

# POU 同源域蛋白的结构及发育中的功能

杨岐生 吴敏

(浙江大学生物科学与技术系, 杭州 310027)

**摘要** POU 同源域蛋白含有两个保守的亚结构域以及它们之间有变化的连接区. 两个亚结构域与 DNA 相互作用, 在连接区可塑性和辅因子的帮助下, POU 蛋白作为调控因子和转录因子, 显示出错综复杂的 DNA 结合和识别能力. 在脊椎动物和无脊椎动物中, POU 蛋白参与胚胎发生的早期过程, 在细胞谱系的分化和神经发育中起调控作用.

**关键词** POU 同源域蛋白, 蛋白质-DNA 相互作用, 胚胎发育, 神经细胞分化

**学科分类号** Q344

同源域 (homeodomain) 蛋白是一大类 DNA 结合蛋白, 我们曾经介绍过它们的结构及与 DNA 相互作用的一些规律<sup>[1]</sup>. 其中 POU 家族作为代表性的 Pit-1、Oct-1、Oct-2 和 unc-86 等, 都有共同的结构式样, 称为 POU 结构域, 包括二个亚结构域及其连接区, N 端是 75 氨基酸的 POU 特异性结构域 (POU<sub>S</sub>), C 端 60 氨基酸为 POU 同源域结构 (POU<sub>H</sub>). 根据 POU<sub>H</sub> 氨基酸序列和连接区的保守性, POU 蛋白分为 6 类. 近来还在不断分离和鉴定新的蛋白和类型.

## 1 POU 家族的结构

POU 结构域的两个独立亚结构 POU<sub>S</sub> 和 POU<sub>H</sub> 分别为保守的螺旋区, 一同以高度亲和性结合于特定 DNA 元件, 连接区肽段起着协调作用.

### 1.1 Oct-1 与八聚体元件结合

Oct-1 的 POU<sub>H</sub> 和 POU<sub>S</sub> 有相似的立体构象. 其一级结构同典型的同源域有很大差异, 但立体结构是保守的. POU<sub>S</sub> 及 POU<sub>H</sub> 分别结合在 DNA 两侧大沟内<sup>[2]</sup>, 同 DNA 的碱基及磷酸基团作广泛接触, 对八聚体元件 ATGCAAAT 有高亲和性. POU<sub>S</sub> 结合于 5' ATGC 半位点, POU<sub>H</sub> 结合于 3' 端富含 A/T 的 AAAT 半位点. 两亚结构域以尾对尾方向分别位于 DNA 两侧相背的大沟内, 在八聚体元件内接触有重叠, 但无相互作用. 这种重叠在介导两亚结构协调结合方面有重要作用.

### 1.2 Pit-1 二聚体结合于 DNA 位点

哺乳动物 Pit-1 蛋白以二聚体结合于某些基因启动子元件上, 复合物的晶体结构表明, POU<sub>S</sub> 和 POU<sub>H</sub> 在 DNA 同一侧, 而二聚体亚基分别位于

DNA 的两侧. 两亚基通过 POU 结构域来介导相互间的偶联, 一个亚基的 POU<sub>H</sub> 中螺旋 3 的羧基端呈伸展结构, 与另一亚基 POU<sub>S</sub> 中螺旋 1 及螺旋 3、4 间的环形成接触界面, 相互作用形成二聚体<sup>[3]</sup>. POU 结构域具有可塑性, 单单 POU<sub>H</sub> 对 DNA 的亲合性很弱, POU<sub>S</sub> 参与对形成二聚体具有重要作用.

### 1.3 连接区在 DNA 识别中的功能

原先认为连接区肽段的功能是连接 POU<sub>S</sub> 和 POU<sub>H</sub>, 使它们同时结合于 DNA. 实际上, 连接区的长度在 15~56 氨基酸, 序列是可变的, 能使 POU<sub>S</sub> 与 POU<sub>H</sub> 采取各种相对方向, 识别各种 DNA 元件. 例如有些第 III 类 POU 蛋白, 有 17 氨基酸的连接区, 结合的半位点之间有 0、2 或 3 bp 的间隔, POU<sub>S</sub> 与 POU<sub>H</sub> 可采取不同方向. 某神经细胞内 4 种 POU 蛋白, 共同特征是连接区采取特异构象, 能同 DNA 或调控蛋白特异地相互作用, 连接区起着调控功能.

### 1.4 POU<sub>H</sub> 和 POU<sub>S</sub> 结合的立体结构

Oct-1 等研究为 POU 蛋白识别 DNA 揭示了二个作用机理. 一是氨基酸-碱基相互作用的可塑性, 例如 Oct-1 的 POU<sub>S</sub> 识别螺旋 Gln44 对碱基 A 有高度选择性, 但 Arg49 可容忍碱基的变化, 允许八聚体 ATGCAAAT 中第 3、4 个碱基改变, 也可识别不同的八聚体. 二是 POU<sub>H</sub> 和 POU<sub>S</sub> 在 DNA 上定位的可塑性, 不同的 DNA 位点上有不同的立体排列, 例如 Oct-1 或 Brn-2 的 POU<sub>S</sub> 在不同的八聚体上出现 180° 翻转. Brn-2 的 POU<sub>S</sub> 和 POU<sub>H</sub> 在

GCATTAAT 上紧靠在一起, 还以不同的亲和性结合在有间隔的 GCATNNTAAT 元件上. Oct-1 在不同元件上显示出不同的立体构象和识别亲和性, 其原因是 DNA 结合域及连接区的可塑性.

### 1.5 与辅因子的相互作用

POU 蛋白另一特征还表现出与其他蛋白质的相互作用, 例如 Oct-1 可以同许多蛋白质因子偶联, 包括 Spl、Apl、受体 PR/GR 等激活因子, VP16、RIA、OcaB/OBF-1/Bob-1 等调控因子, PTF 和 TBP 基础因子等. 当不同元件参入启动子, POU 结合在不同元件上, 能选择、偶联不同的辅因子. 这是它们转录调控的重要特性. 结合的 DNA 元件能够决定同哪种辅因子相互作用. Oct-1 除了参与持家基因、时空调控基因的表达外, 也是 HSV 感染细胞中病毒基因表达必要的. HSV 感染时, 激活因子 VP16 促使在 HSV 基因 IE 启动子的 TAATGARAT 元件上同 Oct-1 形成 Oct-1/VP16/HCF 复合物. VP16 作为辅因子本身不能结合到 DNA 上, 但同 POU 偶联后结合于 DNA, 对 POU 蛋白的调节活性有深刻的影响<sup>[4]</sup>.

## 2 POU 家族的功能

脊椎动物及无脊椎动物的发育有一个精细、严密而微妙的调控程序, 需要各种调控因子、转录因子参与这个过程. 目前人们对它的了解还很肤浅, 只是认识一些局部现象, 要在分子机理上理解整个程序还很遥远. 根据 POU 蛋白的表达形式, 认为它们可能在胚胎发育, 特别是神经早期发育及细胞分化中起着重要功能.

### 2.1 在胚胎早期发育中的调控作用

第 V 类 POU 蛋白几乎在胚胎早期进行表达, 对细胞决定和增殖中的关键基因起着调控作用. 爪蟾 XLPOU-60、鱼类 Pour-2 和哺乳动物的 Oct-3/4 等最初都是母系转录产物. Sprm-1 在雄性生殖细胞内短暂表达. XLPOU-60 从细胞质自主地向核内分配, 在受精卵内一开始就起着调控因子的功能, 在原肠胚早期表达迅速下降<sup>[5]</sup>. 同时第 V 类的 Oct-25 和-91、XLPOU-91 等有序地上调, 推测这些蛋白质是合子的早期转录产物, 在原肠胚后期和神经胚阶段分别下调. Pour-2 和 Oct-3/4 也在受精卵中转录, 当表达下调时, 细胞失去多能性, 失去多途径发育的可能性. Pour-2 转录物经过裁切, 成为缺乏同源域的 t-pour-2, 推测 t-pour-2 抑制内源 pour-2 同特异性辅因子或辅激活因子相互作用. 若

过量表达, 将会阻碍胚胎正常地通过原肠胚期.

### 2.2 调节细胞谱系的发展

unc-86、pdm-1/-2 及 pit-1 等基因的突变研究指出, 它们的产物调节着有关细胞的发育. 各个基因都以独特的机制调控着某些关键过程.

**2.2.1 unc-86:** unc-86 是腺虫中首先鉴定的 POU 基因, 是几种神经母细胞正确发育及神经元分化所必要的. unc-86 在神经母细胞不对称分裂的二个子细胞之一中表达, 产生不同的子细胞. 如 Q 神经母细胞的不对称分裂最终产生纤毛感觉神经元、光触感觉神经元、中间神经元和 2 个程序死亡的细胞<sup>[6]</sup>. 如果缺乏 unc-86 功能, 只会对称地分裂, 重复母细胞的特性, 不能正确地发育分化. 因此, unc-86 调节着一些基因的转录, 其产物或许决定了子细胞的命运.

**2.2.2 pdm-1 和 pdm-2:** 果蝇的 pdm-1/-2 是第 II 类 POU 基因, 与哺乳动物的 Oct-1/-2 密切相关, 在胚胎的肠和翅原基中表达, 胚胎早期发育中表现出 gap 样基因的表达形式. 它们在神经母细胞 NB4-2 中得到广泛的研究. NB4-2 不对称分裂产生神经节母细胞 (GMC) 和一个未分化细胞 (sib). pdm-1/-2 在 GMC 中先高水平表达, 然后在 GMC 分裂之前表达水平下降, 才产生运动神经元 RP2. Pdm-1/-2 是保持 GMC 所必需的, 后来的低水平表达也是 GMC 分化所必需的. 如果 pdm-1/-2 突变, GMC 缺乏这两种蛋白质功能, 就阻止分化成 RP2. 所以 pdm-1/-2 暂短的高水平表达是完成 NB4-2 发育、分化和 RP2 的产生所必要的<sup>[7]</sup>.

**2.2.3 Pit-1:** Pit-1 在哺乳动物垂体细胞分化中发挥功能. 小鼠 13.5 d 胚胎内 Pit-1 基因已在垂体腺中表达. 成熟个体的 Pit-1 在 3 种细胞类型中表达, 即合成 TSH $\beta$  的促甲状腺素细胞、产生 PRL 的催产素细胞和合成 GH 的生长激素细胞. 这些细胞系中, Pit-1 作用于细胞特异性基因的启动子元件, 分别把分化细胞中这些基因激活<sup>[8]</sup>. Pit-1 基因的突变使脑垂体发育不全, 不产生上述 3 类有功能的细胞. 因此, Pit-1 同特异性细胞的分化、靶基因的调控以及垂体细胞谱系的增殖和生存都有重要关系. 小鼠 8.5~9 d 胚胎形成 Rathke's 囊, 是垂体腺的初始. 第 10.5 天开始不对称分裂生成一种前体细胞, 它表达垂体特异的 Pair 型同源域蛋白 Prop-1. Prop-1 是 Pit-1 的上游, 能结合于 Pit-1 基因的早期增强子, 调控 Pit-1 基因. 当 pit-1 表达, 就生成前体细胞, 再进一步分化成 3 种垂体细胞

系。估计 Pit-1 与垂体细胞不对称分裂有关, 造成不同方向的细胞分化。

### 2.3 在神经发育中的功能

许多 POU 蛋白存在于神经系统中, 第 III 和 VI 类 POU 蛋白随着 CNS 发育和分化的进行, 有着广泛而受限制的表达型式。第 IV 类蛋白主要存在于 PCN。

**2.3.1 第 III 类 POU 蛋白:** Brrr-2 对哺乳动物下丘脑的发育有深刻的影响。产生后叶催产素和促皮质激素释放因子的神经元主要表达 Brrr-2, 而产生加压素的神经元表达 Brrr-2、Brrr-4 蛋白以及 Brrr-1 转录物。Brrr-2 一开始就存在于下丘脑神经元, 对起初的神经细胞的决定和迁移并不需要, 但对后来的分化、一些神经元的存活及其神经肽的表达是必要的。

XLPOU-2 一开始在两栖类的 Spemann 组织者中, 然后在原肠中胚层、神经外胚层和神经板上表达, 这同神经诱导在时态上是一致的。XLPOU-2 被 noggin 诱导, 可能调控神经发生的早期反应, 还影响 Spemann 组织者内基因表达, 有诱导背部化的某些功能<sup>[9]</sup>。

Tst-1/Oct-6/SCIP 在寡突胶质细胞前体和发育着的 Schwann 细胞内表达, 与髓鞘形成有关, 也在未分化的胚胎干细胞、胚胎外胚层、神经上皮细胞以及几个脑核内表达。Tst-1/Oct-6/SCIP 无效突变的小鼠可以正常地通过胚胎发育早期阶段, 但外周神经的髓鞘形成在出生后数天受严重损害, Schwann 细胞分化受影响, 编码髓鞘结构的几种基因的表达受到了抑制。很可能它们对髓鞘包装过程中有催化功能的某种蛋白质的表达进行调控<sup>[10]</sup>。

**2.3.2 第 IV 类 POU 蛋白:** 第 IV 类 POU 蛋白与 unc-86 产物高度相关。近来发现哺乳动物的 Brrr-3.0, Brrr-3.1 和 Brrr-3 等在 CNS 和 PNS 中都有重叠的表达, 具有结合 DNA 的相似能力。在细胞最终分化中行使关键性功能, 使有关基因的表达具有时态和空间独特性<sup>[11]</sup>。Brrr-3.0 在神经嵴细胞、成熟的感觉神经节、视网膜细胞层以及 CNS 的一些特殊核区表达。基因打靶对 PNS 的发育有深刻的影响, 包括运动协调的严重异常, 在 CNS 区域也有异常表达。Brrr-3.1 的表达更限于感觉神经节和脊髓中, 独特地在内耳听觉细胞中强烈表达。突变的小鼠在出生时似乎很正常, 但第 11 天就发展出平衡失调以及多动症。因不能提供必要的营养因子支持, 听神经细胞不能恰当地分化, 导致神经节衰

退、耳聋、感觉神经节丧失。Brrr-3.2 打靶突变小鼠的主要缺陷是失去约 70% 视网膜神经节细胞, 它最初的表达是这些细胞发育所必要的。

## 3 结 语

POU 蛋白的结构有共同特点, 特征之一是有两个 DNA 结合域。两个不同而又偶联的结构域可以看作连接在一起的分子内二聚体, 在 DNA 上显示出空间构象的可塑变化, 类似核受体或 bHLH 蛋白的异源二聚体的结合情况。在结合元件上别构地同各种辅因子相互作用。这为 POU 蛋白能够调控一套时空特异性的基因提供了分子基础。

功能上 POU 蛋白作为 DNA 结合因子在发育中起着重要的调控功能, 即使同一家族的成员也起着各不相同的作用。极大多数 POU 蛋白在发育中显示出时空受限制的表达型式, 很可能与基因激活、特异的信号传导途径相一致的。视黄酸和骨成形蛋白、hh 和 Wnt 因子等信号途径都会直接、间接地影响 POU 基因的表达。很多 POU 蛋白是胚胎早期发育中细胞分化和谱系决定的关键性调控因子。还在神经细胞决定、分化的晚期起作用, 基因打靶常常使它们分化的最终阶段受破坏, 包括迁移、轴突导向、一系列远端靶基因如神经营养因子及其受体的表达, 许多情况下还涉及神经细胞的生存。其实, 在可以觉察到形态变化之前, 基因表达型式的改变早已开始了。整个而言, POU 家族的成员在发育机构中相当晚才起作用, 调节着最后的分化事件。

## 参 考 文 献

- 1 杨岐生 (Yang Q S). 同源异形域结构及对 DNA 的识别. 生物化学与生物物理进展 (Prog Biochem Biophys), 1996, **23** (1): 29~33
- 2 Klemm J D, Pabo C O. Oct-1 POU domain-DNA interactions: Cooperative binding of isolated subdomains and effects of covalent linkage. *Genes Dev*, 1996, **23**: 29~36
- 3 Jacobson E M, Li P, Leon-de-Rio M G. Structure of Pit-1 POU domain bound to DNA as a dimer: Unexpected arrangement and flexibility. *Genes Dev*, 1997, **11**: 198~212
- 4 Huang C C, Herr W. Differential control of transcription by homologous homeodomain coregulators. *Mol Cell Biol*, 1996, **16** (6): 2967~2976
- 5 Whitfield T. Early embryonic expression of XLPOU-60, a *Xenopus* POU-domain protein. *Dev Biol*, 1995, **169**: 759~769
- 6 Finney M, Ruvkun G. The unc-86 gene product couples cell lineage and cell identity in *C. elegans*. *Cell*, 1990, **63** (5): 895~905
- 7 Bhat K M, Pool S J, Schedl P. The mitr-ere and pdm1 gene collaborate during specification of the RP2/sib lineage in *Drosophila* neurogenesis. *Mol Cell Biol*, 1995, **15** (8): 4052~4063

- 8 Andersen B, Rosenfeld M G. Pit-1 determines cell types during development of the anterior pituitary gland: A model for transcriptional regulation of cell phenotypes in mammalian organogenesis. *J Biol Chem*, 1994, **269** (47): 29335~ 29338
- 9 Witta S E, Sato S M. XLPOU-2 is a potential regulator of Spemann's organizer. *Development*, 1997, **124**: 1179~ 1189
- 10 Fyodorow D, Deneris E. The POU domain of SCIP/Tst-1/Oct-6 is sufficient for activation of any acetylcholine receptor promoter. *Mol Cell Biol*, 1996, **16** (9): 5004~ 5014
- 11 McEvelly R J, Rosenfeld M G. Genetically defined roles of class I, III and IV POU domain factor in the development of the mammalian endocrine and nervous systems. *Curr Opin Endocrinol Diabetes*, 1997, **4** (2): 172~ 183

**POU-domain Protein Structure and Its Function in Development.** YANG Qi-Sheng, WU Min  
(*Department of Biology Science and Technology, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China*).

**Abstract** POU domain proteins contain two highly conserved subdomains (POU<sub>H</sub> and POU<sub>S</sub>) and variable linker between them. POU proteins interact with DNA by POU<sub>H</sub> and POU<sub>S</sub>. In aid of the domain flexibility and requirement of cofactors, POU proteins exhibit very complicated ability to bind and recognize DNA in function of regulator and transcription factors. In vertebrate and invertebrate, POU proteins take part in early embryogenesis, exert much regulation in cell lineage differentiation and neural development.

**Key words** POU homeodomain proteins, protein-DNA interaction, embryonic development, neural cell differentiation

## Wnt 基因与生物发育和肿瘤发生\*

庄立岩<sup>1)</sup> 郭应禄

(北京医科大学第一医院, 北京 100034)

张志文

(北京医科大学生理学系, 北京 100083)

**摘要** Wnt 基因所编码的蛋白质与许多生长因子一样具有分泌型生长因子的结构特点; 分泌后能与细胞表面基质及其特异性受体 Frizzled 蛋白相互作用, 通过其下游的一系列诸如 Dsh (Dishevelled)、 $\beta$ -连环蛋白、GSK3 (glycogen synthase kinase 3)、APC (adenomatous polyposis coli) 等蛋白质的磷酸化与去磷酸化的过程来完成 Wnt 信号的传导, 在脊椎动物至原虫的生物发育及肿瘤发生中具有重要作用。

**关键词** Wnt, Frizzled, 生物发育, 肿瘤发生

**学科分类号** R73

### 1 Wnt 基因家族

Wnt 基因是小鼠乳腺癌中克隆出的一种原癌基因, 当时称为 int 基因 (小鼠的 int-1 和 int-3)<sup>[1]</sup>, 后来的研究发现 int-1 基因与果蝇的 wingless (wg) 基因属直同源基因 (orthologous gene), 因而将二者合称为 Wnt. 利用这些 Wnt 基因中保守序列作为引物运用 PCR 技术发现了大量 Wnt 家族成员. 从脊椎动物到原虫的许多物种中都有 Wnt 基因家族成员存在, 但是否所有 Wnt 基因都已被发现仍不清楚.

Wnt 基因的开放读码框架预示 Wnt 蛋白是一种分泌型的蛋白质, 具有一个或多个 N 端糖基化的位点, 几乎在相平行的位置都有 23 或 24 个保守的半胱氨酸残基. 大多数蛋白质由 350 至 380 个氨

基酸组成, 在整个序列中平均分布着 100 多个保守的残基. 一些 Wnt 基因有着附带的细胞内氨基端或羧基端的功能区.

比较一个物种的两种 Wnt 蛋白或两个物种的同源 Wnt 蛋白其氨基酸序列都具有 30%~60% 的同源性. Wnt 基因在漫长的生物进化过程中, 氨基酸的替换过程是十分缓慢的, 正如所预测的那样, 小鼠和人的 Wnt 基因相比较几乎没有任何差别.

### 2 Wnt 蛋白的生化及生物学特性

Wnt 基因所编码的蛋白质有着分泌型生长因子的特点: 含有一段疏水的信号肽, 其后是一个可

\* 国家自然科学基金资助项目 (39870841).

<sup>1)</sup> 通讯地址: 北京医科大学第一医院泌尿外科, 北京 100034.

收稿日期: 1997-10-20, 修回日期: 1998-03-27