex is targeted by adenovirus E1A protein. *Nature*, 1999, **399** (6733): 276-279
- Conaway R C, Sato S, Conaway J W, *et al.* The mammalian Mediator complex and its role in transcriptional regulation. *Trends Biochem Sci*, 2005, **30** (5): 250-255
- Guglielmi B, Berkum N L, Klapholz B, *et al.* A high resolution protein interaction map of the yeast Mediator complex. *Nucleic Acids Res*, 2004, **32** (18): 5379-5391
- Bourbon H M, Aguilera A, Ansari A, *et al.* A unified nomenclature for protein subunits of mediator complexes linking transcriptional regulators to RNA polymerase II. *Mol Cell*, 2004, **14** (5): 553-557
- Koleske A J, Young R A. The RNA polymerase II holoenzyme and its implications for gene regulation. *Trends Biochem Sci*, 1995, **20** (6): 113-116
- Dotson M R, Yuan C X, Roeder R G, *et al.* Structural organization of yeast and mammalian mediator complexes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97** (26): 14307-14310
- Taatjes D J, Näär A M, Andel F, *et al.* Structure, function, and activator-induced conformations of the CRSP coactivator. *Science*, 2002, **295** (5557): 1058-1062
- Chadick J Z, Asturias F J. Structure of eukaryotic Mediator complexes. *Trends Biochem Sci*, 2005, **30** (5): 264-271
- Cosma M P, Panizza S, Nasmyth K. Cdk1 triggers association of RNA polymerase to cell cycle promoters only after recruitment of the mediator by SBF. *Mol Cell*, 2001, **7** (6): 1213-1220
- Asturias F J, Jiang Y W, Myers L C, *et al.* Conserved structures of mediator and RNA polymerase II holoenzyme. *Science*, 1999, **283** (5404): 985-987
- Akoulitchev S, Chuikov S, Reinberg D, *et al.* TFIIF is negatively regulated by cdk8- containing complexes. *Nature*, 2000, **407** (6800): 102-106
- Guidi B W. Mutual targeting of mediator and the TFIIF . kinase Kin28. *J Biol Chem*, 2004, **279** (28): 29114-29120
- Park J M, Kim H S, Han S J, *et al.* *In vivo* requirement of

- activator-specific binding targets of mediator. *Mol Cell Biol*, 2000, **20** (23): 8709~8719
- 15 Yudkovsky N, Ranish J A, Hahn S. A transcription reinitiation intermediate that is stabilized by activator. *Nature*, 2000, **408** (6809): 225~229
- 16 Bjorklund S, Gustafsson C M. The yeast Mediator complex and its regulation. *Trends Biochem Sci*, 2005, **30** (5): 240~244
- 17 Gu W, Malik S, Ito M, *et al.* A novel human SRB/MED-containing cofactor complex, SMCC, involved in transcription regulation. *Mol Cell*, 1999, **3** (1): 97~108
- 18 Reeves W M, Hahn S. Activator-independent functions of the yeast mediator sin4 complex in preinitiation complex formation and transcription reinitiation. *Mol Cell Biol*, 2003, **23** (1): 349~358
- 19 Yoon C K, Qiu H, Govind H, *et al.* Simultaneous recruitment of coactivators by Gcn4p stimulates multiple Steps of Transcription *in vivo*. *Molecular and Cellular Biology*, 2005, **25** (13): 5626~5638
- 20 Malik S, Roeder R G. Dynamic regulation of pol II transcription by the mammalian Mediator complex. *Trends Biochem Sci*, 2005, **30** (5): 256~263

Mediator: Structure and Function

LÜ Jian-Xin¹⁾, JIN Long-Jin¹⁾, MING Zhen-Huan^{1,2)*}

¹⁾Key Research Laboratory for Medical Genetics of Zhejiang, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China;

²⁾College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310012, China)

Abstract Mediator, originally discovered in yeast and composed of multi-subunits with a high molecular mass, is an essential component of the RNA polymerase II general transcriptional machinery and plays a crucial part in the activation and repression of eukaryotic mRNA synthesis. Regulatory information could be conveyed through changes in Mediator conformation that would influence the transcription initiation process. Recent studies have defined the subunit composition and associated activities of mammalian Mediator, and revealed a striking evolutionary conservation of Mediator structure and function from yeast to man.

Key words Mediator, RNA polymerase II, general transcription machinery, transcription activation, transcription repression

*Corresponding author. Tel: 86-571-88273604, E-mail: zhming@mail.hz.zj.cn

Received: July 28, 2005 Accepted: July 29, 2005