

SBP 转录因子的结构和功能

辛 婧

(上海交通大学生命科学技术学院 上海 200030)

摘要:SBP 是植物所特有的一类转录因子。SBP 家族成员在结构上有共同的特点:每个成员都含有由 76 个左右氨基酸组成的非常保守的 DNA 结合域(即 SBP 结合域)。含有 SBP 结合域的转录因子在植物中广泛存在,并且参与植物生长、发育的多个方面,比如花器官的形成等。在此,主要介绍了植物转录因子 SBP 家族的结构及其功能的研究进展。

关键词:DNA 结合域;SBP 家族;转录因子

中图分类号:S 188 **文献标识码:**A

The Structure and Function of SBP Transcription Factors

XIN Jing

(Shanghai Jiaotong University Life Science College, FSN Bio-technology Center, Shanghai 200030, China)

ABSTRACT: The SBP transcription factors are known to be unique in plants. The members of this family have a common feature in structure: all the members contain one or two highly conserved DNA binding domains (namely SBP domain), which consists of about 76 amino acids. The SBP transcription factors exist extensively in plants, and they involve in growth, development, for instance: floral organogenesis, and so on. In this review, we mainly introduce the progress in the study of the structure and function of the SBP transcription factors.

Key words: DNA-binding domains; SBP Family; Transcription Factors

前言

转录因子(Transcription Factors),又称反式作用因子,是指能够与真核基因启动子区域中顺式作用元件发生特异性相互作用的 DNA 结合蛋白,从而保证目的基因以特定的强度,在特定的时间与空间表达的蛋白质分子。它们通过彼此之间以及与其它相关蛋白之间的相互作用,激活或抑制转录起始,或者参与决定基因在何种组织与何种发育阶段开始转录,或者参与基因应答外界环境因素所诱导的转录等。典型的转录因子的功能域由 DNA 结合域(DNA-binding Domain)、转录调控域(Transcription Regulation Domain)、寡聚化位点(Oligomerizationsite)和核定位信号(Nuclear Localization Signal, NLS)四个功能域组成。转录因子通过这些功能区域与启动子顺式作用元件或其它转录因子的功能区域相互作用来调控基因的转录表达^[1]。

植物体内存在大量的转录因子,拟南芥(*Arabidopsis Thaliana*)仅含有 27000 个基因,其中就有 5.9% 的基因是编码转录因子的^[2]。根据其 DNA 结合域的特点可以把转录因子分成若干个家族,如 WRKY, AP2/EREBP, MYB, bZIP, HB, MADS, SBP 等。其中 SBP 转录因子家族是植物所特有的一类转录因子,目前在拟南芥中该家族已发现有 16 个成员。近年来已从几种植物中发现并分离出来,如:拟南芥,玉米,大豆,水稻等。最近笔者又从棉花中分离出 SBP 类转录因子。这种转录因子在植物的生长发育等生理反应中发挥着重要作用。

1 SBP 家族的结构

作者简介:辛婧,(1983-),女,硕士,主要研究方向:棉花纤维发育相关的转录因子,E-mail:xinjing1983@gmail.com
(收稿日期:2006-07-10 接受日期:2006-08-30)

1.1 DNA 结合域

DNA 结合域是指转录因子识别顺式作用元件并与之结合的一段氨基酸序列。相同类型转录因子的 DNA 结合域的氨基酸序列较为保守,所以这段氨基酸序列决定了转录因子的特异性。SBP 转录因子首先是在金鱼草中识别并结合 MADS-box 基因 SQUAMOSA(SQUA)启动子的一个体外实验中被发现而得到确认的,所以叫做 SQUA 启动子结合蛋白。SBP 蛋白虽然在一级结构上很多样化,但是他们都有一个高度保守的 DNA 结合域(SBP-DBD),这些 DNA 结合域一般是由 76 个氨基酸残基组成,普遍认为是 CX4CX13HX5HX15CQQCX3HX11C(富含 Cys 和 His 残基,其中有 10 个左右的保守的 Cys 或 His 残基共同构成了“锌-结合”^[3]。在已知的锌-结合中,最普遍也是最早被发现的就是锌指结构:Cys2His2 zinc finger。这在 Zn²⁺结合蛋白的三级结构中最为普遍,例如:最经典的锌指结构有一个 $\beta\beta\alpha$ 折叠,而“zinc ribbon”和“zinc bundle”分别为 $\beta\beta\beta$ 和 $\alpha\alpha\alpha$ 。大部分的锌结合区是由 4 个 Cys 或 His 侧链组成的四面体来固定住一个 Zn²⁺^[4]。

SBP-DBD 的结合域具有相同的二级结构元件,即:C-端有一或两个短螺旋和 N-端有三个反向平行的 β -折叠,然后这些二级结构元件以类似的方式结合在一起,每两个二级结构元件中心的距离为 1.86Å^[5]。所以推测 SBP-DBD 的结构域中包含两个亚结构域,每一个亚结构域包含一个锌-结合口袋,由与锌离子结合所需要的键所固定。这两个亚结构域通过互相作用的疏水残基而紧密的堆积起来。因为这些疏水残基在 SBP-DBD 中高度保守,所以这两个亚结构域的结合才有可能维持 SBP-DBD 这个结构,所以 SBP-DBD 基本为一个单独的结构域(图 1)。



图 1. SPL8 的结合域的三级结构(棉花转录因子 AY779340)

Picture.1 The tertiary structure of SPL8-DBD

(The transcription factor of GOSSYPIUM BARBADENSE)

SBP 转录因子的 DBD 区基本都具有相同的结构特点,即:都含有两个锌-结合位点;这两个锌-结合位点都含有由 8 个 His 或 Cys 残基组成的 Cys3HisCys-HisCys 或 Cys6HisCys 序列模型;在这个模型中,前四个 Cys 或 His 残基与一个 Zn^{2+} 结合(N-端包含在内),后四个残基与另一个结合(C-端包含在内);Cys3HisCys2HisCys 或 Cys6HisCys 的 SBP 的结合模式是不交叉的。此外,一些其它类型的锌-结合,比如 RING 指, FYVE 指, PHD 指, DnaJ 半胱氨酸富裕区, 和 GCM 区也皆有二个锌-结合域,每一个锌-结合域中由 8 个锌-结合残基。虽然 RING 指, FYVE 指, PHD 指的一级结构的结合基序不同,但是它们的锌-结合域的二级结构相似,比如:RING 的 Cys3HisCys4、FYVE 的 Cys5HisCys2 (或 Cys8)和 PHD 的 Cys4HisCys3 都为交叉结合模式,其中第 1、2、5、6 个 Cys 或 His 残基与一个 Zn^{2+} 结合,而第 3、4、7、8 个残基与另一个 Zn^{2+} 结合。DnaJ 半胱氨酸富裕区有一个 Cys8 序列基序而 GCM 区有一个 Cys6His2 基序,这两种为其它的交叉结合模式,即一个锌-结合区包含了另一个。

1.2 其他结构域

蛋白质的表达、翻译是在细胞核外进行的,而转录是在核内完成的,因此转录因子在核外翻译、包装后,需要在核定位信号的介导下定位到核内,进行转录调控。经过对部分 SBP 蛋白氨基酸序列的分析发现,SBP-DBD 区的 C 端(即第二个锌-结合区)包含有一个核定位信号,调控转录因子进入细胞核。由于 SBP-DBD 一部分与其核定位区重叠,而且专一识别并结合 GTAC 核模序(motif),所以 SBP 家族的转录因子不但能正确地与目标 DNA 结合,还能在核定位化信号的帮助下进入核区。

2 DNA 结合机制

Kazuhiko Yamasaki 等 2006 年用加整合试剂, EDTA 等方法发现不能使 Arabidopsis SPL12 的 DNA 结合能力减弱,而 SPL12-trSBP 由于 C 端结合区缺少 Cys64 不能构成锌结合口袋只结合了一个 Zn^{2+} ,证明第一个 Zn^{2+} 的作用是维持三级结构的稳定性,第二个是引导 C-端 loop 环正确进入 DNA 大沟,进行 DNA 结合^[9]。

SBP-DBD 与特殊序列的 DNA 结合,日前普遍认为这个目的基因的启动子的序列为 TNCGTACAA, N 为任何碱基^[6]。蛋白表面与 DNA 结合的区域带正电荷,而 DNA 带负电荷。在

SPL-DBD 结合区的表面有一个很大的连续的正电区,这个区域包含所有保守的基本碱基,这个区域很有可能包含在 DNA 结合域中。带正电荷的 Arg, Lys 的侧链不但可以通过形成氢键来进行碱基识别,而且保守的 Arg/Lys 残基 α -螺旋的 N 端附近的残基表面突出的侧链和大部分 DBD 区域可以通过 α -螺旋来识别 DNA 碱基。

在 SPL-DBD 的 C-端区域中也发现了有螺旋特性的存在。因为存在于此区的 His 与 Asp 为典型的碱基识别残基,所以存在这样的可能性,即至少 C-端区域的一部分形成了 DNA 复合物的一个螺旋,并且 C-端与 N-端区螺旋的残基一起形成序列的特殊性。

SPL-DBD 的正电荷区从 N-端延伸到 C-端,表面呈鞍形。N-C 方向的表面有一凹槽,平行于双链 DNA 的大沟,而大沟表面呈螺旋状延伸的凸起垂直于凹槽。SPL-DBD 的正电区完全与 DNA 的大沟互补。此外, C-端区的灵活性使结合区延长,从而紧密结合。这个蛋白覆盖了大约 96bp 的一个区域,与已知的序列 TNCGTACAA 吻合。此外这个模型还显示了 N 端螺旋与大沟中作为识别螺旋的一些碱基的侧链的一部分 C 端区域,在大沟中去结合模型中的碱基。氨基酸侧链与碱基的进一步配合才能确保目标序列的专一性。

3 SBP 家族的功能

SBP 是较晚发现的转录因子家族,其功能的研究一直不完善。首先从与金鱼草中分离出的 SBP 蛋白 SPL1, SPL2 在体外能识别金鱼草的 SQUAMOSA(SQUA)的启动子和拟南芥的 APETALA1 (API)的启动子,据此推测拟南芥 SQUAMOSA 的同源体 API 在体外可被 SPL3 蛋白识别^[7],结果 SPL3 在进行基因改造的拟南芥中的过量表达可以引起开花提前。

玉米中的 LIGULELESS1 (LG1)是最能体现 SBP- α 基因突变体表型。lg1 突变使叶片在发育中缺少外廓和舌叶。Ulrike S. Unte 等建立拟南芥的转座子突变群寻找 SBP- α 基因的插入片段,得到并成功分离出 3 个与转座子插入片段等位的 SPL8 基因,而敲除 SPL8 基因的拟南芥和这些突变体都会有影响大小孢子发生,苞片的表皮毛形成,雄性花蕊丝的延长的情况发生,从而得知 SPL8 与 LG1 的功能最为相似^[7]。

SPL14 是一个有 1035 个氨基酸的较大的 SBP 家族成员, Julie M. Stone 等在 fbr6(fumonisin B1-resistant)突变体在 PCD(programmed cell death)过程中存活并诱导产生 FB1 生物毒素,且在 FB1 的存在下产生叶柄伸长,叶边锯齿增大的现象,造成这表型的原因是由于一个 SBP α 基因 SPL14 的 T-DNA 的插入造成的,从而得知 SPL14 与 FBR6 的功能相似,都对植物的病原体应答(真菌毒素 B1)敏感和对植物的形态结构尤其是叶片的形态的生长发育有影响^[8]。

所以推断拟南芥的 16 个亚家族中较大的 SPLs 与拟南芥的组成性表达有关,其余较小的 SPLs 则与拟南芥花的生长有关。而拟南芥基因组序列的不断得出及其余 SPL 基因结构的研究会为我们进一步研究植物基因家族的起源与进化提供条件。此外我们对 SBP 家族的功能还知之甚少,而 SPL8 突变株的成功分离并获得的方法为我们研究 SBP 家族中其他成员的功能带来了希望。

4 展望

Kropat J.^[9] 等在 2005 年提出了一个用包含 SBP 区的 *Chlamydomonas* 的铜应答调节子(CRR1)进行转录激活的“铜应答干扰机制”模型。这个模型包含一个 SBP 区,用 Cu^{2+} 代替 Zn^{2+} 进行结合,引起三级结构巨变并使与 Zn^{2+} 结合的 1-2 个残基形成的口袋不能正确将 C 端的 loop- 环引入 DNA 大沟,从而失去 DNA 结合活力。鉴于拟南芥与 *Chlamydomonas* 的 SBP 区相似,所以在以后离子交换机制在环境胁迫应答中的作用会被证实。

最近 SPL 基因受到普遍关注,是因为较小的 10 个 SPL 家族成员中除了 SPL8 都包含一个唯一的对 miRNA156 和 miRNA157 的 miRNA 目标位点,可以进行与早期开花有关的上游调控同步的下游调控。最近在构建的 MIR156 过量表达的转基因植物中得到证实^[10]。由于 DNA 结合区和核定位区的机构和功能上的重叠,它们都可以被靠近 NLS 区的相同的保守的氨基酸残基调节,所以除了通过启动子调节转录和通过 miRNA 调控转录因子,翻译后水平的调节有待于实现。

参考文献

- [1] 李洁.植物转录因子与基因调控[J].生物学通报,2004,39(3):9-11
- [2] 韩志萍,安利佳,侯和胜.AP2/EREBP 转录因子的结构与功能[J].中国农学通报,2006,22(2): 33-38
- [3] Birkenbihl R P, Jach G, Saedler H, Huijser P, et al. Functional dissec-

tion of the plant-specific SBP-domain: overlap of the DNA-binding and nuclear localization domains[J]. J Mol Biol, 2005,352:585-596

- [4] Kazuhiko Yamasaki, Takanori Kigawa. A novel zinc-binding motif revealed by solution structures of DNA-binding domains of Arabidopsis SBP-family transcription factors [J]. J Mol Biol, 2004,337: 49-63
- [5] Kazuhiko Yamasakia,b, Takanori Kigawab. An Arabidopsis SBP-domain fragment with a disrupted C-terminal zinc-binding site retains its tertiary structure[J]. FEBS Letters, 2006,580:2109-2116
- [6] Cardon G, Hohmann S, Klein J, et al. Molecular characterisation of the Arabidopsis SBP-box genes[J]. Gene, 1999,237(1):91-104
- [7] Unte, U S, Sorensen A M., Pesaresi P et al. SPL8 an SBP-box gene that affects pollen sac development in Arabidopsis[J]. Plant Cell, 2003,15: 1009-1019
- [8] Stone J M, Liang, X L, Neel E R, et al. Arabidopsis At SPL14, a plant-specific SBP-domain transcription factor, participates in plant development and sensitivity to fumonisin B1 [J]. Plant J, 2005,41: 744-754
- [9] Kropat, J, Totty S, Birkenbihl R P. A regulator of nutritional copper signalling in *Chlamydomonas* is an SBP domain protein that recognizes the GTAC core of copper response element [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006,102:18730-18735
- [10] Schwab R, Palatnik J F, Riester M, et al. Specific effects of microRNAs on the plant transcriptome[J]. De Cell, 2005,8:517-527

周万松(上接第 139 页)

失、硬结吸收,相应睑结膜消失。有人^[18]报道,应用旋磁治疗法治 177 例患者,168 例有效,其中痊愈 106 例,他们也应用旋磁法治面部硬结及外伤后硬结,20 例均有效,其中痊愈 7 例,占 35%,显效 9 例,占 45%,痊愈及显效率占 80%。有人^[19]应用旋磁法治软组织损伤 103 例,收到了较好的效果,治愈 61 例,占 59.2%,时转 41 例,占 39.8%,无效 1 例,占 1%。应用磁疗法对肩关节周围炎,网球肘,注射后硬结,腹泻、肠炎等疾病也有较好的效果。进行磁疗时,一般每次治疗时间 10-15 分钟,每日治疗一次,10-15 分为一个疗程。

3 结论

旋磁机与电磁疗机等动磁器械,是进行磁疗的重要工具,是磁疗器械的重要组成部分,在磁疗的应用与发展中,发挥了积极作用;对多种疾病的治疗,取得了良好的效果。动磁器械,尤其是电磁器械,发生治疗作用的时间较快。电磁器械在使用中,接受治疗者有舒适的温热感,易于接受此种治疗。温热感也可引起体内的一些生物学效应,加强了磁场的治疗作用。随着医疗保健事业的不断进步,动磁器械的临床应用有着良好的发展前景。

参考文献

- [1] 周万松. 永磁磁疗器械的应用进展 [J]. 磁性材料及器件,2001,3: 34-36
- [2] 李燕平,肖良文.软组织损伤 298 例疗效分析[J].生物磁学,1993, (3-4):43-44
- [3] 杨瑞,刘巧玲.交变磁场治疗急性软组织扭挫伤 426 例[J].生物磁学,1993,(3-4):37
- [4] 尹绍富,杜桂兰.交变电磁场对扭挫临床治疗观察 [J].生物磁学,

1991,(3-4):67-68

- [5] 卓青山. 磁场治疗肩周炎的临床观察 [J]. 生物磁学,1993,(3-4): 47-48
- [6] 周燕杰,秦中兴.磁场疗法治疗跟也痛症[J].生物磁学,1993,(3-4): 49-50
- [7] 王晓丽. 交变磁场治疗颈肩背腰腿痛 310 例 [J]. 生物磁学,1999, (3-4):55-56
- [8] 钟庆英,侯湘.低频交变电磁场治疗支气管炎 88 例[J].生物磁学, 2000,(3):40-44
- [9] 李振水. 交变电磁场对卵巢囊肿的治疗作用 [J]. 生物磁学,1993, (3-4):65-66
- [10] 李云斌,周瑾芬.超低频脉冲电磁治疗臀部注射后硬结的临床观察[J]. 生物磁学,1991,(3-4):71-72
- [11] 王春艳,岳秀兰.低频脉冲电热磁疗法的临床应用[J].生物磁学, 1993,(3-4):61-62
- [12] 常汉英.脉冲电磁法治盆腔阴道血肿 34 例[J].生物磁学,2000, (2):29
- [13] 苏晓光,胡秀云,杨玉明.骨折磁疗愈合仪治疗[J].生物磁学,2001, (1):35
- [14] 华桂如,郭瑞芬,殷凤华.By-1 型脉冲磁疗仪临床应用及机量探讨[J]. 生物磁学,1991,(3-4):86-88
- [15] 张继荣,张文禹.旋磁法治血肿 45 例[J].生物磁学,1993,(3-4): 45-46
- [16] 肖红雨.旋磁法治皮下水肿疗效观察[J].生物磁学,2001,(1):28
- [17] 常汉英,李桂兰.磁场疗法治疗麦粒肿 76 例[J].生物磁学,1997, (2):27-28
- [18] 于玲娜,田立健. 磁场治疗瘢痕机理探讨 [J]. 生物磁学,1993, (3-4):50-51
- [19] 朱丽莎.旋磁治疗面部硬结 20 例[J].生物磁学,1998,(4):29