RNA聚合酶 II 相关因子1(Paf1)复合物的结构和功能研究进展

陈飞龙, 周浩, 龙加福*

南开大学生命科学学院, 药物化学生物学国家重点实验室, 天津蛋白质科学重点实验室, 天津 300071

* 联系人, E-mail: jflong@nankai.edu.cn

收稿日期: 2019-07-25; 接受日期: 2019-08-09; 网络版发表日期: 2019-09-16

国家自然科学基金(批准号: 31670758, 31870750)资助

摘要 Paf1 复合物(polymerase-associated factor 1 complex)是在真核生物中高度保守的多亚基复合物, 由Ctr9, Paf1, Leo1, Cdc73和Rtf1组成, 人源Paf1复合物还含有额外的一个亚基Ski8. Paf1复合物参与到多种细胞生命活动中, 例如参与转录调控的各个过程、初转录物的加工及出核、维持染色质结构、DNA的损伤修复和维持胚胎干细胞多能性, 并与多种肿瘤的发生发展相关. 本文从结构和功能两个方面来阐述近年来Paf1复合物的重要研究进展, 提出了Paf1复合物急需解决的一些科学问题, 并展望了未来的研究愿景.

关键词 Paf1 复合物, RNA聚合酶 II, 结构和功能

真核基因转录在多个阶段受到诸多转录因子的严格调控, 比如RNA聚合酶 II 及相关转录因子的募集、染色质重构、组蛋白修饰和mRNA加工. RNA聚合酶 II 所介导的转录主要分为三个阶段: 起始、延伸和终止. 在转录延伸过程中, 许多特异的RNA聚合酶 II 相互作用因子会被募集到染色质上形成转录延伸复合物共同促进转录延伸^[1]. 最初, Paf1复合物是在纯化出芽酵母RNA聚合酶 II 的过程中被发现的^[2,3]. 然后研究人员发现, Paf1复合物普遍存在于真核生物中, 是高度保守的RNA聚合酶 II 转录延伸因子^[4]. 后来发现, 从低等真核生物到高等生物中Paf1复合物是高度保守的多亚基复合物, 由Ctr9, Paf1, Leo1, Cdc73和Rtf1五个亚基组成^[5~7], 人源的Paf1复合物除了这五个亚基外,

还有额外一个亚基Ski8. 此外, 除出芽酵母外, 在人源和其他真核生物包括裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)在内, Rtf1并不能与Paf1复合物的其他组分形成稳定复合物^[8,9], 这其中的分子机制和生物学意义还不太清楚. 在出芽酵母中, Paf1复合物通过与RNA聚合酶 II 及其他转录因子, 如Spt4-Spt5和Spt16-Pob3复合物等相互作用定位到染色质上^[5,7], 从而参与到一系列的转录调控过程. 例如, H2B的泛素化及H3的甲基化^[10~13]、RNA聚合酶 II 的C端结构域(carboxy-terminal domain, CTD)的磷酸化^[13]以及转录终止和mRNA 3'末端加工^[14,15]. 同样, 人源Paf1复合物也能和同源的DSIF(DRB(5,6-dichloro-1-β-D-ribofuranosylbenzimidazole) sensitivity inducing factor)复合物和FACT(facil-

引用格式: 陈飞龙, 周浩, 龙加福. RNA聚合酶 II 相关因子1(Paf1)复合物的结构和功能研究进展. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 1143–1154
Chen F L, Zhou H, Long J F. Research progress in structure and function of polymerase-associated factor 1 complex (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 1143–1154, doi: 10.1360/SSV-2019-0154

itates chromatin transcription/transactions)复合物相互作用定位到染色质执行相似的功能^[7,16]。大量的数据表明, Paf1复合物在转录延伸和染色质修饰过程中起着至关重要的作用^[4,17]。近年来, 研究人员也发现了Paf1复合物的一些新功能, 尤其是在斑马鱼的研究中, Paf1调控RNA聚合酶 II 在启动子近端区域暂停释放^[18,19]。在裂殖酵母的研究中发现, Paf1复合物在异染色质的维持^[20,21]和mRNA的多聚腺苷酸(poly A)的形成中起到重要的作用^[22]。此外, Paf1复合物也被证明在多种肿瘤与疾病的发生、发展中起到重要作用^[23-25]。本文结合本实验室的研究成果, 综述了Paf1复合物的结构和组装方面的研究进展, 以及Paf1复合物参与真核细胞内多种生命活动的分子机制方面的研究进展。

1 Paf1复合物的结构研究进展

自Paf1复合物首次从出芽酵母中被发现到现在^[2,3], 大量的体内外实验数据表明Paf1复合物在真核生物正常生命活动中起着至关重要的作用。一系列蛋白结构的解析也加深了对Paf1复合物装配以及行使功能的分子机制的理解。虽然能够通过体外纯化得到完整Paf1复合物, 但由于Paf1复合物结构的动态性与不稳定性, 完整Paf1复合物的结构至今尚未得到解析。

最初, 通过核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)和X射线衍射(X-ray)技术解析的蛋白结构都是单个蛋白重要的结构域或者是亚复合物的结构。2008年, Folkers课题组^[26]通过NMR手段解析了人源Rtf1蛋白上保守且功能重要的Plus3结构域的结构(图1A), 这也是首个被解析的Paf1复合物成员的结构。从结构上看, Plus3结构域含有一个由 β 折叠组成的亚结构域, 与核酸结合蛋白Dicer/Argonaute的PAZ(Piwi/Argonaute/Zwille)结构域以及Tudor结构域相似。此外, 在体外实验中也验证了Rtf1-Plus3结构域能够通过 β 折叠片层边缘的碱性氨基酸结合单链DNA, 这也就说明在转录的过程中Rtf1可能具有结合单链DNA的能力来维持正常的转录延伸。2013年, VanDemark课题组^[27]解析了人源Rtf1-Plus3结构域与磷酸化的Spt5-CTR(C-terminal region)复合物的晶体结构(图1B), 表明磷酸化的Spt5-CTR能够识别Rtf1-Plus3结构域, 从而促进Paf1复合物在染色质上的募集。2016年, Arndt课题组^[28]解析了

Rtf1蛋白HMD(histone modification domain)结构域的结构(图1C), 整个结构由两个螺旋组成, 呈“L”字形。通过结构和序列保守性分析确定出保守的氨基酸残基, 并利用体内交联手段确定了Rtf1是通过HMD与Rad6相互作用, 初步揭示了Paf1复合物与组蛋白修饰联系在一起的分子机理。

2012年, VanDemark课题组^[29]利用X-ray解析了酵母源Cdc73的C端的晶体结构(图1D), 通过结构比对意外地发现C端结构与Ras的GTPase结构域相似, 但该结构域并没有核苷酸结合口袋。体外实验发现, Cdc73的C端截短并不会影响Paf1复合物的装配, 但是体内实验结果发现, Cdc73的截短会引起染色质上Paf1复合物各组分的减少, 从而影响正常转录。这说明Cdc73的C端结构域对于整个Paf1复合物募集到染色质上具有重要作用。2017年, Xu课题组^[30]解析了人源Cdc73的N端的晶体结构(图1E)。结构表明, Cdc73的N端呈球状折叠结构, 在其表面有一个保守的疏水沟。与甲状腺癌功能亢进下颌肿瘤综合征相关的错义突变氨基酸主要集中在Cdc73的N端。当在体外突变这些位点时, 会打破Cdc73的N端疏水核心的结构, 这些现象都表明, Cdc73的N端的疏水核心区可能存在重要的功能。

2013年, 本课题组^[9]成功解析了人源Paf1-Leo1异源二聚体的结构(图1F), 结构表明Paf1和Leo1通过反向 β 折叠片层紧密地相互作用在一起。通过一系列的生化实验发现, Leo1是通过与Paf1相互作用而整合进Paf1复合物, 并且表明Paf1和Ctr9是两个骨架蛋白, 在Paf1复合物装配中起着重要作用。此外, 还发现Paf1-Leo1亚复合物能够识别组蛋白H3的N端尾巴来协调一系列的组蛋白修饰。2018年, 本课题组进一步解析了人源和酵母源Ctr9-Paf1亚复合物的晶体结构(图1G和H)。虽然人源Ctr9-Paf1和酵母Ctr9-Paf1之间的氨基酸序列相似性较低, 但两者的三维结构很相似。Ctr9由TPR(tetratricopeptide repeat)构成, 在结构中以右手超螺旋的方式折叠形成一个“C”字形, Paf1的C端穿过Ctr9的“C”字形结构的凹面, 再与凸面结合, 形成钩状结构, 进而稳定Ctr9的结构。本课题组结合疾病突变和人源Ctr9-Paf1结构数据, 进一步阐明了疾病发生的分子机制, 同时体外、体内实验数据表明, Ctr9-Paf1对于完整Paf1复合物的装配起重要作用及参与调节组蛋白的修饰, 并进一步更新了Paf1复合物的组装模式^[31]。同年, Wang课题组^[32]解析了嗜热真菌的Ctr9-Paf1-Cdc73

图 1 已解析的Paf1复合物亚基或亚复合物的结构。A: Rtf1的Plus3结构域(人源, PDB: 2BZE); B: Rtf1-Spt5亚复合物(人源, PDB: 4L1U); C: Rtf1-HMD结构域(酿酒酵母, PDB: 5E8B); D: Cdc73的C端结构域(酿酒酵母, PDB: 3V46); E: Cdc73的N端结构域(人源, PDB: 5YDE); F: Paf1-Leo1亚复合物(人源, PDB: 4M6T); G: Ctr9-Paf1亚复合物(酿酒酵母, PDB: 5ZYP); H: Ctr9-Paf1亚复合物(人源, 5ZYQ); I: Ctr9-Paf1-Cdc73亚复合物(嗜热毁丝菌, PDB: 6AF0); J: Pol II-DSIF-PAF-SPT6复合物(人源和猪源, PDB: 6GMH)

Figure 1 Structures of subunit or subcomplex of Paf1 complex. A: Rtf1-Plus3 domain (*Homo sapiens*, PDB: 2BZE). B: Rtf1-Spt5 subcomplex (*Homo sapiens*, PDB: 4L1U). C: Rtf1-HMD domain (*Saccharomyces cerevisiae*, PDB: 5E8B). D: Cdc73 C-terminal domain (*Saccharomyces cerevisiae*, PDB: 3V46). E: Cdc73 N-Terminal domain (*Homo sapiens*, PDB: 5YDE). F: Paf1-Leo1 subcomplex (*Homo sapiens*, PDB: 4M6T). G: Ctr9-Paf1 subcomplex (*Saccharomyces cerevisiae*, PDB: 5ZYP). H: Ctr9-Paf1 subcomplex (*Homo sapiens*, 5ZYQ). I: Ctr9-Paf1-Cdc73 subcomplex (*Myceliophthora thermophila*, PDB: 6AF0). J: Pol II-DSIF-PAF-SPT6 complex (*Homo sapiens* and *Sus scrofa*, PDB: 6GMH)

三元蛋白复合物的晶体结构(图1I), 整个复合物看起来呈螺旋管状结构, Ctr9由21个TPR组成, 以右手超螺旋方式折叠而成。令人诧异的是, Paf1的N端以线性构象穿过Ctr9的螺旋管结构内部, 呈“J”字形, 最大程度上稳

定了Ctr9的结构, Cdc73由3个小螺旋组成, 结合在Ctr9的C端, 结合模式与Paf1的C端结合Ctr9的N端模式相似, 进一步说明了Ctr9和Paf1这两个蛋白在Paf1复合物装配中的骨架作用。Ctr9的N端和Paf1的C端区域的结

构和人源或酵母源的结构相似, 说明了Paf1复合物在真核生物体内的保守性以及功能的重要性. 此外还通过EMSA(electrophoretic mobility shift assays)实验发现, Paf1复合物能特异性地结合单链DNA而不结合双链DNA, 这与之前发现的Rtf1-Plus3结构域特异性结合单链DNA的结果一致^[26].

随着冷冻电子显微镜技术的革新, 冷冻电子显微镜在解析蛋白尤其是超大复合物结构领域发挥越来越重要的作用. 2017年, Cramer课题组^[33]发表了酵母源Paf1复合物和RNA聚合酶 II 以及TPIIS大复合物的电子显微镜结构. 在此电子显微镜结构中, Paf1复合物区域的分辨率大概在10~20 Å, 只能模糊地看到Paf1复合物呈“三叶草”状, 以TF II S促进而TF II F抑制的方式结合在RNA聚合酶 II 的外表面. 2018年, 该课题组发表了人源Pol II-DSIF-PAF-SPT6大复合物的电子显微镜结构(图1J), Cryo-EM结构揭示了由猪源的聚合酶 II 和人源的DSIF、Paf1复合物和SPT6组成的活性的延伸复合物, 总体分辨率达到了3.1 Å, 与处于暂停状态的由聚合酶 II, DSIF和NELF(negative elongation factor)组成的延伸复合物的结构相比, Paf1复合物从聚合酶 II 的漏斗处替换了NELF, 以利于暂停的释放. 在此电子显微镜结构中, Paf1-Leo1二元复合物锚定在RBP2的外部结构域; Ctr9的TPR重复形成了一个右手超螺旋, 从聚合酶 II 的RBP11亚基延伸到RBP8亚基, 从而通过聚合酶的漏斗处到足部; 而Ski8结合在Ctr9的靠近C端的位置, 处在整个复合物的顶点位置, 并远离聚合酶 II 而没有与之接触; Cdc73是动态的, 利用一个螺旋锚定在Ctr9的第17个TPR重复上(图1J)^[34]. Paf1复合物与NELF在空间上竞争性的与Pol II 的漏斗处结合, 并且P-TEFb的磷酸化影响NELF和Paf1复合物之间的竞争以促进NELF的释放和Paf1复合物的结合. 这与Paf1复合物对于细胞中的聚合酶 II 的暂停释放是必需的实验结果一致^[19]. Paf1复合物和SPT6的相互作用分别诱导在DSIF钳位中的上游DNA和离开RNA上的构象变化, 这些变化可能促进DNA在转录泡的上游边缘重绕, 以促使聚合酶向前移动^[35].

Ski8, 在Paf1复合物中的作用机制少见报道, 其主要功能是作为Ski复合物的组分之一参与到介导mRNA的降解和质量控制的信号通路中^[36,37]. 2013年, Conti课题组^[36]解析了酵母源Ski2-Ski3-Ski8复合物的结构, 结构显示Ski8是由7个WD40重复折叠形成的

beta螺旋桨状蛋白. 2016年, Beckmann课题组^[37]进一步利用冷冻电子显微镜解析了核糖体-Ski超大复合物的结构, 为Ski在介导mRNA的降解中的作用机制奠定了结构基础.

综上所述, 近10年来Paf1复合物的亚基或亚复合物的结构方面取得了重要的进展, 多个亚基和亚复合物的结构已经得到了解析, 这对于理解Paf1复合物在转录过程中发挥作用的分子机制奠定了扎实的结构基础.

2 Paf1复合物功能研究进展

Paf1复合物是一个结构高度保守且功能丰富的多亚基复合物. 随着技术的发展和研究的深入, Paf1复合物的发挥功能的分子机制不断被更新丰富. 本文将从以下4个方面, 对Paf1复合物近些年在各个过程中的作用机制进行综述.

2.1 Paf1复合物染色质上的募集

染色质免疫共沉淀实验表明, Paf1复合物普遍存在于从活性基因的转录起始区一直到聚腺苷酸(poly A)区^[38,39]. 然而Paf1复合物是如何被特异性地募集到染色质上行使一系列功能的, 这其中的分子机制一直都是研究的热点. 在酵母中发现, 磷酸化RNA聚合酶 II -CTD的激酶Bur1的活性对于Paf1复合物在染色质上的募集起到重要的作用^[40]. 进一步实验发现, Bur1磷酸化RNA聚合酶 II -CTD同时还能磷酸化Spt5-CTR, 说明Bur1依赖性的Paf1复合物在染色质上的募集还受到Spt5-CTR磷酸化水平的调控^[41~43]. 在人源细胞中, Bur1同源蛋白CDK9同样能够磷酸化RNA聚合酶 II -CTD以及Spt5-CTR来募集Paf1复合物^[44,45], 这也就说明, Paf1复合物在染色质上募集的分子机制是相对保守的.

早期研究发现, 在酵母Paf1复合物中, Rtf1对于Paf1复合物的募集起着重要作用, 发现Rtf1的Plus3结构域的截短很大程度上影响了Paf1复合物在染色质上的募集^[46]. 大量实验表明, Rtf1的Plus3结构域能够识别Spt5磷酸化的CTR区, 从而被募集到染色质上. 在酵母中截去Spt5的CTR区或失活Bur1会影响全长Rtf1或Plus3结构域在染色质上的募集^[42,43,47]. 后续, 人源Rtf1-Plus3结构域与磷酸化的Spt5-CTR复合物结构的解析

以及体外实验数据都表明, Spt5通过磷酸化的CTR与Rtf1的Plus3相互作用从而募集Paf1复合物^[27,47]。此外,也有一些实验数据表明Rtf1的HMD结构域也能结合染色质^[48]。

除Rtf1以外, Paf1复合物的其他亚基也被发现具有结合染色质的能力。通过体外实验发现, Cdc73能够结合磷酸化的RNA聚合酶II-CTD和Spt5-CTR进而募集Paf1复合物^[41]。在酵母实验中发现, Cdc73的C端缺失会影响Paf1复合物的募集^[29]。体内交联和RNA-IP(RNA-immunoprecipitation)实验发现Leo1能够结合RNA。酵母中Leo1敲除能够减少Paf1复合物的募集, 同样用RNase处理细胞提取物会影响Paf1复合物与染色质的结合^[49]。Leo1的C端和Paf1的N端都含有一连串的酸性氨基酸, 一系列生化实验数据也表明, Paf1-Leo1异二聚体能够协同各自的N和C端来特异性结合组蛋白八聚体或核小体中两个H3的N端^[9]。此外, 在最近的研究中发现, Paf1复合物能够特异性结合单链DNA^[32], 推测在转录过程中Paf1复合物与转录泡中单链DNA相互作用来维持转录的正常延伸。

综上所述, Paf1复合物在染色质上的精确定位是Paf1复合物参与转录活动的第一步也是关键的一步, 是多种募集机制共同调控的结果。

2.2 Paf1复合物在转录偶联的组蛋白修饰中的作用

在真核生物中, DNA缠绕着组蛋白八聚体形成核小体, 然后经过高度压缩后组装成染色质。染色质是受到多种染色质重构复合物以及组蛋白分子伴侣高度调控的, 此外组蛋白的修饰也能通过改变组蛋白以及DNA的结合来调控染色质结构。

在早期对酵母的研究中, 发现Paf1复合物在H2BK123泛素化以及H2BK123泛素化依赖性的H3K4和H3K79甲基化中起着重要的作用^[10~12]。H2B泛素化能够维持染色质处于松散的状态, 有利于转录因子的结合保证转录的进行。此外在最近研究中, 研究人员可以从原子水平上看到Dot1能够结合H2B泛素化的核小体, 并进一步与H4的N端相互作用, 从而引起整体构象的改变使Dot1能够将甲基转移到H3K79上^[50]。这一案例充分说明了组蛋白修饰在转录和染色质结构中发挥着重要作用, 然而Paf1复合物在调控这些修饰过程中发挥的作用并没有被清晰地揭示。

在出芽酵母中, Paf1复合物通过结合泛素连接酶Bre1增强泛素结合酶Rad6与Bre1在染色质上的募集, 从而促进H2B的单泛素化^[11,12,51]。酵母源Ctr9, Paf1, Cdc73和Rtf1这些亚基的缺失都会引起H2B泛素化水平的下降甚至消失^[48]。有趣的是, 即使在Paf1复合物其他亚基都缺失的情况下, 仅仅Rtf1的HMD结构域就能部分恢复H2B的泛素化^[48]。晶体结构以及生化实验数据表明, Rtf1通过HMD与Rad6相互作用, 且E104位氨基酸起着重要作用^[28,46,52]。H2B单泛素化是Set1介导的H3K4以及Dot1介导的H3K79甲基化的先决条件^[12,53,54]。在酵母中, 除Leo1以外的其他亚基缺失或仅仅打破Ctr9和Paf1间的相互作用都会减少H3K4的甲基化水平和Set1在染色质上的募集^[10,48,55]。这些实验证据都表明, Paf1复合物从H2B单泛素化和募集Set1与Dot1这两方面来调控H3K4和H3K79的甲基化水平。此外, 研究发现, Paf1, Ctr9和Cdc73的缺失会导致Set2介导的H3K36 2/3甲基化水平的下降。进一步研究发现, H3K36甲基化并不是H2B单泛素化依赖性的。H3K36甲基化能促进去组蛋白乙酰化酶复合物的募集, 从而抑制编码区H3和H4的乙酰化^[56,57]。

人源Paf1复合物同样能够介导H2BK120泛素化来进一步促进MLL1介导的H3K4和Dot1介导的H3K79甲基化^[58,59]。此外, 在人源中, H2BK34位点还能被泛素连接酶MSL1/2(male specific lethal complex)泛素化^[60]。H2BK34泛素化在功能上好像和H2BK120泛素化一样, 也能促进H3K4和H3K79的甲基化。Paf1蛋白的敲除会降低这两种H2B的泛素化水平, 同时也会影响相应泛素连接酶在染色质上的募集。体外结合实验发现, MSL1/2能够介导Paf1复合物与RNF20/40的相互作用, 体内实验也表明MSL1/2能够促进H2BK120泛素化以及RNF20/40的募集, 反过来RNF20/40也有这种效果^[60,61]。这说明这两种H2B的泛素化是相互依存的并列关系, 同时也说明, 生物体每一微小的生命活动都需通过多种信号来精确调控。

染色质状态的维持对于基因表达调控是至关重要的。在裂殖酵母中引入随机突变筛选关键蛋白时, Paf1-Leo1亚复合物被发现能够阻止异染色质扩散进入常染色质区, 稳定异染色质和常染色质的边界^[20]。另外的研究发现, 在这些边界上, H4K16是被MOF(males absent on the first)蛋白高度乙酰化, 阻止异染色质扩散进入活性转录区域内^[21,61]。Paf1和Leo1的缺

失都会导致边界上H4K16乙酰化水平的下降^[21,61]。这些数据充分说明了Paf1复合物在染色质状态的维持上起到重要作用。此外,小干扰RNA诱导的转录沉默复合物能够靶向定位到小干扰RNA互补的转录RNA上而引起转录沉默,研究发现,Paf1复合物能够负调控小干扰RNA所介导的异染色质的形成。Paf1复合物能够促进有效的转录终止和快速的RNA产物释放来阻止转录沉默复合物靶向定位到初转录产物而引起的转录沉默^[62]。上述这些研究表明,Paf1复合物在转录偶联的组蛋白修饰以及染色质结构维持中发挥重要的作用。

2.3 Paf1复合物调控基因表达

Paf1复合物最初是在纯化酵母RNA聚合酶 II 时被共纯化发现,由此说明,Paf1复合物与RNA聚合酶 II 之间存在相互作用,这也从侧面说明Paf1复合物很有可能参与RNA聚合酶 II 所介导的转录过程,所以接下来大量的研究工作都在揭示Paf1复合物在转录调控中的作用。在检测酵母裂解液体外转录效率实验中发现,Paf1和Cdc73缺失的酵母裂解液表现出明显降低的转录效率,虽然Leo1和Rtf1缺失的酵母裂解液的效率较野生型相比并没有降低^[63],但是在酵母体内分别缺失这4种组分都能明显看到转录效率的降低^[3,63,64]。后续的体外实验也发现,纯化的人源Paf1复合物能够促进RNA聚合酶 II 在染色质模板上延伸^[16],直接证明了Paf1复合物能够促进转录延伸。

近些年,除了上一部分已经详述的Paf1复合物通过组蛋白修饰、异染色质的维持以及基因沉默等手段来调控基因表达以外,越来越多的研究都投入到了RNA聚合酶 II 在启动子近端暂停是如何来影响转录延伸效率及Paf1复合物是如何在这一过程中发挥作用上。研究发现,RNA聚合酶 II 的暂停在发育相关基因和应激信号通路相关基因的转录中是常见的调控步骤^[65,66]。在转录延伸起始阶段,RNA聚合酶 II 的暂停在启动子近端区域也就是转录起始位点下游30~60 bp核苷酸处并且不断地累积到一个较高的水平^[66]。这一过程需要很多定位在启动子区的转录因子参与^[67],尤其是NELF和DSIF这两个复合物能够稳定启动子近端区暂停的RNA聚合酶 II。RNA聚合酶 II 在启动子近端区暂停被认为是转录中重要的限速步骤,同时也是转录物5'端加帽和RNA聚合酶 II 的CTD磷酸化修饰检验点^[65,66]。暂停RNA聚合酶 II 的重新释放是由转录因子

P-TEFb(positive transcription elongation factor b)复合物所介导的^[1,68]。P-TEFb通过与特定的转录因子及辅因子相互作用被募集到启动子区,从而磷酸化RNA聚合酶 II 的CTD的2位丝氨酸、NELF和DSIF。然后磷酸化的NELF从RNA聚合酶 II 上脱落而磷酸化的DSIF变成了促进转录的延伸因子^[68,69]。

在人类结肠癌细胞中,Paf1缺失会导致大量基因上RNA聚合酶 II 从暂停状态释放进入基因body区,这表明在这些基因上Paf1复合物是稳定RNA聚合酶 II 暂停状态的。同时GRO-seq(global run-on sequencing)和nascent RNA测序发现,Paf1缺失也导致这些基因的转录产物以及RNA聚合酶 II 的CTD的2位丝氨酸磷酸化水平的增多。此外在Paf1缺失的细胞中也发现在这些基因启动子区含P-TEFb的SEC(super elongation complexes)复合物的募集增多^[18],这些数据都说明,Paf1复合物通过抑制P-TEFb复合物的募集来维持RNA聚合酶 II 的暂停状态。另外研究还发现,Paf1复合物参与到Myc靶基因的表达调控中,Myc通过自身的泛素化降解来调控基因的表达^[70]。Myc自身泛素化是募集组蛋白乙酰化酶^[71]和P-TEFb复合物的前提^[72]。Cdc73的缺失打破了Myc与Paf1复合物的结合从而导致Myc靶基因增强表达。同样,当抑制Myc泛素化降解途径后,Myc-Paf1复合物能够暂时稳定,同时也抑制了P-TEFb复合物的募集,导致RNA聚合酶 II 无法从暂停状态释放,从而引起Myc靶基因表达下调^[73]。这些研究表明,Paf1复合物在RNA聚合酶 II 暂停状态的建立和维持中起着重要的作用。

然而Paf1复合物除了建立维持RNA聚合酶 II 暂停状态之外,另外一些研究也指出Paf1复合物作为一个关键因子也调控在启动子近端暂停RNA聚合酶 II 的释放。在MSL调控的基因中,Paf1复合物、MSL和RNF20/40被募集到转录激活基因的启动子区形成稳定复合物,而该复合物通过直接调控P-TEFb结合染色质以及组蛋白修饰来促进RNA聚合酶 II 从启动子近端区释放进入延伸状态^[61]。以人类单细胞性白血病细胞为材料检测RNA聚合酶 II 和Paf1复合物在整个基因组范围的定位实验发现,Paf1复合物能够促进超过5800个基因上RNA聚合酶 II 的暂停释放^[19,74]。这项研究表明,P-TEFb直接调控早期Paf1复合物募集到这些基因上,进而募集Paf1复合物依赖性的CDK12^[19]。另外研究表明,CDK12是主要RNA聚合酶 II 的CTD的2

位丝氨酸的磷酸化酶^[75]。这些数据表明P-TEFb、Paf1复合物和CDK12协同调控RNA聚合酶II的暂停释放。此外, 还有研究认为, 暂停RNA聚合酶II的释放是由多个P-TEFb协同调控的, 而这些P-TEFb是通过不同的募集机制结合到特定的染色质区域。其中一类P-TEFb是通过含有Med1, Med23和Tat-SF1的募集途径被Brd4募集到DSIF上, 而另一类P-TEFb是由Paf1复合物和Med26募集途径被SEC募集到NELF上, 进而磷酸化DSIF和NELF, 促进RNA聚合酶II从暂停状态释放进入延伸状态^[76]。综上所述, Paf1复合物以及其他一些蛋白因子调控RNA聚合酶II的暂停以及暂停后释放是一个非常复杂的过程, 这中间还有很多未知需要去探索。

Paf1复合物不仅仅在转录起始和延伸阶段发挥功能, 有些研究表明, Paf1复合物还在RNA加工和初转录物命运决定过程中发挥重要作用。早期在出芽酵母研究中发现, Paf1复合物亚基的缺失会导致缩短的poly A和poly A位点选择的改变^[13,64], 同时也会导致RNA聚合酶II CTD的2位丝氨酸磷酸化水平的降低^[77]。另外的研究也发现, Paf1复合物与CPF(cleavage and polyadenylation factors)存在直接相互作用^[15,77]以及RNA聚合酶II的CTD的2位丝氨酸磷酸化是CPF募集到poly A位点所必需的^[78,79]。这些数据似乎表明, Paf1复合物作为中介, 将转录过程与RNA加工过程偶联到一起。此外, Paf1复合物除了参与转录各阶段以外, 还控制初转录物的命运。最近一项研究发现, 与结合RNA聚合酶II的Paf1复合物的水平由启动子元件控制, 具有一定的基因差异性。高水平的Paf1复合物能促进初转录产物的出核, 相反低水平的Paf1复合物会导致初转录产物的核滞留或降解^[80]。这些数据和Paf1复合物负调控小干扰RNA介导的基因沉默机制不谋而合^[62], 或许也可以认为这是Paf1复合物抑制小干扰RNA介导基因沉默的另一种途径。

2.4 Paf1复合物参与DNA损伤修复、发育和肿瘤形成

近些年来, 越来越多的数据都显示, Paf1复合物依赖性的组蛋白修饰在DNA损伤修复中起着重要作用。H3K79甲基化酶Dot1能够结合到DNA双链断裂处, 促进募集DNA损伤检验点信号相关蛋白Rad9/52BP1, 进而促进DNA损伤修复^[4,81,82]。RNF20同样也能定位DNA双链断裂处, 参与断裂处组蛋白H2B的单泛素化,

此外还发现RNF20能募集染色质重构因子Brg1; RNF20及Brg1的缺失和H2BK120R突变都会影响Rad51和Brcal的募集从而影响DNA损伤修复^[83]。不久前的一项研究通过RNA干扰手段来筛选同源重组修复相关的调控因子, 意外发现Paf1复合物亚基Cdc73参与同源重组修复, 并且对于整个基因组稳定性的维持具有重要作用^[84]。最近的研究发现, Paf1复合物还参与DNA损伤和复制压力激活的ATR信号通路的调控, Cdc73通过结合磷酸化的RNA聚合酶II的CTD区域, 进而调控ATR信号通路^[85], 然而这中间的机制并不清楚, 还需要进一步深入的研究。

此外, Paf1复合物参与调控发育分化的研究也被相继报道。Paf1复合物被发现是老鼠和人源胚胎干细胞多能性的维持所必须的, 而亚基Ct9/Rtf1在人源胚胎干细胞中会影响Oct4, Nanog和Sox2基因的表达^[86], 而亚基Paf1能与Oct3/4相互作用来维持小鼠(*Mus musculus*)胚胎干细胞自我更新^[87,88]。此外, Paf1复合物的突变会导致斑马鱼(*Brachydanio rario*)和果蝇(*Drosophila melanogaster*)的发育缺陷^[89,90]。Paf1复合物亚基的缺失会导致多能性基因启动子区促进转录的H3K4甲基化修饰的下调, 而在命运决定基因启动子区抑制转录的H3K37甲基化修饰的下调^[86]。令人诧异的是, 近期研究中发现, 在胚胎干细胞中Paf1缺失引起Paf1复合物靶基因上H2B泛素化水平的明显上升而H3K79甲基化上升并不明显, 同样在多能性基因上H2B泛素化水平上升而H3K79甲基化水平的下降^[91], 说明Paf1复合物在调控胚胎干细胞多能性和自我更新具有一些新功能。最近的研究发现, Paf1复合物能与Phf5a直接相互作用, 来维持胚胎干细胞的多能性, Phf5a通过与Paf1复合物结合来稳定Paf1复合物以及控制RNA聚合酶II的延伸来调控多能性因子的表达^[92]。

另外, 越来越多的证据表明, Paf1复合物参与人类多种肿瘤的发生发展。早期, Cdc73亚基就被认为是抑癌因子, 其突变导致甲状旁腺功能亢进性颌下腺肿瘤综合征^[25]。近些年, Ctr9被发现参与多种肿瘤的发生发展。对Wilms肿瘤进行外显子Sanger测序时发现Ctr9的mRNA剪接加工过程发生剪接位点突变导致Ctr9蛋白缺少中间2个TPR片段^[24], 然而目前还不清楚突变的Ctr9与Wilms肿瘤之间的分子机制。还有研究报道Ctr9在ERα⁺乳腺癌中是高表达的, Ctr9的敲除会降低ERα蛋白水平和稳定性, 从而增强ERα⁺乳腺癌细胞对他莫

昔芬(tamoxifen)的敏感性。因此Ctr9被认为是治疗ER α ⁺乳腺癌潜在的靶点^[93]。此外在非小细胞肺癌中, Paf1蛋白水平与细胞存活成负相关^[94], 而在胰腺癌和卵巢癌干细胞中, Paf1蛋白是过表达的^[95]。正因为Paf1复合物功能的重要性, 随着研究的深入, 相信Paf1在癌症发生发展中的功能会被更清楚地认识。

3 展望

Paf1复合物从在出芽酵母中被发现至今20多年来, Paf1复合物的亚基及亚复合物的结构于近些年逐渐被解析, 使人们对于Paf1复合物的组装模式有了深入的理解。同时, Paf1复合物的功能不断被发现, 也使人们更加了解Paf1复合物在生物体内所扮演的重要角色。然而这其中仍有诸多问题急需解决, 比如Paf1复合物在染色质上的募集是如何受多种机制调控的? 这些

机制之间又是如何协同工作的? Paf1复合物调控组蛋白修饰的分子机制是什么? 进而如何调控下游的基因转录与延伸? Paf1复合物调控mRNA转录后加工及出核的分子机理? Paf1复合物又是如何建立及维持RNA聚合酶 II 启动子近端停滞或促进停滞RNA聚合酶 II 的释放等。利用X射线衍射或冷冻电子显微镜技术解析Paf1复合物及其与其他转录复合体形成的超大复合物的结构是一种强有力的手段, 将提供最可靠的证据来阐明Paf1复合物参与各种基因转录活动中的分子机理, 这有助于从原子水平上揭示Paf1复合物是如何参与各种生命活动过程的。相信在不久的将来, 科学家们能够进一步阐明Paf1复合物在体内发挥作用的分子机制, 更加深入理解Paf1复合物与人类疾病和健康之间的关系, 将两者联系在一起, 针对Paf1复合物功能缺失的相关疾病, 研究出新型有效的治疗手段, 造福全人类。

参考文献

- 1 Zhou Q, Li T, Price D H. RNA polymerase II elongation control. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81: 119–143
- 2 Wade P A, Werel W, Fentzke R C, et al. A novel collection of accessory factors associated with yeast RNA polymerase II. *Protein Express Purif*, 1996, 8: 85–90
- 3 Shi X, Chang M, Wolf A J, et al. Cdc73p and Paf1p are found in a novel RNA polymerase II-containing complex distinct from the Srbp-containing holoenzyme. *Mol Cell Biol*, 1997, 17: 1160–1169
- 4 Tomson B N, Arndt K M. The many roles of the conserved eukaryotic Paf1 complex in regulating transcription, histone modifications, and disease states. *BBA-Gene Regul Mech*, 2013, 1829: 116–126
- 5 Krogan N J, Kim M, Ahn S H, et al. RNA polymerase II elongation factors of *Saccharomyces cerevisiae*: A targeted proteomics approach. *Mol Cell Biol*, 2002, 22: 6979–6992
- 6 Mueller C L, Jaehning J A. Ctr9, Rtf1, and Leo1 are components of the Paf1/RNA polymerase II complex. *Mol Cell Biol*, 2002, 22: 1971–1980
- 7 Squazzo S L, Costa P J, Lindstrom D L, et al. The Paf1 complex physically and functionally associates with transcription elongation factors *in vivo*. *EMBO J*, 2002, 21: 1764–1774
- 8 Cao Q F, Yamamoto J, Isobe T, et al. Characterization of the human transcription elongation factor Rtf1: Evidence for nonoverlapping functions of Rtf1 and the Paf1 complex. *Mol Cell Biol*, 2015, 35: 3459–3470
- 9 Chu X, Qin X, Xu H, et al. Structural insights into Paf1 complex assembly and histone binding. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41: 10619–10629
- 10 Krogan N J, Dover J, Wood A, et al. The Paf1 complex is required for histone H3 methylation by COMPASS and Dot1p: Linking transcriptional elongation to histone methylation. *Mol Cell*, 2003, 11: 721–729
- 11 Ng H H, Dole S, Struhl K. The Rtf1 component of the Paf1 transcriptional elongation complex is required for ubiquitination of histone H2B. *J Biol Chem*, 2003, 278: 33625–33628
- 12 Wood A, Schneider J, Dover J, et al. The Paf1 complex is essential for histone monoubiquitination by the Rad6-Bre1 complex, which signals for histone methylation by COMPASS and Dot1p. *J Biol Chem*, 2003, 278: 34739–34742
- 13 Mueller C L, Porter S E, Hoffman M G, et al. The Paf1 complex has functions independent of actively transcribing RNA polymerase II. *Mol Cell*, 2004, 14: 447–456
- 14 Sheldon K E, Mauger D M, Arndt K M. A requirement for the *Saccharomyces cerevisiae* Paf1 complex in snRNA 3' end formation. *Mol Cell*,

2005, 20: 225–236

- 15 Rozenblatt-Rosen O, Nagaike T, Francis J M, et al. The tumor suppressor Cdc73 functionally associates with CPSF and CstF 3' mRNA processing factors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 755–760
- 16 Kim J, Guermah M, Roeder R G. The human PafI complex acts in chromatin transcription elongation both independently and cooperatively with SII/TFIIS. *Cell*, 2010, 140: 491–503
- 17 Jaehning J A. The PafI complex: Platform or player in RNA polymerase II transcription? *BBA-Gene Regul Mech*, 2010, 1799: 379–388
- 18 Chen F X, Woodfin A R, Gardini A, et al. PafI, a molecular regulator of promoter-proximal pausing by RNA polymerase II. *Cell*, 2015, 162: 1003–1015
- 19 Yu M, Yang W, Ni T, et al. RNA polymerase II-associated factor 1 regulates the release and phosphorylation of paused RNA polymerase II. *Science*, 2015, 350: 1383–1386
- 20 Sadeghi L, Prasad P, Ekwall K, et al. The PafI complex factors Leo1 and PafI promote local histone turnover to modulate chromatin states in fission yeast. *EMBO Rep*, 2015, 16: 1673–1687
- 21 Verrier L, Taglini F, Barrales R R, et al. Global regulation of heterochromatin spreading by Leo1. *Open Biol*, 2015, 5: 150045
- 22 Yang Y, Li W, Hoque M, et al. Paf complex plays novel subunit-specific roles in alternative cleavage and polyadenylation. *PLoS Genet*, 2016, 12: e1005794
- 23 Moniaux N, Nemos C, Schmied B M, et al. The human homologue of the RNA polymerase II-associated factor 1 (hPafI), localized on the 19q13 amplicon, is associated with tumorigenesis. *Oncogene*, 2006, 25: 3247–3257
- 24 Hanks S, Perdeaux E R, Seal S, et al. Germline mutations in the PafI complex gene *CTR9* predispose to wilms tumour. *Nat Commun*, 2014, 5: 4398
- 25 Carpten J D, Robbins C M, Villablanca A, et al. HRPT2, encoding parafibromin, is mutated in hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome. *Nat Genet*, 2002, 32: 676–680
- 26 de Jong R N, Truffault V, Diercks T, et al. Structure and DNA binding of the human Rtf1 Plus3 domain. *Structure*, 2008, 16: 149–159
- 27 Wier A D, Mayekar M K, Héroux A, et al. Structural basis for Spt5-mediated recruitment of the PafI complex to chromatin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 17290–17295
- 28 Van Oss S B, Shirra M K, Bataille A R, et al. The histone modification domain of PafI complex subunit Rtf1 directly stimulates H2B ubiquitylation through an interaction with Rad6. *Mol Cell*, 2016, 64: 815–825
- 29 Amrich C G, Davis C P, Rogal W P, et al. Cdc73 subunit of PafI complex contains C-terminal Ras-like domain that promotes association of PafI complex with chromatin. *J Biol Chem*, 2012, 287: 10863–10875
- 30 Sun W, Kuang X L, Liu Y P, et al. Crystal structure of the N-terminal domain of human Cdc73 and its implications for the hyperparathyroidism-jaw tumor (HPT-JT) syndrome. *Sci Rep*, 2017, 7: 15638
- 31 Xie Y, Zheng M, Chu X, et al. PafI and Ctr9 subcomplex formation is essential for PafI complex assembly and functional regulation. *Nat Commun*, 2018, 9: 3795
- 32 Deng P, Zhou Y, Jiang J, et al. Transcriptional elongation factor PafI core complex adopts a spirally wrapped solenoidal topology. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 9998–10003
- 33 Xu Y, Bernecky C, Lee C T, et al. Architecture of the RNA polymerase II-PafIC-TFIIS transcription elongation complex. *Nat Commun*, 2017, 8: 15741
- 34 Vos S M, Farnung L, Boehning M, et al. Structure of activated transcription complex Pol II-DSIF-PAF-SPT6. *Nature*, 2018, 560: 607–612
- 35 KIreeva M, Trang C, Matevosyan G, et al. RNA-DNA and DNA-DNA base-pairing at the upstream edge of the transcription bubble regulate translocation of RNA polymerase and transcription rate. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: 5764–5775
- 36 Halbach F, Reichelt P, Rode M, et al. The yeast Ski complex: Crystal structure and RNA channeling to the exosome complex. *Cell*, 2013, 154: 814–826
- 37 Schmidt C, Kowalinski E, Shanmuganathan V, et al. The cryo-EM structure of a ribosome-Ski2-Ski3-Ski8 helicase complex. *Science*, 2016, 354: 1431–1433
- 38 Pokholok D K, Hannett N M, Young R A. Exchange of RNA polymerase II initiation and elongation factors during gene expression *in vivo*. *Mol Cell*, 2002, 9: 799–809
- 39 Kim M, Ahn S H, Krogan N J, et al. Transitions in RNA polymerase II elongation complexes at the 3' ends of genes. *EMBO J*, 2004, 23: 354–

- 40 Larabee R N, Krogan N J, Xiao T, et al. Bur kinase selectively regulates H3 K4 trimethylation and H2B ubiquitylation through recruitment of the Paf elongation complex. *Curr Biol*, 2005, 15: 1487–1493
- 41 Qiu H, Hu C, Gaur N A, et al. Pol II CTD kinases Bur1 and Kin28 promote Spt5 CTR-independent recruitment of Paf1 complex. *EMBO J*, 2012, 31: 3494–3505
- 42 Liu Y, Warfield L, Zhang C, et al. Phosphorylation of the transcription elongation factor Spt5 by yeast Bur1 kinase stimulates recruitment of the Paf complex. *Mol Cell Biol*, 2009, 29: 4852–4863
- 43 Zhou K, Kuo W H W, Fillingham J, et al. Control of transcriptional elongation and cotranscriptional histone modification by the yeast BUR kinase substrate Spt5. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 6956–6961
- 44 Yamada T, Yamaguchi Y, Inukai N, et al. P-TEFb-mediated phosphorylation of hSpt5 C-terminal repeats is critical for processive transcription elongation. *Mol Cell*, 2006, 21: 227–237
- 45 Mbogning J, Nagy S, Pagé V, et al. The Paf complex and Prf1/Rtf1 delineate distinct Cdk9-dependent pathways regulating transcription elongation in fission yeast. *PLoS Genet*, 2013, 9: e1004029
- 46 Warner M H, Roinick K L, Arndt K M. Rtf1 is a multifunctional component of the Paf1 complex that regulates gene expression by directing cotranscriptional histone modification. *Mol Cell Biol*, 2007, 27: 6103–6115
- 47 Mayekar M K, Gardner R G, Arndt K M. The recruitment of the *Saccharomyces cerevisiae* Paf1 complex to active genes requires a domain of Rtf1 that directly interacts with the Spt4-Spt5 complex. *Mol Cell Biol*, 2013, 33: 3259–3273
- 48 Piro A S, Mayekar M K, Warner M H, et al. Small region of Rtf1 protein can substitute for complete Paf1 complex in facilitating global histone H2B ubiquitylation in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 10837–10842
- 49 Dermody J L, Buratowski S. Leo1 subunit of the yeast Paf1 complex binds RNA and contributes to complex recruitment. *J Biol Chem*, 2010, 285: 33671–33679
- 50 Worden E J, Hoffmann N A, Hicks C W, et al. Mechanism of cross-talk between H2B ubiquitination and H3 methylation by Dot1L. *Cell*, 2019, 176: 1490–1501.e12
- 51 Kim J, Roeder R G. Direct Bre1-Paf1 complex interactions and RING finger-independent Bre1-rad6 interactions mediate histone H2B ubiquitylation in yeast. *J Biol Chem*, 2009, 284: 20582–20592
- 52 Tomson B N, Davis C P, Warner M H, et al. Identification of a role for histone H2B ubiquitylation in noncoding RNA 3'-end formation through mutational analysis of Rtf1 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 2011, 188: 273–289
- 53 Dover J, Schneider J, Tawiah-Boateng M A, et al. Methylation of histone H3 by COMPASS requires ubiquitination of histone H2B by Rad6. *J Biol Chem*, 2002, 277: 28368–28371
- 54 Nakanishi S, Lee J S, Gardner K E, et al. Histone H2BK123 monoubiquitination is the critical determinant for H3K4 and H3K79 trimethylation by COMPASS and Dot1. *J Cell Biol*, 2009, 186: 371–377
- 55 Ng H H, Robert F, Young R A, et al. Targeted recruitment of Set1 histone methylase by elongating Pol II provides a localized mark and memory of recent transcriptional activity. *Mol Cell*, 2003, 11: 709–719
- 56 Chu Y, Simic R, Warner M H, et al. Regulation of histone modification and cryptic transcription by the Bur1 and Paf1 complexes. *EMBO J*, 2007, 26: 4646–4656
- 57 Venkatesh S, Workman J L. Set2 mediated H3 lysine 36 methylation: Regulation of transcription elongation and implications in organismal development. *WIREs Dev Biol*, 2013, 2: 685–700
- 58 Kim J, Guermah M, McGinty R K, et al. Rad6-mediated transcription-coupled H2B ubiquitylation directly stimulates H3K4 methylation in human cells. *Cell*, 2009, 137: 459–471
- 59 Minsky N, Shema E, Field Y, et al. Monoubiquitinated H2B is associated with the transcribed region of highly expressed genes in human cells. *Nat Cell Biol*, 2008, 10: 483–488
- 60 Wu L, Zee B M, Wang Y, et al. The RING finger protein MSL2 in the MOF complex is an E3 ubiquitin ligase for H2B K34 and is involved in crosstalk with H3 K4 and K79 methylation. *Mol Cell*, 2011, 43: 132–144
- 61 Wu L, Li L, Zhou B, et al. H2B ubiquitylation promotes RNA Pol II processivity via Paf1 and pTEFb. *Mol Cell*, 2014, 54: 920–931
- 62 Kowalik K M, Shimada Y, Flury V, et al. The Paf1 complex represses small-RNA-mediated epigenetic gene silencing. *Nature*, 2015, 520: 248–252

- 63 Rondón A G, Gallardo M, García-Rubio M, et al. Molecular evidence indicating that the yeast PAF complex is required for transcription elongation. *EMBO Rep*, 2004, 5: 47–53
- 64 Penheiter K L, Washburn T M, Porter S E, et al. A posttranscriptional role for the yeast PafI-RNA polymerase II complex is revealed by identification of primary targets. *Mol Cell*, 2005, 20: 213–223
- 65 Kwak H, Lis J T. Control of transcriptional elongation. *Annu Rev Genet*, 2013, 47: 483–508
- 66 Adelman K, Lis J T. Promoter-proximal pausing of RNA polymerase II: Emerging roles in metazoans. *Nat Rev Genet*, 2012, 13: 720–731
- 67 Li J, Gilmour D S. Distinct mechanisms of transcriptional pausing orchestrated by GAGA factor and M1BP, a novel transcription factor. *EMBO J*, 2013, 32: 1829–1841
- 68 Peterlin B M, Price D H. Controlling the elongation phase of transcription with P-TEFb. *Mol Cell*, 2006, 23: 297–305
- 69 Liu X, Kraus W L, Bai X. Ready, pause, go: Regulation of RNA polymerase II pausing and release by cellular signaling pathways. *Trends Biochem Sci*, 2015, 40: 516–525
- 70 Farrell A S, Sears R C. Myc degradation. *Cold Spring Harbor Perspect Med*, 2014, 4: a014365
- 71 McMahon S B, Wood M A, Cole M D. The essential cofactor TRRAP recruits the histone acetyltransferase hGCN5 to c-Myc. *Mol Cell Biol*, 2000, 20: 556–562
- 72 Eberhardy S R, Farnham P J. Myc Recruits P-TEFb to mediate the final step in the transcriptional activation of the cad promoter. *J Biol Chem*, 2002, 277: 40156–40162
- 73 Jaenicke L A, von Eyss B, Carstensen A, et al. Ubiquitin-dependent turnover of MYC antagonizes Myc/PafIc complex accumulation to drive transcriptional elongation. *Mol Cell*, 2016, 61: 54–67
- 74 Van Oss S B, Cucinotta C E, Arndt K M. Emerging insights into the roles of the PafI complex in gene regulation. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42: 788–798
- 75 Bartkowiak B, Liu P, Phatnani H P, et al. CDK12 is a transcription elongation-associated CTD kinase, the metazoan ortholog of yeast Ctk1. *Genes Dev*, 2010, 24: 2303–2316
- 76 Lu X, Zhu X, Li Y, et al. Multiple P-TEFBs cooperatively regulate the release of promoter-proximally paused RNA polymerase II. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44: 6853–6867
- 77 Nordick K, Hoffman M G, Betz J L, et al. Direct interactions between the PafI complex and a cleavage and polyadenylation factor are revealed by dissociation of PafI from RNA polymerase II. *Eukaryot Cell*, 2008, 7: 1158–1167
- 78 Ahn S H, Kim M, Buratowski S. Phosphorylation of serine 2 within the RNA polymerase II C-terminal domain couples transcription and 3' end processing. *Mol Cell*, 2004, 13: 67–76
- 79 Licatalosi D D, Geiger G, Minet M, et al. Functional interaction of yeast pre-mRNA 3' end processing factors with RNA polymerase II. *Mol Cell*, 2002, 9: 1101–1111
- 80 Fischl H, Howe F S, Furger A, et al. PafI has distinct roles in transcription elongation and differential transcript fate. *Mol Cell*, 2017, 65: 685–698.e8
- 81 Wysocki R, Javaheri A, Allard S, et al. Role of Dot1-dependent histone H3 methylation in G1 and S phase DNA damage checkpoint functions of Rad9. *Mol Cell Biol*, 2005, 25: 8430–8443
- 82 Huyen Y, Zgheib O, DiTullio Jr. R A, et al. Methylated lysine 79 of histone H3 targets 53BP1 to DNA double-strand breaks. *Nature*, 2004, 432: 406–411
- 83 Nakamura K, Kato A, Kobayashi J, et al. Regulation of homologous recombination by RNF20-dependent H2B ubiquitination. *Mol Cell*, 2011, 41: 515–528
- 84 Herr P, Lundin C, Evers B, et al. A genome-wide IR-induced Rad51 foci RNAi screen identifies Cdc73 involved in chromatin remodeling for DNA repair. *Cell Discov*, 2015, 1: 15034
- 85 Landsverk H B, Sandquist L E, Sridhara S C, et al. Regulation of ATR activity via the RNA polymerase II associated factors Cdc73 and PNUITS-PP1. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: 1797–1813
- 86 Ding L, Paszkowski-Rogacz M, Nitzsche A, et al. A genome-scale RNAi screen for Oct4 modulators defines a role of the PafI complex for embryonic stem cell identity. *Cell Stem Cell*, 2009, 4: 403–415
- 87 Ponnusamy M P, Deb S, Dey P, et al. RNA polymerase II -association factor 1 (PafI/PD2) maintains self-renewal by its interaction with Oct3/4 in mouse embryonic stem cells. *Stem Cells*, 2009, doi: 10.1002/stem.237

- 88 Karmakar S, Seshacharyulu P, Lakshmanan I, et al. Hpafl/PD2 interacts with Oct3/4 to promote self-renewal of ovarian cancer stem cells. *Oncotarget*, 2017, 8: 14806–14820
- 89 Bahrapour S, Thor S. Ctr9, a key component of the PafI complex, affects proliferation and terminal differentiation in the developing *Drosophila* nervous system. *G3*, 2016, 6: 3229–3239
- 90 Nguyen C T, Langenbacher A, Hsieh M, et al. The PafI complex component Leo1 is essential for cardiac and neural crest development in zebrafish. *Dev Biol*, 2010, 341: 167–175
- 91 Strikoudis A, Lazaris C, Ntziachristos P, et al. Opposing functions of H2BK120 ubiquitylation and H3k79 methylation in the regulation of pluripotency by the PafI complex. *Cell Cycle*, 2017, 16: 2315–2322
- 92 Strikoudis A, Lazaris C, Trimarchi T, et al. Regulation of transcriptional elongation in pluripotency and cell differentiation by the PHD-finger protein Phf5a. *Nat Cell Biol*, 2016, 18: 1127–1138
- 93 Zeng H, Xu W. Ctr9, a key subunit of PAFc, affects global estrogen signaling and drives ER α -positive breast tumorigenesis. *Genes Dev*, 2015, 29: 2153–2167
- 94 Zhi X, Giroux-Leprieur E, Wislez M, et al. Human RNA polymerase II associated factor 1 complex promotes tumorigenesis by activating c-Myc transcription in non-small cell lung cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 465: 685–690
- 95 Karmakar S, Dey P, Vaz A P, et al. Pd2/PafI at the crossroads of the cancer network. *Cancer Res*, 2018, 78: 313–319

Research progress in structure and function of polymerase-associated factor 1 complex

CHEN FeiLong, ZHOU Hao & LONG JiaFu

State Key Laboratory of Medicinal Chemical Biology, Tianjin Key Laboratory of Protein Science, College of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071, China

Polymerase-associated factor 1 (PafI) complex is a highly conserved multi-subunit complex in eukaryotes. Yeast PafI complex is composed of five subunits (Ctr9, PafI, Leo1, Cdc73, and Rtf1), but the human PafI complex contains an additional subunit Ski8. The PafI complex was found to be involved in numerous cellular activities, such as regulating all stages of the RNA polymerase II transcription cycle, processing and nuclear export of nascent transcripts, maintenance of chromatin structure or embryonic stem cell pluripotency, DNA damage and repair, and the occurrence and development of tumors. Here, we review the important research progress of PafI complex in recent years from the aspects of structure and function, propose some scientific questions related to PafI complex that urgently need to be solved, and prospect for future research directions.

PafI complex, RNA polymerase II, structure and function

doi: [10.1360/SSV-2019-0154](https://doi.org/10.1360/SSV-2019-0154)