

# BTB 家族蛋白结构与功能的研究进展

韦带莲, 金志强

(中国热带农业科学院 生物技术研究所 热带生物技术国家重点实验室, 中国海南 海口 571101)

**摘要:** BTB(BR-C, ttk, and bab) 家族是类 Kuppel 锌指蛋白家族中的一种, 广泛存在于从酵母到人类的各种物种中, 它最主要的特征是在 N 端至少含有一个 BTB 结构域. BTB 结构域是在进化上高度保守的结构域, 约含有 115 个氨基酸. 越来越多的研究表明 BTB 蛋白在转录和调控的过程中起着重要的作用.

**关键词:** BTB 结构; 功能

中图分类号: Q71

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2006)S0-0048-04

## Advances in the Structure and Function of BTB Protein

WEI Dai-lian, JIN Zhi-qiang

(State Key Laboratory of Tropical Crops Biotechnology, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology,  
Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, Hainan, China)

**Abstract:** BTB(BR-C, ttk and bab) protein exists widely in nearly all organisms from yeast to human genome, belonging to Kuppel zinc finger protein. It contains at least a BTB domain at the N terminal. BTB domain is a highly conserved domain in evolution with about 115 amino acid. Now more and more results show that BTB protein plays important role in transcribing and regulating.

**Key words:** BTB; structure; function

(Life Science Research, 2006, 10(2): 048 ~ 051)

BTB(BR-C, ttk and bab) 家族蛋白的主要特征是在 N 末端含有 BTB 结构域, 几乎一半的 BTB 蛋白同时在 C 端含有一个或者是多个 kelch-repeat, 另外一部分 BTB 蛋白 C 端含各种不同的锌指结构域(以 C2H2 锌指为多), 参与转录调控. 另外, 在 5% ~ 10% 的含 C2H2 锌指结构的转录因子中含有 BTB 结构域, 它可与其它蛋白通过 BTB 结构域相互作用形成同源或异源二聚体. BTB 蛋白并不是一类传统意义上的转录调控因子, 而是一种既有转录激活作用又有转录抑制

作用的蛋白<sup>[1-4]</sup>. 由于 BTB 蛋白直接参与转录调控, 所以在发育和细胞命运决定过程中有重要的作用. BTB 结构域对于所在的蛋白的功能具有很重要的作用, 因此了解 BTB 结构域的结构特征和功能对于研究 BTB 蛋白的功能具有重要的理论意义.

### 1 BTB 家族蛋白的发现及结构特征

BTB 家族是类 Kuppel 锌指蛋白家族中的一种, BTB 发现应追溯到 1994 年, Zollman 等<sup>[5]</sup>克隆

收稿日期: 2006-05-18; 修回日期: 2006-06-11

基金项目: 海南省高校优秀青年教师科研和教学奖励基金

作者简介: 韦带莲 (1980-) 女, 广西浦北人, 硕士研究生, 主要从事基因工程应用的研究. E-mail: dailian\_wei@126.com Tel: 0898-66890772;

金志强 (1962-) 男, 陕西咸阳人, 研究员, 博士生导师, 通讯作者, 主要从事园艺作物分子生物学的研究. E-mail: zhiqiangjin2001@sohu.com.

了 *Ubric-a-brac* 基因 (*bab*)，该基因的突变引起果蝇腿部附节同源异型突变。其编码的蛋白 N 端有一个约 115 个氨基酸的模体 (motif)，经同源搜寻后发现这个模体对应的基因与已知的 *tram-track*、*Broad-Complex* 等基因的相应部分同源性很高，于是他们把这个模体称为 BTB<sup>[5-8]</sup>。因为它也经常出现于痘病毒锌指蛋白中，所以也称为 POZ 结构域 (*poxvirus and zinc finger*)<sup>[3,9,10]</sup>。

BTB 结构域是一个在进化上相当保守的结构域<sup>[11]</sup>，从酵母到人的各个物种中都有 BTB 蛋白分布<sup>[9,10]</sup>。一般 BTB 蛋白都是在 N 端含有一个 BTB 结构域，几乎一半的 BTB 蛋白同时在 C 端含有一个或者是多个 *kelch-repeat*，另外一部分 BTB 蛋白 C 端含各种不同的锌指结构域 (以 C2H2 锌指为多)，参与转录调控。在 5% ~ 10% 的含 C2H2 锌指结构的转录因子中含有 BTB 结构域，它可与其它蛋白通过 BTB 结构域相互作用形成同源或异源二聚体。另外还有一小部分 BTB 蛋白含有其它的结构域，比如 *FYVE* 指状结构域、*ankyrin* 重复、组蛋白折叠结构域、穿膜结构域、AT 钩和其他未经研究的球状结构域。BTB 结构域最重要的功能是形成蛋白复合体。BTB 结构域形成蛋白相互作用的界面，通过 BTB 结构域，可以形成蛋白二聚物、多聚物，也可以与不同蛋白相互结合形成异聚蛋白复合体。

BTB 结构域一般为 115 个氨基酸左右，大多为疏水性氨基酸。分析二级结构可以看出，BTB 结构域由 4 段  $\alpha$ -螺旋组成，螺旋间由  $\beta$ -折叠连接，所形成的三维空间结构是与其它蛋白作用的特征模体。根据家族成员 BTB 结构域之间的同源性，还可以将这个家族再分为两个亚类：*tkk*、*lola*、*bab*、BTB II ~ VII、*GAGA*、*BR-C* 等的同源性在 49% 左右，称为 *tkk* 亚类；*kelch*、*BCL6*、*PLZF*、*ZID* 等的同源性只有 24% 左右，成为另外一个亚类<sup>[12]</sup>。

大多数 BTB 家族的成员 C 端具有特定保守结构：*tkk* 亚类的成员中除了果蝇 *E(var)3-93D* 基因的产物外，其它都带有锌指结构，显示出特异 DNA 结合活性。*E(var)3-93D* 产物的 C-端有一段带电荷的氨基酸序列，可能有广泛的 DNA 结合活性。根据它们 C-末端的结构，又可以将 BTB 家族成员分为 3 个亚类：第 1 类的末端为几个锌指结构，包括 *bab*、*tkk*、*BR-C-2*、*GAGA*、*PLZF-B*、*LAZ* 等；第 2 类的 C-末端为 *Gly-Gly* 结尾的重复序列，包括 *Kelch*、*VacciniaA55* 等，这种保守结构具有与

肌动蛋白结合的活性；第 3 类末端则没有明显的结构保守区，如 *E(var)3-93D* 等<sup>[12]</sup>。

## 2 BTB 结构域的功能

BTB 结构域主要存在于锌指蛋白的 N 末端以及含有 *Kelch* 基序的蛋白质中。BTB 结构域可以调节 BTB 蛋白的自我联合<sup>[13]</sup>，参与同源二聚体和一些异源二聚体的形成。BTB 结构域的主要功能是介导蛋白相互作用，形成蛋白复合体，它在 *PLZF* 和 *BCL6* 等转录因子的转录调控和参与 *Cul3* 介导的泛素途径中都有重要作用。BTB 结构域形成蛋白相互作用的界面，通过 BTB 结构域，可以形成蛋白二聚物、多聚物，也可以不同蛋白相互结合形成异聚蛋白复合体。完整的 BTB 结构域对蛋白结合是必需的，对若干保守位点的突变会导致蛋白结合能力的丧失，导致功能缺失。没有二聚化的裸露的 BTB 单体蛋白是不稳定的。大量疏水的氨基酸残基暴露在外，BTB 蛋白单体依靠疏水作用力结合成二聚体。同时，在与转录相关的 BTB 蛋白中，BTB 结构域的正确折叠和形成蛋白复合体是 BTB 蛋白有正常转录调控功能的必要条件，也就是说这些 BTB 蛋白必须与其他相关蛋白形成多聚复合物的时候它的功能才能正常的显示出来。

对于 BTB 结构域的功能阐明主要得益于转录因子 *PLZF* 的晶体解析<sup>[12,14]</sup>。*PLZF* 的 BTB 结构域由 6 个  $\alpha$  螺旋和 5 个  $\beta$  折叠组成，其中  $\alpha 1$  螺旋  $\beta 1$ 、 $\beta 2$  片层组成了结合区域的主要部分，这几个区域的正常折叠是 BTB 蛋白结合功能的关键，相应的，这个区域里面的若干位点的大量氨基酸残基的保守性相当的高。值得注意的是：在 BTB 二聚体形成的时候，在接触面的顶端形成一个高度保守的凹槽，组成这个凹槽四周的氨基酸相当的保守，而且都是亲水性的。特别是有两个位点的氨基酸残基保守程度极高。用 *PLZF* 的氨基酸序列做说明，35 位的 *Arg* 在所有的 BTB 蛋白中的保守程度是 100%，49 位在所有的 BTB 蛋白中不是 *Asp* 就是 *Lys*，这两个位点的氨基酸残基并没有形成盐桥，而是 *Arg* 的肌基和蛋白质单体中的三维结构接近的 *Asp* 和 *Ser* 的羧基形成氢键。对比不同的 BTB 蛋白，都发现这个凹槽的存在。这个凹槽基本上是中性的。经过尺寸的测量，发现这个凹槽很可能是一个配体结合位点，它能容纳 5 ~ 6 个氨基酸长度的多肽，多个转录相关因

子, 如 mSin3A、histone deacetylase1、SMRT、N-CoR 都可能是这个凹槽的潜在结合配体. 这一结构的分析可能会给 BTB 蛋白参与转录调控的机制提供新的信息. 对 BTB 结构域的突变会导致整个蛋白功能的缺失, 暗示 BTB 结构域不仅仅是蛋白结合的区域, 而且很可能也是影响整个蛋白转录调控功能的区域. BTB 蛋白二聚体中这个凹槽的发现从结构上印证了这个假设.

### 3 BTB 蛋白的功能

BTB 结构域超家族蛋白有很多种功能, 如参与转录的激活与阻遏、细胞骨架的组织和染色质重塑等<sup>[15]</sup>. 开始认为 BTB 蛋白的功能是转录抑制因子, 比如 LID、PLZF、BCL6 都已经证实是转录抑制的功能<sup>[16, 18]</sup>. 但是进一步的研究表明 BTB 蛋白也可以通过对局部核小体的解旋和重新构造而达到转录激活的作用 (如 GAGA 因子). 这样表明 BTB 蛋白并不是一类传统意义上的转录调控因子, 而是一种既有转录激活作用又有转录抑制作用的蛋白. 由于 BTB 蛋白直接参与转录调控, 所以在发育和细胞命运决定过程中有重要的作用, 同时也受到精确而严格的调控. 以目前最了解的 PLZF 为例, 在造血细胞中表达 PLZF 可导致细胞生长抑制, 细胞在 G1/S 期停滞, 细胞分化被阻断<sup>[19]</sup>. 对 PLZF 中 BTB 结构域的突变导致这些功能的丧失, 说明了 BTB 对整个蛋白功能的重要性. 一些 BTB 蛋白在发育过程也起了重要的作用, BTB 蛋白 MAZR 被证明可以激活果蝇发育相关的 c-myc 启动子, 与之相关的 BAB1 和 BAB2 在果蝇发育的模式形成 (pattern forming) 中有重要作用. Tk 在果蝇的周围神经系统的发育中有重要的作用, 实验中证明对果蝇形成复眼系统有发育调控的功能<sup>[20-23]</sup>.

近年来对泛素途径的研究发现了 BTB 结构域可能具有的新功能. 泛素途径是调控细胞基本生命活动的方式之一, 在细胞周期调控、维持细胞内环境稳态、炎症反应等过程中起了重要的作用, 泛素途径的异常往往导致肿瘤发生和神经退行性疾病. 在泛素途径中泛素蛋白由 E1 活化酶传递到 E2 泛素偶联酶, 然后经由 E3 泛素连接酶添加到特异底物中. Cullin 是一类主要的 E3 泛素连接酶, 可以通过形成 Skill-cullin 1-F box (SCF) 复合物对特异的底物进行降解<sup>[24]</sup>. 在这种复合物中 Skill 是种接头蛋白, 同时与 Cullin 1 和 F box 结

合, F box 蛋白与底物结合决定了底物的特异性.

最近的研究发现 BTB 蛋白能与 Cul3 (Cull in 3) 作用, 参与泛素途径. BTB 蛋白在基因组中广泛分布, 常常和其他结构域同时存在, 如 kelch 结构域、MATH 结构域 (a meprin and TRAF homology) 等, 这一功能可以与特异的底物结合. 所以 BTB-Cul3-Roc1 (BCR) 是一种新的泛素调控模式, 在这种模式中 BTB 蛋白相当于 Skill 和 F-box 复合物的功能. 尽管 BTB 蛋白与 Skill、F-box 蛋白没有同源性, 但是 BTB 结构域的晶体结构和 Skill 的晶体结构非常相似<sup>[25]</sup>.

BTB 蛋白参与 Cul3 泛素途径的研究最早来源于线虫 MEL-26 蛋白, MEL-26 的 N 端具有 BTB 结构域, C 端具有 MATH 结构域, 研究表明 MEL-26 可以与 Cul3 作用介导 MEI-1 的降解, 在有丝分裂后期的染色体分离中起重要作用<sup>[26]</sup>. 转录因子 PLZF 可以通过抑制 cyclin A 的表达来调控细胞周期, PLZF 中的 BTB 结构域也可以与 Cul3 结合, 这种复合物可能对细胞周期的调控起了作用. BTB/kelch 蛋白是常见的一种蛋白模式, 现在已经确证许多 BTB/kelch 蛋白能够与 Cul3 结合, 如 Mayven、kelch、Keapl 等. 其他研究发现 BTB 二聚体可能在 Cul3 泛素途径中也有作用, BTB 结构域可以与其它含有 BTB 结构域的蛋白作用, 形成蛋白复合物, 这样可以调控更多的底物特异性. BTB 结构域可能对 kelch 结构域的功能起到负调控的作用, 果蝇 kelch 蛋白和人 KLEIP 中的研究结果都表明单独的 BTB 结构会与 BTB/kelch 全长蛋白结合影响正常的定位和功能<sup>[27-29]</sup>.

### 4 结束语

目前所知的 BTB 结构域的锌指蛋白均表现出转录抑制活性, 抑制 DNA 结合结构域与 DNA 序列的结合. 此类蛋白质对于生物体的发育、分化、染色体重组等程序的调节具有相当重要的作用, 并与癌症有密切的关系. 而对于具有转录激活作用的 BTB 蛋白目前的研究相对比较少, 而且, 对于 BTB 蛋白的研究主要集中在人和动物 (果蝇, 小鼠) 方面, 而对于植物方面的研究还鲜有报道. 随着今后的研究越来越深入, 在这些方面一定会有新的突破, 相信会发现更多的 BTB 蛋白及其功能的研究也会更全面.

## 参考文献 (References):

- [1] LI X, PENG H, SCHULTZ D C, LOPEZ-GUISA J M, *et al.* Rauscher F J 3rd, Marmorstein R. Structure-function studies of the BTB/POZ transcriptional repression domain from the promyelocytic leukemia zinc finger oncoprotein[J]. *Cancer Res*, 1999, 59(20): 5275-5282.
- [2] TAKENAGA M, HATANO M, TAKAMORI M, *et al.* Bcl6-dependent transcriptional repression by BAZF[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 303(2): 600-608.
- [3] PHAN R T, DALLA-FAVERA R. The BCL6 proto-oncogene suppresses p53 expression in germinal-centre B cells[J]. *Nature*, 2004, 432(7017): 635-639.
- [4] KELLY K F, OTCHERE A A, GRAHAM M, *et al.* Nuclear import of the BTB/POZ transcriptional regulator[J]. *Kaiso J Cell Sci*, 2004, 117(Pt25): 6143-6152.
- [5] ZOLLMAN S, GODT D, PRIVE G G, *et al.* The BTB domain, found primarily in zinc finger proteins, defines an evolutionarily conserved family that includes several developmentally regulated genes in *Drosophila*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91(22): 10717-10721.
- [6] DIBELLO P R, WITHER D A, BAYER C A, *et al.* The *Drosophila* Broad2 Complex encodes a family of related proteins containing zinc fingers[J]. *Genetics*, 1991, 129(2): 385-397.
- [7] HARRISON S D, TRAVERS A A. The tramtrack gene encodes a *Drosophila* finger protein that interacts with the *fz* transcriptional regulatory region and shows a novel embryonic expression pattern[J]. *EMBO J*, 1990, 9(1): 207-216.
- [8] GODT D, COUDER J L, CRAMTON S E, *et al.* Pattern formation in the limbs of *Drosophila*: bric-a-brac is expressed in both a gradient and a wave2 like pattern and is required for specification and proper segmentation of the tarsus[J]. *Development*, 1993, 119(3): 799-812.
- [9] PRAG S, ADAMS J C. Molecular phylogeny of the kelch-repeat superfamily reveals an expansion of BTB/kelch proteins in animals[J]. *BMC Bioinformatics*, 2003, 4(1): 42.
- [10] ADAMS J, KELSO R, COOLEY L. The kelch-repeat superfamily of protein: propellers of cell function[J]. *Trends Cell Biol*, 2000, 10(1): 17-24.
- [11] ALHAGLI O, DHORDAIN R., DEWINDT C, *et al.* The BTB/POZ domain: a new protein-protein interaction motif common to DNA- and actin-binding protein[J]. *Cell Growth Differ*, 1995, 6(3): 1193-1198.
- [12] 王重, 赵德标. BTBPOZ 蛋白质家族的结构和功能 [J]. *生命的化学*, 1997, 17(6): 10-13.
- [13] HARDWELL V J, TREISMAN R. The POZ domain: a conserved protein-protein interaction motif[J]. *Genes Dev*, 1994, 8(14): 1664-1667.
- [14] AHMAD K F, ENGEL C K, PRIVE G G. Crystal structure of the BTB domain from PLZF[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(21): 12123-12128.
- [15] ARAVIND L, KOONIN E V. Fold prediction and evolutionary analysis of the POZ domain: structural and evolutionary relationship with the potassium channel tetramerization domain[J]. *Mol Biol*, 1999, 285(4): 1353-1361.
- [16] LI X, ZHANG D, HANNINK M. Crystal structure of the Kelch domain of human Keap1[J]. *Biol Chem*, 2004, 279(52): 54750-54758.
- [17] LEDEE D R, GAO C Y, SETH R, *et al.* A specific interaction between muskelin and the cyclin dependent kinase 5 activator p39 promotes peripheral localization of muskelin[J]. *Biol Chem*, 2005, 280(22): 21376-21383.
- [18] PRAG S, COLLETT G D, ADAMS J C. Molecular analysis of muskelin identifies a conserved discoidin-like domain that contributes to protein self-association[J]. *Biochem*, 2004, 381(Pt2): 547-559.
- [19] DELTOUR S, GUERARDEL C, LEPRINCE D. Recruitment of SMRT/N-CoR-mSin3A-HDAC-repressing complexes is not a general mechanism for BTB/POZ transcriptional Repressors: the case of HIC-1 and gammaFBP-B[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(26): 14831-14536.
- [20] HOROWITZ H, BERG C A. The *Drosophila* pipsqueak gene encodes a nuclear BTB-domain-containing protein required early in oogenesis [J]. *Development*, 1996, 122(6): 1859-1871.
- [21] CHEN W, ZOLLMAN S, COUDERC J L, *et al.* The BTB domain of bric-a-brac mediates dimerization *in vitro*[J]. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(6): 3424-3429.
- [22] PAGANS S, ORTIZ L M, ESPINAS M L, *et al.* The *Drosophila* transcription factor tramtrack (TTK) interacts with Trithorax-like (GAGA) and represses GAGA-mediated activation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(20): 4406-4413.
- [23] BADENHORS P, FINCH J T, TRAVERS A A. Tramtrack co-operates to prevent inappropriate neural development in *Drosophila* [J]. *Mech Dev*, 2002, 117(1-2): 87-101.
- [24] XU L, WEI Y, REBOUL J, *et al.* BTB proteins are substrate-specific adaptors for an SCF-like modular ubiquitin ligase containing CUL-3[J]. *Nature*, 2003, 425(6955): 316-321.
- [25] STOGIOS P J, PRIVE G G. The BACK domain in BTB-kelch proteins [J]. *Trends Biochem Sci*, 2004, 29(12): 634-637.
- [26] ITOH K, WAKABAYASHI N, KATOH Y, *et al.* Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain[J]. *Genes Dev*, 1999, 13(11): 76-86.
- [27] ROBINSON D N, COOLEY L. *Drosophila* kelch is an oligomeric ring canal actin organizer[J]. *Cell Biol*, 1997, 138(4): 799-810.
- [28] XUE F, COOLEY L. Ketch encodes a component of intercellular bridges in *Drosophila* egg chambers[J]. *Cell*, 1993, 72(5): 681-693.
- [29] HARA T, ISHIDA H, RAZIYUDDIN R, *et al.* Novel ketch-like protein-KLEIP is involved in actin assembly at cell-cell contact sites of Madin-Darby canine kidney cells[J]. *Mot Biol Cell*, 2004, 15(3): 1172-1184.