39 卷 1 期
1999 年 2 月

微 生 物 学 报
Acta Microbiologica Sinica

Vol. 39 No. 1
February 1999

酵母 HOG 途径与甘油合成*

诸葛健 王正祥

(无锡轻工大学生物工程学院发酵甘油研究设计中心和遗传育种研究室 无锡 214036)

关键词 促有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPKs),酵母 HOG 途径,甘油合成

分类号 TQ645.5 **文献标识码** C **文章编号** 0001-6209 (1999) 01-0091-93

MAPKs(Mitogen-activated Protein Kinases)及其上游调节激酶共同组成一个功能单位,作为上游输入信号与多种输出信号间连接的桥梁。MAPK 激酶或 MEK(即 MAPK/ERK 激酶)是 MAPK 所具有的一个调节激酶,为 MAPK 的活化所必需。此酶又受另一蛋白激酶——raf、mos 或一组在结构上相关的被称为 MEKK(即 MEK kinase, MEK 激酶)的调节。在后生动物中广泛存在的 raf 为 raf-MEK-MAPK 模式的上游成员,最新的研究揭示 raf-MEK-MAPK 模式在包括 ras 及其调控子 SOS 的过程中通过与膜受体偶合而受到调控[1]。酵母细胞中至少具有六条已被确认包含有 MAPKs 或其假定的上游调节子的途径。这包括①信息素应答途径,②控制芽殖酵母生活周期的变迁即控制单倍体细胞的交配和侵袭生长途径,③二倍体细胞的假菌丝形成途径,④高渗甘油应答途径,⑤细胞壁结构维持的细胞完整性途径,以及⑥孢子形成途径。本文将对酵母高渗甘油应答途径即 HOG 途径的研究进展综述如下。

1 MAPK 的研究概况

生物细胞具有对外环境刺激作出应答的能力,因此,外环境刺激因子的刺激信号是如何被细胞感知并将感知信号传送入细胞内引起细胞生理及遗传上的变化或改变的问题,已成为研究的热点。现有研究结果表明,细胞可以通过两种途径将外环境刺激因子的刺激信号传递入细胞内,它们分别是跨膜蛋白传递和胞外分子直接从胞外转运进入胞内引起信号应答。在跨膜蛋白信号传递系统中,配体(外环境刺激因子)与细胞膜上的受体结合是信号传递的开始,通过一系列的磷酸化与去磷酸化作用将信号一级一级传递到细胞核内,产生信号应答,信号应答中细胞膜上的受体皆为跨膜蛋白,但跨膜蛋白受体可以是一次跨膜,也可以多次跨膜。一次跨膜蛋白受体如酪氨酸蛋白激酶(PTK)[2],配体结合于它的胞外部分而影响其胞内功能区的活性。多次跨膜蛋白受体最典型的例子是七次跨膜蛋白受体,许多配体如多巴胺、阿片样物质、视紫红质等都是通过这条途径激活它们各自的受体。活化的受体又激活异三聚体 G 蛋白(Gαβγ),由其将信号传输到作用靶位[3]。在信号传递过程中,促有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPKs)级联起着极为重要的作用[4]。芽殖酵母中不含有 raf,但具有两个在结构上与哺乳动物细胞 MEKK 相似的 MEK 激酶,STE11 和 BCK1。现在已经将这一组在结构上相似的激酶统称为 MEKK 家族。已被鉴定的这一家族的成员还有烟草 NPK1[5],裂殖酵母的 byr2[6]等,这些酶皆为 MAPK 模式 MEKK-MEK-MAPK 的上游组分(图 1)。图 1 左侧为 raf-MEK-MAPK 模式,主要见于哺乳动物细胞系统、果蝇的暗色孢霉,在这一模式中,MEK 通过活化导致蛋白质激酶 raf 活化的受体酪氨酸激酶而被激活。raf 的活性受 Grb2,SOS 和 ras 蛋白的控制,Grb2,SOS 和 ras 蛋白则成为酪氨酸激酶与 raf 间联系的桥梁。图 1 右侧为见于酵母细胞中的 MEKK-MEK-MAPK 模式,此模式缺失 raf,在这一模式中 MEKK 的活性主要受蛇根碱受体的控制,同时双组分系统以及其它机制也可能发挥调控作用。STE20 蛋白在蛇根碱受体到

* 国家'九五'科技攻关基金部分资助(No. 96-C03-03-03)

收稿日期:1997-11-03,修回日期:1998-05-14

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

MEKK 间的信号传递中可能发挥一定的作用；STE5 蛋白则表现为 MEKK-MEK-MAPK 模式中的一个结点。高渗甘油应答途径的调控采用 MEKK-MEK-MAPK 模式。

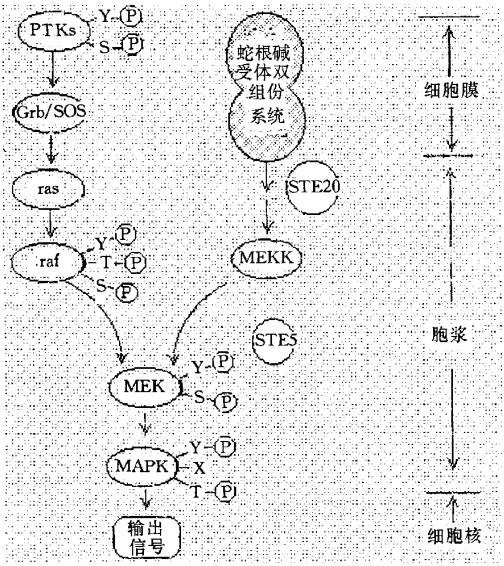

图 1 MAPK 模式及其输入信号的两种类型

2 高渗甘油应答途径

当酵母细胞处于高渗压环境中时，甘油被诱导合成以提高其胞内渗透压，这一过程受高渗甘油应答途径即 HOG 途径（High Osmolarity Glycerol response pathway）的调控[7]。HOG 途径中已被鉴定的两个组分为 *PBS*2 和 *HOG*1 基因，为酵母细胞在高渗压环境中生长所必需。*PBS*2 基因编码一个 MEK 类似物，*HOG*1 基因编码一个 MAPK 类似物。当胞外渗透压升高时，*HOG*1MAPK 的酪氨酸被迅速磷酸化。*HOG*1 可能激活一个类似于 STE12 的转录因子，这一转录因子控制由高渗压调节单位诱导的转录。在此途径的早期发挥作用可能性组分已被鉴定。这些成分有可能组成一个类似于在原核微生物细菌中广泛存在的双组分系统。酵母 *SLN*1 基因是在筛选不能忍耐蛋白裂解缺陷突变株时被鉴定的，这一基因含有一个与细菌双组分调节子十分相似的开放阅读框架。SLN1 具有两个跨膜功能区，由此被认为是一个组成型膜蛋白受体。SLN1 还含有与细菌双组分调节系统的感应蛋白组氨酸激酶及应答调节子功能区相似的功能区，许多细菌蛋白在一个单一多肽中含有这两个功能区。基因 *HOG*1、*PBS*2 以及 *SSK*1（感应蛋白激酶阻遏蛋白）中任何一个发生突变都可以使细胞不依赖 *SLN*1 基因而生长。由于 HOG1 和 PBS2 为高渗压应答途径中信号传递的组成成分，因此推测 *SLN*1 控制 *PBS*2MEK 和 HOG1MAPK 的活性（图 2）。从 *SSK*1 基因的核苷酸序列可以看出，*SSK*1 与细菌应答调节功能区十分相似。SSK1 蛋白似乎在 HOG1（并很可能在 PBS2 MEK 之前）发挥作用，这是因为 SSK1 的过度合成会导致 HOG1 上的酪氨酸磷酸化。正因为如此，并且 SSK1 与双组分调节子的相似性，因此推断作为受体/蛋白激酶的 SLN1 控制着 SSK1 的活性。由于 *SSK*1、*PBS*2 或 *HOG*1 的失活回复了由于 *SLN*1 缺失突变导致的致死性突变，推测 SLN1 控制 SSK1 而高渗压抑制 SLN1。由于允许 SSK1 激活 *PBS*2MEK 和 *HOG*1MAPK，缺失 SLN1 导致的菌株致死性突变不仅可以通过灭活蛋白激酶 PBS2 和 HOG1 而得到回复，而且还可以通过对多种不同质酪氨酸磷酸酯酶（PTP2、PTC1 或 PTC3）的超表达来回复，因此认为这些磷酸酯酶可能灭活 PBS2 或 HOG1。

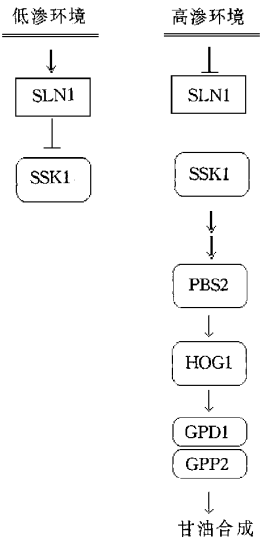

图 2 甘油合成受 HOG 途径的控制

HOG 途径中重要的靶基因已被克隆的有 *GPD*1[8]、*STT*1[9] 和 *GPP*2[10]，其中 *GPD*1 和 *GPD*2 基因为细胞在高渗压下甘油合成所必需。*GPD* 基因编码 3－磷酸甘油脱氢酶，此酶催化甘油合成途径中的磷酸二羟丙酮受氢还原为 3－磷酸甘油，为甘油合成途径中的关键限速酶；*GPP* 基因编码 3－磷酸甘油酯酶，此酶催化 3－磷酸甘油脱磷酸根成甘油。*HOG*1 或 *PBS*1 基因发生缺失突变，则细胞表现为渗透压敏感性表型，即细胞在渗透压提高的培养基中不能生长或生长减慢，细胞合成甘油的能力显著降低。通过

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

高效表达 *HOG*1、*PBS*2 或 *GPD*1 基因可以提高甘油的产量并提高细胞耐高渗压的能力[8,11]。与此同时,不受 HOG 途径调控的 *GPD*2 和 *GPP*1 基因也已经被克隆和鉴定[12]。所有这些将有助于解释为什么某些耐高渗压酵母在相对低渗的环境中能够产生并分泌高水平的甘油[13-14]并有可能利用代谢工程理论构建或改造甘油生产菌种。

参 考 文 献

[1] Belenis J. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**: 5889～5892.

[2] Levitzki A, Gazit A. *Science*, 1995, **267**: 1782～1788.

[3] Clapham D E. *Nature*, 1996, **379**: 297～299.

[4] Blumer K J, Johnson G L. *Trends Biochem Sci*, 1994, **19**: 236～240.

[5] Banno H, Montessuit S, Friedli *et al*. *Science*, 1993, **13**: 4745～4752.

[6] Wang Y, Xu H P, Riggs M *et al*. *Mol Cell Biol*, 1991, **11**: 3554～3563.

[7] Brewster J L, Devaloir T, Dwyer N C *et al*. *Mol Cell Biol*, 1994, **259**: 1760～1763.

[8] Albertyn J, Hohmann S, Thevelein J M *et al*. *Mol Cell Biol*, 1994, **14**: 4135～4144.

[9] Schuller C, Brewster J L, Alexander M R *et al*. *EMBO J*, 1994, **13**: 4382～4389.

[10] Norbeck J, Polman A K, Akhtar N *et al*. *Biol Chem*, 1996, **271**: 13875～13881.

[11] Nevoigt E, Stahl U. *Yeast*, 1996, **12**: 1331～1337.

[12] Bjorkqvist S, Ansell R, Adler L *et al*. *Appl Environ Microbiol*, 1997, **63**: 128～132.

[13] 诸葛健,方慧英. 中华人民共和国专利公报, 1994, CN1082608.

[14] 王正祥,诸葛健,方慧英. 微生物学报, 1999, 39(1): 68～74.

The HOG Pathway and Glycerol Synthesis in Yeast

Zhuge Jian　Wang Zhengxiang

(*Research and Design Center of Fermentation Glycerol and Laboratory of Genetic Improvement of Industrial Microorganisms*, *School of Biotechnology*, *Wuxi University of Light Industry*, *Wuxi* 214036)

* Project of Chinese National Programs for Science and Technology Development (No. 96-C03-03-03)

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn