

# TBP 的联结因子 TAFs 的结构与功能

潘建伟 赵章杏 朱睦元

(杭州大学生命科学学院, 杭州 310012)

潘伟槐 黄承才

(绍兴文理学院生化系, 绍兴 31200)

## Structures and Functions of TBP-associated Factors TAFs

PAN Jianwei ZHAO Zhangxing ZHU Muyuan

(College of Life Science, Hangzhou University, Hangzhou 310012)

PAN Weihuai HUANG Chengcai

(Biochemistry Department, Shaoxing College of Arts and Sciences, Shaoxing 312000)

TAFs(TBP-associated factors)是一类真核生物 TATA 结合蛋白(TBP)的联结因子,由于它主要和 TBP 结合而得名。它广泛存在于 3 类转录因子 SL1、TFII D 和 TFIII B 中,分别称为 TAF<sub>I</sub>、TAF<sub>II</sub> 和 TAF<sub>III</sub>。TAFs 是一类系统发育上相当保守的多肽单链蛋白<sup>[1]</sup>,大约有 8~12 种,分子量为 15~250kD。现已克隆了编码酵母、果蝇和人类主要 TAFs 的基因<sup>[1-2]</sup>,这 3 类 TAFs 有着很大的同源性。对 TAFs 的功能研究表明:TAFs 与 TBP 结合形成一个多功能蛋白复合体,象  $\sigma$  那样与启动子、转录调节蛋白和 RNA 聚合酶结合。因此,TAFs 在基因转录中具有多种生物学功能。

### 1 TAFs 在 TFII D 装配中的作用

Chen<sup>[3]</sup>等利用亚基重组实验在体外进行 TFII D 复合物的装配。dTAF<sub>II</sub> 250(TFII D 中最大亚基)作为重要的“脚手架”(scaffold)。它首先与 dTBP 结合,然后再依次与 dTAF<sub>II</sub> 110、150、80、60、40、30 $\alpha$ 、30 $\beta$  结合。其中只有 dTAF<sub>II</sub> 250、150、30 $\alpha$  与 TBP 直接接触,而其它 dTAF<sub>II</sub> s 通过 TAF-TAF 的形式与 TBP 间接接触,使 TFII D 有更多的表面与不同的激活蛋白接触。在 TFII D 复合体中,TAFs 的结合起了一个重要的生物化学作用,保证各组分以精确的化学计量恰如其分地排列在一起,进行协同构象变化。有些 TAFs 作为辅助激活蛋白(coactivator)与增强子结合蛋白结合,有些 TAFs 特异性地识别启动子 DNA,有些与其它基础性转录因子结合<sup>[4]</sup>。因此,TAFs 使 TFII D 成为信息收发中继站,是一个高度网络化的蛋白复合体<sup>[5]</sup>。

### 2 特异性启动子的识别

TFII D 中的 TBP 通过结合于 TATA 框来介导启动子的识别,其它启动子(包括无 TATA 框启动子)核心序列的识别是通过 TAFs 与特异性 DNA 序列的结合实现的。这是因为 SL1、TFII D 和 TFIII B 可以相应地识别由 RNA 聚合酶 I、II、III 转录的三类不同启动子<sup>[6-7]</sup>,而它们均含有相同的 TBP 和不同的 TAFs,对不同启动子的识别无疑是由不同 TAFs 来识别的。在酵母中 yTAF<sub>II</sub> 145 通过某种机制能选择性地识别核心启动子(TATA 框附近的序列)<sup>[8]</sup>。三种聚合酶的种特异性也是通过 TBP 与不同的 TAFs 结合来实现的。果蝇的乙醇脱氢酶(Adh)基因在其不同的发育阶段由两个不同的启动子(distal 和 proximal)和上游调节序列共同控制。对这两个不同启动子在不同发育阶段的识别,是由 dTAF<sub>II</sub> 150 通过识别其特异性起始子(INR)实现的<sup>[9]</sup>。

### 3 启动子拓扑学结构的变化

某些 TAFs 与核心组蛋白在序列和结构上有很大相似性<sup>[10]</sup>。如果蝇 dTAF<sub>II</sub> 42、dTAF<sub>II</sub> 62 和 dTAF<sub>II</sub> 30 $\alpha$  的 N 端区域分别与核心组蛋白 H<sub>3</sub>、H<sub>4</sub> 和 H<sub>2</sub>B 的 C 端区域有很大序列同源性。这些 dTAF<sub>II</sub> s 的 N 端的肽段折

叠方式与规范组蛋白(canonical histone)相同,均由 2 个短的  $\alpha$ -螺旋(侧旁有一个长的  $\alpha$ 螺旋)组成。而 dTAF<sub>II</sub> 42/dTAF<sub>II</sub> 62 复合物以异四聚体形式存在,极象组蛋白八聚体中的(H<sub>3</sub>/H<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 异四聚体核心。类似的情况也存在于人类 hTAF<sub>II</sub>s 中<sup>[11]</sup>。这些与组蛋白八聚体的相似性表明 TFII D 或 TAF<sub>II</sub>s 复合物能以类似核小体的结构与启动子 DNA 结合;然而,核心组蛋白与 DNA 结合时引起 DNA 拓扑学结构的变化。推测 TAF<sub>II</sub>s 与启动子 DNA 结合时,也引起启动子的拓扑学的结构变化。DNA 酶 I 保护试验证实了 TFII D 结合于腺病毒晚期启动子时,引起启动子的拓扑学结构变化。这种结构变化在许多方面能够促进基因转录调控<sup>[1~22]</sup>: (1)使 TFII D 与启动子核心序列有更多的接触, (2)促进转录激活蛋白与基础性转录因子的接触,更有利于基因转录激活, (3)TFII D 以类似核小体的结构与启动子 DNA 结合,这可能允许 TFII D 在有丝分裂开始时部分进入浓缩的染色体中。一般有 10~20%的 TFII D 留在浓缩的染色体中,有丝分裂结束后,结合有 TFII D 的启动子即被激活。

#### 4 酶活性

(1) 组蛋白乙酰化作用(HAT) 已经知道 dTAF<sub>II</sub> 230, yTAF<sub>II</sub> 130 和 hTAF<sub>II</sub> 250 具有 HAT 活性,并且 dTAF<sub>II</sub> 230 的 HAT 活性在体外对 H<sub>3</sub> 和 H<sub>4</sub> 具有特异性,这活性主要位于多肽链的中间最保守的区域(dTAF<sub>II</sub> 230 的 885~1140 位, yTAF<sub>II</sub> 130 的 354~817 位)。但是与其它的乙酰转移酶如 GCN5 蛋白家族、细胞质 HAT1、 $\alpha$ -N-乙酰转移酶等的序列比较表明,它们之间没有明显的序列同源性。因此, TAF<sub>II</sub>s 的 HAT 活性域可能是一种新的结构形式<sup>[10]</sup>。

关于 TAF<sub>II</sub>s 的 HAT 活性机理,一般认为 TAF<sub>II</sub>s 主要是对启动子附近的核蛋白 N 端 Lys 残基进行酰基化,消除了 Lys 残基的正电荷,这样就削弱了组蛋白与 DNA 的结合,使启动子从核小体中暴露出来后与基础性转录因子、激活蛋白等结合,从而启动转录<sup>[10]</sup>。

(2) 基础性转录因子的磷酸化作用 d/hTAF<sub>II</sub> 250 是一个二重 Ser 蛋白激酶<sup>[5]</sup>,它既能磷酸化本身,又能磷酸化其它基础性转录因子 TFII F、TFII A、TFII E。其中 TFII F 是磷酸化最活跃的靶。缺失实验表明,它含有两个不同的磷酸激酶域(1)N-末端激酶域(NTK), dNTK 位于 1~434 位,与其它蛋白激酶具有一定的同源性。(2)C-末端激酶域(CTK), dCTK 位于 C 端 468 氨基酸残基,与其它蛋白激酶无同源性,这可能是一类新的蛋白激酶域。NTK 和 CTK 均具有自身磷酸化活性和磷酸根转移性(CTK 较弱)。

TAF<sub>II</sub> 250 的磷酸化作用机理是, TAF<sub>II</sub> 250 把 ATP 分解产生的磷酸根转移到与之紧密结合的 TFII F 大亚基 RAP74,使之磷酸化,从而促进与 TFII F 紧密结合的 RNA 聚合酶进入起始复合物或影响其起始特性。

#### 5 在基因转录协同激活中的作用

Sauer<sup>[12~13]</sup> 等用亚基重组实验证实了 TFII D 中的 TAFs 是激活蛋白的作用靶。不同的激活蛋白或同一激活蛋白的不同激活域能够识别不同的 TAFs<sup>[3, 13]</sup>,表现出激活蛋白与 TAFs 之间的特异性结合。

如 BCD 蛋白(含 A、Q 等多个激活域)和 HB 蛋白均为增强子结合蛋白,其中 BCD 中的 Q 与 TAF<sub>II</sub> 110 特异性结合, A 或 HB 与 TAF<sub>II</sub> 60 特异性结合。当两种不同激活蛋白或同一但含不同激活域的激活蛋白同时存在,并分别与 TFII D 中的不同 TAFs 结合时,则产生转录协同激活,单独存在时产生一般激活。TAFs 与激活蛋白是通过 DNA 产生 loop 结构而得以相互作用。这种作用使 TFII D 更牢固地结合于启动子,或使 TFII D-DNA 构象发生变化,有利于其它基础性转录因子和 RNA 聚合酶有次序地结合于 DNA,并且形成稳定的起始复合物,导致转录水平大大提高。TAFs 在转录协同激活中充当了一个多重激活的受体复合物,起到了“分子桥梁”的作用。

#### 6 在细胞生长和个体发育中的作用

TAFs 对真核生物个体的生存是必需的,若仓鼠 TAF<sub>II</sub> 250 和酵母 yTAF<sub>II</sub> 130/145 缺失或突变,则细胞生长将在 G<sub>1</sub> 期停滞<sup>[14]</sup>。已知 G<sub>1</sub> 细胞周期蛋白 CLN1/2、PCL1/2 和两种 B 型细胞周期蛋白 CLB5/6 是细胞

生长周期激酶 CDC28 的调节亚基, 而 *cln1/2*、*pcl1/2* 和 *clb5/6* 基因的转录需要  $\text{yTAF}_{\text{II}} 145$ <sup>(15)</sup>, 尽管 TAFs 是必需的, 但并非所有的转录都需要 TAFs。因为有些启动子的转录在 TAF 失活的情况下, 未受影响<sup>(16)</sup>。推测可能存在多条转录激活途径, 在有 TAFs 存在时, 首先利用 TAFs, 若 TAFs 缺失或失活时, 它可绕过 TAFs 活性, 继续激活转录, 有利于细胞或个体的生存。

## 7 TAFs 的进化意义

最近发现, 果蝇和人类中某些激活蛋白在酵母中没有激活作用。这说明高等真核生物可能已形成更为复杂的基因转录调节途径, 与此同时, 对辅助激活蛋白数量和种类的需求增加。如  $\text{dTAF}_{\text{II}} 110$  和  $\text{hTAF}_{\text{II}} 130$  在酵母中不存在。已有报道证明, 哺乳动物中存在细胞特异性的辅助激活蛋白<sup>(17-18)</sup>。Dikstein<sup>(19)</sup> 等报道了人类高度分化的 B 细胞中特有的  $\text{hTAF}_{\text{II}} 105$ , 它以亚化学计量关系存在于 B 细胞 TFII D 中。氨基酸序列分析表明,  $\text{hTAF}_{\text{II}} 105$  与  $\text{hTAF}_{\text{II}} 130$ 、 $\text{dTAF}_{\text{II}} 110$  有显著的同源性, 尤其是某些结构域相当保守, 这说明  $\text{hTAF}_{\text{II}} 105$  是一个真正的 TAF; 然而, 其 N 端的大多数氨基酸序列产生了趋异化, 这说明  $\text{hTAF}_{\text{II}} 105$  显然已进化为更新的 TAF, 能与  $\text{hTAF}_{\text{II}} 130$ 、 $\text{dTAF}_{\text{II}} 110$  不能结合的激活蛋白结合, 以适应更多、更复杂的基因转录调控。

## 参 考 文 献

- 1 Tansey W P *et al.* TAFs: guilt by association? *Cell*, 1997, 88: 729~732
- 2 Burley S K *et al.* Biochemistry and structural biology of transcription factor II D (TFII D). *Annu. Rev. Biochem.*, 1996, 65: 769~799
- 3 Chen J L *et al.* Assembly of recombinant TFII D reveals differential coactivator requirements for distinct transcriptional activators. *Cell*, 1994, 79: 93~105
- 4 Buratowski S. Multiple TATA-binding factors come back into style. *Cell*, 1997, 91: 13~15
- 5 Dikstein R *et al.* TAF<sub>II</sub> 250 is a bipartite protein kinase that phosphorylates the basal transcription factor RAP74. *Cell*, 1996, 84: 781~790
- 6 Verrijzer C P *et al.* Drosophila TAF<sub>II</sub> 150: Similarity to yeast gene TSM-1 and specific binding to core promoter DNA. *Science*, 1994, 264: 933~941
- 7 Verrijzer C P *et al.* Binding of TAFs to core elements directs promoter selectivity by RNA polymerase II. *Cell*, 1995, 81: 1115~1125
- 8 Shen W C *et al.* Yeast TAF<sub>II</sub> 145 functions as a core promoter selectivity factor, not a general coactivator. *Cell*, 1997, 90: 615~624
- 9 Hansen S K *et al.* TAFs and TFII A mediate differential utilization of the Tandem Adh promoters. *Cell*, 1995, 82: 565~575
- 10 Mizzen C A *et al.* The TAF<sub>II</sub> 250 subunit of TFII D has histone acetyltransferase activity. *Cell*, 1996, 87: 1261~1270
- 11 Hoffmann A *et al.* A histone octamer-like structure within TFII D. *Nature*, 1996, 380: 356~359
- 12 Sauer F *et al.* TAF<sub>II</sub>s mediate activation of transcription in the drosophila embryo. *Cell*, 1996, 87: 1271~1284
- 13 Saucer F *et al.* Multiple TAF<sub>II</sub>s directing synergistic activation of transcription. *Science*, 1995, 270: 1783~1788
- 14 Walker S S *et al.* Transcription activation in cells lacking TAFs. *Nature*, 1996, 383: 185~188
- 15 Walker S S *et al.* Yeast TAF<sub>II</sub> 145 required for transcription of G1/S cyclin genes and regulated by the cellular growth state. *Cell*, 1997, 90: 607~614
- 16 Moqtaderi Z *et al.* TBP-associated factors are not generally required for transcriptional activation in yeast. *Nature*, 1996, 383: 188~191
- 17 Luo Y *et al.* Cloning, functional characterization and mechanism of action of the B cell-specific transcriptional coactivator OCA-B. *Mol. Cell Biol.*, 1995, 15: 4115~4124
- 18 Strubin M *et al.* OBF-1, a novel B cell-specific coactivator and stimulates immunoglobulin promoter activity through association with octamer-binding proteins. *Cell*, 1995, 80: 497~506
- 19 Dikstein R *et al.* Human TAF<sub>II</sub> 105 is a cell type-specific TFII D subunit related to  $\text{hTAF}_{\text{II}} 130$ . *Cell*, 1996, 87: 137~146

1997-10-30 收稿, 1998-04-23 修回。