

酵母菌细胞完整性信号途径及其上游调控因子的研究*

何秀萍 张博润**

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

Studies on Cell Integrity Pathway and its Upstream Regulation Factors in Yeast

He Xiuping Zhang Borun

(*Institute of Microbiology, Chinese Academy of Science, Beijing 100080, China*)

关键词: 酵母菌, 信号途径, 调控因子

中图分类号: Q786 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2002)03-0384-04

酵母菌是一类单细胞低等真核生物,其细胞壁是维持正常生命活动所必需的亚细胞结构,在决定细胞形态、维持细胞结构完整性、细胞的存活及胞内生理功能等方面起着重要的作用。细胞壁组成成分的合成、降解及结构的组装均受到严格的调控,既与细胞周期有关,又受外界环境条件的影响。它直接与外界环境相接触,感应环境条件的改变,从而使细胞内发生一系列适应环境变化的生物学过程。这种感应过程是通过细胞内外信号的传递实现的。酵母细胞中存在着多种信号传递系统,其中有丝分裂原激活蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK)级联体系能够对外界信号做出反应,调节细胞生长、分化及承受外界压力的水平^[1,2]。在酿酒酵母细胞中,有四种 MAPK 途径可以对胞外不同信号作出应答,分别调节信息素激活的细胞交配过程;由细胞饥饿激活,诱导细胞侵入到培养基中的生长过程;高渗透压诱导细胞甘油水平提高途径(HOG)及由低渗透压或高温诱导的蛋白激酶 C 途径^[2]。其中由蛋白激酶 C(Pkc1p)介导的 MAPK 级联系统在维持细胞壁完整性方面起着重要的作用,因此被称为酵母菌细胞完整性信号途径^[1,3]。

本文对酵母菌细胞完整性信号途径及其上游调控因子的研究进展作一简要综述。

1 PKC1-MAPK 级联系统

该级联系统的核心是由蛋白激酶 C 的磷酸化触发了下游一系列的磷酸化过程,使该系统处于激活状态,进而介导细胞内一系列生物学变化^[1]。它由有丝分裂原激活蛋白级联激酶 Bck1p、Mkk1p 和 Mkk2p 及有丝分裂原激活蛋白激酶 Slk2p 组成^[1]。该途径的遗传缺陷会产生多种表型:如在较高温度下(37°C)或低渗透环境中,存在细胞裂解的趋势,这种表型可以被渗透稳定剂修复,有的表现出对咖啡因、Staurosporine 和 Calcoflour white 的敏感性,由于这种敏感性可能与细胞壁中碳水化合物含量的改变有关,因此可

* 国家自然科学基金资助项目(39970010)

** 联系人

作者简介:何秀萍(1966-),女,河北省蔚县人,中国科学院微生物研究所助理研究员,博士生。主要从事酵母分子遗传与育种研究。

收稿日期 2001-06-16,修回日期 2001-08-13

以认为该信号传递途径的主要功能是通过调控细胞壁生物合成而维持细胞完整性。研究表明多个参与细胞壁生物合成的基因的转录与上述信号传递途径有关^[4-6]。当细胞受到外界环境的挑战,细胞壁受到损伤时,该信号传递途径被强烈激活,如高温、生长环境中的硝酸盐、咖啡因均可刺激该途径的磷酸化作用。但 PKC1-MAPK 途径的高度激活也会使细胞产生严重的生长缺陷,因此该途径的激活水平是受到严格控制的^[7]。

2 细胞完整性信号途径上游调控元件

2.1 Rho1p

酵母菌中存在着小分子 GTP 结合蛋白家族,它包括 Rho1p、Rho2p、Rho3p、Rho4p 和 Cdc42p。它们通过与 GTP 结合而被激活,当与 GDP 结合时即失去活性。其中的 Rho1p 即是 1,3-β-葡聚糖合成酶复合体的内源调控亚基^[8],以 GTP 结合形式提高该酶的活性,又能与 Pkc1p 结合使其激活,最终导致 MAPK 级联系统磷酸化水平的提高^[9],因此它是激活 Pkc1p 的上游组份中最近的组份之一。对 *rho1Δ* 突变株的研究表明,热冲击、硝酸盐和咖啡因处理对细胞完整性途径的激活均需要功能性 Rho1p 蛋白的存在^[10]。Bickle 等人的研究表明 GTP/GDP 交换因子 GEF 参与了对 Rho1p 活性的正向调节^[11],在酵母菌中,GEF 有两种形式,分别由 *ROM1* 和 *ROM2* 基因编码。1996 年 Ozaki 等人分离到 *ROM1* 和 *ROM2* 基因,相对应突变株的研究发现在信号传递途径中起主要作用的是 Rom2p^[12]。Schmidt 等人的研究表明 Rom2p 被 *TOR2* 基因编码的磷脂酰肌醇激酶所激活^[13],表明磷脂代谢与细胞壁完整性之间有关联。另外遗传学证据还表明由 *STT4* 编码的磷脂酰肌醇-4-激酶也可能是 Pkc1p 的上游组份,但它的作用及在信号传递途径中的位置目前还不清楚。

由 *BEM2* 和 *SAC7* 编码的 GTP 酶激活蛋白(GAPs)对 Rho1p 活性有负调控作用^[13,14]。Victor 等人的研究表明 *BEM2* 编码的 GTP 酶激活蛋白不但参与控制 Rho1p 的活性,而且与 Pho1p 在细胞内的定位有关^[15]。Bem2p 功能的缺失,使活性形式 Pho1p 一直占据优势,导致葡聚糖的大量合成形成异常细胞壁。Bag7p 与 Sac7p 有很高的同源性,也含有 Pho1p-GTP 酶激活蛋白结构域^[13]。对 *bag7Δ*、*bem2Δ* 和 *sac7Δ* 突变株中 Slt2p 磷酸化水平的研究发现 Bem2p 和 Sac7p 功能的缺失,均导致 Slt2p 磷酸化水平的明显提高,所不同的是 Bem2p 缺陷产生的激活作用只在 30℃ 表现。Bag7p 的缺陷对 Slt2p 的磷酸化只有轻微的激活,而且仅在 24℃ 表现。上述结果说明虽然 Bag7p、Bem2p 和 Sac7p 均是 Rho1p 的负调控因子,但它们作用的机制可能是不同的^[10]。另外称为 Rdi 的 Rho1p 抑制子也调节 Rho1p 的活性。通常 Rho1p 位于细胞内靠近细胞膜的位置,因此它还不能直接感应到细胞壁的变化,可能还有其它的上游组份对细胞表面缺陷做出反应,在细胞壁和细胞膜之间传递信号。

2.2 Slg1p/Hcs77p/Wsc1p

Swi4p 蛋白是与酵母菌细胞周期有关的一个关键的转录因子,Gray 在筛选 *swi4^{ts}/swi4Δ* 二倍体突变株的多拷贝抑制子时,获得 *HCS77* 基因,并发现它可能是 PKC1-MAPK 的上游调控因子^[16]。几乎同时 Verna 等在筛选 *iralΔ* 突变株的热休克敏感性抑制子时,分离到三个高度同源的基因 *WSC1*、*WSC2* 和 *WSC3*^[17]。对这些基因功能的研究表明它们可能是细胞完整性信号途径中的成分,负责对热冲击的应答,其中 Wsc1p 是主要起作用的蛋白。因为 *WSC1* 的缺失产生与细胞完整性信号途径突变体相同的细胞自溶表型,而 *WSC2* 和 *WSC3* 的缺失则没有产生与野生菌株不同的表型。进一步的研究发现 *PKC1* 基因的高表达可以抑制 *usc1 usc3Δ* 突变株和 *usc1 usc2 usc3Δ* 突变株的细胞自溶表型,而 *WSC1* 或 *WSC2* 的高表达则不能抑制 *pkc1Δ* 或 *bck1Δ* 的细胞自溶,说明 WSC 编码蛋白的功能在 PKC1 的上游,它是激活 PKC1-MAPK 途径所必需的。这与 Gray 等对 *HCS77* 的研究结果相一致。1998 年 Jacoby 等报道热冲击通过 Slg1p 使 MAP 激酶 Slt2p 发生磷酸化,从而激活 MAPK 激酶途径,说明 Slg2p 与 Pkc1p 途径之间有关联^[18]。同源性比较发现上述三个基因(*SLG1*、*WSC1* 和 *HCS77*)是相同的,编码的蛋白属于 I 型跨膜蛋白,氨基端有靶点在细胞表面的信号序列,羧基端有可能的跨膜蛋白区域。Verna 等的研究表明该蛋白

确实位于细胞质膜上,暴露在外蛋白部分含有糖基化的细胞表面蛋白特有的富含丝氨酸和苏氨酸的元件,因此推测该区域就是与细胞壁发生联系,并且对细胞外各种环境压力作出应答的部位。这种应答导致蛋白质构象的改变,从而将细胞外信号传入细胞内^[17]。但 Wsc 蛋白激活 Pkc1p 的机制还不清楚。推测 Wsc1p 可能调节 Rho1p 活性,从而对其下游靶点和 Pkc1p 产生影响。

2.3 Mid2p

1994年 Ono 等分离到 *MID2* 基因(Mating Induced Death),对推测的氨基酸序列分析表明它可能属于 I 型跨膜蛋白, N 端有分泌信号序列,紧接着是约 200 个氨基酸中含 62% 丝氨酸和苏氨酸残基的片段,靠近 C 端分别是单一的跨膜区域和富含天冬氨酸的短的带电荷区域,很象钙离子结合区域^[19]。近年的研究表明 Mid2p 是细胞完整性信号途径的细胞表面感应子,它含有一个大的高度 O-甘露聚糖化的富含丝氨酸和苏氨酸的胞外区域,该区域对于 Mid2p 的活性是至关重要的^[20,21]。O-交联的甘露糖基化使 Mid2p 胞外区域形成延长的刚性构象,成为细胞膜和细胞壁之间的桥梁,它可以对细胞壁状态做出反应,进而启动细胞内一系列变化。

Rho1p 有可能参与了 Mid2p 到 Pkc1p 的信号传递^[20,21]。1999年 Geoffroy 等报道了 *RGD1* (Related GAP Domain)与 *MID2* 和 *SLG2* 之间有相互作用, Rgd1p 由 666 个氨基酸组成,其羧基端区域类似于酵母菌和人的 Rho/Rac GTP 酶激活蛋白(GAP)^[23]。同源性比较发现 Rgd1p 的羧基端与酿酒酵母的 Bem2p 和 Bem3p 的羧基端有很高的同源性,预示 Rgd1p 可能也具有 GAP 活性。最近 Philip 等的研究结果证实 Wsc1p 和 Mid2p 均为酵母菌细胞壁完整性信号途径的细胞表面感应子,它们都是通过 GTP 交换因子 Rom2 发生作用的^[24]。这些研究结果表明 Rho1p 确实参与了细胞表面感应子与细胞完整性途径之间的信号传递。

MTL1 是酿酒酵母中唯一一个编码的蛋白序列与 Mid2p 有很高同源性的基因,初步的研究表明它与 Mid2p 具有相同的功能,但 *mtl1Δ* 突变株的某些表型与 *mid2Δ* 突变株不同^[21]。Mtl1p 是否对不同于 Mid2p 的环境胁迫做出应答或将信号传递于不同于 Mid2p 的途径,还有待于进一步研究。

Mid2p 和 Wsc1p 均为酵母菌细胞壁完整性信号途径上游调控元件,能够感应细胞壁组成及结构的改变。对 *MID2* 和 *WSC1* 及其相应突变株的研究发现它们具有功能上的重叠性。可能的情况是在非胁迫条件下, Mid2p 的活性可能很低,而由 Wsc1p 及其同源物负责 Pkc1p 的激活;但在细胞壁受胁迫条件下, Mid2p 可以感应细胞壁压力,直接激活细胞完整性途径以抵抗外界压力对细胞产生的不利影响,缺失 Mid2p, 细胞壁完整性途径将不做出应答,而继续以适应于低或无压力条件下的水平发生作用。这个模型机制解释了为什么 *mid2Δ* 突变株的某些表型不同于其他的细胞壁完整性途径突变株。

3 小结

综上所述,有丝分裂原激活蛋白激酶系统参与了酵母菌多方面的生物学过程,其中由 Wsc1p 和 Mid2p 感应环境条件对细胞表面的影响,从而调节 PKC1-MAPK 途径活性的信号传递途径与细胞的生长、交配、细胞壁代谢及形态建成有密切关系,但该途径的详细调控机制目前尚不清楚。在所有的真核生物中, MAP 激酶系统是高度保守的,而且细胞生长与分化的调节失控是许多癌症发生的主要原因,酿酒酵母是目前遗传背景了解最清楚的真核生物,因此成为阐述该途径分子机制的重要模式系统。对上述信号途径调控机制的阐明将为高等真核生物信号传导与细胞生长分化调控机制的研究提供重要的理论依据。

参 考 文 献

- [1] Frans M F. *Yeast*, 1994, **10** :851 ~ 869.
- [2] Bee N L, Elaine A E. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96** (22) :12679 ~ 12684.
- [3] Davenport K R, Sohaskey M, Kamada Y, et al. *J Biol Chem*, 1995, **270** :30157 ~ 30161.
- [4] Igual J C. *EMBO J*, 1996, **15** :5001 ~ 5013.
- [5] Zhao C. *Mol Cell Biol*, 1998, **18** :1013 ~ 1022. © 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

- [6] Un Sung Jung. *Molecular Microbiol* ,1999 **34** (5) :1049 ~ 1057 .
- [7] Watanabe M ,Chem C Y ,Levin D E. *J Biol Chem* ,1994 **269** :16829 ~ 16836 .
- [8] Qadota H ,Python C P ,Inoue S B ,et al. *Science* ,1996 **272** :279 ~ 281 .
- [9] Nonaka H ,Tanaka K ,Hirano H. et al. *EMBO J* ,1995 **14** :5931 ~ 5938 .
- [10] Martin H ,Rodriguez-pachon J M ,Ruiz C ,et al. *J Biol Chem* 2000 **275** (2) :1511 ~ 1519 .
- [11] Bickle M ,Delly P A ,Schmidt A ,et al. *EMBO J* ,1998 **17** :2235 ~ 2245 .
- [12] Ozaki K ,Tanaka K ,Imamura H ,et al. *EMBO J* ,1996 **15** :2196 ~ 2207 .
- [13] Schmidt A ,Bickle M ,Beck T ,et al. *Cell* ,1997 **88** :531 ~ 542 .
- [14] Peterson J ,Zheng Y ,Bender L ,et al. *J Cell Biol* ,1994 **127** :1395 ~ 1406 .
- [15] Cid V J ,Cenasmor R ,Sanchez M ,et al. *Microbiol* ,1998 **144** :25 ~ 36 .
- [16] Gray J V ,Ogas J P ,Kamada Y ,et al. *EMBO J* ,1997 **16** :4924 ~ 4937 .
- [17] Verna J ,Lodder A ,Lee K ,et al. *Proc Natl Acad Sci USA* ,1997 **94** :13804 ~ 13809 .
- [18] Jacoby J J ,Nilius S M ,Heinisch J J. *Mol Gen Genet* ,1998 **258** :148 ~ 155 .
- [19] Onto T ,Suzuki Y ,Anraku Y ,et al. *Gene* ,1994 **151** :203 ~ 208 .
- [20] Ketela T ,Green R ,Bussey H. *J Bacteriol* ,1999 **181** :3330 ~ 3340 .
- [21] Mathumathi R ,Bevin P ,Benjamin M B. *Mol Cell Biol* ,1999 **19** (6) :3969 ~ 3976 .
- [22] Alberts A N S ,Bouquin N ,Johnston L H ,et al. *J Biol Chem* ,1998 **273** :8616 ~ 8622 .
- [23] Geoffroy D B ,Christophe B ,Carine M ,et al. *Yeast* ,1999 **15** :1719 ~ 1731 .
- [24] Philip B ,Levin D E. *Mol Cell Biol* 2001 **21** (1) :271 ~ 280 .

《微生物学报》入选“中国科技期刊方阵”

近期 ,中国科学技术部公布了我国期刊进入“中国期刊方阵”的名单。全国共有 716 种期刊进入了“中国期刊方阵” ,其中“双高”期刊 40 种 ;“双奖”期刊 58 种 ;“双百”期刊 122 种 ;“双效”期刊 496 种。《微生物学报》入选“双百”期刊方阵。

“中国期刊方阵”的建设是现阶段我国期刊出版事业发展的需要 ,是推进新世纪我国期刊发展的战略性举措 ,它将促进我国期刊“精品战略”的实施。

《微生物学报》编委会感谢各级领导的关心 ,感谢广大作者、读者对本刊办刊工作的大力支持。我们将更好地贯彻国家有关办刊工作的各项政策、法规和法令 ,努力适应国家改革开放的需要 ,为我国的经济建设服务 ,为使期刊尽快走向世界做出积极贡献。

重 要 声 明

为适应我国信息化建设需要 ,扩大作者学术交流渠道 ,本刊已加入《中国学术期刊(光盘版)》和“中国期刊网” ,2002 年本刊加入“万方数据库—数字化期刊群” 。如作者不同意将文章编入该数据库 ,请在来稿时声明 ,本刊将做适当处理。

从 2000 年开始 ,凡被本刊录用的稿件 ,编辑部将及时发出录用通知 ;对未被录用的稿件 ,将及时函告 ,并说明原因 ,稿件一律不退 ,请作者自留底稿。

《微生物学报》编辑部