

·专题介绍·

植物转录抑制子的结构特征及其作用机理

杜娟, 柴友荣*

西南大学农学与生物科技学院, 农业部生物技术与作物品质改良重点实验室, 重庆市作物品质改良重点实验室,

重庆市油菜工程技术研究中心, 重庆 400716

摘要 转录因子依转录调控能力可分为激活子和抑制子。植物转录抑制蛋白的分类依据很多, 从作用方式上可分为主动抑制子和被动抑制子两大类; 根据与DNA结合的方式则可分为锌指类、MYB类、AP2/EREBP类、bHLH类和bZIP类等。植物主动抑制子通过其含有的抑制域对转录直接起抑制作用。抑制域又可分很多类, 但多数为含有类似EAR基序的保守性基序, 其上具有几个保守性亮氨酸残基。植物转录抑制子主要通过对激活子或基本转录复合物产生作用及改变染色体结构3种方式来抑制目标基因的转录。有关植物转录抑制子的研究虽很欠缺, 但以拟南芥SUPERMAN等抑制子的EAR基序为代表的研究表明, 抑制域是阐明植物转录抑制子功能和下游基因表达调控机理的核心对象, 而融合抑制子沉默技术(CRES-T)也为人为调控基因沉默带来了新的技术手段。

关键词 EAR基序, 植物, 抑制域, 抑制子, 转录因子

杜娟, 柴友荣 (2008). 植物转录抑制子的结构特征及其作用机理. *植物学通报* 25, 344–353.

转录因子(transcription factor, TF)也称为反式作用因子, 是指能够与顺式作用元件发生特异性互作, 并对转录有激活或抑制作用的DNA结合蛋白(王希庆等, 2003)。动、植物在特定的时间和空间进行细胞的分化, 就是因为转录因子调节下游基因的表达。

尽管同类型转录因子的功能可能不完全相同, 但它们与DNA结合的结构域或与其它蛋白质相互作用的结构域却是高度保守的(杨致荣等, 2004)。典型的转录因子包含4个功能区: 识别并结合目的基因启动子区顺式作用元件的DNA结合区、介导转录因子蛋白之间形成同源或异源寡聚体的寡聚化位点、启动或阻止目的基因转录的转录调节域及介导转录因子在细胞质核糖体中被合成后向细胞核定位转移的核定位信号(Liu et al., 1999; 刘强等, 2000)。但是不同的转录因子可能缺少某一结构域, 如转录调控域或特异的DNA结合域。相同家族的不同转录因子可具有截然不同的行为, 主要是由于它们的调节域(regulation domain)不同造成的, 调节域决定转录因子或激活或抑制目的基因的转录。根

据转录因子的功能, 可将其分为激活子(activator)和抑制子(repressor)两大类型。一般概念中的转录因子指的是激活子, 对它的研究相对深入。而抑制子尽管在基因表达调控中扮演着同样重要的角色, 但对其研究相对较少, 尤其是相对于人和其它模式生物而言, 植物转录抑制子的研究有待加强。

1 植物转录因子的基本能力

转录因子要行使调节功能, 必须具备2种能力。(1)与特定的DNA结合。转录因子中存在许多明显不同的能介导与DNA结合的结构元件。转录因子根据保守性DNA结合域氨基酸序列的不同, 被分为不同的家族, 如锌指(zinc-finger)转录因子、MYB转录因子、碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)转录因子及MADS-box转录因子等(Liu et al., 1999)。有趣的是, 含有DNA结合域的转录因子只有在形成转录因子二聚体之后才能结合到特定的DNA区域上, 它们有的通过螺

收稿日期: 2007-08-27; 接受日期: 2007-10-09

基金项目: 863计划(No.2006AA10Z110)和重庆市自然科学基金重点项目(No.8446)

* 通讯作者。E-mail: chaiyurong1@163.com

旋-转角-螺旋, 有的则通过亮氨酸拉链发生二聚化。如 CREB 转录因子, 它有 1 个与亮氨酸拉链结构相偶联的 DNA 结合功能域, 磷酸化后它们才能形成有功能的二聚体, 这些活性二聚体与未活化的单体处于动态平衡中(Latchman, 1997)。(2)转录调控。转录因子对转录过程的作用结果决定了它是激活子还是抑制子, 正因为它们所具有的这种调控能力才被称为转录调控因子。

2 植物转录抑制子的分类

2.1 普遍性抑制子和基因特异性抑制子

普遍性抑制是指抑制蛋白或其与其它转录因子形成的复合物, 通过抵消或修饰转录前起始复合物(pre-initiation complex, PIC)或 RNA 聚合酶的组分, 从而抑制转录起始的一种抑制方式。这种抑制方式可以使受 RNA 聚合酶调节的所有基因的转录水平都下降。例如 RNA 聚合酶的某一核心组分的磷酸化作用使 RNA 聚合酶变成一种非活化的状态, 从而不能起始转录。此外, 核小体也可以通过使启动子 DNA 解聚而抑制启动子的活性。基因特异性抑制是指某个特殊基因或成套基因的转录受基因特异抑制子或辅助抑制子的调节。抑制可以通过降低功能性激活子或辅助激活子在启动子处的浓度或中和这些蛋白对转录的刺激激活作用而得以实现。基因特异性抑制子直接或间接地与 DNA 结合, 此 DNA 结合位点可能与启动子邻近或远离启动子(Mannervik et al., 1999; Gaston and Jayaraman, 2003)。

2.2 被动抑制子和主动抑制子

被动抑制为间接抑制, 主要通过与激活子竞争相同的 DNA 结合位点或与激活子结合并形成一个没有激活活性的复合物。主动抑制为直接抑制, 是指抑制子与转录起始复合物的组分相互作用, 以基因组染色体的结构为主要目标, 从而抑制转录的起始(Gaston and Jayaraman, 2003)。主动抑制子不同于被动抑制子, 它具有一个独立的抑制域(repression domain)。在酵母和哺乳动物中已经发现了很多主动抑制蛋白, 但在植物中只有少数

分转录因子被认为是主动抑制蛋白(Hiratsu et al., 2002)。被动抑制子没有明显的抑制域, 通过被动抑制方式行使抑制功能。而主动抑制子存在一个抑制域, 通常通过染色体结构修饰(如组蛋白的去乙酰化)或者与基因表达的激活子相互作用而行使抑制功能(Thiel et al., 2004; Kazan, 2006)。

2.3 基因特异性抑制子的分类

基因特异性抑制子是一大类转录负调控蛋白, 其分类方式非常复杂。根据能否与 DNA 结合, 可分为 DNA 结合抑制子和非 DNA 结合的辅助抑制子(Gaston and Jayaraman, 2003); 按所产生的效应范围, 可分为短效应范围抑制子和长效效应范围抑制子(Courey and Jia, 2001); 按抑制域中氨基酸的类型, 可分为富含脯氨酸、富含丙氨酸和富含谷氨酰胺的抑制子等。据推测, 每种类型的抑制域各带有一个独立的互作表面, 通过这些表面与特定的目标蛋白或 DNA 相互作用, 从而行使转录抑制功能(Hanna-Rose and Hansen, 1996)。根据其它标准进行分类, 还有一些抑制子不属于上面的任何一类, 有一些转录因子被称为情境依赖型抑制子, 它们依据结合位点的当时状况, 既可表现出激活功能, 也可表现出抑制功能(Arnosti, 2004)。

2.4 植物转录抑制子的目标蛋白

抑制子的抑制域通常与 3 种目标蛋白相互作用, 从而抑制转录的起始。其一为基本转录因子, 抑制子通常抑制 RNA 聚合酶 II 结合的最小启动子区域, 这个区域包含 TATA 盒等启动元件。其二为激活子或辅助激活子, 对于这种类型的抑制, 抑制子只能抑制某一特定的启动子, 因为参与结合的激活子只能专一性地与该种启动子结合。其三为辅助抑制子, 即抑制子与其辅助抑制子(co-repressor)相互作用来发挥抑制功能。例如, 拟南芥 LEUNIN(LUG)和 SEUSS(SEU)不与 DNA 结合, 但 LUG 与具有 DNA 结合能力的转录抑制子 AP2 结合, SEU 则与 LUG 的 LUFS 结构域结合, 形成一个抑制复合物, 阻止目标基因(如 AG)的转录, 调控花器官各部位的形成及分界的确定(Liu, 2003)。

3 植物转录抑制子的DNA结合域

有些抑制子不需要与 DNA 结合也能产生转录抑制功能, 但有些抑制子则必须与 DNA 结合才能产生转录抑制作用, 也就是说必须具有 DNA 结合域, 且 DNA 结合域有多种类型(Liu et al., 1999; 谢永丽, 2006)。

3.1 锌指结构域

该结构域由 30 个氨基酸组成, 含有 2 个保守的半胱氨酸和 / 或 2 个组氨酸残基, 在四级结构上与锌离子结合, 如小麦的 WZF1 及拟南芥的 PEI1 等。每个锌指的 C- 端形成 α - 螺旋, N- 端形成 β - 折叠, 与 DNA 相结合的区域是 α - 螺旋。锌指区以串联重复单位的形式识别不同长度的 DNA 序列, 各单位有大致相似的框架与少量的碱基对(约 5 bp)相互作用。锌指区 α - 螺旋与 DNA 的这种相互作用发生在 DNA 双螺旋的大沟内(Takatsuji, 1998; 李成霞和敖光明, 2000)。HRT 是来源于大麦的一个具有锌指结构的抑制子, 它具有一个保守的 $CX_8-9CX_{10}CX_2H$ 基序, 代表了一种神奇的 C_3H 锌指域, 13 个保守的半胱氨酸和 1 个组氨酸构成, 围绕一个中心 Zn^{2+} , 成为它的配基, 这种结构域使 HRT 能够结合到 DNA 上。许多锌指蛋白都具有很多个相互衔接的锌指结构, 锌指之间的这种间隔增加了其结构的灵活性。也因为这种长短不一的间隔, 使各个锌指可以分别结合到目标 DNA 上, 从而增加了其特异性(Raventós et al., 1998)。

3.2 MYB结构域

该结构域含有 1-3 个由 51-53 个氨基酸组成的呈螺旋-转角-螺旋构象的不完全重复序列, 每个重复都含有 3 个保守的 W 残基, 如玉米的 C1、P、PL 及拟南芥的 AtMYB2 等。MYB 类转录因子主要通过组合调控, 即通过多种转录因子间的相互作用来实现对靶基因的精密调控。拟南芥 AtMYB2 基因是第一个被发现受 ABA 诱导表达的 R2R3-MYB 基因。AtMYB2 与 bHLH 类蛋白 RdBP1 相互作用, 协同调节 Rd22 基因的表达。Abe 等 (1997) 认为这种互作可能是植物体内除了 bZIP/G-box 之外的另一条应答 ABA 的途径。

3.3 AP2/EREBP结构域

该结构域由 68 个氨基酸组成, 含有 3 个平行的 β - 折叠和 1 个双亲性的 α - 螺旋, 3 个 β - 折叠可与 DNA 螺旋中的碱基对相互作用(Jofuku et al., 1994)。如拟南芥中的 ABR1 在种子萌发、由 ABA 或胁迫诱导的基因表达的 ABA 应答反应中起抑制作用(Pandey et al., 2005)。

3.4 碱性-螺旋-环-螺旋(bHLH)结构域

该结构域含有 2 个相连的基本亚区, 其中碱性氨基酸区与 DNA 结合有关, 螺旋-环-螺旋区则参与二聚体的形成, 如拟南芥中的 PIF4 (Huq and Quail, 2002)。蛋白质分子中有 2 个相邻的 α - 螺旋, 第 1 个嵌入 DNA 大沟, N- 端接近双螺旋主轴; 第 2 个位于第 1 个 α - 螺旋之上, 接近 DNA 的糖-磷酸骨架, 基本上平行于双螺旋链。这种结构有利于氢键形成和范德华力作用。这 2 个 α - 螺旋之间若间隔较长的氨基酸链形成一个环, 即称为螺旋-环-螺旋(HLH)结构(陈丽, 1997)。

3.5 碱性-亮氨酸拉链(bZIP)结构域

该结构域由 60-80 个氨基酸组成, 包括一个由 25 个氨基酸组成的富含碱性氨基酸的区域和一个亮氨酸拉链区域。亮氨酸拉链区是形成二聚体所必需的。在亮氨酸重复区 N- 端邻近的 30 个氨基酸中, 有很多碱性氨基酸, 称为碱性区, 参与 DNA 的结合。当亮氨酸拉链使亚基形成二聚体时, 碱性区便处在适当的位置, 从而决定了与 DNA 序列的专一结合(陈丽, 1997)。菜豆转录因子 PvALF 能激活子叶贮藏蛋白基因 DLEC2 的表达, ROM2 则能与 DLEC2 的增强子结合, 抑制 PvALF 对其转录的激活, 一旦去除 ROM2 的 N- 端 bZIP 域, ROM2 就会失去对 PvALF 激活活性的抑制能力(刘强等, 2000)。

3.6 MADS结构域

该结构域由约 56 个氨基酸组成, 含有 1 个 α - 螺旋和 2 个 β - 折叠链组成的高度保守区域。在至今发现的所有 MADS 盒因子中该区域有 9 个氨基酸完全相同, 它是一个序列特异的 DNA 结合基元(Shore and Sharrocks,

1995)。MADS 转录因子以二聚体的形式通过保守的 MADS 结构域与特定的 DNA 序列结合来调控基因的表达, 从而调节植物的生长发育。

3.7 B3结构域

B3 结构域为 VP1 和 ABI3A 的 C- 端含 120 个氨基酸的保守序列。玉米 VP1 转录因子不仅激活小麦 *EM* 基因和玉米 *C1* 基因的转录, 而且能对大麦 α - 淀粉酶基因的表达起抑制作用(Kriz et al., 1990)。至今尚未从 VP1 中鉴定出发挥抑制作用的功能域, VP1 也有可能通过直接作用的方式抑制 α - 淀粉酶基因的表达(刘强等, 2000)。拟南芥 HSI2 也是一种含有 B3 结构域蛋白, 它可以抑制糖诱导的报告基因的转录。这种蛋白在 C- 端含有一个 EAR 基序(ERF-associated amphiphilic repression motif), 参与介导转录抑制(Tsukagoshi et al., 2007)。

3.8 其它结构域

其它结构域还包括 HMG 盒, 由 3 个 α - 螺旋组成的 L 形区, 两臂张开约呈 80° (Grasser, 1995); Homeo 结构域, 由 60 个氨基酸组成的折叠呈球形的结构域, 含有 3 或 4 个 α - 螺旋; ARF 结构域, 由 350 个氨基酸组成的类似 B3 的序列; AT- 钩结构域, 含有一个 R(G/P)RGRP 共有的核心序列, 通过 RGR 区与富含 A/T 的 DNA 区域小沟相结合; 三螺旋, 富含碱性、酸性及脯氨酸 / 谷氨酸, 呈螺旋 - 环 - 螺旋 - 环 - 螺旋构象。

4 植物主动转录抑制子的抑制域

4.1 EAR基序

植物中 EAR 基序存在于第 II 类 AP2/ERF 蛋白和含 Cys-2/His-2 类型锌指基序(TFIIIA 类)锌指蛋白的 C- 端, 这些转录因子可降低报告基因的基础转录水平, 也可降低其它转录因子的转录激活活性(Kazan, 2006)。第 II 类 ERF 和许多 TFIIIA 锌指转录因子均属于主动抑制子, 在它们的 C- 端含有一段短的氨基酸序列, 可赋予它们在异

源 DNA 上的抑制活性。即使将这种抑制域与 VP16 转录激活域相结合, 也可完全抑制 VP16 对于基因转录的激活活性。第 II 类 ERF 的氨基酸序列显示了一个保守的基序, 它对抑制活性起关键性作用, 称为 EAR 基序($L^L/FDLN^L/F(X)P$)。如 AtERF4 的 C- 端抑制域为 DLDLNL, 如果该抑制域内发生突变, 抑制功能也随之消失(Ohta et al., 2001)。在小麦、拟南芥和矮牵牛中都发现了许多含有这种 EAR 基序的锌指蛋白, 且都表现出抑制作用。SUPMAN 是一种 TFIIIA 类锌指蛋白, 共含有 204 个氨基酸, 其 C- 端的 175-204 位残基包含了一个类似于 EAR 基序的区域, 其抑制域为 DLDLEL(Hiratsu et al., 2002)(图 1)。

4.2 类EAR基序

HSI2 蛋白是 B3 DNA 结合蛋白的一个亚家族, 包括 HSI2、HSI2-L1 和 HSI2-L2。与其它 B3 DNA 结合蛋白相比, 它们除含有共同的 B3 DNA 结合域之外, 还有 4 个保守的共有序列。HSI2 成员在其 C- 端有一个与 EAR 基序相类似的结构域, 此结构域使它们成为主动抑制蛋白(Tsukagoshi et al., 2005, 2007)(图 1)。

4.3 LxLxL基序

Aux/IAA 蛋白是一类短的核蛋白, 它可以抑制早期植物激素应答基因的表达。许多 Aux/IAA 蛋白都包含 4 个保守域, 其 1 号域含有 LxLxL 基序, 对于抑制功能起关键作用, 前 2 个 L 被 A 替代后抑制功能基本消失, 而第 3 个 L 被 A 替代则还具有一定程度的抑制功能。Aux/IAA 蛋白中的抑制域在结构上与一些 ERF 和拟南芥 SUPERMAN (AtSUP) 的抑制域具有相同之处, 说明它们的抑制功能具有相似性(Tiwari et al., 2004)(图 1)。

4.4 富脯氨酸抑制域

SCBF-2 是大豆的 G-box 结合因子(GBF), 其 N- 端有一个富脯氨酸基序, C- 端有一个锌指 DNA 结合域。一些含有富脯氨酸基序的转录因子是激活子, 但 SCBF-2 是一个抑制子, 其中富脯氨酸基序被认为是抑制域(Liu et al., 1997)。

Ⅱ类ERF蛋白		TFIIIA类型锌指蛋白		AtIAA家族蛋白	
NtERF3	ICDDEKIASFMD	AtERF1	RDFDNDPEEF	AtIAA1	TELDFGPG
AtERF4	EDDAIFESK	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA5	TELDFGPG
AtERF6	EDDAIFESK	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA4	TELDFGPG
OsERF3	EDDAIFESK	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA6	TELDFGPG
ShERF2-L	EDDDEKESDGE	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA9	TELDFGPG
AtERF3	EDDDEKESDGE	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA19	TELDFGPG
AtERF7	EDDDEKESDGE	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA16	TELDFGPG
NtERF3	EDDDEKESDGE	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA27	TELDFGPG
AtERF9	EDDDEKESDGE	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA6	TELDFGPG
AtERF10	EDDDEKESDGE	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA2	TELDFGPG
AtERF11	EDDDEKESDGE	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA14	TELDFGPG
AtERF12	EDDDEKESDGE	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA17	TELDFGPG
B3结构域蛋白		AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA7	TELDFGPG
AtERF1	EDDDEKESDGE	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA9	TELDFGPG
AtERF2-L	EDDDEKESDGE	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA15	TELDFGPG
AtERF12	EDDDEKESDGE	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA20	TELDFGPG
OsERF12	EDDDEKESDGE	AtERF1	EDDNDPEF	AtIAA20	TELDFGPG

图1 植物第Ⅱ类ERF蛋白、B3结构域蛋白、TFIIIA类型锌指蛋白和AtIAA家族蛋白的抑制域的核心基序
保守性氨基酸残基用反显字母表示。每个蛋白名的前2位字母表示物种名。At: 拟南芥; Nt: 烟草; Os: 水稻; Ph: 矮牵牛; Sh: 有钩柱花草

Figure 1 Core motifs of repression domains of plant class II ERF proteins, B3 domain proteins, TFIIIA-type Zn-finger, and AtIAA family proteins
Conserved amino acid residues are denoted with reverse-displayed letters. The first two letters of each protein name represent the name of the source species. At: *Arabidopsis thaliana*; Nt: *Nicotiana tabacum*; Os: *Oryza sativa*; Ph: *Petunia hybrida*; Sh: *Stylosanthes hamata*

4.5 DLN盒

ZPT2相关蛋白是一类含有2个标准的Cys-2/His-2类锌指基序的蛋白家族,它们在植物中构成了一类相对庞大的转录因子家族。在拟南芥中,共发现了18个编码ZPT2相关蛋白的基因,依据它们各自DNA结合域的相似性被分为两类。第一类有6个基因,包括AZF1、AZF2、AZF3和STZ等,它们具有相似的DNA结合域,且C-端都有一个包含DLNL(DLN盒)的短疏水序列(Sakamoto et al., 2004)。瞬时表达实验显示AZF2和STZ都属于主动抑制子,将STZ/ZAT10或ZAT11与酵母转录因子GAL4的DNA结合域融合以后,这些融合蛋

白在转录中表现出抑制功能,并且C-端的DLN盒也被认为是一个转录抑制域(Ohta et al., 2001)。

4.6 OVATE抑制域

此抑制域的功能有待于进一步确定。OVATE基因的终止突变使番茄由正常的圆形变成梨形,它的C-端包含一个约70个氨基酸的OVATE域,被称为DUF623域。在拟南芥中发现了18个含有OVATE域的AtOFP基因(Hackbusch et al., 2005),并且AtOFP1是一个主动抑制蛋白。在AtOFP1的OVATE结构域内有一段LxLxL序列。实验证明使这个蛋白成为主动抑制子的结构域

并不是 OVATE 域, 而是该蛋白的一段中间序列。AtOFP2 和 AtOFP7 不含 OVATE 域, 但仍然具有主动抑制功能, 在这几个蛋白中 LxLxL 序列对于抑制几乎不起任何作用(Wang et al., 2007)。

5 植物转录抑制子的作用机理

由于转录过程中蛋白质之间互作的复杂性和多样性, 使得抑制机制的分类也变得非常复杂。在动物中, 以主动抑制方式进行作用的抑制子通常都是与基本转录单元发生相互作用, 而以被动抑制方式进行作用的抑制子通常是与激活子相互作用。在植物中, 虽然没有确切的证据表明其作用方式, 但可依据动物中的抑制机制来初步推断植物中可能的抑制机制。抑制子主要通过 3 条途径抑制转录的起始和延伸(Cowell, 1994; Roberts, 2000; Gaston and Jayaraman, 2003; Thiel et al., 2004)。

5.1 通过对转录激活子的作用而阻止转录

很多抑制子可以通过与激活子的相互作用来进行转录调节, 激活子的功能可能在很多水平上受到抑制子的影响, 如核定位、与 DNA 的结合及刺激转录起始的能力(Herschbach and Johnson, 1993)。

5.1.1 占据了激活子在 DNA 上的结合部位

激活子和抑制子在 DNA 上可具有相同的结合部位, 当激活子结合上去的时候, 促进下游基因的转录, 而如果抑制子结合到该位点, 则阻碍了激活子的结合, 从而不能起始基因的转录。

5.1.2 与激活子形成复合物

抑制子可以与激活子发生相互作用而形成复合物, 使激活子不再具有与 DNA 结合的能力, 甚至促进其进入蛋白体的泛素蛋白周转系统而发生降解, 从而不能起始转录。植物中有一类至少含 20 个成员的复杂的热胁迫转录因子 Hsfs, 其中 Hsfs A4 和 A5 因其独特的结构特征而不同于其它成员。Hsfs A4 是在热胁迫下基因表达的激活子, 而 A5 则是 A4 激活活性的专一抑制子。A5 正

是通过其 OD 域与 A4 结合, 改变了 A4 的聚合物状态, 致使它与 DNA 的结合活性下降从而起到抑制作用(Baniwal et al., 2007)。

5.1.3 淬灭(quenching)

抑制子与激活子相互作用, 从所表现出来的现象来看似乎是这种互作阻断了激活域的活性。

5.1.4 遮蔽(masking)

有些转录因子伪装成辅助激活子与激活子的激活域结合, 从而阻断了激活子与其目标之间的作用, 抑制目标基因的转录(Liu et al., 1999)。

此外, 抑制子还可以通过对激活子或辅助激活子的转录后修饰及调节激活子的细胞内定位等方式, 产生转录抑制作用(图 2)。

5.2 通过对基本转录复合物的作用而阻止转录

抑制子通过与激活子的相互作用起到的抑制作用存在一定的弊端, 因为很多真核生物的基因都受到多个激活子的共同作用。要全部抑制这些激活子的作用就需要很多特异性的抑制子。一个更为有效的方法是直接干扰基本转录复合物的形成(Herschbach and Johnson, 1993)。(1) 修饰 RNA 聚合酶 II 的大亚基。RNA 聚合酶 II 的 C-端域(CTD)是直接抑制的目标位点, 在转录过程中, 抑制子对 RNA 聚合酶的 CTD 进行糖基化和去磷酸化, 在延伸过程中则对 CTD 进行磷酸化和去糖基化, 通过对 RNA 聚合酶 CTD 在时空上的变换修饰, 产生转录抑制作用(图 3)。(2) 抑制 TBP (TATA box-binding protein)与 DNA 的结合。TBP 是形成转录起始复合物的一个重要成分。基因特异性抑制的一个重要机制就是抑制 TBP 与 DNA 的结合(图 3)。(3) 抑制通用转录因子(general transcription factors, GTFs)间的相互作用。转录起始复合物的形成需要多种通用转录因子的参与, 抑制子可通过结合 TBP, 阻止其它转录因子在启动子处的组装, 从而抑制转录的起始(图 3)。(4) 在转录起始复合物结合到 DNA 上并起始转录之后, 仍能对转录起抑制作用, 如在起始位点上抑制 DNA 螺旋的解链等。(5) 抑制子

还可通过间接抑制方式起作用, 即抑制子结合到启动子上游的DNA高亲和位点, 从而招募更多的抑制子结合到TATA盒附近的DNA低亲和位点上, 阻止TFIID与TATA盒的结合。

5.3 通过重塑染色体结构或结合特定DNA区段而阻止转录

基因沉默一般与异染色质有关, 可以通过染色体折叠使基因位于异染色质区来实现转录抑制。染色质结构的改变可以通过DNA/核小体结构的改变或对染色质/DNA的共价修饰来完成。被抑制的基因通常表现出低水平的组蛋白乙酰化和高水平的DNA甲基化。有研究表明, 主要组蛋白赖氨酸的乙酰化有利于基因的转录, 这也许是因为它降低了组蛋白与DNA之间的亲和性(Wolfe et al., 1997; Arnosti, 2004)。拟南芥AP2基因将AG基因限定在花器官的第3和第4层中表达, 原因就是AP2能特异地与AG基因的大内含子结合, 直接抑制了第1和第2层中AG基因的转录(Bombliès et al., 1999)。

5.4 植物含EAR基序抑制子的作用机制

目前在植物中所发现的几乎所有的抑制域都与EAR基序具有一定程度的相似性, 那么它的作用机制是怎样的呢? 在防御中EAR抑制子主要通过两种方式起作用。(1)在没有胁迫时, 抑制与防御和胁迫有关的基因表达。(2)参与胁迫相关的基因表达, 在EAR抑制子的参与下进行可控制的活化, 这样可避免任何由于反应失控造成的对植物自身的伤害。

Weigel等(2005)报道了一个名为NIMIN1的EAR抑制子, 在拟南芥中负调节PR1的表达。NIMIN1没有任何DNA结合域, 与NIM1/NPR1互作而行使负调节功能。NPR1是一个含有ankyrin域的蛋白, 它与TGA转录因子家族成员相互作用而正向调节PR1。在水稻中也发现了类似的作用机制, 水稻PR1的负调节由负调控因子NRR和NHI以相似的机制完成(Chern et al., 2005)。EAR抑制子可以通过与目标基因表达相关的激活子间的相互作用来行使负调节功能, 并且这种调节机

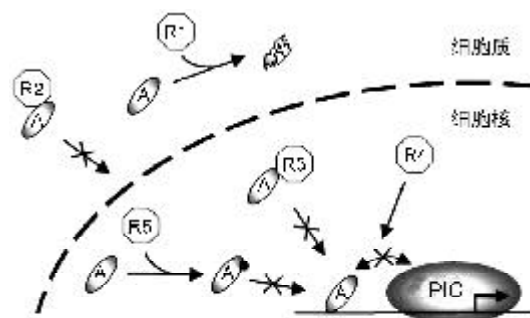


图2 通过废除激活子的功能而发生的转录抑制(Gaston and Jayaraman, 2003)

A: 激活子; PIC: 转录前起始复合物; R1-R5: 抑制子。抑制子常引导激活子或辅助激活子的降解(R1), 或将激活子保持在一种非生产性复合物中(R2和R3), 一些抑制子阻止激活子与PIC接触(R4), 另一些抑制子则对激活子进行翻译后修饰(R5)

Figure 2 Repression by the ablation of activator function (Gaston and Jayaraman, 2003)

A: Activator; PIC: Pre-initiation complex; R1-R5: Repressors. Repressors often target activators or co-activators for degradation (R1) or hold activators in non-productive complexes (R2 and R3). Some repressors block activator-PIC contacts (R4). Other repressors post-translationally modify activators (R5)

制在双子叶和单子叶植物中都相当保守。

在植物中, 非生物胁迫应答也受到严格的控制。AtERF7参与拟南芥的ABA和干旱胁迫应答, 体外和体内的分析结果都说明AtERF7具有抑制活性, 虽然没有证据表明其EAR基序直接参与了抑制反应, 但AtERF7存在主动抑制的可能性。与AtERF4类似, AtERF7结合于GCC-box并招募AtSin3和HDA19, 由HDA19介导的组蛋白去乙酰化增加了组蛋白与DNA的结合, 从而阻断了激活子结合到它特异的DNA序列上。说明EAR抑制子也可以通过对染色体的修饰来达到抑制转录的目的(Kazan, 2006)。在其它真核细胞中, 通过修饰染色体进行转录抑制是许多主动抑制蛋白的常用机制。

6 植物转录抑制子的应用与研究展望

对于含有EAR基序的转录因子的研究才刚刚开始, 但其神奇的抑制域却已被用于基因改造中。在激活子C-端

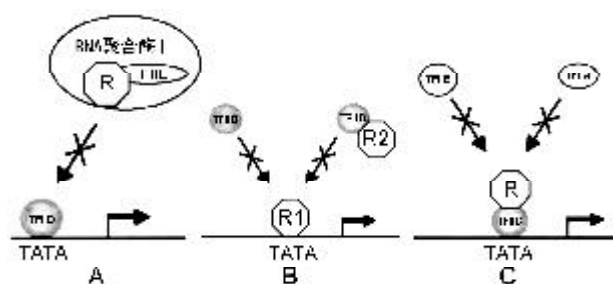


图3 通过对基本转录单元的作用而发生的转录抑制(Gaston and Jayaraman, 2003)

(A) 抑制子通过与 RNA 聚合酶或转录因子的结合而阻止它们与启动子的结合;

(B) 抑制子通过竞争性结合(R1)或与 TFIID 结合(R2)而阻止 TFIID 与 TATA 元件的结合;

(C) 抑制子阻止通用转录因子间的相互作用

R、R1 和 R2: 抑制子; TFIIA、TFIIB、TFIID 和 TFIIIE: 通用转录因子; TATA: 启动子的 TATA 盒

Figure 3 Repression via the basal machinery (Gaston and Jayaraman, 2003)

(A) Repressors bind to and/or modify RNA polymerase or GTFs and block binding to the promoter;

(B) Repressors block the binding of TFIID to the TATA element either by competing for the TATA element (R1) or by binding to TFIID (R2);

(C) Repressors block interactions between GTFs

R, R1 and R2: Repressors; TFIIA, TFIIB, TFIID and TFIIIE: General transcription factors; TATA: TATA box of the promoter

等位置附加一段来自于 EAR 抑制域的核心基序, 形成融合蛋白, 可将其转变为一个高效的负调控因子, 再将它们通过转基因手段转入植物中, 用于对目标基因进行特异而高效的表达抑制, 被称为融合抑制子沉默技术 (chimeric repressor silencing technology, CRES-T)。该技术在动物中已成功应用, 但在植物中目前只有拟南芥的相关报道。拟南芥中由 4 个高度同源的冗余成员 PAP1/MYB75、PAP2/MYB90、MYB113 和 MYB114 构成一个小家族, 在 PAP1 的 C-端附加一段 SUPERMAN EAR 抑制域的序列 LDLLELRLG 后, 成功地将 PAP1 转变为一个负调控转录因子。转化野生型拟南芥后, 其转基因植株从深褐色种皮变为了透明种皮, 说明种皮中 PAP1 的功能及种皮色素的合成受到了抑制

(Matsui et al., 2004)。理论上植物的许多转录因子均可采用相同原理进行正-负调控转换的改变, 这是继反义 RNA 和 RNAi 技术之后, 可用于转录因子基因沉默的又一项新技术, 对于鉴定转录因子的功能和转基因性状改良的意义重大。

目前对于抑制子抑制机制的研究仍是一个薄弱环节。很多抑制子的抑制机制尚不清楚。如 ZAT12 负调控与寒冷耐受性相关的正向转录因子的表达, 但它仍然增加了植物对于寒冷的耐受程度, 这也许是通过另一种非常神奇的机制完成的 (Vogel et al., 2005)。抑制子研究具有重要的生物学意义, 对植物转录抑制子的深入研究必将揭示新的分子机理以及发展新的抑制技术。

参考文献

- 陈丽 (1997). 植物转录因子的结构与功能. 植物生理学通讯 33, 401-409.
- 李成霞, 敖光明 (2000). 植物 TFIIIA 类型锌指蛋白的研究进展. 中国农业科技导报 2, 9-12.
- 刘强, 张贵友, 陈受宜 (2000). 植物转录因子的结构与调控作用. 科学通报 45, 1465-1474.
- 王希庆, 陈柏君, 印莉萍 (2003). 植物中的 MYB 转录因子. 生物技术通报 (2), 22-25.
- 谢永丽 (2006). 一类植物中特有的转录因子——AP2/EREBP 转录因子家族. 青海师范大学学报(自然科学版) (3), 80-83.
- 杨致荣, 王兴春, 李西明, 杨长登 (2004). 高等植物转录因子的研究进展. 遗传 26, 403-408.
- Abe H, Yamaguchi-Shinozaki K, Urao T, Iwasaki T, Hosokawa D, Shinozaki K (1997). Role of Arabidopsis MYC and MYB homologs in drought- and abscisic acid-regulated gene expression. *Plant Cell* 9, 1859-1868.
- Arnosti DN (2004). Multiple mechanisms of transcriptional repression in eukaryotes. *HEP* 166, 33-67.
- Baniwal SK, Chan KY, Scharf KD, Nover L (2007). Role of heat stress transcription factor HsfA5 as specific repressor of HsfA4. *J Biol Chem* 282, 3605-3613.
- Bombles K, Dagenais N, Weigel D (1999). Redundant enhancers mediate transcriptional repression of AGAMOUS by

- APETALA2. *Dev Biol* **216**, 260-264.
- Chern M, Canlas PE, Fitzgerald HA, Ronald PC** (2005). Rice NRR, a negative regulator of disease resistance, interacts with Arabidopsis NPR1 and rice NH1. *Plant J* **43**, 623-635.
- Courey AJ, Jia S** (2001). Transcriptional repression: the long and the short of it. *Genes Dev* **15**, 2786-2796.
- Cowell IG** (1994). Repression versus activation in the control of gene transcription. *Trends Biochem Sci* **19**, 38-42.
- Gaston K, Jayaraman PS** (2003). Transcriptional repression in eukaryotes: repressors and repression mechanisms. *Cell Mol Life Sci* **60**, 721-741.
- Grasser KD** (1995). Plant chromosomal high mobility group (HMG) proteins. *Plant J* **7**, 185-192.
- Hackbusch J, Richter K, Müller J, Salamini F, Uhrig JF** (2005). A central role of *Arabidopsis thaliana* ovate family proteins in networking and subcellular localization of 3-aa loop extension homeodomain proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* **102**, 4908-4912.
- Hanna-Rose W, Hansen U** (1996). Active repression mechanisms of eukaryotic transcription repressors. *Trends Genet* **12**, 229-234.
- Herschbach BM, Johnson AD** (1993). Transcriptional repression in eukaryotes. *Annu Rev Cell Biol* **9**, 479-509.
- Hiratsu K, Ohta M, Matsui K, Ohme-Takagi M** (2002). The SUPERMAN protein is an active repressor whose carboxy-terminal repression domain is required for the development of normal flowers. *FEBS Lett* **514**, 351-354.
- Huq E, Quail PH** (2002). PIF4, a phytochrome-interacting bHLH factor, functions as a negative regulator of phytochrome B signaling in Arabidopsis. *EMBO J* **21**, 2441-2450.
- Jofuku KD, den Boer BGW, van Montagu M, Okamoto JK** (1994). Control of Arabidopsis flower and seed development by the homeotic gene APETALA2. *Plant Cell* **6**, 1211-1225.
- Kazan K** (2006). Negative regulation of defence and stress genes by EAR-motif-containing repressors. *Trends Plant Sci* **11**, 109-112.
- Kriz AR, Wallace MS, Paiva R** (1990). Globulin gene expression in embryos of maize viviparous mutants: evidence for regulation of the *Glb1* gene by abscisic acid. *Plant Physiol* **92**, 538-542.
- Latchman DS** (1997). Transcription factors: an overview. *Int J Biochem Cell Biol* **29**, 1305-1312.
- Liu L, White MJ, MacRae TH** (1999). Transcription factors and their genes in higher plants. Functional domains, evolution and regulation. *Eur J Biochem* **262**, 247-257.
- Liu ZB, Hagen G, Guilfoyle TJ** (1997). A G-box-binding protein from soybean binds to the E1 auxin-responsive element in the soybean GH3 promoter and contains a proline-rich repression domain. *Plant Physiol* **115**, 397-407.
- Liu ZC** (2003). Transcription co-repressors in flower development. *Chin Bull Bot* **20**, 385-394.
- Mannervik M, Nibu Y, Zhang H, Levine M** (1999). Transcriptional coregulators in development. *Science* **284**, 606-609.
- Matsui K, Tanaka H, Ohme-Takagi M** (2004). Suppression of the biosynthesis of proanthocyanidin in Arabidopsis by a chimeric PAP1 repressor. *Plant Biotechnol J* **2**, 487-493.
- Ohta M, Matsui K, Hiratsu K, Shinsai H, Ohme-Takagi M** (2001). Repression domain of class II ERF transcriptional repressors share an essential motif for active repression. *Plant Cell* **13**, 1959-1968.
- Pandey GK, Grant JJ, Cheong YH, Kim BG, Li L, Luan S** (2005). ABR1, an APETALA2-domain transcription factor that functions as a repressor of ABA response in Arabidopsis. *Plant Physiol* **139**, 1185-1193.
- Raventós D, Skriver K, Schlein M, Karnahl K, Rogers SW, Rogers JC, Mundy J** (1998). HRT, a novel zinc finger, transcriptional repressor from barley. *J Biol Chem* **273**, 23313-23320.
- Roberts SGE** (2000). Mechanisms of action of transcription activation and repression domains. *Cell Mol Life Sci* **57**, 1149-1160.
- Sakamoto H, Maruyama K, Sakuma Y, Meshi T, Iwabuchi M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K** (2004). Arabidopsis Cys2/His2-type zinc-finger proteins function as transcription repressors under drought, cold, and high-salinity stress conditions. *Plant Physiol* **136**, 2734-2746.
- Shore P, Sharrocks AD** (1995). The MADS-box family of transcription factors. *Eur J Biochem* **229**, 1-13.

- Takatsuji H** (1998). Zinc-finger transcription factors in plant. *Cell Mol Life Sci* **54**, 582-596.
- Thiel G, Lietz M, Hohl M** (2004). How mammalian transcriptional repressors work. *Eur J Biochem* **271**, 2855-2862.
- Tiwari SB, Hagen G, Guilfoyle TJ** (2004). Aux/IAA proteins contain a potent transcriptional repression domain. *Plant Cell* **16**, 533-543.
- Tsukagoshi H, Morikami A, Nakamura K** (2007). Two B3 domain transcriptional repressors prevent sugar-inducible expression of seed maturation genes in Arabidopsis seedlings. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 2543-2547.
- Tsukagoshi H, Saijo T, Shibata D, Morikami A, Nakamura K** (2005). Analysis of a sugar response mutant of Arabidopsis identified a novel B3 domain protein that functions as an active transcriptional repressor. *Plant Physiol* **138**, 675-685.
- Vogel JT, Zarka DG, van Buskirk HA, Fowler SG, Thomashow MF** (2005). Roles of the CBF2 and ZAT12 transcription factors in configuring the low temperature transcriptome of Arabidopsis. *Plant J* **41**, 195-211.
- Wang S, Chang Y, Guo J, Chen JG** (2007). Arabidopsis Ovate Family Protein 1 is a transcriptional repressor that suppresses cell elongation. *Plant J* **50**, 858-872.
- Weigel RR, Pfitzner UM, Gatz C** (2005). Interaction of NIMIN1 with NPR1 modulates PR gene expression in Arabidopsis. *Plant Cell* **17**, 1279-1291.
- Wolffe AP, Wong J, Pruss D** (1997). Activators and repressors: making use of chromatin to regulate transcription. *Genes Cells* **2**, 291-302.

Structural Features and Action Mechanisms of Plant Transcriptional Repressors

Juan Du, Yourong Chai*

Chongqing Rapeseed Technology Research Center; Chongqing Key Laboratory of Crop Quality Improvement; Key Laboratory of Biotechnology and Crop Quality Improvement of Ministry of Agriculture; College of Agronomy and Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract Transcription factor can act as an activator or a repressor. Although multiple standards can be used to classify plant repressors, repressors can be primarily divided into active and passive repressors according to their action mechanism. Like activators, repressors also possess various DNA binding domains such as zinc-finger, MYB, AP2/EREBP, bHLH, and bZIP domains. Plant active repressors directly repress transcription via their repression domains. Different types of repression domains exist, but most of them contain EAR or EAR-like motifs that harbor several conservative leucine residues. Plant repressors repress transcription of target genes by interacting with activators, acting on the basal transcription-factor complex or remodeling chromosome structures. Study of plant repressors is insufficient, but characterization of EAR motifs of repressors such as Arabidopsis SUPERMAN suggests that repression domains are core targets for elucidating the functions of plant repressors and the expression regulation mechanisms of their downstream genes. Chimeric repressor silencing technology (CRES-T) also provides a new method for artificial silencing of plant regulatory genes.

Key words EAR motif, plants, repression domain, repressor, transcription factor

Du J, Chai YR (2008). Structural features and action mechanisms of plant transcriptional repressors. *Chin Bull Bot* **25**, 344-353.

* Author for correspondence. E-mail: chaiyourong1@163.com