

真核转录激活因子 (Transcription Activators in Eukaryotes)

真核细胞中的基因表达调控是一个复杂而精细的过程。通用转录因子 (general transcription factors) 只能启动非常低水平的转录。为了实现更高水平的转录，真核细胞拥有额外的基因特异性转录因子 (gene-specific transcription factors)，即激活因子 (activators)。这些激活因子通过结合到 DNA 元件，特别是增强子 (enhancers) 上，来增强转录。

激活因子的类别 (Categories of Activators)

激活因子可以通过 RNA 聚合酶刺激或抑制转录。它们的结构至少包含两个功能结构域 (functional domains)：

1. **DNA 结合域 (DNA-binding domain)**：负责与 DNA 结合。
2. **转录激活域 (transcription-activating domain)**：负责激活转录。

回忆-酵母双杂。

许多激活因子还拥有一个二聚化结构域 (dimerization domain)，使其能够相互结合，形成同源二聚体 (homodimers)、异源二聚体 (heterodimers)，甚至更高阶的多聚体 (multimers)，如四聚体 (tetramers)。

DNA 结合结构域 (DNA Binding Domains)

蛋白质结构域 (protein domain) 是蛋白质中一个独立折叠并可能具有特定功能的区域。每个 DNA 结合结构域都有一个 DNA 结合模体 (DNA-binding motif)，这是该结构域中具有特定形状、专门用于特异性 DNA 结合的部分。

大多数 DNA 结合模体可归为以下几类：

1. **含锌组件 (Zinc-containing modules)**：至少有三种含锌组件作为 DNA 结合模体发挥作用。它们都使用一个或多个锌离子来形成适当的形状，使得模体中的

α -螺旋能够嵌入 DNA **大沟** (major groove) 并进行特异性接触。

- 。 **1 锌指 (Zinc fingers)** : 例如在 TFIIIA 和 Sp1 中发现。以非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*) 蛋白 Xfin 的锌指为例, 每个**锌离子**由**两个半胱氨酸 (cysteines)** 和**两个组氨酸 (histidines)** 配位, 形成指状结构域。小鼠蛋白 Zif268 含有三个相邻的锌指, 呈 C 形排列, 与 DNA 双螺旋的曲线匹配, 以基本相同的角度接近 DNA。每个锌指与 DNA 结合位点的结合依赖于 α -螺旋中的氨基酸与 DNA 大沟中的碱基之间的直接相互作用。 α -螺旋在接触 DNA 大沟中非常有用。 β -折叠 (β -strand) 则结合 DNA 骨架, 帮助识别螺旋定位。

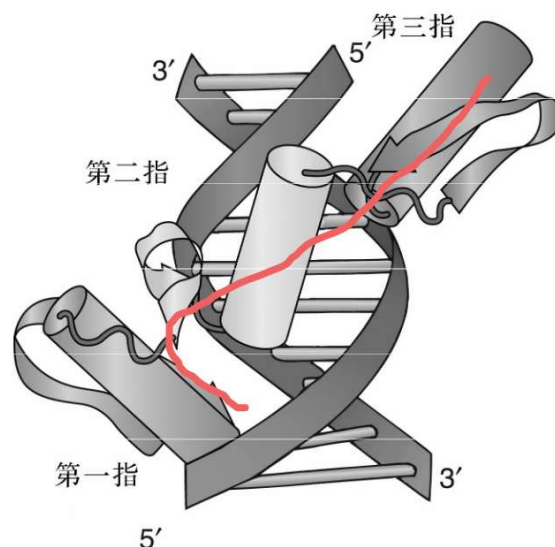
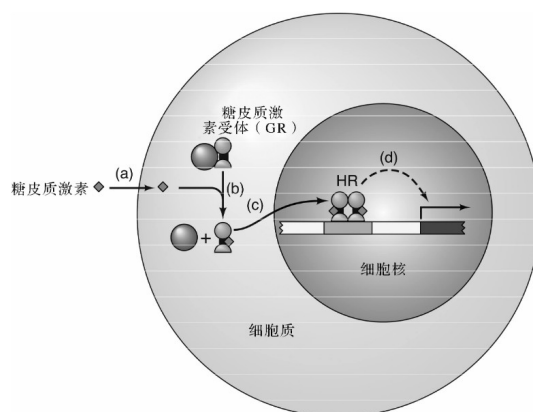


图 12.3 Zif268 的三个锌指结构呈弯曲排列嵌入 DNA 大沟中。立体柱状结构代表 α 螺旋, 带状结构表示 β 折叠。 (Source: Adapted from Pavletich,

像不像 3 个手指捏着 DNA

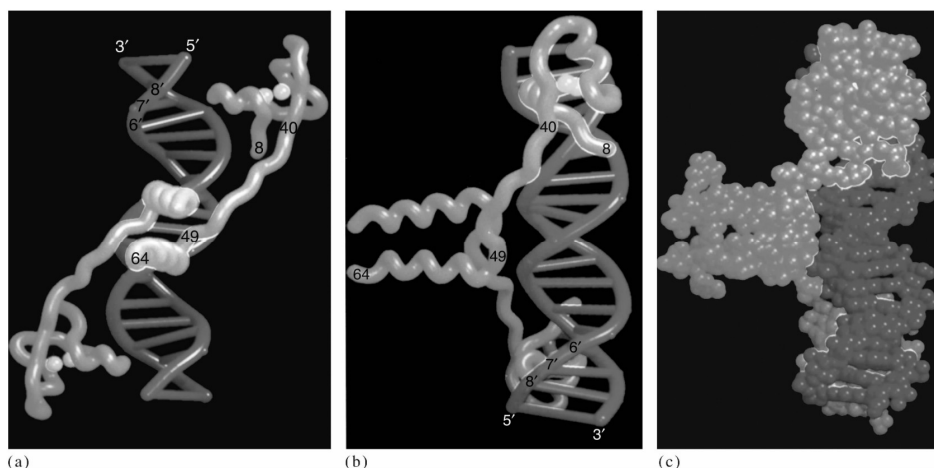
- 。 **2 锌组件 (Zinc modules)** : 发现于糖皮质激素受体 (glucocorticoid receptor) 和其他核受体 (nuclear receptors) 成员中。**核受体**需要与效应分子 (如激素) 结合才能作为激活因子发挥作用, 因此具有激素结合域 (hormone-binding domain)。核受体传统上分为**三类** : I 型受体包括类固醇

激素受体，以**糖皮质激素**受体为代表。糖皮质激素受体与其配体结合后，改变构象，与 hsp90 解离，进入细胞核激活受糖皮质激素反应元件 (GREs) 控制的基因。糖皮质激素受体 DNA 结合域与其 DNA 靶标的相互作用特点包括：结合域二聚化，一个单体与 DNA 特异性接触，另一个非特异性接触。每个结合模体是含**两个锌**离子的锌组件，**每个锌离子与四个半胱氨酸配位**形成指状结构。氨基末端指 (amino-terminal finger) 参与了与 DNA 靶标的大多数相互作用，这些相互作用主要涉及一个 α -螺旋。**II** 型受体，通常由**甲状腺激素**受体代表，留在细胞核内，与视黄酸受体 X (RXR) 形成异源二聚体。在没有配体时抑制转录，结合配体后刺激转录，因此同一蛋白可根据环境条件充当激活子或阻遏子。



- 。3 含**两个锌离子**和**六个半胱氨酸**的组件 (Modules containing two zinc ions and six cysteines)：发现于酵母激活因子 **GAL4** 及其相关蛋白中。GAL4 蛋白是酵母激活因子，控制半乳糖代谢相关基因。这些基因包含 GAL4 靶位点（增强子），称为上游激活序列 (UASg)。GAL4 以二聚体形式结合 UASg。GAL4 的 DNA 结合模体位于蛋白质的前 40 个氨基酸，二聚化模体位于残基 50-94。**DNA 结合模体与锌指相似**，含锌和半胱氨酸残基，但结构不同：**每个模体有六个半胱氨酸**，无组氨酸，**锌离子与半胱氨酸比例为 1:3**。每个单体的一端含六个半胱氨酸配位两个锌离子，形成**双**

金属巯基簇 (bimetal thiolate cluster)。另一端是负责二聚化的 α -螺旋。**二聚化的 α -螺旋直接指向 DNA 小沟** (minor groove)。DNA 识别模体和二聚化模体通过扩展的连接域 (linker domain) 连接。



2. **同源结构域 (Homeodomains, HDs)**：含有约 60 个氨基酸，结构和功能类似于原核蛋白的**螺旋-转角-螺旋** (helix-turn-helix) DNA 结合域。HDs 发现于多种激活因子中，最初在果蝇 (*Drosophila*) 中调控发育的同源盒蛋白 (homeobox proteins) 中发现。每个同源结构域包含三个 α -螺旋，第一和第二个形成螺旋-转角-螺旋模体，第三个作为识别螺旋 (recognition helix)。大多数同源结构域还有一个不在螺旋-转角-螺旋模体中的元素：蛋白质的 N-末端形成一个“手臂”，插入 DNA 的小沟。同源结构域蛋白与 DNA 结合特异性较弱，需要其他蛋白质协助才能高效、专一结合目标序列。

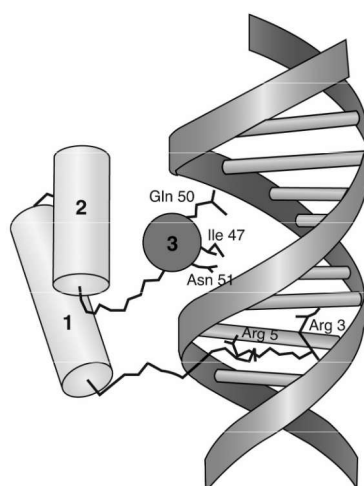
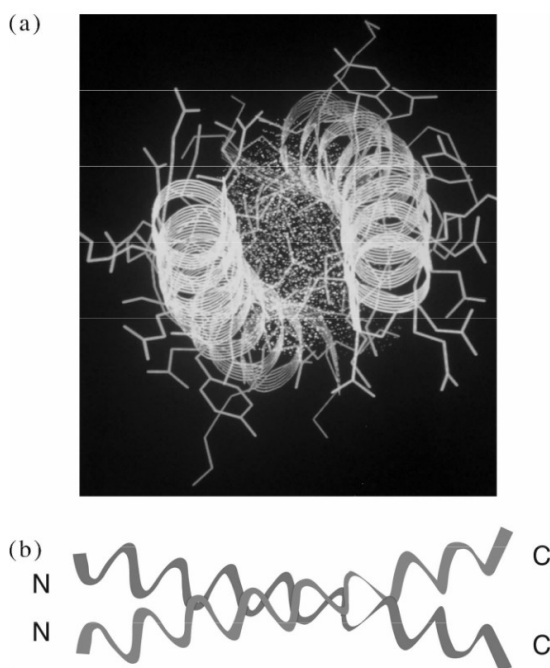


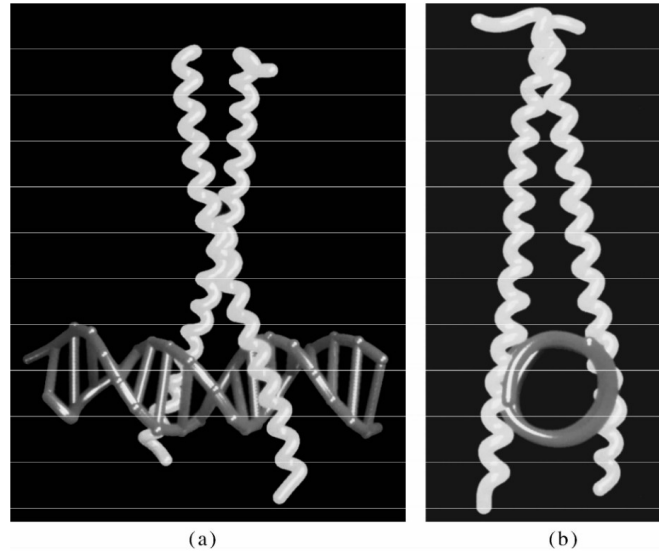
图 12.8 同源异型域-DNA 复合体结构图。标有数字的

3. **bZIP (碱性亮氨酸拉链)** 和 **bHLH (碱性螺旋环螺旋)** 模体 (**bZIP and bHLH motifs**) : 高度碱性 DNA 结合模体连接到一个二聚化模体, 如亮氨酸拉链 (leucine zippers, Zip) 或螺旋环螺旋 (helix-loop-helix, HLH) 模体, 它们结合了 DNA 结合和二聚化两种功能。bZIP 和 bHLH 部分是二聚化模体。“b”指名称中的碱性区域 (basic region), 它构成了 DNA 结合模体的大部分。

- 。 **bZIP 结构域**: 由两个多肽链组成, 每个含有一半的拉链。 α -螺旋中的亮氨酸 (或其他疏水性氨基酸) 残基间隔七个氨基酸, 都位于螺旋的同一侧。两个螺旋像拉链的两半部分一样相互作用。
- 。 **bHLH 结构域**: 晶体结构类似于 bZIP 结构域-DNA 复合物。

以上 DNA 结合结构域分类并非详尽无遗, 已鉴定出一些不属于这些类别的转录因子。





转录激活结构域 (Transcription-Activating Domains)

大多数激活因子含有一个或多个转录激活结构域。目前，这些结构域主要分为三类：

1. **酸性域 (Acidic domains)**：例如酵母激活因子 GAL4 拥有一个 49 个氨基酸的结构域，其中 11 个是酸性氨基酸。
2. **富谷氨酰胺域 (Glutamine-rich domains)**：例如激活因子 Sp1 有两个这样的结构域，含约 25% 的谷氨酰胺。其中一个在 143 个氨基酸跨度内有 39 个谷氨酰胺。Sp1 还有其他不属于这三类的激活域。
3. **富脯氨酸域 (Proline-rich domains)**：例如激活因子 CTF 有一个 84 个氨基酸的结构域，其中 19 个是脯氨酸。

转录激活结构域的描述必然模糊 (nebulous)，因为它们本身定义不清 (ill-defined)。因此，转录激活结构域的结构和功能难以得出结论(目前)。

激活因子结构域的独立性 (Independence of the Domains of Activators)

激活因子蛋白的 DNA 结合结构域和转录激活结构域是独立模块。可以将一个蛋白的 DNA 结合域与另一个蛋白的转录激活域结合，形成的杂交蛋白仍能作为激活因子发

挥功能。

激活因子的功能 (Functions of Activators)

原核生物和真核生物都使用激活因子启动高水平转录，这被称为招募作用 (recruitment)。招募作用导致通用转录因子或 RNA 聚合酶全酶 (RNA polymerase holoenzyme) 与启动子紧密结合。

激活因子间的相互作用 (Interaction among Activators)

激活因子在激活基因时通常相互作用。这可以通过两种方式发生：

1. **二聚化 (Dimerization)**：单个因子相互作用形成蛋白质二聚体，促进结合单个 DNA 靶位点。二聚化增加了激活子与其 DNA 靶标的亲和力。有些形成同源二聚体 (homodimers)，如 GAL4；有些作为异源二聚体 (heterodimers) 功能更佳，如甲状腺激素受体（与 RXR 形成）。
2. **远程作用 (Action at a distance)**：结合到不同 DNA 靶位点的特异性因子协作激活基因。增强子可以刺激转录，即使它们位于远离启动子的位置。这种远程作用通常通过 DNA 在两个远程位点之间的环化 (looping out) 来实现，使 DNA 结合蛋白能够相互作用。环化假说 (looping hypothesis) 认为增强子和启动子只需相对靠近，不一定在同一分子上。其核心是远程位点结合蛋白之间的相互作用，而非环化本身。

许多基因拥有多个增强子 (Multiple Enhancers)，以便对多种刺激做出反应。例如，金属硫蛋白 (metallothionein) 基因 可以被多种因子激活。

增强体 (Enhanceosome) 是一个核蛋白复合体 (DNA+protein complex)，包含结合到增强子上的激活因子集合，以刺激转录。典型的增强体涉及 IFN- β (β -干扰素) 增强子，其结构包含八个多肽链协同结合到约 55 bp 的 DNA 片段上。

隔离子 (Insulators)

增强子可以远距离作用于启动子。为了防止附近增强子不适当激活不相关基因，高等生物使用 DNA 元件称为隔离子。隔离子有两种功能：**增强子屏蔽** (enhancer-blocking) 和**阻碍物 (barrier) 活动**。增强子屏蔽指阻止增强子的转录刺激效应。阻碍物指**阻止凝缩染色质侵入目标基因**，从而防止基因沉默 (gene silencing)。隔离子作为增强子屏蔽活性的机制可能有滑动模型 (Sliding model) 和环化模型 (Looping model)。

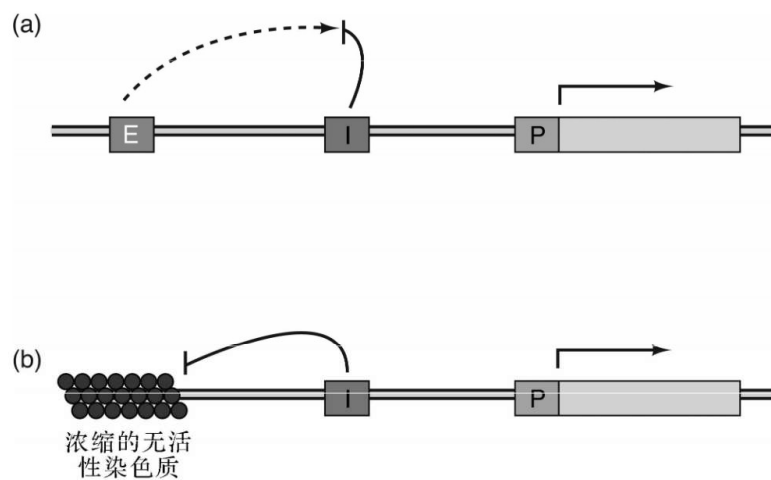


图 12.28 绝缘子的功能。(a) 增强子的屏障活性。在启动子和增强子之间的绝缘子阻止启动子感受增强子的转录激活作用。(b) 阻碍物活性。在启动子和浓缩、阻遏状态的染色质之间的绝缘子可阻止启动子受浓缩染色质（由沉默子诱导）对基因转录的阻遏作用（实际上是阻止浓缩染色质侵蚀启动子）。

转录因子的调控 (Regulation of Transcription Factors)

转录因子（激活因子）可以通过多种方式进行调控：

- 结合或不结合配体可以改变核受体在转录阻遏子和激活子之间的活性。例如 II 型受体，在无配体时抑制转录，有配体时刺激转录。
- 磷酸化 (Phosphorylation) 可以使激活因子与辅激活因子 (coactivators) 相互作用，从而刺激转录。
- 泛素化 (Ubiquitination)：泛素 (ubiquitin) 多肽链附加到转录因子上可以标记其

降解，或者附加单泛素 (mono-ubiquitin) 可以刺激转录。

- SUMO 化 (SUMOylation) : SUMO (Small Ubiquitin-related Modifier) 多肽链附加到转录因子上可以将其定位到细胞核中活性不能表达的区域。
- 乙酰化 (Acetylation) 可以调节转录因子活性。
- 甲基化 (Methylation) 可以调节转录因子活性。

信号转导通路 (Signal Transduction Pathways)

信号转导通路在转录控制中发挥重要作用，它们将细胞外信号传递到细胞内。提到了三种较清晰的信号转导通路：蛋白激酶 A 通路 (PKA pathway)、Ras-Raf 通路和核受体通路。PKA 通路和 Ras-Raf 通路 heavily rely on 蛋白质磷酸化级联反应 (phosphorylation cascades) 来激活通路成员并最终激活转录。例如 Ras-Raf 通路 (MAPK)，信号传递过程为：生长因子 (Growth factor) -- 受体 (receptor) -- GRB2 -- Sos -- Ras -- Raf -- MEK -- ERK -- Elk-1 -- 转录增强 -- 更多细胞分裂。此过程 heavily involves 磷酸化。