

转录辅调节因子在剪接过程中的作用 *

张园园 肖利云 伍会健[△]

(大连理工大学生命科学与技术学院 辽宁 大连 116024)

摘要 细胞通过基因表达调控来应对外界刺激,其中对基因转录起始和 pre-mRNA 剪接的调控是基因表达调控的重要环节。越来越多的实验显示基因转录和 pre-mRNA 剪接这两个过程在时空上密切相关。基因转录能调节剪接模式的选择性,反之剪接过程也影响基因转录。近年来研究发现转录辅调节因子在联系转录和剪接过程中扮演着重要角色。转录辅调节因子对基因表达的调控不仅在于影响转录产物的量,还可以调控 pre-mRNA 的选择性剪接并产生不同的剪接体,从而翻译出具有不同生物学功能的蛋白质。本文主要阐述了基因转录与剪接之间的关系以及它们之间相互作用的机制,有利于更深入理解基因表达调控的过程。

关键词 基因转录起始 转录辅调节因子 pre-mRNA 剪接

中图分类号:Q75 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)07-1374-04

Transcription Coregulators Moonlight as Splicing Factor*

ZHANG Yuan-yuan, XIAO Li-yun, WU Hui-jian[△]

(Dalian University of Technology, School of Life Science and Biotechnology, Dalian, 116024, China)

ABSTRACT: The regulation of gene expression is respond to the extra stimuli signals in mammalian cells. Mostly, both gene transcription and pre-mRNA splicing are the sticking regulation steps during gene expression. Increasing evidences showed that gene transcription and pre-mRNA splicing are highly related with each other in both space and time. Gene transcription could affect pre-mRNA splicing and inversely it is also regulated by pre-mRNA splicing factors. Recently, it is found that transcription coregulators play important roles in the processes of gene expressing regulation and pre-mRNA splicing. Moreover, transcription coregulators not only modulate the amount of transcripts but also influence the function of target protein which is coded by the splicing mature mRNA achieved from the alternative splicing that is regulated by the coregulators during the gene expression regulation. In this review, we mainly demonstrated the relationship between gene transcription and pre-mRNA splicing and concluded the molecular mechanism of their interactions, which would help us to deeply understand the process of gene expression regulation.

Key words: Gene transcription initiation; Transcriptional coregulator; Pre-mRNA splicing

Chinese Library Classification(CLC): Q75 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)07-1374-04

前言

生物体新陈代谢、炎症反应、以及细胞的生长等过程都需要生物体以时间和空间协调的方式来调节数百个基因的表达。细胞内不同的信号通路通过活化不同的转录因子来介导多种基因的表达,研究发现,一些转录辅调节因子能被不同的转录因子所募集并参与不同信号通路的调控过程,因而推测转录辅调节因子在协调这些信号通路中可能发挥重要作用^[1]。

转录因子通过与 DNA 结合调控基因转录,而转录辅调节因子本身不具有特异的 DNA 序列的结合力,但能通过与转录因子相互作用来调控靶基因转录。转录辅调节因子根据其转录活性可将其分为 转录辅激活因子、转录辅抑制因子^[2]。转录辅调节因子调节基因转录的机理主要包含以下三个方面:首先,转录辅调节因子具有的酶活性(甲基化,乙酰化,泛素化,

SUMO 化,磷酸化等)决定了它在转录调节过程中的激活或抑制作用,被募集到转录起始复合物中的转录辅调节因子通过介导复合物中转录因子或其它辅调节因子的翻译后修饰来激活或抑制基因转录^[3-4];其次,辅调节因子可以通过染色质重塑的方式来调节基因转录。例如,一些转录辅调节因子对组蛋白尾巴或者是核小体修饰后能导致染色质构象由紧密变成松散的状态,进一步促进了转录起始复合物与目的基因启动子的结合从而激活了基因的转录;第三,一些转录辅调节因子通过调节转录起始复合物在基因启动子上的组装过程来调节基因的转录^[5]。

细胞通过基因表达调控来应对外界刺激,其中对基因转录起始和 pre-mRNA 剪接的调控是基因表达调控的重要环节。尽管,转录辅调节因子在基因转录起始过程中起着非常重要的作用,但是,越来越多的实验数据显示转录辅调节因子不仅调节

* 基金项目 辽宁省高等学校优秀人才支持计划(LR201007)、高等学校博士学科点专项科研基金(20100041110023);

中央高校基本科研业务费专项资金(DUT10ZD113)资助课题

作者简介 张园园(1987-)女,硕士研究生,基因表达调控,E-mail: yuanzhang@mail.dlut.edu.cn;

肖利云(1983-)女,博士研究生,基因表达调控,E-mail: xiaoliyun@mail.dlut.edu.cn

[△]通讯作者 伍会健,E-mail: wuhj@dlut.edu.cn

(收稿日期 2011-08-08 接受日期 2011-08-31)

基因转录的起始过程,还参与 pre-mRNA 的剪接过程。转录辅调节因子的多样性及其功能的复杂性使得 pre-mRNA 选择性剪接机制更加错综复杂。转录辅调节因子除了调节基因转录和 pre-mRNA 剪接外,位于细胞质中的转录辅调节因子还能调控 mRNA 的翻译过程。这些结果表明转录辅调节因子在基因表达过程中扮演着多重角色。

1 基因的转录起始与剪接在时空上的一致性

在高等生物中,基因表达是一个非常复杂的过程,主要包括基因转录的起始、延伸、终止,pre-mRNA 剪接、修饰,成熟 mRNA 的核质运输及翻译等过程^[6]。在高等生物的基因组中,绝大多数的基因都是断裂基因,编码蛋白的基因被不具有编码功能的内含子分割开,所以转录出来的 pre-mRNA 需要将内含子切除掉,并将具有编码功能的外显子连接为成熟的 mRNA,这个过程被称为 pre-mRNA 剪接 (pre-mRNA splicing)。pre-mRNA 剪接是通过剪接体 (spliceosome) 催化两次转酯反应来完成。剪接体是一个复杂的多蛋白复合体,主要由 U1、U2、U4/U6 和 U5 等小核糖核蛋白 (snRNP) 以及一些剪接因子组成。剪接体介导的剪接过程可以分为两个阶段:首先是剪接体与 pre-mRNA 上共有序列的识别以及剪接复合体的组装,然后是断裂和连接反应从而将 pre-mRNA 剪接为成熟的 mRNA。

产生成熟 mRNA 的各个步骤是紧密联系并且相互影响的。pre-mRNA 的剪接过程并不是发生在转录后,而是与转录过程同时进行的^[7]。早在 1988 年, Bayer 和 Osheim 等人通过电镜观察果蝇胚胎基因初始转录物的剪接过程后发现剪接反应是伴随着转录发生的,这直接证明了剪接过程与转录过程在时间上的一致性。这种时间上的一致性导致了转录复合物和剪接体在空间上的可接近性,因此使得转录复合物中调节因子可以有有效的调控剪接过程,同时也为剪接因子参与基因转录的过程提供了空间上的基础。

2 转录辅调节因子参与 pre-mRNA 的选择性剪接

pre-mRNA 的选择剪接是蛋白质多样性的一个重要来源,而且 pre-mRNA 的选择性剪接与剪接位点密切相关。剪接位点是 pre-mRNA 上的一段保守的核苷酸序列,依据其被剪接因子识别能力的强弱分为强剪接位点和弱剪接位点两类。强剪接位点容易被识别并且与剪接体作用时间较短,弱剪接位点需要其他一些蛋白因子辅助识别且与剪接体作用时间较长^[8]。在基因转录的延伸过程中,pre-mRNA 上的弱剪接位点被剪接体选择性地识别、剪接,从而产生了外显子的多种排列组合,即产生不同的选择性剪接体,进而编码出具有不同的蛋白质。在不同的细胞、组织以及生物体发育的不同阶段,同一基因可以通过选择性剪接产生不同的 mRNA 从而编码出具有不同生物功能的蛋白质。

现在研究发现转录辅调节因子除了能调控基因的转录水平外,还能调控 pre-mRNA 的选择剪接。对转录辅调节因子的氨基酸序列分析后发现有些辅调节因子除了含有典型的核受体相互作用基序 LXXLL 或 FXXLF 外,还含有一段可以与 RNA 相互作用的基序,如 KH(K-homology motif)区域、RRM(RNA recognize motif)区域、或者是 RGG box(Arg-Gly-Gly re-

peats)。这三类 RNA 作用基序是剪接因子的典型特征,这就暗示这些辅调节因子可能与 pre-mRNA 剪接相关。

以 Sam68(Src-associated in mitosis 68)为例来阐述转录辅调节因子对 pre-mRNA 选择性剪接的调控。Sam68 是转录辅抑制因子,含有与 RNA 相互作用的 KH 基序。Sam68 作为一个转录辅抑制因子能够通过与其它转录激活因子竞争性结合 CBP/P300 而抑制靶基因的转录^[9]。Nathalie Matter 等人研究发现 T 淋巴细胞在 PMA(phorbol muristate acetate)的刺激下能改变了内源的 CD44 基因的选择性剪接方式,促进 CD44 基因可变外显子 V5 的包含剪接,并且 PMA 对选择性剪接的调控依赖于蛋白激酶 ERK 对 Sam68 的磷酸化修饰。另外,降低细胞内 Sam68 的表达水平或者将 Sam68 的 ERK 磷酸化位点突变均会抑制 PMA 诱导的 CD44 基因的 V5 外显子的包含剪接。以上的研究为转录辅因子参与了 pre-mRNA 的选择性剪接过程提供了直接的证据。在此基础上 Eric Batsche 等人对转录辅抑制因子 Sam68 调控剪接过程的机理进行了进一步的研究,结果发现细胞在 PMA 的刺激下,SWI/SNF 复合体的 Brm 亚基可以结合到 RNA Pol II 上,并随着转录延伸方向向前移动。SWI/SNF 复合体通过影响 RNA Pol II CTD 的磷酸化状态来影响基因转录的延伸速率,与此同时 Brm 可以与磷酸化的 Sam68 相互作用并进一步促进了剪接体的募集,从而使得初始转录物上的弱剪接位点能被剪接体识别并剪接产生可变外显子的包含剪接体^[9-10]。这些研究结果表明 Sam68 在细胞内具有双重功能,一方面位于转录复合物中的 Sam68 能作为辅抑制因子抑制基因的转录,而另外一方面位于剪接体中的 Sam68 作为剪接因子参与了选择性剪接的过程,并且这种调控作用依赖于 Sam68 的磷酸化修饰。

转录辅调节因子除了可以作为剪接体的组分来调节选择性剪接的过程外,还可以通过介导剪接因子的翻译后修饰的途径来调节 pre-mRNA 的选择性剪接过程。例如, CARM1 对选择性剪接的调控作用是由其甲基转移酶活性介导的。CARM1 (coactivator-associated arginine methyltransferase) 是一个具有精氨酸甲基转移酶活性的辅调节因子,对不同蛋白因子的甲基化能产生不同的生物效应^[11]。在转录起始复合物中, CARM1 是一个具有双重功能的蛋白, CARM1 对 H3R17 和 H3R26 的甲基化后能够促进染色质重塑复合物与靶基因的结合,从而激活基因的转录,另外一方面,转录起始完成后 CARM1 通过对复合物中其他辅调节因子如 CBP/P300 或 SRC-3 等的甲基化来介导转录复合物的解聚^[11]。由于转录辅调节因子并不是稳定地与靶基因的启动子结合,而是以一种节律性的募集方式,因此, CARM1 介导转录复合物的解聚可能促进了辅调节因子进入下一个转录周期的转录复合物的募集,从而实现对基因转录的周期性调节^[12]。Donghang Cheng 等人通过对 CARM1 的甲基化底物分析后发现 CARM1 除了能够甲基化转录辅调节因子和组蛋白外,还能对一些剪接因子进行甲基化修饰,如 SmB、SAP49、U1C 和 CA150 等。在 MEF 和 HEK293 细胞中 CARM1 能够促进 CD44 基因外显子的跳跃性剪接,并且这种调节作用依赖于 CARM1 的甲基转移酶活性。另外,将底物 CA150 的甲基化区域敲除后能够抑制 CARM1 对选择剪接过程的调控,这

表明 CARM1 通过对剪接因子的甲基化途径来调控 pre-mRNA 的剪接过程^[11]。

在转录复合物中,不仅转录辅调节因子可以通过募集剪接因子或调节剪接因子的翻译后修饰途径来调节 pre-mRNA 的选择性剪接,而且一些转录因子也参与了 pre-mRNA 的选择剪接过程。Yoshikazu Masuhiro 等人的研究发现核受体 ERα 能促进 CD44 基因的可变外显子的跳跃性剪接^[13]。ERα 与 U2 snRNP 复合物中的 SF3a120 剪接因子直接相互作用,并促进剪接体的组装,从而调控 ERα 靶基因的选择性剪接。在乳腺癌细胞 MCF-7 中转录因子 BARX2 (Homeobox Protein BarH-like 2)调控 ESR1(ERα)选择剪接。ESR1(ERα)通过选择性剪接的方式产生 ESR1-46 和 ESR1-66 两种剪接体,其中 ESR1-46 是全长的 ESR1-66 的缺失体,与 ESR1-66 竞争性结合转录辅调节因子来拮抗 ESR1-66 的转录活性。TA Stevens 和他的同事研究发现过表达 BARX2 虽然可以提高两种 ESR1 亚型蛋白质的表达水平,但是对 ESR1-66 的增强作用要显著高于 ESR1-46,即表现为 ESR1-66/ESR1-46 水平升高^[14]。

3 基因转录调控选择性剪接的作用机制

转录过程与剪接过程在时间和空间上的一致性为基因转录调控 pre-mRNA 剪接过程提供了前提条件,另外, RNA Pol II 和转录因子作为一个“连接桥梁”为转录调控剪接过程提供了一个分子基础。转录辅调节因子可以通过染色质重塑、转录因子的翻译后修饰、或者是对 RNA Pol II CTD 磷酸化途径来调控 RNA Pol II 的转录延伸速率,进而可能调控了 pre-mRNA 的选择性剪接过程。哺乳动物的 RNA Pol II CTD 结构域含有 52 个 YS2(P)TS5(P)S 串,其中 S2 和 S5 能被激酶磷酸化。在转录起始过程中, RNA Pol II 的 S5 首先被磷酸化,随后 S2 被磷酸化并促使了 RNA Pol II 向前移动。在此过程中一些具有激酶活性的辅调节因子可以通过磷酸化 RNA Pol II CTD 的不同位点来调节其转录延伸速率^[15]。转录过程中,基因启动子的选择以及 RNA Pol II CTD 募集的不同蛋白因子均会影响基因的转录延伸速率,而基因转录延伸速率的改变又会直接影响到剪接因子对 pre-mRNA 上的强和弱剪接位点的识别及结合过程,从而调节了目的基因的选择性剪接过程(图 1)^[7]。

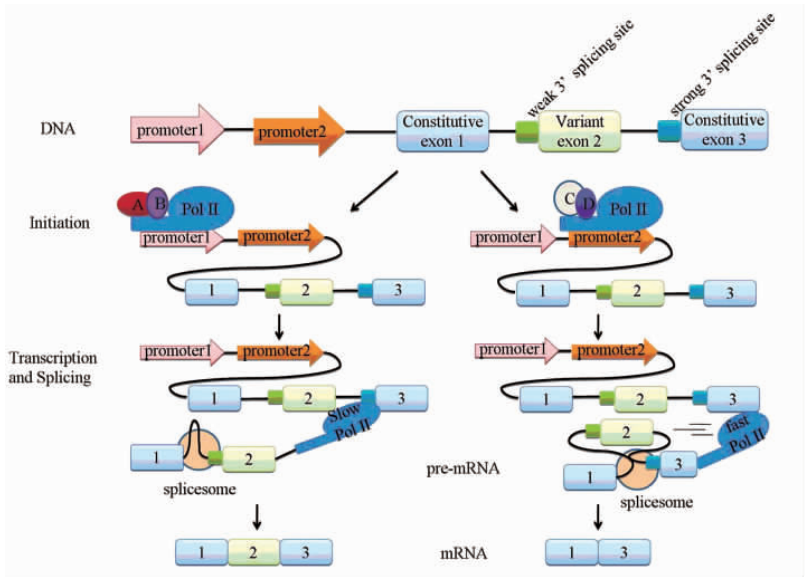


图 1 启动子的选择以及 RNA 聚合酶 II 上募集的不同蛋白因子影响 RNA 聚合酶 II 转录延伸速率,进而影响了剪接因子 pre-mRNA 的选择剪接
Fig.1 The choice of promoter and transcription factors influence on the pre-mRNA splicing by regulating the RNA polymerase II elongation rate

另外一方面,由于转录复合体和剪接体在时空上的一致性为具有酶活性的转录辅调节因子介导剪接因子的翻译后修饰提供可能性,所以,转录辅调节因子可以通过介导剪接因子的翻译后修饰途径来影响剪接因子的募集过程并影响了初始转录物附近的剪接因子的含量,进而调控了 pre-mRNA 的选择性剪接过程。值得注意的是,也有一些转录辅调节因子可以直接结合到 RNA Pol II CTD 上并作为剪接体中的一个组分参与 pre-mRNA 的选择性剪接过程。例如转录辅调节因子 CA150 除了能与 RNA Pol II 相互作用调控基因转录延伸效率,而且还可以作为一个剪接因子参与调控 pre-mRNA 的选择性剪接过程^[16]。综上所述,转录辅调节因子和 RNA Pol II 可视为连接转录和剪接的桥梁蛋白,在 pre-mRNA 的选择性剪接调控过程中发挥重要的作用。

4 问题和展望

由于在基因转录过程中伴随着 pre-mRNA 的剪接,因此这两个过程是密切联系并相互影响的。转录辅调节因子除了调控基因的转录起始过程,还可以通过改变 RNA Pol II 的转录延伸速率或者介导剪接因子的翻译后修饰途径来调控 pre-mRNA 的选择性剪接过程。目前已经发现二十多种转录辅调节因子参与了 pre-mRNA 的选择性剪接过程。在正常情况下,生物体内的选择性剪接过程受到严格的调控,但是,异常的选择性剪接通常会导致一些疾病的发生,特别是肿瘤的发生和发展,因此研究 pre-mRNA 选择性剪接调控的分子机制具有非常重要的意义。由于在不同的组织、细胞以及生物体发育的不同阶段,体内转录辅调节因子的水平和类型都存在着显著的差异,并且同一个基因上的不同启动子所招募的转录辅调节因子也不完全一致,因而这为实时研究转录辅调节因子在基因的 pre-mRNA 剪接中的分子作用机制增加了难度。基于转录辅调节因子在

pre-mRNA 的选择性剪接过程中扮演的重要角色,因此,研究转录辅调节因子对选择性剪接调控的分子机制有可能为异常的选择性剪接导致的癌症的治疗提供新的靶点。

参考文献(References)

- [1] O'Malley BW. Molecular biology, Little molecules with big goals [J]. Science, 2006, 313(5794): 1749-1750
- [2] O'Malley BW. Coregulators: From whence came these "Master genes" [J]. Mol Endocrinol, 2007, 21(5):1009-1013
- [3] 程智涛, 过倩萍, 伍会健. 组蛋白精氨酸甲基化修饰对基因转录的调控 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2008, 35(11): 1225-1230
Cheng Zhi-kui, Guo Qian-ping, Wu Hui-jian. The regulation of histone arginine methylation in gene transcription [J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2008, 35(11): 1225-1230
- [4] Hong Y, Xing X, Li S, et al. SUMOylation of DEC1 Protein Regulates Its Transcriptional Activity and Enhances Its Stability [J]. 2011, PLoS ONE, 6(8): e23046
- [5] Bulynko YA, O'Malley BW. Nuclear receptor coactivators: Structural and functional biochemistry [J]. Biochemistry, 2011, 50(3): 313-328
- [6] 王建军, 王泽友. miRNA 与肿瘤的研究进展 [J]. 肿瘤药学, 2011, 1(3): 169-172
Wang Jian-jun, Wang Ze-you. The Research Progress of miRNA and Cancer [J]. Anti-tumor Pharmacy, 2011, 1(3): 169-172
- [7] Kornblihtt AR. Chromatin, transcript elongation and alternative splicing [J]. Nat Struct Mol Biol, 2006, 13(1): 5-7
- [8] Sperling J, Azubel M, Sperling R. Structure and function of the pre-mRNA splicing machine [J]. Structure, 2008, 16(11): 1605-1615
- [9] Batsche E, Yaniv M, Muchardt C. The human SWI/SNF subunit Brm is a regulator of alternative splicing [J]. Nat Struct Mol Biol, 2006, 13(1): 22-29
- [10] Tyagi A, Ryne J, Brodin D, et al. SWI/SNF associates with nascent pre-mRNPs and regulates alternative pre-mRNA processing [J]. Plos Genetics, 2009, 5(5)
- [11] Cheng D, Cote J, Shaaban S, et al. The arginine methyltransferase CARM1 regulates the coupling of transcription and mRNA processing [J]. Mol Cell, 2007, 25(1): 71-83
- [12] Perissi V, Rosenfeld MG. Controlling nuclear receptors: The circular logic of cofactor cycles [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2005, 6(7): 542-554
- [13] Masuhiro Y, Mezaki Y, Sakari M, et al. Splicing potentiation by growth factor signals via estrogen receptor phosphorylation [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(23): 8126-8131
- [14] Stevens TA, Meech R. Barx2 and estrogen receptor- α (esr1) coordinately regulate the production of alternatively spliced esr1 isoforms and control breast cancer cell growth and invasion [J]. Oncogene, 2006, 25(39): 5426-5435
- [15] Natalizio BJ, Robson-Dixon ND, Garcia-Blanco MA. The carboxyl-terminal domain of RNA polymerase II is not sufficient to enhance the efficiency of pre-mRNA capping or splicing in the context of a different polymerase [J]. Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(13): 8683-8693
- [16] Pearson JL, Robinson TJ, Munoz MJ, et al. Identification of the cellular targets of the transcription factor TCERG1 reveals a prevalent role in mRNA processing [J]. Journal of Biological Chemistry, 2008, 283(12): 7949-7961
- (上接第 1379 页)
- Wang Zhao-xia, Xu Ke, Mao Shao-lei. The Efficacy of remifentanyl-TCI for fiberoptic bronchoscope during awake intubation [J]. Xinjiang Medicine, 2010, 40: 88-90
- [7] 张熙哲, 吴新民. 腰麻病人瑞芬太尼和舒芬太尼呼吸抑制的半数血浆靶控浓度 [J]. 中华麻醉学杂志, 2007, 27: 58-61
Zhang Xi-zhe, Wu Xin-min. Respiratory depressant half-effective target plasma concentration of remifentanyl and sufentanyl during subarachnoid anesthesia [J]. Chinese Journal of Anesthesiology, 2007, 27: 58-61
- [8] 杨玲, 黄彤. 瑞芬太尼靶控输注系统用于清醒气管插管的效果 [J]. 山西医药杂志, 2007, 36(3): 237-238
Yang Ling, Huang Tong. The Efficacy of remifentanyl-TCI for awake intubation [J]. Shanxi Medical Journal, 2007, 36(3): 237-238
- [9] Cafiero T, Esposito F, Fraioli G, et al. Remifentanyl-TCI and propofol-TCI for conscious sedation during fiberoptic intubation in the acromegalic patient [J]. Eur J Anaesthesiol, 2008, 25(8): 670-674
- [10] Lallo A, Billard V, Bourgain JL. A comparison of propofol and remifentanyl target-controlled infusions to facilitate fiberoptic nasotracheal intubation. Anesth Analg, 2009, 108(3): 852-857
- [11] Rai MR, Parry TM, Dombrowskis A, et al. Remifentanyl target-controlled infusion vs propofol target-controlled infusion for conscious sedation for awake fiberoptic intubation: a double-blinded randomized controlled trial. Br J Anaesth, 2008 Jan, 100(1): 125-130
- [12] Sakaguchi Y, Takahashi S. Dexmedetomidine [J]. Masui, 2006 Jul; 55(7): 856-863
- [13] 李天佐. 右美托咪啶在麻醉中的应用 [J]. 北京医学, 2010, 32(8): 587-590
Li Tian-you. The application of dexmedetomidine in anesthesia [J]. Beijing Medicine, 2010, 32(8): 587-590
- [14] Gerlach AT, Murphy CV, Dasta JF. An updated focused review of dexmedetomidine in adults [J]. The Annals of Pharmacotherapy, 2009 Dec; 43(12): 2064-2074
- [15] Bergese SD, Khabiri B, Roberts WD, et al. Dexmedetomidine for conscious sedation in difficult awake fiberoptic intubation cases. J Clin Anesth, 2007 Mar; 19(2): 141-144
- [16] John L, Ard Jr, Alex Y, et al. Dexmedetomidine in awake craniotomy: a technical note. Surg Neurol, 2005, 63(2): 114-117
- [17] Dere K, Sucullu I, Budak ET, et al. A comparison of dexmedetomidine versus midazolam for sedation, pain and hemodynamic control, during colonoscopy under conscious sedation. Eur J Anaesthesiol, 2010 Jul, 27(7): 648-652
- [18] Kunisawa T, Nagashima M, Hanada S, et al. Awake intubation under sedation using target-controlled infusion of dexmedetomidine: five case reports. J Anesth, 2010 Oct, 24(5): 789-792
- [19] Tsai CJ, Chu KS, Chen TI, et al. A comparison of the effectiveness of dexmedetomidine versus propofol target-controlled infusion for sedation during fiberoptic nasotracheal intubation. Anaesthesia, 2010 Mar, 65(3): 254-259