

真核 mRNA 转录终止机制

郭晓强* 王江雁 王仁杰

(中国人民解放军白求恩医学院生物化学教研室, 石家庄 050081)

摘要 真核 RNA 聚合酶 II 催化的 mRNA 转录是基因表达中一个重要阶段, 但是对它的终止过程却知之甚少。大量实验表明, 真核 mRNA 转录终止涉及到 RNA 聚合酶 II 最大亚基(Rpb1)C 末端结构域和多种转录终止相关因子以及两者之间的相互作用。这些结果初步勾画了真核 mRNA 转录终止的一般过程。

关键词 真核 mRNA; 转录终止; C 末端结构域; 转录终止相关因子

遗传信息的传递对于生命体起着至关重要的作用, 因此这个过程受到严格的调控。遗传信息从 DNA 传递给 RNA 的转录是第一个阶段, 转录一般被分为三个阶段, 起始、延伸和终止。转录由 RNA 聚合酶(RNA polymerase, RNAP)来催化完成, 真核生物中有三种 RNAP, 分别转录不同的 RNA, 其中 RNAPII 主要负责 mRNA 的转录。mRNA 是 RNA 中种类最多的, 在翻译时又作为模板, 因此 mRNA 转录是信息传递中的一个中心环节, 所以成为重点研究内容。

mRNA 的转录调节过程比较复杂, 受到多种因素的影响。在转录过程的三个阶段中, 对转录终止的理解最少, 但它在转录中也发挥着重要作用。终止滞后将破坏同一染色体上其他基因的表达, 而终止提前将产生缩短的缺陷 mRNA, 从而导致编码蛋白质的变异, 因此这个过程应该受到严格的调控^[1], 以保证遗传信息的正确传递。一系列研究表明真核 mRNA 转录的终止过程是由 RNAPII 和多种转录终止相关因子共同参与完成的。

1 C 末端结构域

RNAPII 是一个多亚基复合物, 其中最大亚基(Rpb1)在整个转录过程中的作用最为重要。Rpb1 的典型特征是含有一个独特的 C 末端结构域(carboxy-terminal domain, CTD), CTD 由多个串联的 7 个氨基酸(YSPTSPS)重复构成, 在最末端还含有 10 个其他氨基酸, 7 个氨基酸重复在所有真核生物中都高度保守, 而 10 个氨基酸的保守性较差, 仅在脊椎动物中保守^[2]。尽管 7 个氨基酸重复的保守性较强, 但不同物种在重复数目上却存在显著差异, 如

酵母中有 26~27 个重复, 线虫 34 个, 果蝇 43 个, 哺乳动物 52 个, 从这些数字可以看出, 随着基因组复杂性增加, 7 个氨基酸重复数目增多。

尽管物种越高级, 7 个氨基酸重复数目越多, 但事实上并非所有重复都是必需的, 不同 mRNA 转录终止需要不同数目的重复^[3]。由于较为低等的真核生物酵母含有 26~27 个重复, 研究发现最基本的需要也是 26 个^[4], 因此其他多余的重复可能还有特定的功能, 如在哺乳动物中前 25 个 7 个氨基酸重复对于 RNAPII 从 DNA 链上释放是必需的, 而其他部分的重复和最后 10 个氨基酸可能与阻止聚合酶的延长以促使转录减慢而最终停止有关^[5], 说明不同位置的重复序列在功能上存在差异^[6], 可能是为了适应更为复杂的真核系统转录的需要。

RNAPII 在转录过程中受到多种因素的调节在结构上具有较大的变化, 而它的调节位点主要就在 CTD 区。CTD 的 7 个氨基酸重复中含有两个丝氨酸残基 Ser2 和 Ser5, 它们是磷酸化修饰的位点。CTD 处的磷酸化对于 RNAPII 功能的发挥起着重要作用, 用激酶抑制剂处理可以阻断前体 mRNA 3' 末端的剪切和分离, 说明磷酸化的 CTD 是介导转录终止的活性形式^[7]。

CTD 磷酸化状态是由激酶和磷酸酶联合调节完成。酵母中催化 CTD 磷酸化的酶是 CTD 激酶 I(CTD kinase-I, CTDK-I)^[8], 它可以将 Ser2 或 Ser5 磷酸化, 甚至可以同时将两者磷酸化^[9], 但磷酸化的时期不同, Ser5 磷酸化主要发生在转录起始阶段, 而 Ser2 磷酸化主要在延长过程, 同时 Ser2 磷酸化是转

录终止时所必需的^[10]。在酵母中催化 CTD 去磷酸化的酶是 Ssu72^[11], 它可以专一性使磷酸化的 Ser5 去磷酸, Ssu72 突变可以造成 poly(A) 依赖的转录终止缺陷^[12], 因此可以认为在转录终止时, Ser2 磷酸化和 Ser5 去磷酸化是 CTD 发挥功能的基础。

RNAPII 活性受 CTD 磷酸化状态影响是由于磷酸化可以调节 CTD 的结构, 继而引起 RNAPII 活性改变^[13]。利用 CTD 和其他转录终止相关因子的共晶体结构表明^[14], CTD 结构具有较大的可塑性, 再加上磷酸化状态, 其结构形式可以达到 16 种之多^[15], 结构的多样性为不同 mRNA 在转录终止时与多种结构差别很大的蛋白质因子结合提供了基础。总之, CTD 这段结构域一方面参与了转录终止, 而另一方面为多种转录相关因子的结合提供了结构骨架^[16]。

2 转录终止相关因子

一系列研究已经表明以 CTD 结构为基础的 RNAPII 与多种转录终止相关因子共同参与了 mRNA 的终止过程^[10]。在酵母中发现了许多与转录终止相关的因子^[17], 如前体 mRNA 精确剪切需要的剪切因子 I (cleavage factor I, CFI)、剪切多腺苷酸化因子 (cleavage/polyadenylation factor, CPF) 和 poly(A) 结合蛋白 (poly(A) binding protein, Pab1) 等, 而 CFI 和 CPF 本身又是多因子复合物, CFI 含有 5 个亚基 (Rna14、Rna15、Pcf11、Clp1 和 Hrp1), CPF 含有 9 个亚基 (Cft1/Yhh1、Cft2/Ydh1、Brr5/Ysh1、Pta1、Pfs2、Yth1、Mpe1、Pap1 和 Fip1), 此外还可能还有其他因子参与, 因此 mRNA 转录终止过程是由多因子共同完成的, 至今已在许多高等真核生物中发现了与酵母同源的转录终止相关因子, 说明真核转录终止的基本过程应该类似^[18]。

这些真核转录终止相关因子对转录终止发挥着各自不同的功能, 如 3' 末端识别、剪切、多聚腺苷酸化等, 某些因子的缺陷则造成转录终止过程不同程度的障碍^[19]。研究表明转录终止相关因子是通过直接或间接与 CTD 相互作用实现的, 酵母双杂交证明 Rna15p 与 CTD 可以直接相互作用, 体外结合实验进一步确定 Pcf11p 是与磷酸化的 CTD 直接结合, 并且这种相互作用发生在正在进行转录的 RNAPII 磷酸化的 CTD 上^[20], 从而说明了 Pcf11p 的作用模式。Pcf11p 也是 CFI 中一种非常重要且进化上较为保守的多聚腺苷酸化依赖的 3' 末端加工因子, 本身也存在 CTD 相互作用结构域 (CTD-interacting domain,

CID), 因此通过和磷酸化的 CTD 相互作用而参与转录后加工^[21]。

在 CPF 中, Ydh1p/Cft2p 也可以和 CTD 直接相互作用, 同时还为其他转录相关因子与 CTD 的结合提供了一个结构平台, 因此参与了多种因子在新合成 mRNA 3' 末端剪切处的组装以共同完成转录终止的加工过程^[22]。Yhh1p/Cft1p (哺乳动物中的同源蛋白为 AAUAAA 结合蛋白 CPSF160) 是一种 RNA 结合蛋白, 可以特异性的识别 poly(A) 位点, 同时还与磷酸化的 CTD 结合, 说明它可能是将 poly(A) 信号传递给正在延长的 RNAPII 以终止转录的重要元件^[23]。Pti1p 是 CPF 中另外一个重要的终止相关因子, 它的突变可以影响 3' 剪切位点的选择, 因此推测是参与了 3' 末端的识别过程^[8]。

上面仅仅介绍了部分重要因子的功能, 而对于其他部分因子的具体功能还没有完全认识, 但可以确定的是多种转录终止相关因子参与了真核 mRNA 的转录终止, 通过直接或间接与前体 mRNA 特定序列和 RNAPII 的 CTD 相互作用而在 mRNA 转录终止的多个过程发挥着重要作用。

3 真核 mRNA 转录终止模式

真核 mRNA 在转录完读码框架后 RNAPII 并没有立刻停止, 而是继续延长一段距离, 如 β 珠蛋白会多延长 1400 多个核苷酸, 转录出“冗余” RNA, 最终在某个位置停止并从模板 DNA 上释放。在 mRNA 读码框架后的 3' 末端常有一段共同序列 AAUAAA, 在下游常会有很多的 GU 序列, 这些序列可以被转录终止相关因子特异性识别, 而将 mRNA 在 AAUAAA 后切断, 然后进行特异性修饰, 同时促使 RNAPII 和 DNA 解离而完成转录终止。目前关于 RNAPII 参与的真核 mRNA 转录终止有两种模式:

第一种模式为 poly(A) 信号指导的转录终止。前体 mRNA 被转录终止相关因子识别并在特异性位置剪切, 随后进行 3' 末端的多聚腺苷酸化, 从而产生 poly(A) 信号, 这个信号被特异性因子识别, 如上面提及的 Yhh1p/Cft1p 等并将信号传递给 CTD, 最终使 RNAPII 停顿并从 DNA 链释放而终止转录。

第二种模式为非 poly(A) 信号指导的转录终止。 β 珠蛋白的最新研究表明^[24], mRNA 剪切位点本身具有核酶特性, 可以自我催化剪切, 从而产生供其他因子修饰的 3' 末端和供核酸外切酶降解的未被修

饰的“冗余”5'末端,在酵母中由核酸外切酶 Rat1 来完成^[25],在人类由核酸外切酶 Xrn2 来实现^[26]。核酸外切酶 Rat1 或 Xrn2 的 RNA 降解速度比 RNAPII 的 RNA 合成速度快,因此会逐渐追上,当二者靠近时促使 RNAPII 终止转录。为了保证新合成的 mRNA 不被核酸外切酶降解,当前体 mRNA 在 3' 末端被剪切后,其 5' 末端迅速被加帽修饰,这个反应由 RNA 鸟苷酸转移酶 Cgt1 催化 5' 末端的鸟苷酸化完成^[14]。

4 展望

现在虽然对真核 mRNA 转录终止过程有了一定的理解,但是仍有许多问题未解决,如真核生物的染色体结构使转录本身比较复杂,转录终止过程相对原核而言也要复杂;上述两种模型是否适合所有的转录终止还需全面研究;真核生物许多 mRNA 的表达都受到外界因素调节,转录终止时间的快慢也影响 mRNA 的表达量,因此转录终止过程是否也受调节以影响 mRNA 生成等问题也待研究。传统观点认为 poly(A)位点剪切是转录终止所必需,但一系列研究发现,在果蝇和爪蟾中转录终止并不需要这个前提^[27],因此暗示着可能还有其他真核转录终止模式尚未发现。

鉴于真核生物本身特别是哺乳动物基因组的复杂性以及受多种因素调节的现实,所以真核 mRNA (最为多样和重要的一类 RNA)的转录终止过程其分子机制应该比较复杂,这个过程可能还与发育有着

一定的联系,因此对它的全面理解有利于对真核复杂性和真核生物发育调节过程有一个更为深入的认识。相信在已有知识和生命科学迅速发展的基础上,真核 mRNA 转录终止的详细机制将得到圆满的解决。

参考文献 (References)

- [1] Tollervey D. *Nature*, 2004, **432**: 456
- [2] Fong N *et al.* *EMBO J*, 2003, **22**: 4274
- [3] Rosonina E *et al.* *RNA*, 2004, **10**: 581
- [4] Ryan K *et al.* *Mol Cell Biol*, 2002, **22**: 1684
- [5] Park NJ *et al.* *Mol Cell Biol*, 2004, **24**: 4092
- [6] Fong N *et al.* *Genes Dev*, 2001, **15**: 1783
- [7] Bird G *et al.* *Mol Cell Biol*, 2004, **24**: 8963
- [8] Skaar DA *et al.* *Mol Cell*, 2002, **10**: 1429
- [9] Jones JC *et al.* *J Biol Chem*, 2004, **279**: 24957
- [10] Ahn SH *et al.* *Mol Cell*, 2004, **13**: 67
- [11] Krishnamurthy S *et al.* *Mol Cell*, 2004, **14**: 387
- [12] Steinmetz EJ *et al.* *Mol Cell Biol*, 2003, **23**: 6339
- [13] Oelgeschlager T. *J Cell Physiol*, 2002, **190**: 160
- [14] Fabrega C *et al.* *Mol Cell*, 2003, **11**: 1549
- [15] Buratowski S. *Nat Struct Biol*, 2003, **10**: 679
- [16] Palancade B *et al.* *Eur J Biochem*, 2003, **270**: 3859
- [17] Aranda A *et al.* *Mol Cell*, 2001, **7**: 1003
- [18] Edmonds M. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 2002, **71**: 285
- [19] Barilla D *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**: 445
- [20] Licatalosi DD *et al.* *Mol Cell*, 2002, **9**: 1101
- [21] Meinhart A *et al.* *Nature*, 2004, **430**: 223
- [22] Kyburz A *et al.* *Nucleic Acids Res*, 2003, **31**: 3936
- [23] Dichtl B *et al.* *EMBO J*, 2002, **21**: 4125
- [24] Teixeira A *et al.* *Nature*, 2004, **432**: 526
- [25] Kim M *et al.* *Nature*, 2004, **432**: 517
- [26] West S *et al.* *Nature*, 2004, **432**: 522
- [27] Osheim YN *et al.* *Chromosoma*, 2002, **111**: 1

Eukaryotic mRNA Transcriptional Termination Mechanism

Xiao-Qiang Guo*, Jiang-Yan Wang, Ren-Jie Wang

(Department of Biochemistry, Bethune Military Medical College, Shijiazhuang 050081, China)

Abstract Transcription of eukaryotic mRNA by RNA polymerase II (PolII) is an essential step in gene expression, but its termination is poorly understood. Many experiments showed that mRNA transcriptional termination was involved in the carboxy-terminal domain (CTD) of the largest subunit of RNA polymerase II, several transcriptional termination related factors and their interaction. These results roughly draw the general outline of eukaryotic mRNA transcriptional termination.

Key words eukaryotic mRNA; transcriptional termination; carboxy-terminal domain (CTD); transcriptional termination related factor