

Shelterin ——保卫人端粒的蛋白复合体

周建斌, 胡 华 综述 梁晓秋 审核

(南华大学 第二附属医院, 湖南 衡阳 421001)

摘要: 人端粒正常功能的维持是在复杂的端粒蛋白网络的调控下完成的。其核心部分就是 Shelterin。它包括 TRF1、TRF2、RAP1、TIN2、TPP1 和 POT1 六种端粒蛋白。它们相互作用或与其它端粒蛋白联合作用, 直接或间接地影响端粒的长度、结构和功能。本文对 Shelterin 各个组分的结构和功能作综述。

关键词: Shelterin; 端粒蛋白; 端粒

中图分类号: Q291

文献标识码: A

文章编号: 1672- 7444(2008)04- 0551- 02

端粒是真核细胞内线性染色体末端的一种特殊结构, 由端粒 DNA 和端粒蛋白组成, 具有维持染色体稳定等多种功能。端粒蛋白包括端粒结合蛋白和端粒相关蛋白, 它们相互联系形成一个复杂的端粒蛋白网络, 共同参与了对端粒的调节。

1 Shelterin 与端粒蛋白网络

Shelterin 包括 TRF1、TRF2、RAP1、TIN2、TPP1 和 POT1 6 种端粒蛋白。其中 TRF1、TRF2 和 POT1 直接识别 TTAGGG 重复序列。它们通过 TIN2、TPP1 和 Rap1 三种蛋白而相互联系, 并与其他端粒相关蛋白(包括 PIN2、PinX1、Tankyrase1、Tankyrase2、Ku、BLM RecQ 螺旋、ATM 激酶、Mre11-Rad50-Nbs1 复合物、ERCC1/XPF、WRN 等) 发生相互作用, 从而形成了一个复杂的端粒蛋白网络。此网络直接影响端粒的结构和功能, 调节端粒 DNA 的长度, 维持染色体的稳定, 和细胞的衰老与癌变密切相关。

2 Shelterin 各组分及其功能

2.1 TRF1 TRF1 是哺乳动物的一种端粒双链 DNA 结合蛋白, 于 1995 年被发现, 分子量为 60 kD, 包含 439 个氨基酸, 主要存在于各种组织细胞核中, 其基因定位于 8q13。TRF1 具有三个重要的结构域: 羧基末端的 myb 样 DNA 结合结构域; 氨基末端的酸性结构域; TRF 特异性结构域。TRF1 对端粒长度具有负调控作用, 过表达 TRF1 将导致端粒逐渐缩短。端粒越长所含的 TRF1 越多。较长的端粒

能招募较多 TRF1 分子, 从而阻止端粒酶延长端粒序列。较短的端粒含有较少的 TRF1 分子, 它就有机会被延长。在短期培养的 TRF1 缺陷细胞中没有观察到端粒的缩短或延长, 但却发现: 异常的染色体末端融合; TRF1 相互作用核蛋白 2(TIN2) 与端粒失去联系; TRF2 与端粒的结合能力下降^[1]。结果表明 TRF1 需要与其它蛋白相互作用来维持端粒的长度、结构和功能。

2.2 TRF2 TRF2 是 1997 年发现的, 分子量为 66kD, 包含 500 个氨基酸残基, 与 TRF1 同源的端粒双链 DNA 结合蛋白。人 TRF2 基因定位于 16q22. 1^[2]。与 TRF1 相比, TRF2 的 C 端也有一个 MyB 型 DNA 结合区, 可与双链 TTAGGG 重复序列结合, 中间也是形成同源二聚体的保守序列, 不同的是 TRF2 氨基末端是更加保守的碱性结构域^[3]。TRF2 对端粒结构的维持作用主要表现为它能促使端粒 3' 突出端反折插入端粒双链部分, 形成 T 环和 D 环结构, 从而保证了端粒结构的完整, 避免了端粒末端融合, 维持了基因组的稳定性^[4]。同时这种高级结构的形成可以阻止端粒酶对端粒的延长作用, 间接的负调控端粒长度。过表达 TRF2 可导致端粒长度逐渐缩短; 抑制 TRF2 可使 ATM/p53 通路活化, 进而诱导细胞凋亡; TRF2 的丢失促进了染色体末端非同源重组从而形成双中心粒染色体和间期桥。TRF2 除了保护端粒之外还有其它的功能。体外试验证实, TRF2 可以抑制端粒序列的复制。TRF2 突变体诱导了细胞生长停滞。TRF2 在外周神经元中有很强的表达提示 TRF2 是神经胶质细胞的一个组分, 它能诱导神经突的形成。TRF2 的氨基末端结构域联合了复制起始复合物的特定区域, 是 DNA 复制所必需的。

2.3 hPOT1 hPOT1 是唯一的单链 DNA 结合蛋白, 包含

通讯作者: 梁晓秋, 电话: 0734- 8281505; E-mail: Liangxiaochun505@hotmail.com.

634 个氨基酸。其基因定位于 7 号染色体,全长约 120kb,有 22 个外显子,翻译起始于第 6 外子,cDNA 全长 2 631 bp,编码区为 24~ 1 928bp。hPOT1 蛋白有两大功能相关结构域:OB 折叠和 TRF1 复合物相互作用结构域。hPot1 通过 OB 折叠结合端粒单链 DNA,但 OB 折叠不是 hPOT1 蛋白与端粒结合的唯一途径。hPOT1 蛋白可以通过与人 TRF1 复合物结合而间接结合在端粒上。hPOT1 也可以与 TRF2 相互作用,与端粒 DNA 形成复合物维持端粒的末端结构。显性负相的 TRF2 与 hPOT1 结合后,阻止了 hPOT1 与端粒的结合;hPOT1 的过表达则避免了显性负相的 TRF2 引起的端粒突出端的丢失,染色体不稳定和衰老。hPot1 蛋白的不同区域对应着它的不同功能,包括稳定染色体和限制端粒酶靠近端粒。羧基末端的 Pot1 片段通过从端粒上转移内源性的 hPot1 而导致了端粒长度明显延长,进一步减少端粒的 hPot1 将引起端粒 DNA 的丢失和染色体末端融合^[5]。结果表明 hPot1 量的多少决定了端粒酶是否靠近和端粒是否丢失。hPOT1 在体外抑制了端粒酶的活性。在体内,hPOT1 可能影响了端粒酶作用的底物。在肿瘤细胞中利用 RNA 干扰技术抑制 hPOT1 导致了 3' 突出端 DNA 的减少和 G1 期暂时的 DNA 损伤反应,而并没有出现端粒融合和细胞周期阻滞。最近发现小鼠端粒包含两种 POT1 即 POT1a 和 POT1b。POT1a 是抑制 DNA 损伤信号所必需的;POT1b 则可以调节端粒末端单链 DNA 的量^[6]。hPOT1 是否有此区别有待进一步研究。

2.4 TIN2 TIN2 是 1999 年发现的,由 354 个氨基酸组成,分子量约为 40KD。在人各种组织和细胞中均有表达。人 TIN2 蛋白包括 N 末端(N-ter),TRF1 交互作用区(TRF1-Int)和 C 末端(C-ter)三个结构域^[7]。TIN2 与 TRF1 相互作用并介导了 TRF1 的功能。在酵母和哺乳动物细胞中发现 TIN2 在体外可以与 TRF2 相互作用。在人类细胞中,与 TRF1 或 TRF2 结合的 TIN2 缺陷变体能诱导 DNA 损伤反应并使端粒 TRF1 和 TRF2 失去稳定。由此表明 TRF1 和 TRF2 的功能与 TIN2 密切相关。TIN2 在体内也可直接与 TRF2 结合,将 TRF1 和 TRF2 联系起来。Ye JZ 等^[8]的实验也证实 TIN2 同时结合 TRF1 和 TRF2 并稳定端粒 TRF2 复合物。用干扰 RNA 技术处理 TIN2 的细胞导致了染色体末端 TRF2 和 hRap1 的减少。小鼠 TIN2 基因的失活导致了早期胚胎的死亡,这种致死现象不是端粒酶依赖途径改变端粒长度和功能的结果。该发现表明 TIN2 存在独立于端粒长度调节之外的功能。TIN2 的其它功能需要不断地去发现。

2.5 hRap1 hRap1 包括 BRCT, Myb, RCT 和环绕区四个结构域。其中 RCT 结构域与 TRF2 结合形成一个复合物而结合到端粒上发挥其保护端粒的功能。BRCT 和 Myb 结构域作为蛋白相互作用域与端粒长度调节有关^[9]。除了 TRF2 外,DNA 修复蛋白 Rad50, Mre11, PARP1 和 Ku86/ Ku70 也能与 hRap1 形成复合物。其中 Rad-50/Mre-11 和 Ku86 的招募与 TRF2 无关,而 PARP1 则很有可能是通

过 TRF2 与 hRap1 相互作用的。hRap1 在体内负性调节端粒长度。hRap1 的连接区可能调节了端粒长度负性调节子的招募。

2.6 TPP1 TPP1 是在寻找 TIN2 相互作用蛋白质时的过程中发现的一种端粒相关蛋白。曾被称为 TIN1, PTOP 和 PIP1。TPP1 能与 POT1 和 TIN2 结合,进而将它们连接到 TRF1 复合物上。TPP1 结合于 POT1 的羧基端并使其与端粒结合。TPP1 的减少或者伴随 shRNAs POT1 水平的改变导致了端粒的延长,这暗示 TPP1 是通过招募 POT1 来控制端粒长度的。TPP1 还能与 POT1 和 TIN2 相互作用。抑制 TPP1 或破坏 TPP1- POT1 的相互作用将妨碍 POT1 的端粒定位。在人类细胞中,TPP1 和 POT1 各自作用域的单独表达能延长端粒,TPP1 和 POT1 的异二聚体能够调节 POT1 与端粒的结合和端粒的长度^[10]。TPP1 通过 TIN2 而定位于端粒,被认为是端粒酶介导的端粒延长的负性调节子。TRF1 和 TRF2 通过 TIN2 及新的结合伴侣 TPP1 而相连接,通过过表达 tankyrase 1 而去除 TRF1 后, TIN2/ TPP1 复合物依旧通过增加与 TRF2 联系而作用于端粒。

3 问题与展望

端粒的生物学功能是由端粒 DNA 和端粒蛋白决定的。其中 Shelterin 发挥着关键作用。目前对 Shelterin 的研究主要集中在其六蛋白组分的结构和功能上。它们之间内在的调节机制如何?它们和其它端粒蛋白之间的作用途径又是怎样的?它们在体内是如何影响 T 环形成及端粒功能的?又是如何影响细胞周期,细胞凋亡和有丝分裂过程的?这些问题将值得我们进一步去研究。

参考文献:

- [1] Iwano T, Tachibana M, Reih M, et al. Importance of TRF1 for functional telomere structure [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(2): 1442- 1448.
- [2] 张永炜, 穆泽鸿, 康健. 端粒结合蛋白 TRF2 的研究进展 [J]. *生命科学*, 2006, 18(3): 239- 243
- [3] Bilaud T, Brun C, Aneirin K, et al. Telomeric localization of TRF2, a novel human telobox protein [J]. *Nature Genet*, 1997, 17: 236- 239.
- [4] Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S, et al. Mammalian telomeres end in a large duplex loop [J]. *Cell*, 1999, 97(4): 503- 514.
- [5] Burch JT, Bae NS, Leonard J, et al. Distinct requirements for Pot1 in limiting telomere length and maintaining chromosome stability [J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(13): 5567- 5578.
- [6] Hockemeyer D, Daniels JP, Takai H, et al. Recent expansion of the telomeric complex in rodents: Two distinct POT1 proteins protect mouse telomeres [J]. *Cell*, 2006, 126(1): 63- 77.
- [7] 胡华, 梁晓秋. 端粒相关蛋白 TIN2 [J]. *医学分子生物学杂志*, 2007, 4(1): 33- 35
- [8] Ye JZ, Donigan JR, van Overbeek M, et al. TIN2 binds TRF1 and TRF2 simultaneously and stabilizes the TRF2 complex on telomeres [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(45): 47264- 47271.
- [9] Li B, de Lange T. Rap1 affects the length and heterogeneity of human telomeres [J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19(12): 5060- 5068.
- [10] Liu D, Safari A, O'Connor MS. PIPOP interacts with POT1 and regulates its localization to telomeres [J]. *Nat Cell Biol*, 2004, 6(7): 673- 680.

(收稿日期: 2008- 04- 09)