

酵母 HOG-MAPK 途径

吴雪昌* 胡森杰 钱凯先

(浙江大学生命科学院, 杭州 310012)

摘要 酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 的高渗透性甘油促分裂原活化蛋白激酶 (high osmolarity glycerol mitogen-activated protein kinase, HOG-MAPK) 途径是高度保守的信号转导途径, 很多方面和高等真核生物 MAPK 途径类似。该途径在高渗应激环境下控制信号转导和基因表达, 是细胞生存所必需的。现对酵母 HOG-MAPK 途径的信号转导以及信号传递的专一性控制、HOG-MAPK 途径各组分的亚细胞定位和基因表达调控机制进行综述。

关键词 酵母; 高渗应激; MAPK; HOG-MAPK 途径

酵母细胞生存在多种环境中, 包括各种应激环境(热休克, 渗透性应激, 营养因子应激, 氧应激等)^[1]。为了能在这些应激条件下生存, 细胞产生了多种应激调节机制。环境中渗透性突然剧烈改变能引起渗透性应激, 包括高渗应激和低渗应激。高渗透性甘油促分裂原活化蛋白激酶(high osmolarity glycerol mitogen-activated protein kinase, HOG-MAPK)途径是 *S. cerevisiae* 细胞调节高渗应激的主要机制, 它通过促进甘油积累及其他生理调节, 暂时停止细胞生长抵抗应激。当然, 高渗应激并不是 HOG-MAPK 途径激活的唯一条件, 氧应激、热休克或柠檬酸应激也同样可以诱导。HOG-MAPK 途径是真核生物中的 MAPK 信号转导途径之一, 跟高等真核生物的 MAPK 途径有高度相似性, 被作为一个模式系统进行研究。

1 MAPK 途径

真核生物细胞能通过反应快速、高度复杂的信号转导途径来感知并应对外界环境变化。这些途径中特别重要的是 MAPK 级联途径, 它能把一种胞外输入信号转变为多种输出信号, 引起细胞相应反应^[2]。MAPK 途径能被环境信号、激素、生长因子、细胞因子激活, 在所有真核生物中能调节生长、形态建成、繁殖和应激反应, 但调节不同的生理反应需要不同的 MAPK 途径^[3]。而 MAPK 途径又是高度保守的, 都包括 MAPK, MAPKK(MAPK kinase), MAPKKK(MAPK kinase kinase), 如图 1 所示。MAPKKK 被上游感应蛋白磷酸化从而激活 MAPKK, 而活化的 MAPKK 又能使 MAPK 磷酸化并具有活性, 激活的

MAPK 可以通过磷酸化转录因子、细胞骨架相关蛋白和多种酶类调节各种生理反应。*S. cerevisiae* 中已发现有 5 种 MAPK 途径, 参与不同的信号转导^[2]。HOG-MAPK 途径是其中一种, 能调节高渗应激信号转导。

2 HOG-MAPK 信号转导途径

HOG-MAPK 途径也包括三级激酶级联系统 MAPKKK(Ssk2, Ssk22, Ste11)→MAPKK(Pbs2)→MAPK(Hog1)。在三级激酶级联系统的上游有两个感应渗透信号的分支: SLN1 和 SHO1, 它们把信号传递给三级激酶系统, 通过级联激活最终激活 Hog1 并通过转录因子参与基因转录调控或进行其他细胞调节。而 Hog1 又受酪氨酸蛋白磷酸酯酶 PTP (Ptp2, Ptp3) 和 2C 型丝氨酸-苏氨酸蛋白磷酸酯酶 PTC (Ptc1, Ptc2, Ptc3) 负调节, 从而反馈调控 HOG-MAPK 途径。如图 2 所示。

2.1 HOG-MAPK 途径的两个上游分支

HOG-MAPK 途径的两个分支 SLN1 和 SHO1 似乎功能上是冗余的, 其实这两个分支也有不同的分工。SLN1 分支能感应细胞的膨压变化, 在适度高渗应激和极高盐浓度应激下都发挥作用, 比 SHO1 渗透感应范围更广更敏感^[4]。SHO1 分支多个组分都是几个信号转导途径共有的, 参与多种信号感应。

2.1.1 SLN1 分支 SLN1 分支由 Sln1、Ypd1、Ssk1、Ssk2/Ssk22 组成。感应蛋白 Sln1 是一个组

收稿日期: 2004-10-12 接受日期: 2004-12-16

国家自然科学基金资助项目 (No.30100115)

* 通讯作者。Tel: 0571-88805551, E-mail: mgf@zju.edu.cn

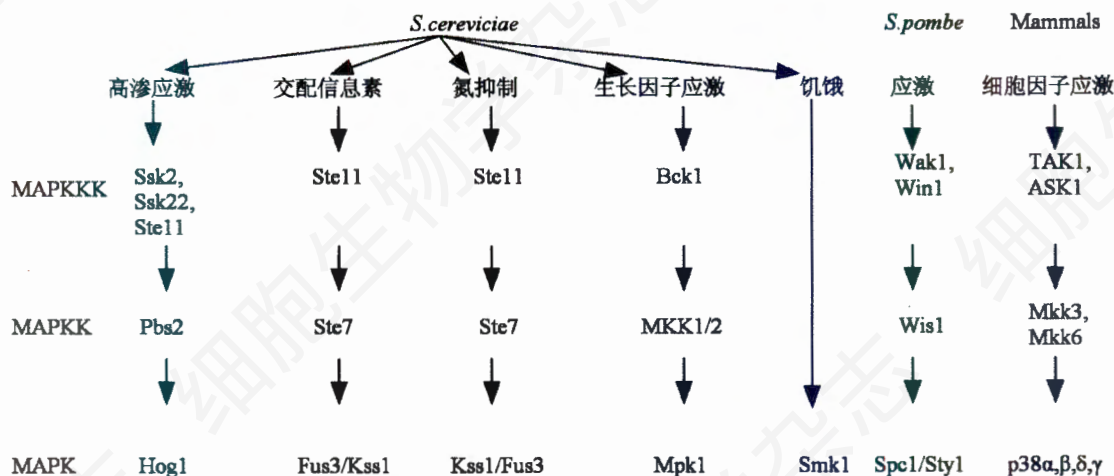


图1 MAPK 途径保守性示意图^[2,4]

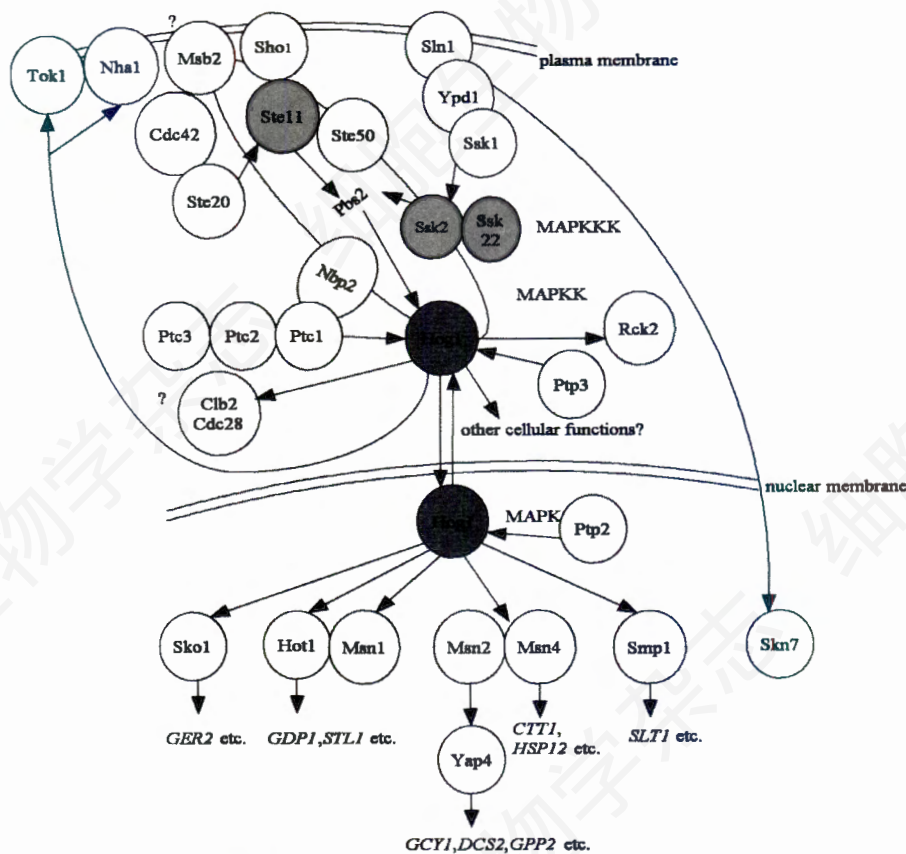


图2 HOG-MAPK 信号转导途径^[1,4]

氨基酸激酶反应调节蛋白，是 HOG-MAPK 信号转导途径的负调节蛋白。Sln1 有两个跨膜区域，一个胞内组氨酸激酶结构域，一个连接区和一个接受结构域^[1]。Sln1、Ypd1、Ssk1 或 Skn7(转录调节因子) 形成一个双组分磷酸转移系统。Ypd1 是一个组氨酸磷酸转移蛋白，Ssk1 是另一个反应调节蛋白。正常环境下，感应蛋白 Sln1 的组氨酸自身磷酸化，磷

酸基团转移到接受结构域的天冬氨酸，然后磷酸基团转移到 Ypd1 反应调节结构域的组氨酸，又转移到 Ssk1 或 Skn7 反应调节结构域的天冬氨酸^[5,6]。Ssk1 的磷酸化阻碍了它与下游 Ssk2/Ssk22 相互作用，从而阻断了信号途径。高渗应激下，Sln1 组氨酸激酶活性被抑制，Ypd1 和 Ssk1 迅速去磷酸化，Ssk1 与 Ssk2/Ssk22 结合并激活下游途径。如果 Sln1-

Ypd1 被低渗应激激活, 则 HOG-MAPK 途径受抑制, 核内 Skn7 被激活通过转录基因调节细胞涨水^[1,6]。

2.1.2 SHO1 分支 这一分支包括膜蛋白 Sho1, Ste20(一个 p21 激活蛋白激酶), Ste50(一个有 SAM 结构域的蛋白质), GTP 酶 Cdc42 和 Ste11。Sho1 由 4 个跨膜区域, 一个连接区和一个 C 末端的 SH3 结构域组成。近些年的研究表明, Sho1 不直接感应渗透变化, 但 C 末端结合 Ste11 并调节其活性, 还可以通过 SH3 结构域为 Pbs2 提供停泊位点^[7-9]。O'Rourke 等^[10]研究发现, 单跨膜结构域蛋白 Msb2 也是渗透信号感应所需要的, 能与 Sho1 和 Cdc42 相互作用, 但是否它是真正的感应蛋白还需要进一步证明。Cdc42 定位 Ste20, 也参与肌动蛋白成核, 所以研究表明肌动蛋白细胞骨架可能参与了 SHO1 分支的信号传递控制^[11]。因为 Ste50 的 SAM(不育的 α 模体)结构域与 Ste11 组成性相互作用, 有助于 Cdc42-Ste20 激酶复合物结合并激活 Ste11, 所以 Ste50 可能是 Ste11 的辅助因子^[4,11]。

2.2 Pbs2 和 Hog1 的激活

上游 Ste11、Ssk2 或 Ssk22 中任何一个被激活都能磷酸化 Pbs2。Pbs2 既是支架蛋白又有激酶作用, 能使 Hog1 的 Thr174 和 Tyr176 双磷酸化, 从而激活 Hog1。Thr174 的磷酸化稳定了活化结构, 而 Tyr176 磷酸化对 Hog1 生物活性不重要^[12]。被激活的 Hog1 迅速进入细胞核磷酸化转录因子或与其他一些蛋白质相互作用发挥细胞质功能。

2.3 Hog1 参与的转录调控机制

一旦 Hog1 进入细胞核就调控基因转录。DNA 微阵列研究表明, 高渗应激下 Hog1 调节大约 600 个基因表达^[2]。Hog1 调节基因表达的普遍机制还不完全清楚, 现在知道的是 Hog1 磷酸化一些转录因子 (Sko1, Hot1, Msn2, Msn4, Smp1, Msn1)、辅助因子和染色质蛋白, 组装并激活转录复合物从而结合并激活启动子调控基因转录^[2]。各种转录因子只调节一部分高渗应激诱导基因的转录, 协同完成所有应激基因的表达。现以具体基因为例说明它们的机制: Sko1 结合在渗透诱导基因上游, 正常环境下它结合 Tup1-Cyc8(Ssn6)形成 Sko1-Cyc8(Ssn6)-Tup1 转录抑制复合物, 高渗应激下 Hog1 使 Sko1 磷酸化, 使抑制复合物变为激活因子, 恢复 SAGA 和 SWI/SNF 染色质修饰复合物激活 *GER2* 转录^[2]。Alepez 等^[13]发现与 Msn1 有关联的 Hot1(转录

激活因子)组成性结合 *GDP1* 启动子, 但它与 *STL1* 启动子结合则与激活的 Hog1 互相依赖。渗透应激下 Hot1 锚定 Hog1, 但 Hot1 的磷酸化不是激活转录必需的, 而是通过 Hog1 与其他调节因子及 RNA 聚合酶 II 全酶相互作用激活转录^[2,14]。Msn2 和 Msn4 是多种应激条件下的锌指结构转录激活因子, 它们能结合应激反应元件(STRE)调节基因转录, 其转录活性受蛋白激酶 A(protein kinase A, PKA)和雷帕霉素调控^[15]。Msn2 或 Msn4 与 Hog1、Hot1 一起结合到 *CTT1* 和 *HSP12* 启动子通过与 RNA 聚合酶 II 全酶相互作用诱导转录。近期发现的酵母激活蛋白 Yap4 和 Yap6 也参与耐渗透应激基因转录。渗透应激下 Msn2 激活 Yap4 表达而 Yap4 又激活 *GCY1*、*DCS2* 和 *GPP2* 转录^[16], Yap6 的研究还不多。Smp1 是转录激活因子, Hog1 的磷酸化是 Smp1 激活 *STL1* 等基因表达所需要的, 但 *STL1* 转录中 Hot1 起主要作用^[17]。Msn1 与其他转录因子一起转录一些基因。研究表明可能还存在其他转录因子, 但还所知甚少。

关于 Hog1 组装并激活转录复合物调节启动子转录方面, de Nadal 等^[18]根据编码组蛋白脱乙酰酶 Rpd3 和与之相互作用蛋白 Sin3 的基因缺失致使细胞渗透敏感的现象提出了一个机制: Hog1 与 Rpd3 结构上互相作用, 应激时 Hog1 使脱乙酰酶定位到特定的渗透应激反应基因, 组装染色质修饰复合物组蛋白脱乙酰酶复合物(Rpd3-Sin3)并结合到特定启动子, 导致组蛋白脱乙酰化, 染色质结构发生变化, 辅助因子和 RNA 聚合酶 II 全酶恢复功能, 激活基因转录。如图 3 所示。

2.4 Hog1 与非转录蛋白的作用

激活的 Hog1 除了调节基因转录适应高渗应激外还磷酸化多种酶、细胞质蛋白和膜蛋白, 所以对细胞周期程序、翻译等生理功能也有作用。

激活的 Hog1 能使 Na^+/H^+ 反向运输蛋白 Nha1 和 K^+ 通道蛋白 Tok1 磷酸化, 核内离子浓度降低, 蛋白质重新结合到 DNA 模板, 使高渗应激一开始不能表达的应激反应基因恢复表达^[19]。在渗透应激下, Hog1 能通过磷酸化 Rck2(钙调蛋白激酶)调节蛋白质合成。Rck2 存在于细胞质中, 参与渗透应激诱导的延伸因子 EF-2 磷酸化从而短暂抑制蛋白质合成。激活的 Hog1 通过与 Rck2 的停泊位点结合使之磷酸化从而使蛋白质合成恢复^[1,4]。由于高渗应激可以影响细胞周期程序, 使 G_1 和 G_2 期细胞短暂的积累。这种细胞周期阻塞是与依赖于细胞周期蛋白的激酶

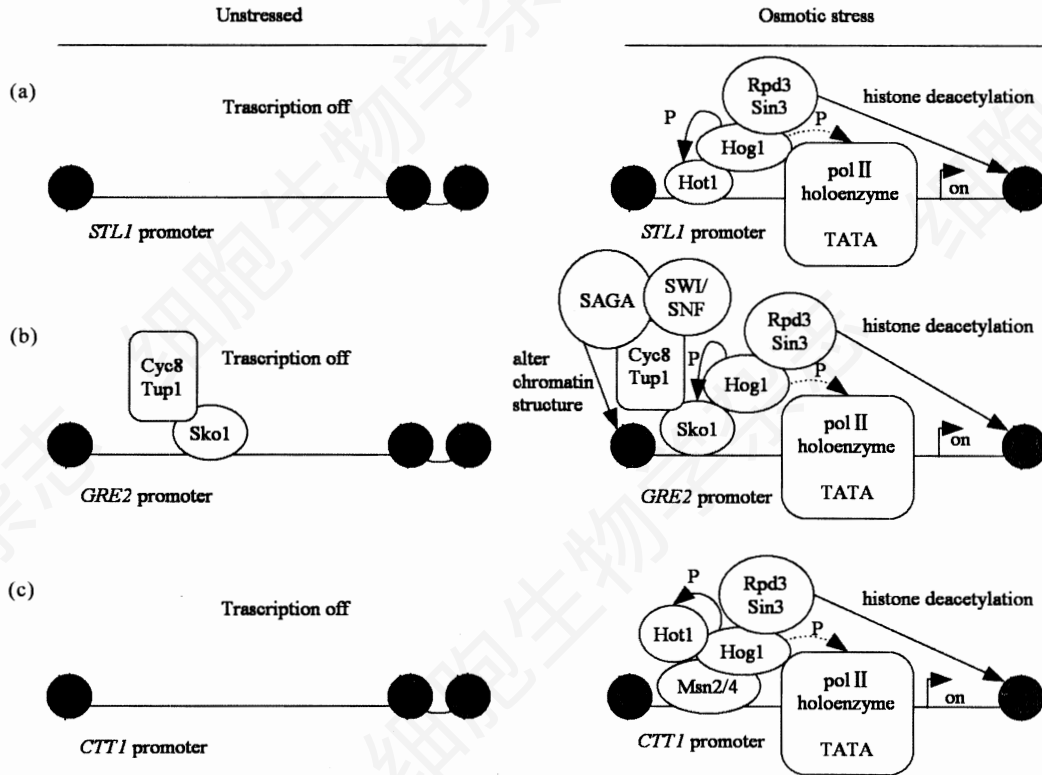


图3 高渗应激下转录因子 Hot1(a)、Sko1(b)、Msn2/Msn4(c)激活转录机制示意图^[2,18]

a: Hot1 在非应激条件下不与 *STL1* 启动子结合, 而在渗透应激时 Hot1 锚定 Hog1 并结合启动子, Hog1 使 Hot1 磷酸化并恢复 Rpd3-Sin3 组蛋白脱乙酰酶复合物活性, 最终使 RNA 聚合酶 II 全酶结合启动子激活转录, b: 非应激条件下 Sko1-Cyc8-Tup1 复合物结合 *GRE2* 启动子抑制转录, 渗透应激时 Hog1 结合并磷酸化 Sko1, 使 Sko1-Cyc8-Tup1 转变为激活因子, 恢复 SAGA 和 SWI/SNF 染色质修饰复合物活性, 同时 Hog1 也恢复 Rpd3-Sin3 组蛋白脱乙酰酶复合物活性, 最终改变染色质结构, 使 RNA 聚合酶 II 全酶结合启动子激活转录, c: 渗透应激使 Msn2/4 结合到 *CTT1* 启动子并与 Hog1 结合, Hog1 活化 Rpd3-Sin3 组蛋白脱乙酰酶复合物和 RNA 聚合酶 II 全酶, 从而激活转录。

复合物 Clb2-Cdc28 的短暂抑制相关。因此 Hog1 可能有一种依赖细胞周期蛋白的激酶抑制因子的功能^[4,20]。

2.5 蛋白磷酸酯酶的反馈调控

因为 Hog1 过量激活导致细胞致死, 所以能使 Hog1 失活并负反馈调节 HOG-MAPK 途径的蛋白磷酸酯酶也很重要。Hog1 为了获得充分活性需要在苏氨酸(Thr)和酪氨酸(Tyr)残基双磷酸化, 磷酸酯酶特定的与磷酸化 Hog1 结合, 去磷酸化后又迅速脱离。能使 HOG-MAPK 途径失活的蛋白磷酸酯酶分两类。一类是酪氨酸磷酸酯酶 Ptp2 和 Ptp3, 它们能通过 N 末端非催化结构域与 Hog1 结合, 致使 Hog1 的 Tyr176 去磷酸化并失活。Ptp2 主要存在于核内, Ptp3 主要在细胞质, Ptp2 在去磷酸化中起主要作用。Ptp2 和 Ptp3 除了对 Hog1 去磷酸化还能通过结合 Hog1 调节 Hog1 亚细胞定位。另一类磷酸酯酶是 2C 型丝氨酸-苏氨酸磷酸酯酶(PP2C), 在酵母中它被叫做 PTC 酶, 包括 Ptc1, Ptc2 和 Ptc3, 它们

能使 Hog1 的 Thr174 去磷酸化。Ptc1 维持 Hog1 低活性水平并在细胞调节渗透应激过程中使 Hog1 失活。最近发现 Ptc1 与 Nbp2 相互作用。237 个残基的支架蛋白 Nbp2 有 Ptc1 和 Pbs2 结合位点, N 末端结构域结合 Ptc1, SH3 结构域结合 Pbs2。Nbp2 对 Hog1 有负调节作用, 能调节 Ptc1 结合到 Pbs2-Hog1, 使 Hog1 失活^[21]。而 Ptc2 和 Ptc3 对 Ptc1 最大限度限制 Hog1 的活性有一个辅助作用。这 3 个 Ptc 与脊椎动物 PP2C 不同, 对上游 Pbs2 都没有明显的影响^[11]。

3 HOG-MAPK 途径的信号传递专一性控制

细胞对胞外刺激适当地反应非常重要, 所以细胞存在一些机制确保相似的激酶高度专一的选择性识别胞外刺激。酵母和脊椎动物中就存在多种 MAPK 级联, 存在不同的信号蛋白调节不同应激反应。但是, 因为 MAPK 途径中 MAPKKK、MAPKK 和 MAPK 具有高度的相似性, 一个激酶可能参与多

个途径, 如果这些途径缺乏了信号转导专一性, 各途径间会发生不合适的通讯。隔绝这些途径间通讯的一种重要方式是通过支架蛋白^[8,9,22], 比如酵母 HOG-MAPK 途径中的 Pbs2, 交配信息素反应途径中的 Ste5, 脊椎动物 JNK 和 ERK1 途径中的 JIP 和 MP1。很多情况下, 一个支架蛋白黏连多个激酶, 因此保证了信号传递专一性和高效性。

另一种方式是 MAPKK、MAPK 通过停泊结构与特定的调节因子或底物产生高亲和力结合, 确保信号转导高效性和专一性^[7,22]。Tatebayashi 等^[3]研究表明, SLN1 分支中的 Ssk2/Ssk22 激活后, 专一性的使 Pbs2 磷酸化, 这是由于 Pbs2 N 末端区域有一个 Ssk2/Ssk22 特异性停泊位点。SHO1 分支中 Sho1 的 SH3 结构域也为 Pbs2 提供停泊位点。近期研究表明, Hog1 通过一个停泊结构域使它更容易与特定的激活因子(MAPKK)、抑制因子(蛋白磷酸酯酶)和底物(转录因子或其他蛋白质)相互作用, 确保信号转导专一性。同时, Hog1 通过负反馈作用调节上游激酶活性和复合物的组装对信号转导专一性也具有重要的作用^[9]。

近期对 Sho1 的研究表明, 亲和力相对低的蛋白质与蛋白质相互作用也能通过生理结合模体识别和非生理结合模体(如 SH3)的负筛选确保信号转导专一性^[23]。

4 HOG-MAPK途径组分的亚细胞定位

信号蛋白的亚细胞定位和激活后移位已成为目前细胞信号转导研究很重要的内容。在许多情况下, 信号蛋白会定位在适配体蛋白、细胞骨架及细胞质膜结构上, 与上游激酶和下游底物相结合来发挥功能。

HOG-MAPK途径的各种组分也定位于细胞各个部位, 发挥各自的功能。SHO1 分支的膜蛋白(Sho1, Cdc42, Ste20)集中在活性细胞生长区域(芽和芽颈)^[4]。Sho1 能结合定位 Pbs2 和 Ste11。Cdc42 是芽的定向生长需要的, 同时定位 Ste20。Ste20 经 Pbs2 与底物 Ste11 作用, Ste50 渗透应激时也与 Ste11 结合。研究表明, 肌动蛋白细胞骨架也参与了 Sho1 的定位。SLN1 分支的 Ssk1 存在于细胞质, Skn7 在细胞核, 所以 Ypd1 为了把信号传递给 Ssk1 和 Skn7 动态分布于细胞质和细胞核^[6]。野生型细胞中, Pbs2 在正常环境或高渗应激下都分散在细胞

质。*ssk1ste11* 双突变体和 Pbs2 失活突变体中 Pbs2 在渗透应激下定位到极性生长区域, 而 Sho1 和 Cdc42 也能定位 Pbs2。这表明 Pbs2 的亚细胞定位既与渗透性又和极性蛋白有关。渗透应激前, Hog1 分布于整个细胞质, 磷酸化后通过核输入受体蛋白 Nmd5 和 Gsp1 迅速转移到核内。研究表明, Hog1 进入细胞核不依赖于它的激酶活性和其他蛋白质的合成, 但依赖于 Pbs2 对 Hog1 的 Thr174 和 Tyr176 的磷酸化。蛋白质与蛋白质相互作用也影响 Hog1 的亚细胞定位: 转录激活因子调节 Hog1 在核内的停留时间, 比如 Msn2、Msn4、Hot1、Msn1 都能延长核停留时间。酪氨酸磷酸酯酶 Ptp2 和 Ptp3 也调节 Hog1 的亚细胞定位, Ptp3 过量表达引起 Hog1 的细胞质锚定, Ptp2 有黏连作用可以引起 Hog1 核滞留^[4]。Hog1 核内停留时间与应激的严重性有关, 应激越严重在核内时间越长。Hog1 回到细胞质是为了以后的级联反应, 以适应更严重的渗透应激, 它的核输出需要核输出受体蛋白 Crm1/Xpo1。转录因子的亚细胞定位也会受到影响, 比如正常环境和 0.4 mol/L NaCl 应激下, 抑制因子 Sko1 定位在细胞核, 严重的渗透应激(1 mol/L NaCl)下, Sko1 转移到细胞质。Msn2 和 Msn4 非应激时在细胞质, 应激后转移到核^[1]。

5 HOG-MAPK 途径与其他信号途径的联系

虽然 HOG-MAPK 途径信号转导是高度专一的, 但与其他信号途径依然发生联系。由于 HOG-MAPK 途径与其他 MAPK 途径共享一些蛋白激酶(比如 Ste11)和磷酸酯酶, 所以 *PBS2* Δ 或 *HOG1* Δ 在渗透应激下诱导假菌丝生长途径和交配信息素反应途径^[1]。

依赖于 Ca^{2+} /CaM 的钙调磷酸酯酶(CaN)途径是酵母高渗应激引起的细胞调控的另一重要机制, 它通过 Sln1 参与 HOG-MAPK 途径的负调控。细胞生长调控中 HOG-MAPK 途径与钙调磷酸酯酶信号途径在芽产生的调控中是互相拮抗的^[24]。

高渗应激调节中有重要作用的环腺一磷蛋白激酶 A(cAMP-dependent protein kinase A, Ras-cAMP PKA)途径和雷帕霉素靶分子(target of rapamycin, TOR)途径也能通过调节转录因子(Sko1, Msn2/Msn4)的核定位与 HOG-MAPK 途径发生联系。

参考文献 (References)

- [1] Hohmann S. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2002, **66**: 300
[2] Edmunds JW *et al. J Cell Sci*, 2004, **117**: 3715
[3] Tatebayashi K *et al. EMBO J*, 2003, **22**: 3624
[4] O'Rourke SM *et al. Trends Genet*, 2002, **18**: 405
[5] Porter SW *et al. Eukaryot Cell*, 2003, **2**: 27
[6] Lu JM *et al. Eukaryot Cell*, 2003, **2**: 1304
[7] Marles JA *et al. Mol Cell*, 2004, **14**: 813
[8] Zarrinpar A *et al. Mol Cell*, 2004, **14**: 825
[9] van Drogen F *et al. Curr Biol*, 2002, **12**: R53
[10] O'Rourke SM *et al. Mol Cell Biol*, 2002, **22**: 4739
[11] Ramezani-Rad M. *Curr Genet*, 2003, **43**: 161
[12] Bell M *et al. J Biol Chem*, 2003, **278**: 14603
[13] Alepuz PM *et al. Mol Cell*, 2001, **7**: 767
[14] Alepuz PM *et al. EMBO J*, 2003, **22**: 2433
[15] Hirata Y *et al. Mol Biol Cell*, 2003, **14**: 302
[16] Rodrigues-Pousada CA *et al. FEBS Lett*, 2004, **567**: 80
[17] de Nadal E *et al. Mol Cell Biol*, 2003, **23**: 229
[18] de Nadal E *et al. Nature*, 2004, **427**: 370
[19] Proft M *et al. Cell*, 2004, **118**: 351
[20] Alexander MR *et al. Mol Biol Cell*, 2001, **12**: 53
[21] Mapes J *et al. EMBO J*, 2004, **23**: 302
[22] Tanoue T *et al. Cell Signal*, 2003, **15**: 455
[23] Seet BT *et al. Curr Biol*, 2004, **14**: R708
[24] Shitamukai A *et al. J Biol Chem*, 2004, **279**: 3651

HOG-MAPK Pathway in Yeast

Xue-Chang Wu*, Sen-Jie Hu, Kai-Xian Qian

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

Abstract High osmolarity glycerol mitogen-activated protein kinase pathway (HOG-MAPK pathway) of *Saccharomyces cerevisiae* is a highly conserved signaling pathway. It is similar to all MAPK pathways in eukaryotic cells. In hyperosmotic stress, the HOG-MAPK pathway regulates the signal transduction and expression of numerous genes for cell survival. This review summarized the regulative mechanism of gene expression, signal transduction, signal specificity and subcellular localization of the components in the HOG-MAPK pathway.

Key words yeast; hyperosmotic stress; MAPK; HOG-MAPK pathway

Received: October 12, 2004 Accepted: December 16, 2004

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30100115)

*Corresponding author. Tel: 86-571-88805551, E-mail: mgf@zju.edu.cn