

具有真细菌和真核生物融合特征的古生菌转录系统

杨 洋 黄玉屏 沈 萍*

(武汉大学生命科学院生物技术系 武汉 430072)

摘 要 :古生菌是一类区别于真细菌和真核生物的第三域生命形式 ,转录是生物体遗传信息传递系统中的一个中心环节。近年来研究结果表明 ,古生菌的转录系统具有真细菌和真核生物的融合特征 :古生菌的基本转录装置包括 RNA 聚合酶、基本转录因子、启动子元件等与真核生物相似 ,而古生菌的转录调控机制却更加类似于真细菌 ,在古生菌中发现并鉴定了许多类似于真细菌的转录调控蛋白。另外古生菌还具有某些独特的转录调控方式。

关键词 :古生菌 ,真细菌 ,真核生物 ,转录

中图分类号 :Q933 文献标识码 :A 文章编号 :1001-6209 (2004) 03-0402-04

20 世纪 70 年代末 ,美国科学家 Carl Woese 以 rRNA 作为生命进化的分子指征 ,对生命的进化和系统发育进行了开拓性研究。他用寡核苷酸序列编目分析法对 90 多株细菌的 16S rRNA 序列进行了比较和分析 ,发现产甲烷细菌、极端嗜盐菌、极端嗜酸嗜热菌等极端环境微生物具有既不同于其它细菌也不同于真核生物的序列特征 ,而它们之间则具有许多共同的序列特征。因此 Woese 首先提出了生命的第三种形式——古生菌 (Archaea) ,他将地球上的生物划分为三域 (Domain) :真细菌 (Bacteria)、古生菌 (Archaea) 和真核生物 (Eukarya) ,并且以此为基础构建了三域生物的系统发育树^[1,2]。古生菌的研究对于阐明生命的起源及其进化发育机制以及挖掘和利用新的微生物资源都具有重要的理论意义和应用价值。

近年来 ,对于古生菌 DNA 复制、转录和翻译等遗传信息传递机制的研究成为古生菌分子生物学和生物系统进化研究的一个热点。转录是生物体遗传信息传递系统中的一个中心环节 ,随着越来越多的古生菌全基因组序列的测定和体外转录系统的建立 ,人们在分子水平上对于古生菌的转录基本机制及其调控有了更加全面深入的认识。近年来的研究结果表明 ,古生菌的转录系统具有真细菌和真核生物的融合特征 ,它既具有类似于真核生物的基本转录装置 ,又具有类似于真细菌的转录调控机制^[3] ,同时还具有某些独特的转录调控方式。

1 古生菌的基本转录装置类似于真核生物

基本转录装置包括 RNA 聚合酶、基本转录因子、启动子元件等。尽管古生菌和真细菌同属于原核生物 ,在细胞形态、细胞分裂方式、代谢途径等方面类似于真细菌 ,但是古生菌的基本转录装置却与真核生物类似。

1.1 RNA 聚合酶 (RNAP)

古生菌具有单一的依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶 (RNAP) ,它是含有 10 ~ 14 个亚基的多组分酶 ,其亚基的成分复杂性远远高于真细菌的 RNAP (仅有三个不同的亚基)。古生菌 RNAP 的绝大部分亚基都与真核生物 RNAP 的亚基高度同源^[4]。近年来有关古生菌 RNAP 亚基的三维结构和亚基之间相互作用的研究更加证实了古生菌 RNAP 与真核生物相类似。Eloranta 等人对古生菌詹氏甲烷球菌 (*Methanococcus jannaschii*) 的 RNAP 亚基之间的相互作用进行了研究 ,发现古生菌的 RNAP D 亚基能够与真核生物酿酒酵母的 RPB11 亚基相互作用 (RPB RNA 聚合酶亚基) ,古生菌 RNAP D-L-N 三亚基形成的复合体类似于真核生物 RNAP II 的 RPB3-RPB11-RPB10 复合体^[5] ,这表明古生菌和真核生物的 RNAP 在亚基的排列结构和亚基蛋白质相互作用方面具有高度的相似性和保守性。2000 年 Werner 等^[6]的研究表明古生菌 RNAP F 和 P 亚基分别与真核生物 RPB4 和 RPB12 具有同源性 ,体外蛋白质相互作用研究发现来源于詹氏甲烷球菌 (*M. jannaschii*) 的 RNAP F 亚基能够与人的 RPB7 亚基相互作用形成杂合复合体 (Hybrid complex)。Todone 等^[7]对詹氏甲烷球菌中 RNA 聚合酶 E 亚基和 F 亚基形成的复合体的晶体结构进行了研究 ,该复合体在结构和亚基作用方面都类似于真核生物 RNAP II 的 RPB4/RPB7 复合体。

1.2 基本转录因子 (Basic transcriptional factor)

古生菌的两种基本转录因子是 TATA box 结合蛋白 (TBP) 和转录因子 II (TFIIB)。绝大多数古生菌基因的转录需要 RNAP、TBP、TFIIB 3 种蛋白质相互作用形成转录起始复合物。

古生菌的 TBP 在结构和功能上类似于真核生物的 TATA box 结合蛋白 (TBP) ,负责识别和结合古生菌启动子中高度保守的 TATA box 区域。古生菌热球菌属 (*Pyrococcus*) TBP 与 DNA 作用的氨基酸序列和真核生物 TBP 中与 DNA 相互作用

基金项目 :国家自然科学基金 (39770009 29973030)

* 通讯作者。Tel 86-27-87648533 E-mail : pingshen@whu.edu.cn

作者简介 :杨 洋 (1974 -) 男 ,博士 ,从事微生物遗传学研究。E-mail : yy74@sina.com

收稿日期 :2003-07-22 ,修回日期 :2003-11-20

的氨基酸序列基本一致^[8,9]。Wettach 等^[10]的研究表明在古生菌体外转录系统中用人或酵母的 TBP 代替古生菌 TBP,古生菌基因仍然能够正常转录,这说明古生菌的 TBP 与真核生物具有较高的同源性,结构与功能都类似。Matsuda 等^[11,12]从嗜热古生菌(*Pyrococcus kodakaraensis* KOD1)中分离得到了一种能与 TBP 相互作用的蛋白 TIP,研究表明 TIP 能够抑制 TBP 和古生菌启动子 TATA box 的结合,因此 TIP 可能是一种转录负调控因子。

古生菌的 TFB 类似于真核生物的转录因子 TFIIB,它在转录起始中起多种关键作用。首先 TFB 能够与 TBP-DNA 复合物结合,并且特异性地识别和作用于古生菌启动子 BRE 元件(TFIIB-responsive element)。TFB 的 C-末端能够与 BRE 元件特异性结合,决定了古生菌转录起始复合体的方向正确性,即 TFB 和 TBP 的 N-末端面向转录起始位点^[13]。其次,TFB 的 N-末端结构域存在一个锌带的基序结构(Zinc ribbon motif)和真核生物的 TFIIB 一样,古生菌 TFB 的 N-末端结构域对于 RNAP 与启动子的结合是必需的功能区^[14]。在建立了稳定的转录起始复合体之后,TFB 还能够协助 RNAP 脱离转录起始复合体和启动子,继续沿着模板 DNA 延伸,转录 mRNA^[3]。

1.3 启动子(Promoter)

古生菌的启动子结构与真核生物 RNA 聚合酶 II 型启动子相似。古生菌基因转录起始位点上游 30 bp 左右和转录起始位点自身附近的核苷酸对转录非常重要,这两个区域和真核生物 RNA 聚合酶 II 型启动子的 TATA box 与转录起始元件(Initiator element)具有同源性。TATA box 是古生菌主要的基本启动子元件,它对于编码 rRNA 和 tRNA 以及各种蛋白质的基因的转录是重要的功能元件^[15,16]。TATA box 上游一段富含嘌呤的序列对于启动子的强度也很重要,DNA-蛋白质相互作用的研究结果表明该序列能够特异性地被 TFB 识别和结合,因此该区段被称为 TFB 识别元件(TFB-responsive element, BRE)^[17]。

本实验室从嗜盐古生菌盐生盐杆菌的染色体 DNA 中分离得到了许多同时具有真细菌、古生菌和真核生物启动子典型特征序列的 DNA 片段,并从结构和功能上证实了来源于古生菌的 DNA 片段具有两域或三域生物的启动子特征^[18]。另外本实验室还从另一株嗜盐古生菌——盐生盐杆菌 J7 的内源质粒 DNA pHH205 中分离得到了具有真细菌启动子活性的 DNA 片段,功能研究证实了该片段在真细菌的模式生物——大肠杆菌中具有启动子活性^[19]。本实验室的上述研究结果不仅从启动子的角度为揭示古生菌融合特征之谜提供了新的证据,而且对于深入认识三域系统发育树和阐明古生菌与其它两域生命之间的进化关系具有一定的理论意义。

2 古生菌的转录调控机制类似于真细菌

近年来的研究结果表明,与古生菌的基本转录装置类似于真核生物相反,古生菌的转录调控机制却更加类似于真细菌。

对古生菌转录调控的研究,首先是从对已经测序的古生菌基因组全序列的分析和与其它生物已知序列的比较入手的。Aravind 等人对 4 种已知全序列的古生菌基因组——詹氏甲烷球菌(*Methanococcus jannaschii*),热自养甲烷杆菌(*Methanobacterium thermoautotrophicum*),闪烁古生球菌(*Archaeoglobus fulgidus*)和堀野氏热球菌(*Pyrococcus horikoshii*)进行了分析,结果表明古生菌基因组编码大量包含螺旋-转角-螺旋(HTH)DNA 结合结构域的蛋白质,这些 HTH 结构域的序列更加类似于真细菌,而且古生菌中 HTH 结构域的数量和多样性都与真细菌相似,这些含有 HTH 结构域的 DNA 结合蛋白质绝大部分参与特异性基因的转录调控^[20],这表明在古生菌基因组中存在大量结构类似于真细菌的转录调控蛋白。

生化研究的结果也证实了这一点,古生菌中许多类似于真细菌的转录调控蛋白已经得到了分离和鉴定。Napoli 等^[21]从嗜热古生菌硫磺矿硫化叶菌(*Sulfolobus solfataricus*)中分离得到了一种与真细菌全局性转录调控蛋白(Global transcriptional regulator)——亮氨酸应答调节蛋白(Lrp, Leucine-responsive regulatory protein)相类似的转录调控蛋白 Lrs14,该蛋白与大肠杆菌 Lrp 蛋白一样能够与自身基因的启动子特异结合,能够进行自我调节(Autoregulated)。Enoru-Eta 等^[22]从另一种嗜热古生菌酸热硫化叶菌(*Sulfolobus acidocaldarius*)中生化鉴定了一种 DNA 结合蛋白 Sa-Lrp,它与大肠杆菌的亮氨酸应答调节蛋白 Lrp 也具有同源性,也能够进行自我调节,突变分析表明存在于 Sa-Lrp N-末端的螺旋-转角-螺旋(HTH)结构域对于该蛋白的 DNA 结合作用是非常重要的。最近 Brinkman 等人也从硫磺矿硫化叶菌(*Sulfolobus solfataricus*)中鉴定了另一种类似于真细菌亮氨酸应答调节蛋白(Lrp)的古生菌调控蛋白 LysM,并对它的作用机制进行了研究。LysM 参与赖氨酸合成基因簇(*lys*)编码的赖氨酸生物合成的调控,外来的赖氨酸是 *lys* 基因表达的调节信号分子,并且能够特异性地作为 LysM 的配体(Ligand)改变该蛋白与 DNA 的结合能力。LysM 能够直接结合于 *lysW* 弱启动子的 TFB 识别元件的上游,研究表明类似于真细菌的 LysM 调控蛋白能够激活 *lys* 基因的转录^[23]。另外从另一种古生菌激烈热球菌(*Pyrococcus furiosus*)中也发现了与大肠杆菌亮氨酸应答调节蛋白 Lrp 具有同源性的古生菌转录调控蛋白 Lrp-A^[24]。上述研究从各种古生菌中分离鉴定了与真细菌相似的特异性基因转录调控蛋白,并对其结构和作用机制进行了研究,相比于序列比较和分析,生化研究的结果从结构和功能上更加直接有力地证实了古生菌中存在许多类似于真细菌的转录调控蛋白。

对古生菌转录调控的机制研究进一步揭示了古生菌的基因表达负调控作用方式类似于真细菌。对能够侵染嗜盐古生菌盐沼盐杆菌(*Halobacterium salinarum*)的 ϕ H 噬菌体的研究表明,和大肠杆菌噬菌体一样, ϕ H 噬菌体的裂解生长能够被抑制。这种抑制作用的机制类似于大肠杆菌,某些能够与 DNA 结合的抑制蛋白能够特异性地阻遏 RNA 聚合酶对

噬菌体裂解生长相关基因的起始转录。例如 T6 就是一种能抑制噬菌体裂解生长的负调控蛋白,它含有类似于真细菌转录调控蛋白的螺旋-转角-螺旋(HTH)结构域,能够与具有反向重复序列结构的 DNA 序列相互作用和结合,从而抑制了某些特异性基因的转录^[25]。

2003 年在古生菌中还鉴定了几种新的转录调控蛋白,并研究了它们的作用机制。Vierke 等^[26]在激烈热球菌(*Pyrococcus furiosus*)中发现了一个新的热激反应转录调控因子 Phr,该蛋白能够特异抑制自身基因和一个小热激蛋白 Hsp20 基因的转录。Phr 结合到与转录起始位点有重叠的 29 bp DNA 序列上,从而阻止了 RNA 聚合酶与 TBP/TFB-启动子复合体的结合。Lee 等^[27]最近在嗜热古生菌 *Thermococcus litoralis* 中鉴定了一种能够抑制海藻糖/麦芽糖转运系统基因簇转录的负调控蛋白 TmB。TmB 能够抑制基因的转录,但这种抑制作用能够被海藻糖和麦芽糖所削弱。

综上所述,古生菌的转录调控机制比较复杂,古生菌的多样性导致了转录调控机制的多样性。相比于古生菌的基本转录装置类似于真核生物,古生菌的转录调控机制却更加类似于真细菌。

3 古生菌独特的转录调控方式

近年来研究还发现古生菌存在一些独特的全局性调控机制(Global regulatory mechanisms)。古生菌 DNA 的拓扑结构能够影响转录的强度,利用抗 Z-DNA 的抗体,已经在嗜盐古生菌盐沼盐杆菌(*Halobacterium salinarum*)中分离得到了 20 多个含有 Z-DNA 结构的基因组 DNA 片段。假如这些 Z-DNA 位于启动子区域,就会影响基因的转录^[28]。古生菌染色体不同的组装方式也能够影响基因的转录,例如在盐沼盐杆菌(*Halobacterium salinarum*)对数生长早期,染色体不与任何蛋白质相结合,而在稳定期染色体组装成为类似核小体的结构^[29]。这种随生长时期不同而不同的染色体组装方式必然会对基因的转录产生全局性影响,这可能是古生菌在转录水平上调节不同生长时期不同基因表达的一种方式。

4 总结和展望

对古生菌转录系统的研究成果进一步揭示了古生菌的融合特征,也发现古生菌还具有某些独特的转录调控方式,这表明古生菌是一类独立于真细菌和真核生物之外的第三域生命形式,也从另一个方面证明了 Woese 提出的三域生物系统的正确性。目前随着古生菌转录研究的不断深入,新的问题也不断地被提出。古生菌转录起始复合体是如何形成的?各种转录蛋白之间的作用方式是什么?古生菌转录的延伸和终止机制是什么?它与真细菌和真核生物有何异同?通过建立成熟的不同古生菌体外转录系统和利用研究蛋白质-DNA、蛋白质-蛋白质相互作用的分子生物学技术,可以对上述问题进行深入的研究。总之,对古生菌基因转录系统的研究不仅能够揭示古生菌自身的遗传信息传递机制,而且对于阐明转录系统在三域生命之间的异同和进化机制都具有

重要的理论意义。

参考文献

- [1] Woese C R, Fox G E. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: the primary kingdoms. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1977, **74**: 5088 - 5090.
- [2] Woese C R, Kandler O, Wheelis M L. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87**(12): 4576 - 4579.
- [3] Bell S D, Magill C P, Jackson S P. Basal and regulated transcription in Archaea. *Biochemical Society Transactions*, 2001, **29**: 392 - 395.
- [4] Langer D, Hain J, Thuriaux P, et al. Transcription in archaea-similarity to that in eucarya. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**: 5768 - 5772.
- [5] Eloranta J J, Kato A, Teng M S, et al. In vitro assembly of an archaeal D-L-N RNA polymerase subunit complex reveals a eukaryote-like structural arrangement. *Nucleic Acids Res*, 1998, **26**: 5562 - 5567.
- [6] Werner F, Eloranta J, Weinzierl R O J. Archaeal RNA polymerase subunits F and P are bona fide homologues of eukaryotic RPB4 and RPB12. *Nucleic Acids Res*, 2000, **28**: 4299 - 4305.
- [7] Todone F, Brick P, Werner F, et al. Structure of an archaeal homolog of the eukaryotic RNA polymerase II RPB4/RPB7 complex. *Mol Cell*, 2001, **8**: 1137 - 1143.
- [8] Nikolov D B, Chen H, Halay E D, et al. Crystal structure of a TFIIB-TBP-TATA-element ternary complex. *Nature*, 1995, **377**: 119 - 128.
- [9] Kosa P F, Ghosh G, DeDecker B S, et al. The 2.1-angstrom crystal structure of an archaeal preinitiation complex: TATA-box-binding protein/transcription factor (TBP) core/TATA-box. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**: 6042 - 6047.
- [10] Wettach J, Gohl H P, Tschochner H, et al. Functional interaction of yeast and human TATA-binding proteins with an archaeal RNA polymerase and promoter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**: 472 - 476.
- [11] Matsuda T, Morikawa M, Haruki M, et al. Isolation of TBP-interacting protein (TIP) from a hyperthermophilic archaeon that inhibits the binding of TBP to TATA-DNA. *FEBS Lett*, 1999, **457**: 38 - 42.
- [12] Matsuda T, Fujikawa M, Haruki M, et al. Interaction of TIP26 from a hyperthermophilic archaeon with TFB/TBP/DNA ternary complex. *Extremophiles*, 2001, **5**: 177 - 182.
- [13] Littlefield O, Korkhin Y, Sigler P B. The structural basis for the oriented assembly of a TBP/TFB/promoter complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**: 13668 - 13673.
- [14] Zhu W L, Zeng Q D, Colangelo C M, et al. The N-terminal domain of TFIIB from *Pyrococcus furiosus* forms a zinc ribbon. *Nat Struct Biol*, 1996, **3**: 122 - 124.
- [15] Reiter W D, Hudepohl U. Mutational analysis of an archaeobacterial promoter-essential role of a TATA Box for transcription efficiency and start-site selection in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87**: 9509 - 9513.

- [16] Hain J , Reiter W D , Hudepohl U , *et al.* Elements of an archaeal promoter defined by mutational analysis. *Nucleic Acids Res* , 1992 , **20** : 5423 – 5428 .
- [17] Qureshi S A , Jackson S P . Sequence-specific DNA binding by the *S. shibatae* TFIIB homolog , TFB , and its effect on promoter strength. *Molecular Cell* , 1998 , **1** : 389 – 400 .
- [18] 黄玉屏 , 段珍红 , 熊 音 , 等 . 盐生盐杆菌启动子 DNA 片段的特征序列及其功能分析. 武汉大学学报(理学版) , 2001 , **47** : 456 – 462 .
- [19] 孙广秀 , 江爱民 , 沈 萍 . 具有真细菌基因启动子活性的盐生盐杆菌质粒 DNA 片段. 遗传学报 , 1997 , **24** (4) : 380 – 384 .
- [20] Aravind L , Koonin E V . DNA-binding proteins and evolution of transcription regulation in the archaea. *Nucleic Acids Res* , 1999 , **27** : 4658 – 4670 .
- [21] Napoli A , Van der Oost J , Sensen C W , *et al.* An Lrp-like protein of the hyperthermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus* which binds to its own promoter. *J Bacteriol* , 1999 , **181** : 1474 – 1480 .
- [22] Enon-Éta J , Gigot D , Thia-Toong T L , *et al.* Purification and characterization of Sa-lrp , a DNA-binding protein from the extreme thermoacidophilic archaeon *Sulfolobus acidocaldarius* homologous to the bacterial global transcriptional regulator Lrp. *J Bacteriol* , 2000 , **182** : 3661 – 3672 .
- [23] Brinkman A B , Bell S D , Lebbink R J , *et al.* The *Sulfolobus solfataricus* Lrp-like protein LysM regulates lysine biosynthesis in response to lysine availability. *J Biol Chem* , 2002 , **277** : 29537 – 29549 .
- [24] Brinkman A B , Dahlke I , Tuininga J E , *et al.* An Lrp-like transcriptional regulator from the archaeon *Pyrococcus furiosus* is negatively autoregulated. *J Biol Chem* , 2000 , **275** : 38160 – 38169 .
- [25] Ken R , Hackett N R . *Halobacterium halobium* strains lysogenic for phage phi H contain a protein resembling coliphage repressors. *J Bacteriol* , 1991 , **173** : 955 – 960 .
- [26] Vierke G , Engelmann A , Hebbeln C , *et al.* A novel Archaeal transcriptional regulator of heat shock response. *J Biol Chem* , 2003 , **278** : 18 – 26 .
- [27] Lee S J , Engelmann A , Horlacher R , *et al.* TmB , a sugar-specific transcriptional regulator of the trehalose/maltose ABC transporter from the hyperthermophilic Archaeon *Thermococcus litoralis* . *J Biol Chem* , 2003 , **278** : 983 – 990 .
- [28] Kim J M . Isolation and chromosomal distribution of natural Z-DNA-forming sequences in *Halobacterium halobium* . *J Biol Chem* , 1996 , **271** : 19724 – 19731 .
- [29] Takayanagi S , Morimura S , Kusaoke H , *et al.* Chromosomal structure of the halophilic archaeobacterium *Halobacterium salinarum* . *J Bacteriol* , 1992 , **174** : 7207 – 7216 .

Combination of Bacterial and Eukaryotic Features in The Transcription System of Archaea

YANG Yang HUANG Yu-Ping SHEN Ping*

(Department of Biotechnology , College of Life Sciences , Wuhan University , Wuhan 430072 , China)

Abstract : Archaea is the third domain of life different from Bacteria and Eukarya . Transcription is the main step in the transmission process of genetic information . In this paper we briefly summarize and review the main research progress about the archaeal transcription in recent years . The research results reveal that the transcription system of Archaea possesses a combination of both eukaryotic and bacterial features . The basal transcription apparatus (including RNA polymerase , basal transcription factors and promoter element) resembles that of Eukarya . But the transcriptional regulatory mechanism more resembles that of Bacteria . A number of transcriptional regulatory protein like that of Bacteria have been found and identified in Archaea . Archaea also has some unique transcriptional regulatory modes .

Key words : Archaea , Bacteria , Eukarya , Transcription