

热休克转录因子 1 调控热休克蛋白表达的研究进展

回佳菡 唐 咏

(辽宁省沈阳农业大学生物科学技术学院 辽宁 沈阳 110161)

摘要: 热休克反应主要是通过调节热休克转录因子 1(heat shock transcription factor1, HSF1) 的活性, 提高 Hsps 的合成来实现。HSF1 通过与 HSBP 和 HSP70 形成复合物, 调节自身活性, 对 Hsps 的合成进行调控。因此, 对人热休克应答机制的研究将有助于了解 Hsps 合成的调控机制, 从而阐明热休克应答在局部缺血、发炎、感染等多种人类疾病中的启动机制, 为寻找和开发能激活细胞热休克防御机制的新型分子药物提供理论基础。

关键词: 热休克蛋白; 热休克蛋白转录因子; 作用机制

Progress in the expression of heat shock protein regulated by heat shock transcription factor 1

HU Jia-han, TANG Yong

Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161, China

ABSTRACT: The induction of the heat shock response requires the activation and translocation to the nucleus of heat shock transcription factor 1(HSF1) which control the expression of heat shock proteins(HSPs). HSF1 interact with heat shock binding protein1(HSBP1) and heat shock protein(HSP70) to regulate self-activation then regulate the synthesis of HSPs. The research of heat shock response help to understand the mechanism of regulating the synthesis of HSPs. The discovery that the heat shock response is turned on under several pathological conditions and contributes to establish a cytoprotective state in a variety of human diseases, including ischemia, inflammation, and infection, has opened new perspectives in medicine and pharmacology, as molecules activating this defense mechanism appear as possible candidates for novel cytoprotective drugs.

Key words: heat shock protein; heat shock protein transcription factor; operation mechanism

1 引言

热休克应答是当细胞或者组织暴露于极性条件下导致蛋白质构象改变、聚合而诱发的一类新的蛋白质合成的机制, 这类新蛋白质被称为热休克蛋白(Heat shock protein, Hsps), 它能维持蛋白质稳定构象并确保新生蛋白质的正确折叠^[1]。热休克应答是 1962 年 F. Ritossa 在研究果蝇的多线性染色体的热刺激时发现的^[2]。目前研究表明所有的生物体对热刺激都产生热休克应答, 产生 Hsps 以修复受损伤的蛋白质并降解不能被修复的蛋白质, 从而降低环境或生理压力对细胞的影响。Hsps 的基因表达是受热休克转录因子 1(heat shock transcription factor1, HSF1) 调控的, 外界信号刺激使 HSF1 活化并结合 Hsps 的启动子, 诱导 Hsps 的表达, 因此阐明 HSF1 对 Hsp 的调控表达机制极其重要的。近几年的研究表明, 多种疾病如老年痴呆症、Creutzfeldt-Jakob 病是由于在发炎、感染等病理条件下, 细胞内蛋白质构象被改变从而使蛋白质变性、聚合甚至细胞调亡而导致的^[1]。因此对 HSF1 的调控机制的研究具有重要的理论意义和实际应用价值。目前对细胞感受压力的精确机制还不清楚, 但对转录因子家族的结构、类别及调控机制已有相关报道, 本文主要对人热休克转录因子家族的 HSF1 的功能

及其对热休克蛋白表达的调控进行了阐述。

2 HSF 的类别

自从在 *Saccharomyces cerevisiae* 和 *Drosophila melanogaster* 中将 HSF 的基因分离后, 在脊椎动物和植物中发现了更多的 HSF 家族成员, 根据其功能分为 HSF1、HSF2、HSF3、HSF4 等 4 类^[3,4,5,6]。

HSF1 是细胞热休克蛋白表达的主要调控因子, 它在酵母、果蝇和脊椎动物中是高度保守的, 其他的 HSF 都不能代替 HSF1 行使功能。HSF2 并不对典型压力刺激敏感, 但是在刺激后相关条件下被激活。HSF3 是鸟类特有的热休克调控因子。HSF4 在白内障发生中起到重要作用, 其 DNA 结合区突变可导致绕核型和 Marner 型白内障。在脊柱动物和植物中多种多样 HSFs 的存在表明不同的 HSFs 介导不同生理环境刺激下的应答, 但是 HSFs 家族成员可能在调控目的基因表达时有协同作用。其中 HSF1 是最具代表性和重要性的 HSF, 因此对 HSF1 的研究比较深入, 相关报道比较多。

3 HSF1 的结构及功能特性

HSF1 在不同物种中是高度保守的, 对不同来源的 HSF1

作者简介: 回佳菡, 女, (1980-), 硕士研究生

通讯作者: 唐咏, email: liang110161@sina.com, 电话: 024-88487627

(收稿日期: 2006-02-13 接受日期: 2006-03-08)

结构研究表明,HSF1 有两个极为保守的核心区域- DNA 结合结构域(DNA binding domain, DBD)和三聚化结构域(Trimerization domain),如图 1。

N- 端螺旋- 转角- 螺旋的 DNA 结合结构域(DNA binding domain, DBD)是 HSF1 最保守的功能结构域。事实上, DBD 是 HSF1 唯一一个存在三维结构数据的结构域, *Kluyveromyces fragilis* 的 DBD 晶体结构、*K. lactis*, *D. melanogaster* 和番茄的 DBD 溶解结构已被解析^[7, 8, 9, 10], 发现其晶体结构与溶解状态的结构比较一致, 都具有 DNA 结合蛋白特征性的螺旋- 转角- 螺旋结构基元(helix- turn- helix motif)。DNA 通过主沟与 HSF1 的 DBD 结合, 具体结合位点就是 DNA 上的热休克元件(heat shock element, HSE)。HSF1 能识别 HSE 上特异性的“- nGAAn-”结构, 一个完整的 HSE 结构上通常有 3 个“- nGAAn-”结构, 而完整的 HSF1 也是以三聚体的形式与 HSE 结合, 这样的结合具有最大的亲和力。

HSF1 的三聚化结构域是由三个疏水七氨基酸重复序列(hydrophobic heptad repeats, HR- A/B)的螺旋环结构形成的。HSF1 通常通过三聚化结构域与其他蛋白或自身相互作用的。C- 末端的疏水七氨基酸重复序列(HR- C)可以抑制 HSF1 的三聚化。HR- C 在脊椎动物 HSF1 中相当保守, 但是在植物和 *S. cerevisiae* 中却相反, 可能是由于 *S. cerevisiae* 中三聚化结构域的构成与其他有所不同所致^[9]。

从功能上分, HSF1 包含两个 C- 末端转录激活结构域(transcription activation domain, AD)和一个调控结构域(regulatory domain, RD)。AD1 和 AD2 由位于中心的 RD 控制, 因此 RD 被认为是人感受热压力的关键。RD 通过两个特殊丝氨酸/ 脯氨酸基序使 S303 和 S307 进行结构性磷酸化, 在正常温度下对 HSF1 转录活性进行负调控。S363 的磷酸化也是在正常生长条件下对 HSF1 活性进行负调控, 而 S230 的磷酸化对 HSF1 的转录能力进行正调控^[11]。如图 1。

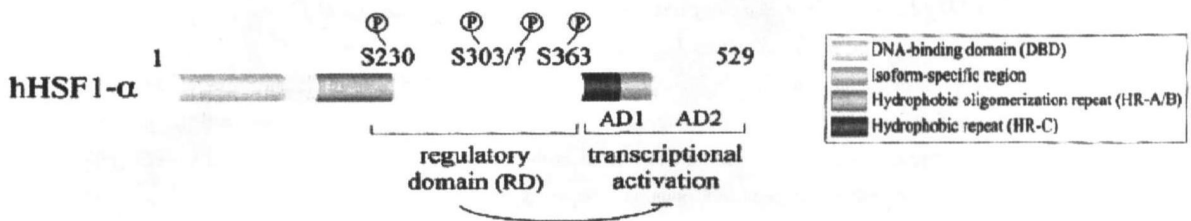


图 1 HSF1 的功能结构域

HSF1 的 DNA 结合结构域位于 N- 末端, 三聚化结构域(NR- A/B, C) 位于 C- 末端。调控结构域(regulatory domain, RD) 包含丝氨酸磷酸化位点, 调控位于 C- 末端的转录激活结构域(AD1, 2)。

4 HSF1 作用机制

目前已有的报道表明, HSF1 调控热休克蛋白表达的作用机制是, 当细胞面对如温度升高、重金属含量增加、氧化和细菌感染或蛋白酶抑制剂等胁迫环境时, 外界信号使细胞中存在的 HSF1 由无 DNA 结合活性的单体形式转变为有 DNA 结合活性的三聚体形式并转移至细胞核中, 与相应启动子结合, 启动基因的转录过程, 最终促进 HSP 的表达。

在未发生热刺激或其它条件胁迫时, 细胞内维持着一定量的 HSP70 表达水平, 同时可发现 HSF1 的无 DNA 结合活性单体与 HSP70 结合形成的复合物。随着热刺激或其它外界压力的胁迫, 目前尚不清楚的信号通路诱导了 HSF 单体- HSP70 复合物的解离, 并释放出游离的无活性的 HSF1 单体。这些单体通过 HSF1 上的三聚片段发生相互作用形成 HSF1 的三聚体, 形成的 HSF1 的三聚体具有 DNA 结合和启动转录的活性, 这些三聚体识别并结合位于热休克基因启动子处的 HSE 序列, 诱导 HSPs 的表达。

有证据表明, 在热休克刺激短时间内, 磷酸化的 HSF1 三聚体与热休克因子结合蛋白 1(heat shock factor binding protein, HSBP1) 瞬时结合形成 HSBP1- HSF1 三聚体复合物, 抑制了 HSF1 的转录, 推测 HSBP1 很有可能在热应激反应中起了重要的调控作用^[12]。HSF1- HSBP1 复合物解离后 HSF1 结合 HSE 诱导 Hsps 的表达。随着热应激反应的减弱, 细胞逐渐进入了复愈阶段, HSF1 的 DNA 结合活性减弱, HSBP1 与 HSP70 瞬时发生相互作用生成 HSBP1- HSP70 复合物。此时伴随着 HSF1 三聚体解体为 HSF1 单体而失活的过程。诱导表达产生的 HSP70, 与 HSF1 单体结合, 抑制三聚体的产生, 所以这是一个明显的反馈抑制调节通路。如图 2。

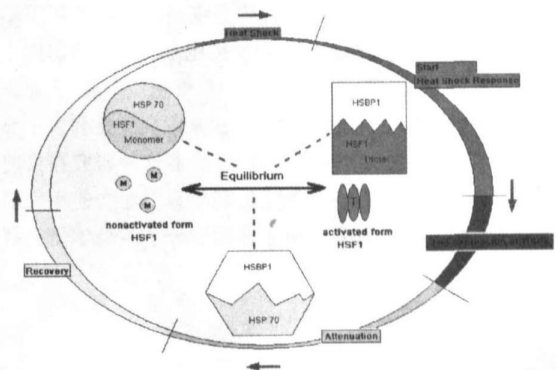


图 2 热休克蛋白表达的调节

以 HSF1 的可逆多聚化为中心 HSBP1 和 HSP70 对热休克蛋白表达的调控。

HSF1 单体和三聚体之间的转变和平衡是处于转录调控的关键位置, 而与此相关的使 HSF1 聚合的三聚疏水片段及能与其发生相互作用的其他蛋白对揭示整个平衡的调控机理有着至关重要的作用。除了 HSBP1/ HSF1 三聚体的复合物以外, 还存在有 HSBP1/ HSP70、HSP70/ HSF1 单体两种复合物, 且先后出现在不同的热应激反应时相中, 考虑到 HSP70 的反馈抑制作用是通过形成 HSP70/ HSF1 单体的复合物来实现的, 因此很有可能 HSBP1/ HSP70 这个复合体在 HSP70 和 HSBP1 各自的抑制作用间架起了一个桥梁。由此可以看出 HSF1 三聚体- HSBP1、HSBP1- HSP70 和 HSP70- HSF1 单体三个复合体构成了一个完整的动态调节系统, 围绕着 HSF1 可逆的多聚化过程这一中心发挥作用。

(下转第 90 页)

- [40] Vilmos P, Kurucz E. Insect immunity: evolutionary roots of the mammalian immune system [J]. Immunol. Lett, 1998, 62: 59– 66
- [41] Watson KL, Johnson TK, Denell RE. Lethal (1) aberrant immune response mutations leading to melanotic tumour formation in *Drosophila melanogaster* [J]. Dev. Genet, 1991, 12: 173– 87
- [42] Green C, Brown G, Dafforn TR, Reichhart JM, Morley T, et al. *Drosophila* necrotic mutations mirror disease-associated variants of human serpins [J]. Development, 2003, 130: 1473– 78
- [43] Nappi AJ, Ottaviani E. Cytotoxicity and cytotoxic molecules in invertebrates [J]. BioEssays, 2000, 22: 469– 80
- [44] Boulanger N, Munks RJ, Hamilton JV, Vovelle F, Brun R, et al. Epithelial innate immunity. A novel antimicrobial peptide with antiparasitic activity in the blood-sucking insect *Stomoxys calcitrans* [J]. J. Biol. Chem, 2002, 277: 49921– 26
- [45] De Gregorio E, Han SJ, Lee WJ, Baek MJ, Osaki T, et al. An immuneresponsive serpin regulates the melanization cascade in *Drosophila* [J]. Dev. Cell, 2002, 3: 581– 92
- [46] Zhu Y, Wang Y, Goman MJ, Jiang HB, Konost MR. Manduca sexta serpin-3 regulates prophenoloxidase-activating proteinases [J]. J. Biol. Chem, 2003, 278: 46556– 64
- [47] Folstad I, Karter AJ. Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap [J]. Am. Nat, 1992, 139: 603– 22
- [48] Ryder J, Siva-Jothy MT. Male calling song provides a reliable signal of immune function in a cricket [J]. Proc. R. Soc. London Sci. Ser, 2000B, 263: 1171– 75
- [49] Siva-Jothy MT. A mechanistic link between parasite resistance and expression of a sexually selected trait in a damselfly [J]. Proc. R. Soc. London Sci. Ser. 2000B, 267: 2523– 27
- [50] Goldsworthy G, Chandrakant S, Opoku-Ware K. Adipokinetic hormone enhances nodule formation and phenoloxidase activation in adult locusts injected with bacterial lipopolysaccharide [J]. J. Insect Physiol, 2003, 49: 795– 803
- [51] Blumberg D. Parasitoid encapsulation as a defense mechanism in the Coccoidea (Homoptera) and its importance in biological control [J]. Biol. Control, 1997, 8: 225– 36
- [52] Rolff J. Bateman's principle and immunity [J]. Proc. R. Soc. London Sci. Ser, 2001B, 269: 867– 72
- [53] Chun J, Riehle MA, Paskewitz SM. Effect of mosquito age and reproductive status on melanisation of Sephadex beads in *Plasmodium*-refractory and -susceptible strains of *Anopheles gambiae* [J]. J. Invertebr. Pathol, 1995, 66: 11– 17

(上接第 85 页)

5 展望

自 1962 年 F. Ritossa 发现热休克应答以来, 有关细胞在高温、氧化剂、重金属环境和细菌感染等不良条件的应答机制方面已进行了广泛而深入的研究。Hsps 除了能修复受损的蛋白、降解不能被修复的蛋白和维持新生蛋白的正确折叠外, 还有更广泛的细胞生物学功能, 如在细胞周期, 胚胎发育, 细胞分化, 精子发生等方面的作用^[1]。因此 HSF1 对 Hsps 的调节作用在细胞中举足轻重。随着对热休克蛋白基因表达的调控作用机制研究的深入, 对热休克转录因子的结构功能及调控 HSPs 表达中所起的作用将有更多更透彻的了解, 从而有助于从分子水平上了解热休克蛋白基因表达的详细机制, 从而阐明热休克应答在局部缺血、发炎、感染等多种人类疾病中的启动机制, 为寻找和开发能激活细胞热休克防御机制的新型分子药物提供理论基础^[13]。

参考文献

- [1] W.S. Nicoll, Aileen B, et al. Approaches to the isolation and characterization of molecular chaperones. Protein Expr Purif [J]. 2006 Mar; 46 (1): 1– 15
- [2] Ritossa, F. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila* [J]. Experientia 1962 18: 571– 573
- [3] Wu, C. Heat shock transcription factors: structure and regulation. Cell Dev. Biol. Annu. Rev. 441– 469
- [4] Morano, K. A., and Thiele, D. J. Heat shock factor function and regulation in response to cellular stress, growth, and differentiation signals [J]. Gene Exp, 1999, 7: 271– 282
- [5] Nover, L, Scharf, K.D, Gagliardi, D, et al. The Hsf world: classification and properties of plant heat stress transcription factors [J]. Cell Stress Chap, 1996, 1: 215– 223
- [6] Nakai, A. New aspects in the vertebrate heat shock factor system: Hsf3 and Hsf4 [J]. Cell Stress Chap, 1999, 4: 86– 93
- [7] Damberger, F. F, Pelton, J. G, Harrison, C. J, et al. Solution structure of the DNA-binding domain of the heat shock transcription factor determined by multidimensional heteronuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. Protein Sci, 1994, 3: 1806– 1821
- [8] Otis Littlefield, Hillary C.M, Nelson. A new use for the 'wing' of the 'winged' helix-turn-helix motif in the HSF-DNA co-crystal [J]. Nature structural biology, 1999, 6(5): 464– 470
- [9] Vuister, G. W, Kim, S. J, Orosz, A, Wu, C, et al. Solution structure of the DNA-binding domain of *Drosophila* heat shock transcription factor [J]. Nature Struct Biol, 1994, 1: 605– 614
- [10] Schultheis, J, Kunert, O, Gase, U, et al. Solution structure of the DNA binding domain of the tomato heat stress transcription factor HSF24 [J]. Eur. J. Biochem, 1996, 236: 911– 921
- [11] Lila Pirkkala, Paivi Nykanen, Lea Sistonen. Roles of the heat shock transcription factors in regulation of the heat shock response and beyond [J]. FASEB Journal, 2001, 15: 1128– 1131
- [12] Li-Jung Tai, Sally M. McFall, Kai Huang. Structure-Function Analysis of the Heat Shock Factor-binding Protein Reveals a Protein Composed Solely of a Highly Conserved and Dynamic Coiled-coil Trimerization Domain [J]. The journal of biological chemistry, 2002, 277, 1: 735– 745
- [13] Santoro, M.G. Heat shock factors and the control of the stress response [J]. Biochem. Pharmacol, 2000, 59: 55– 63