

真核生物通用转录因子复习笔记

一、真核生物转录因子概述

在真核生物中，RNA 聚合酶自身无法直接结合到启动子上，需要转录因子 (transcription factors) 的辅助。这些转录因子主要分为两类：

- **通用转录因子 (General Transcription Factors, GTFs)**：它们能够将 RNA 聚合酶引导至正确的启动子位置，但其独立作用时转录效率较低。
- **基因特异性转录因子 (Gene-Specific Transcription Factors)**：也称为激活因子 (activators)，能够高效地激活特定基因的转录。更加精细。

相比之下，原核生物的 RNA 聚合酶可以直接结合到其各自的启动子上。

二、II 类通用转录因子 (Class II GTFs)

II 类通用转录因子与 RNA 聚合酶 II (RNA Polymerase II, Pol II) 协同作用，参与 mRNA 前体的转录。它们与 Pol II 在启动子上共同组装形成**预起始复合物 (Preinitiation Complex, PIC)**。

1. II 类预起始复合物的组成

II 类预起始复合物由 RNA 聚合酶 II 以及**六**个主要的通用转录因子组成：

- TFIIA
- TFIIB
- TFIID
- TFIIE
- TFIIF
- TFIIH (其中 "TFII" 代表转录因子 II 类)

2. II 类预起始复合物的组装顺序

体外实验表明，II 类通用转录因子和 RNA 聚合酶 II 以特定的顺序结合到启动子上，形成逐渐增大的预起始复合物。其大致顺序为：

TFIID (或其核心亚基 TBP) 首先结合到启动子区域，随后 TFIIA (可选) 和 TFIIB 结合，接着是与 TFIIF 结合的 RNA 聚合酶 II，之后 TFIIH 加入，最后 TFIIH 结合形成完整的预起始复合物。DABF2E, H

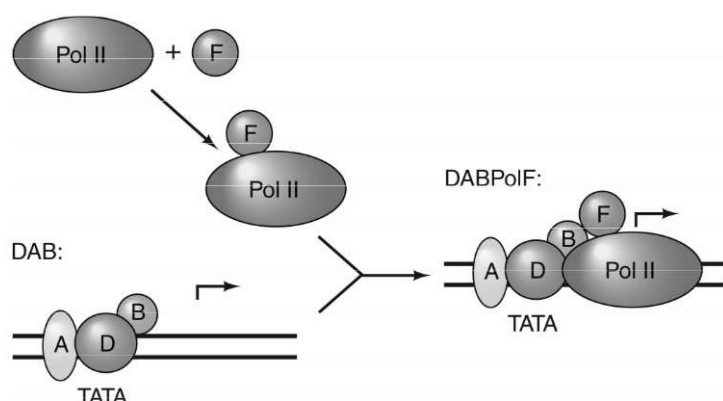


图 11.4 DABPolF 复合物形成的模型。聚合酶 II

3. 预起始复合物组装的研究方法

- **DNA 凝胶迁移率变动分析 (Electrophoretic Mobility Shift Assay, EMSA):** 也称凝胶阻滞分析，用于检测蛋白质与 DNA 的结合。当蛋白质与 DNA 结合后，复合物在凝胶中的迁移速率会变慢。通过观察条带的“超迁移 (Supershift)”现象（加入针对特定蛋白的抗体导致复合物更大，迁移更慢）可以鉴定复合物中的特定蛋白质成分。
- **DNase 足迹实验 (DNase Footprinting):** 用于确定蛋白质在 DNA 上精确的结合位点。蛋白质结合的区域会保护 DNA 不被 DNase I 酶切，从而在电泳图谱上留下一段空白区域，即“足迹”。

三、主要的 II 类通用转录因子详解

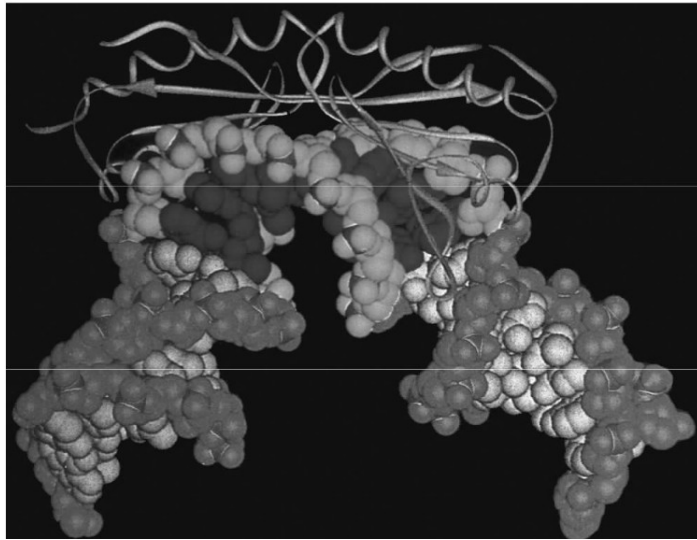
1. TFIID

TFIID 是一个多亚基复合物，主要包含：

- **TATA 盒结合蛋白 (TATA-box-Binding Protein, TBP)**
- 约 13 个 **TBP 相关因子 (TBP-Associated Factors, TAFs)**

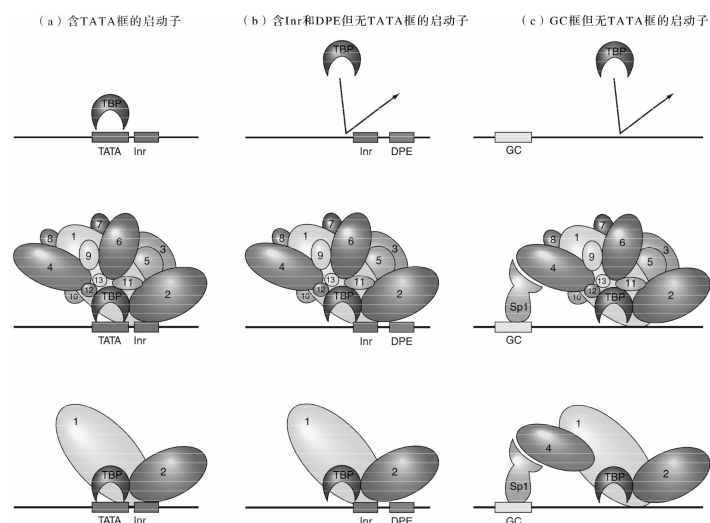
TATA 盒结合蛋白 (TBP)：

- **高度保守性：**TBP 在不同物种间（如酵母、果蝇、植物、人类）的 TATA 盒结合域氨基酸序列同源性超过 80%。
- **结合特性：**TBP 结合到 TATA 盒的**小沟 (minor groove)**。实验通过将 TATA 盒中的碱基替换（如腺嘌呤 A 替换为次黄嘌呤核苷 I，胸腺嘧啶 T 替换为胞嘧啶 C，形成 CICI 盒，改变大沟但不改变小沟结构），证明了 TBP 与小沟的特异性结合。
- **结构特点：**TBP 的晶体结构呈**马鞍状 (saddle-like)**，结合到 DNA 上会使 DNA 发生显著弯曲。TATA 序列中 T-A 碱基对的易变形性对于转录起始很重要。
- **多功能性 (Versatility)：**TBP 不仅参与 Pol II 介导的转录（包括含 TATA 盒和不含 TATA 盒的启动子），还参与 Pol I 和 Pol III 介导的转录（通常不含 TATA 盒），因此被认为是真核生物中一个**通用的转录因子**。它也参与古菌 (archaeal) 的基因转录。**TBP 的突变会影响所有三种 RNA 聚合酶的转录活性。**



TBP 相关因子 (TAFs):

- 命名：核心 TAFs 根据其分子量大小命名，从 TAF1 到 TAF13。
- 主要功能：
 - 与启动子相互作用：TAFs 帮助 TBP 识别和结合不同类型的启动子元件，特别是对于含有起始子 (initiator, Inr) 和下游启动子元件 (downstream promoter element, DPE) 的启动子，TFIID（包含 TAFs）的转录效率显著高于单独的 TBP。**TAF1 和 TAF2** 在识别 Inr 和 DPE 中起关键作用。TAFs 也辅助 TBP 结合到不含 TATA 盒的启动子上。



- 与基因特异性转录因子（激活因子）相互作用：不同的激活因子通过与不同组合的 TAFs 相互作用来增强转录。例如，Sp1 激活因子与 TAF4 相互

作用，而 NTF-1 与 TAF2、TAF1 和 TAF6 相互作用。TAF1 常被认为是 TAFs 复合物的组装核心。

。酶活性：

- TAF1 具有**组蛋白乙酰转移酶** (Histone Acetyltransferase, HAT) 活性，能够乙酰化组蛋白的赖氨酸残基，这种修饰通常与转录激活相关。
- TAF1 还具有**蛋白激酶** (protein kinase) 活性，能够磷酸化自身以及 TFIIF (较小程度上也磷酸化 TFIIA 和 TFIIE)，这些磷酸化可能调节预起始复合物的组装效率。

2. TFIIB

- TFIIB 在 TFIID (和 TFIIA，如果存在) 之后结合到预起始复合物中。
- TFIIB 的结合对于后续 RNA 聚合酶 II-TFIIF 复合物的招募至关重要。
- TFIIB 在确定**转录起始位点**中扮演重要角色。
- 它是一个单亚基蛋白 (约 35kD)。
- TFIIB 包含两个主要结构域：一个负责与 TFIID 结合，另一个负责促进预起始复合物的进一步组装。
- 晶体结构显示 TFIIB 结合到 TBP 的下游部分 (C 端马鞍结构)，而 TFIIA 结合到 TBP 的上游部分 (N 端马鞍结构)。

3. TFIIF

TFIIF 是一个具有多种酶活性的多亚基复合物，在转录起始中发挥关键作用，特别是**启动子清除** (promoter clearance)。

- **蛋白激酶活性**：TFIIH 的一个亚基能够磷酸化 RNA 聚合酶 II 最大亚基的 C 末端结构域 (C-terminal domain, CTD)。未磷酸化的 Pol IIA 形式参与预起始复合物的组装，而磷酸化的 Pol IIO 形式则执行 RNA 链的延伸。**CTD 的磷酸化被认为是将聚合酶从起始模式转变为延伸模式的触发器**，可能通过减弱 Pol II 与 TBP 的结合来实现。TFIIE 可以显著增强 TFIIH 的这种激酶活性。
- **DNA 解旋酶活性 (DNA helicase activity)**：TFIIH 具有 ATP 依赖的 DNA 解旋酶活性，对于转录至关重要。它能够在启动子区域解开 DNA 双螺旋，形成开放的转录泡，从而**促进启动子清除**。

4. TFIIE

- TFIIE 在 TFIIH 之前结合到预起始复合物中。
- 它对于启动子清除是必需的，但对于开放启动子复合物的形成或延伸不是必需的。
- TFIIE 能够募集 TFIIH 并调控其活性，特别是刺激 TFIIH 的激酶活性。

5. TFIIIF

- TFIIIF 通常与 RNA 聚合酶 II 一同结合到 DAB 复合物 (TFIID-TFIIA-TFIIIB 复合物) 上。
- 它有助于稳定 RNA 聚合酶 II 与启动子和 TFIIIB 的结合。
- TAF1 的激酶活性也可以磷酸化 TFIIIF。

四、转录起始、启动子清除和延伸过程

1. **最小起始复合物形成**：TFIID (TBP)、TFIIIB、TFIIIF 和 RNA 聚合酶 II 在起始子区域形成一个最小的起始复合物。

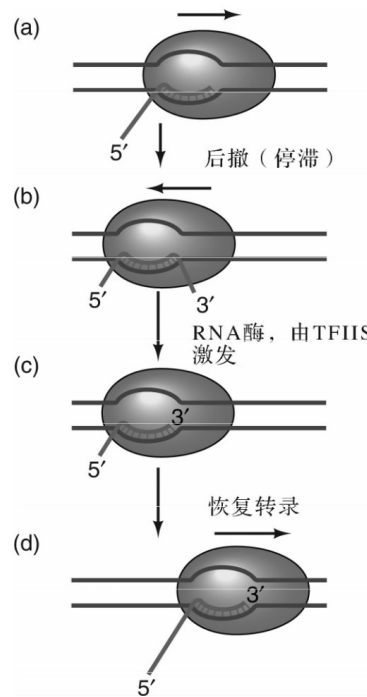
2. **开放复合物形成和早期延伸**：TFIIE 和 TFIIH 的加入，以及 ATP 的水解，使得启动子区域的 DNA 解旋（形成转录泡），RNA 聚合酶 II 的 CTD 部分磷酸化。这些事件允许产生一些短的、流产性转录本 (**abortive transcripts**)，此时转录通常停滞在+10 位置附近。
3. **启动子清除**：在 ATP 供能下，TFIIH 的解旋酶活性进一步解开 DNA，扩大转录泡，释放停滞的 RNA 聚合酶 II，使其能够离开启动子区域，进入延伸阶段。
4. **延伸阶段**：
 - 。 RNA 聚合酶 II 的 CTD 被 **TEFb (P-TEFb)** 等激酶进一步磷酸化。
 - 。 NTPs 作为底物持续供应。
 - 。 TBP 和 TFIIB 通常保留在启动子上，可能用于下一轮转录起始。
 - 。 TFIIE 和 TFIIH 在延伸阶段不再需要，并从延伸复合物上解离下来。

五、转录延伸因子

尽管真核生物的转录调控主要发生在起始阶段，但在延伸阶段也存在一定的调控。RNA 聚合酶在转录过程中并非匀速前进，有时会发生**暂停 (pausing)** 或**停滞 (arrest)**。

TFIIS

- TFIIS 是一个重要的延伸因子，能够通过限制聚合酶的暂停来**促进转录延伸**。
- TFIIS 还能**刺激校对 (proofreading)** 功能，它可能通过激活 RNA 聚合酶自身的 RNase 活性，来切割错配的核苷酸，并替换为正确的核苷酸，从而恢复转录。



六、关键术语总结

- **General transcription factor (通用转录因子)**
- **Preinitiation complex (预起始复合物, PIC)**
- **TBP (TATA-box-binding protein, TATA 盒结合蛋白)**
- **TAFs (TBP-associated factors, TBP 相关因子)**
- **TFIIS (转录延伸因子 S)**
- **Assembly factor (组装因子):** 如 TAF1, 帮助其他因子聚集。
- **Elongation factor (延伸因子):** 如 TFIIS。