

动植物中 RNA 结合蛋白的研究进展

陈璇^{1,2} 李文正¹ 邵岩¹ 曾千春²

(¹ 云南省烟草科学研究所, 玉溪 653100; ² 云南农业大学农学与生物技术学院, 昆明 650201)

摘 要: RNA 结合蛋白(RNA-binding proteins)在转录后基因表达调节中起着重要的作用,它通过和 RNA 相互作用来调节细胞的功能。RNA 结合蛋白参与 RNA 剪接、多聚腺苷化作用、序列编辑、RNA 转运、维持 RNA 的稳定和降解、细胞内定位和翻译控制等 RNA 代谢的各个方面。主要介绍了 RNA 结合蛋白的结构、靶标 RNA 及 RNA 结合蛋白在动植物和疾病中的研究。

关键词: RNA 结合蛋白 靶标 RNA 特异性 分子机制

Progress in RNA-binding Proteins in Animals and Plants

Chen Xuan^{1,2} Li Wenzheng¹ Shao Yan¹ Zeng Qianchun²

(¹Yunnan Tobacco Research Institute, Yuxi 653100; ²College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201)

Abstract: RNA-binding proteins (RBPs) play crucial roles in the posttranscriptional regulation of gene expression. RNA-binding proteins, which are involved in the splicing, polyadenylation, sequence editing, transport, mRNA stability, mRNA localization and translation, are emerging as important, often multifunctional, cellular regulatory proteins. This paper reviewed the structures, RNA targets of RBPs and the research progress in animals and plants and human diseases.

Key words: RNA-binding proteins RNA targets RNA-binding specificity Molecular mechanism

在真核生物中,基因表达的转录后调节是一个非常复杂和关键的步骤,在 RNA 代谢途径中,都需要大量蛋白质因子相互作用,同时 RNA 代谢还受到多种信号途径的调节。根据 RNA 的功能和位置可以把 RNA 分为很多种类,如转移 RNA (tRNA)、信使 RNA (mRNA)、核糖体 RNA (rRNA)、病毒 RNA (vRNA)、核内小 RNA (snRNA) 和细胞质小 RNA (scRNA)。每一种 RNA 都有大量 RNA 结合蛋白和它相互作用来稳定、保护、组装或者转移它,同时还调节 RNA 同其它分子的相互作用或者催化 RNA 解螺旋和复制等。RNA 结合蛋白的研究,历来受到相关生物化学家们的重视,已经有很多不同结构和功能的 RNA 结合蛋白已经被鉴定出来。目前研究得比较清楚的 RNA 结合蛋白有核糖核蛋白(RNP)、KH 基序 RNA 结合蛋白、双螺旋 RNA 结合蛋白和冷激基序 RNA 结合蛋白^[1]。但是还有相当多的 RNA

结合蛋白并未被认识和了解,它们的结构及生物学功能都不知道。目前,科学家们在研究 RNA 结合蛋白的结构及其与靶标 RNA 相互作用的同时,已经开始了研究 RNA 结合蛋白参与调节的分子机制,并通过分子机制来认识特殊的 RNA 序列及利用这些机制来改变这些 RNA 的过程和功能。

1 RNA 结合蛋白的 RNA 结合结构域及功能

在各种生物细胞中, RNA 结合蛋白质包括异源核糖核蛋白(Heterogeneous ribonucleoproteins)、小核糖核蛋白(Small Nuclear ribonucleoproteins)、Poly(A)结合蛋白、叶绿体 RNA 结合蛋白、植物富含甘氨酸 RNA 结合蛋白(Glycine-rich RNA-binding Proteins, GRPs)、哺乳动物富含甘氨酸 RNA 结合蛋白和蓝细菌 RNA 结合蛋白等。

为了确定识别 RNA 的蛋白质结构,研究人员在众多的 RNA 结合蛋白中寻找氨基酸序列同源

收稿日期: 2006-12-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(30560062), 云南省烟草公司科技开发计划项目(0515.06A02)

作者简介: 陈璇(1981-), 男, 硕士研究生, 主要从事植物抗逆分子生物学研究

通讯作者: 曾千春, 男, 博士, Tel: 0871-5227732, E-mail: zqch1964@yahoo.com.cn

性，目前已经发现了许多 RNA 结合结构域(RNA binding domain, RBD)。包括: RNA 识别模体(RNA Recognition Motif, RRM)、KH 结构域、锌指结构(Zinc finger)、RGG box、DEAD/DEAH box、Pumilio/FBF(PUF)、双链 RNA 结合结构域(double-stranded RNA binding domain)、富含精氨酸模体(Arginine-rich motif)、Piwi/Argonaute/Zwille (PAZ) domain、Sm-protein 模体等。这些结构域各自具有特定的保守序列及不同的功能(表 1)。很多 RNA 结合蛋白含有 1 个或者更多的相同结构域的拷贝，而其它一些 RNA 结合蛋白含有 2 个或者更多的不同结构域。

目前,发现最多、研究最清楚的结合 RNA 的结构域是 RRM,又叫 RNP motif,同时也称为 RNA 结合功能域保守序列(CS-RBD),由 90~100 个氨基酸残基组成。它广泛存在于生物体中,而且已经研究得很清楚^[2, 3, 12]。RRM 是一段由约 80 个氨基酸组成序列,中间加插着两段保守序列。RNA 结合蛋白一般含有 1~4 个 RNP motif,在与前体 mRNA,前体 rRNA 和 snRNA 结合的蛋白中,常有一到多个 RNP motif,每一个 RNP motif 包括两个保守序列,RNP1 和 RNP2,它们是 RNA 结合区域表面的部分,RNP-1 结构域由 8 个氨基酸残基 (K/R)G (F/Y) (G/A) FVX (F/Y) 组成,而 RNP-2 结构域由 6 个氨基酸残基 (L/I) (F/Y) (V/I) (G/K) (G/N) L 组成^[13]。缺失分析表明,RNP-1、RNP-1 和富含甘氨酸结构域的氨

基酸残基是 RNA 结合活性所必需^[14]。目前的研究报道认为,RRM-型 RNA 结合蛋白参与前体 mRNA 5'-端的加帽、加 Poly(A) 尾和剪切等 RNA 的加工过程^[15]。在动物、植物、真菌和细菌细胞中,凡是有 RNA 存在的组织器官中,几乎都存在含 RNP motif 的蛋白,由此可以推测含 RNP motif 的蛋白是功能重要、进化保守的一类蛋白。

KH 结构域首先是在 hnRNP-K 蛋白中被发现,是一段由含有一定疏水性残基的约 60 个氨基酸组成的序列,序列中央有一段高度保守的 VIGXXGXXI 序列。目前发现的 RBP 最多能含有 15 个拷贝的 KH 结构域。

双链 RNA 结合结构域由约 70 个氨基酸组成,含 3 个保守的氨基酸序列。通过序列比较分析,dsRBDs 可分为 A 型 dsRBDs 和 B 型 dsRBDs, A 型 dsRBDs 在全长上和保守的双链结合序列同源性很高,结合双链 RNA 能力也很强,而 B 型 dsRBDs 只在 C-末端和保守的双链结合序列同源,结合双链 RNA 能力也很弱^[16]。

RGG box 一般存在于蛋白质的 C 端,是一段重复出现的“精氨酸-甘氨酸-甘氨酸”顺序。RGG 区域介导蛋白质-蛋白质相互作用,从而影响 RNA 与蛋白质结合的活性。目前已知有 RGG 区的 hnRNP 有 A1、A2/B1、DI/D2、G、K、P2、R、U。有证据显示 RGG 区域能够影响蛋白质的胞内定位。

表 1 RNA 结合结构域及可能的功能

模体/结构域	拓扑/二级结构	可能的功能	参考文献
RRM	?-?-?-?-?-?	β -折叠创造了一个平的、外露的 RNA 结合表面,第二和第三个 β -折叠组成了带正电荷的平台边缘。	[2,3]
KH	?-?-?-?-?-?	交联和保守序列为 RNA 连接提供了一个潜在的位于两个螺旋之间环中心的表面。	[4]
dsRBDs	?-?-?-?-?	突变显示,双链 RNA 连接在第二个螺旋的氨基酸末端和 β -折叠一面的裂缝之间。	[5,6]
RGG box	?-spiral	解开 RNA 二级结构时起作用。	[7]
Zinc finger	?-?-?	虽然位于 DNA 大凹槽内的 ?-螺旋在 DNA 连接中起主要作用,但是对于连接 RNA 却知道的很少。	[8]
S1	?-?-?-?-?-?	5 个螺旋的反平衡 β -折叠在一起,和冷激蛋白的结构非常相似。	[9]
Ribosomal S15	?-?-?-?-?-?	表面上暴露出环 II 和螺旋 III 和 IV 的末端羟基和 rRNA 相互作用。	[10]
Rop(Rom)	?-?	中间对称的同源二聚体形成一个四螺旋束,在 RNA 结合的关键部位形成一个相对扁平的识别表面。	[11]

2 RNA 结合蛋白的靶标 RNA 及二者相互作用

2.1 RNA 结合蛋白的靶标 RNA

为了更好的了解 RNA 结合蛋白的功能及 RNA 结合蛋白作用的机制,人们第一步要做的就是对靶

标 RNA 的研究,目前研究得出,大多数 RNA 结合蛋白调节多个 RNA 靶标,一旦多个靶标 RNA 被鉴别出来,就能知道 RNA 结合蛋白结合特定 RNA 的特性以及调节 RNA 的机制。同时,也能确定 RNA

结合蛋白控制所有的靶标 RNA 是通过相同机制还是不同靶标 RNA 有不同机制。例如, 在线虫的生长过程中, *fbf-1/-2* 基因表达的 RNA 结合蛋白 (FBF-1/-2) 通过结合 *fbf-1*, *fbf-2*, *gld-3s*, *gld-1*, *fem-3* 等 5 个靶标 RNA 在线虫的种系和早期胚胎发育中起了重要的作用, 主要是调节线虫的性别及维持胚胎干细胞的增殖^[17-19]。FBF-1/-2 通过和 *gld-1* mRNA 结合并抑制它的表达来调节种系干细胞的增殖; 通过作用于 GLD-3 的下游来负调节 *fem-3* mRNA 的活性, 从而调节线虫性别。这些结果说明, 要全面了解一个 RNA 结合蛋白是如何控制物种发育的机制就必须的了解很多或者全部的靶标 RNA。

目前, 有很多方法被用来鉴别 RNA 结合蛋白的靶标 RNA 或者鉴别二者的复合体, 用的比较多的方法是遗传学研究方法。另外, 很多直接的研究方法, 如免疫沉淀方法 (IP)、紫外交联实验 (UV)、凝胶迁移实验 (EMSA)、色谱等方法被广泛应用。LEE 等^[20]用免疫沉淀这种方法获得了特异的 RNA-蛋白质复合体, 之后通过反转录得到 cDNA, 最后克隆、测序鉴定出来了 16 种 GLD-1 的靶标 mRNA; 张景霞等^[21]用紫外交联技术在 HepG2 细胞蛋白质中筛选与丙型肝炎病毒 (HCV) RNA 核心区结合的蛋白质分子, 筛选出比较清晰的 RNA-结合蛋白条带; Maria 等^[22]用亲和层析的方法从小鼠大脑中分离出 3 种高表达的 H1 RNA 结合蛋白 (p40, p70 和 p110)。

2.2 RNA 结合蛋白结合 RNA 的特异性

在 RNA 结合蛋白中, 决定 RNA 结合特异性的氨基酸残基多位于多变的区域或者是结构域外的区域^[12]; 同时, 很多的 RNA 结合蛋白在转录后对基因表达调节是通过和辅助因子形成一个蛋白复合体共同作用来实现, 同一个 RNA 结合蛋白可能有很多不同的辅助因子, 甚至调节的机制也不一样。这样就使得一个相同的 RNA 结合蛋白可以通过和多种辅助因子相互作用来结合不同的靶 RNA, 最终以不同的途径来调节各种代谢。

剪接蛋白 U1A 是 RRM 家族的一种, 它是 U1 小核糖核蛋白复合体 (U1 snRNP) 的一个组成成分, U1A 使用它末端氨基酸结构域来结合 U1 snRNA 的发夹 II^[23], 它包含了一个四螺旋的 α -折叠

(构成结合表面), 旁边有两个 α -螺旋支撑, 保守的 RNP 结构域则位于两个 α -螺旋 (1 和 2) 的中间。实验证明这些保守的序列提供了结合 RNA 的基本活性, 而那些它们周围各种区域则被认为是决定结合特异性^[24]; U2B 是一个和 U1A 非常相近的另一个剪接蛋白, 使用它末端氨基酸结构域来结合 U2 snRNA 的发夹 II, 通过和 U2B 的比较, 知道了 RRM 家族蛋白质的大多数特异性。U1A 识别各自发夹茎环结构的特性主要来自于 1 个亮氨酸 (Leu-44) 的不同, 相比之下, U2B 缺乏这个 Leu-44 来识别 U2 snRNA 的发夹 II, 所以就依赖一个辅助因子 U2A 来识别, 而 U2A 是一个富含亮氨酸 (LRR) 蛋白家族。线虫中 FBF-1/-2 蛋白被证明结合那些靶 mRNA 3' 非翻译区含有 UGU 结构域的位点, 但是实验证明 FBF-1/-2 并不结合所有含有 UGU 结构域的位点^[18, 19], 这就说明单是这些含有 UGU 结构域存在, 还不能让 FBF-1/-2 都识别, 可能还有其它的辅助因子来帮助识别。

2.3 RNA 结合蛋白与靶标 RNA 的相互作用

细胞的生命活动, 如 DNA 复制、转录、蛋白质翻译、生物大分子的修饰和定位、信号转导、物质代谢等都依赖生物大分子间的相互作用, 因此对细胞生命活动中大分子相互作用的研究有助于揭示许多重要生命现象的本质。到目前为止, 仅有很少的 RNA 结合蛋白得到了较为详细的研究, 对于大多数 RNA 结合蛋白, 它们与靶标 RNA 结合后的相互作用及功能都有待深入研究。在研究 RNA 结合蛋白与靶标 RNA 的相互作用时, 首先得了解三个方面的内容, 其一, RNA 结合蛋白通常具有多个功能, 比如果蝇中的 STAU 蛋白既参与胞内定位又涉及翻译过程调节^[25]; 其二, 结合 RNA 的结构域不仅调节蛋白质与 RNA 相互作用, 也调节蛋白质与蛋白质之间的作用; 其三, 蛋白质与 RNA 相互作用在活体内具有特异性, 尽管很多 RNA 结合蛋白都同多个靶 RNA 作用, 但是它所识别的结构都具有一定的特异性, 比如 Elav 类 RNA 结合蛋白就特异结合富含 AU 序列 (AREs)^[26]。

筛选 cDNA 文库或者重组 cDNA 文库的基因检测技术开始广泛地应用于 RNA 与蛋白质相互作用研究^[27]。在构建的细菌双质粒报道系统中, 质粒

PBR322 表达噬菌体中的 N 蛋白, *tac* 启动子调控 N 蛋白的表达; 质粒 pACYC 表达含 *nut* 位点的 RNA, 并在转录终止位点后面插入报告基因 *lacZ* 序列。N 蛋白中富含精氨酸的 RNA 结合结构域可以与新合成的 RNA 中 *nut* 位点的 B 框结合, 抑制转录的终止, 从而使 RNA 聚合酶发生通读, 报告基因 *lacZ* 得到表达。利用此系统, 以富含精氨酸的多肽编码序列取代 N 蛋白 RNA 结合结构域构建重组质粒库、以待研究的能与多肽结合的靶 RNA 序列取代报道质粒中的 B 框, 共转化细菌, 通过报告基因的表达就可以对 RNA 与多肽之间的作用开展研究。随着遗传学方法引入到 RNA 结合蛋白的研究领域, 利用大肠杆菌系统检测二者之间相互作用的研究也得到了进一步地应用, 由于大肠杆菌中异源性的 RNA 结合蛋白与靶 RNA 的结合会抑制靶基因的翻译, 因而用来研究 RNA 结合蛋白与靶标 RNA 的相互作用。目前, 此方法已成功地应用于包括 HIV Rev 蛋白和核仁素在内的多种 RNA 结合蛋白的研究^[28]。

酵母三杂交系统也可用于分析蛋白和 RNA 间的相互作用。Dhruba 等^[29]首先报道了应用三杂交技术系统分析金属调节蛋白 (iron regulatory protein-1, IRP1) 与金属反应元件 RNA 序列, 以及 HIV 转录激活蛋白 (trans-activator protein, Tat) 与 HIV 转录激活反应元件 (HIV trans-activation response element, TAR) RNA 序列间的作用。

3 动植物中的 RNA 结合蛋白研究

近年来, 对动植物中 RNA 结合蛋白的研究有很多, 但对 RNA 结合蛋白的生理功能和分子功能研究还有待深入。在这里介绍一些参与动植物调节机制并起着重要生理功能的 RNA 结合蛋白。

很多 RNA 结合蛋白在 RNA 干扰 (RNAi) 机制中起重要作用。RNAi 是由 dsRNAs 诱导发生的, dsRNAs 形成后由 Dicer 酶切割为 siRNA (small interfering RNA), siRNA 和 RNA 诱导沉默复合体 (RISC) 结合, 共同作用将靶序列降解, 导致基因沉默。线虫的双链 RNA 结合结构域 (dsRBD) 蛋白 RDE-4 与 RDE-1 和 DCR-1 相结合在 RNAi 的起始步骤中起作用^[30], 果蝇的 2 个 dsRBD 蛋白 R202 和 Pasha, 都参与 siRNA 的形成^[31]。Akira 等在果蝇的脆

性 X 智障综合症研究中发现, RNA 结合蛋白 dFMR1 是和 RNAi 密切相关的一个蛋白因子^[32]。Argonaute2 蛋白是目前已知的参与 RISC 形成的关键蛋白。它包括 PAZ 和 PIWI 两个结构域, 其中 PAZ 高度保守, 它能够与 siRNA 中 3' 端的两个悬突碱基结合, 它的折叠区是与 siRNAs 解离链相结合的部位。PAZ 与 siRNA 特异而高效地参与 RNAi 密切相关^[33]。拟南芥中有 16 个 dsRBD 蛋白, 其中有 2 个在 RNAi 起作用, HYL1 是核蛋白, 可以累积 miRNA, 它对于转录后基因沉默是不必要的; HEN1 同样参与 miRNA 累积, 涉及转录后基因沉默。拟南芥中其它 dsRBD 蛋白是否参与 RNAi 还需要进一步研究。

另外一些研究发现, RNA 结合蛋白和动物的神经系统发育密切相关。这些 RNA 结合蛋白包括: ELAV/Hu, FMRP, Nova, ZBP, CPEB, Musashi, Staufer 和 QKI。在果蝇中, Musashi 和 Staufer 蛋白在神经系统的前体不对称分裂过程中起着重要作用^[34]; 在小鼠中, Musashi 蛋白涉及 CNS 干细胞的自我修复和维护^[35]; 最近, Boy 等^[36]研究显示, 非洲蟾蜍中一种 RNA 结合蛋白 Xseb4R 涉及神经细胞的命运, 实验中他们通过改变 Xseb4R 在成视网膜细胞的含量, 结果发现视网膜细胞型的分布情况发生了显著变化。因此在动物神经系统发育的早期阶段, RNA 结合蛋白在细胞分化的多样性上起着关键作用。

Ziemienowicz 等^[37]报道显示小鼠中一种与冷诱导相关的 RNA 结合蛋白 (cirp) 就是一种富含甘氨酸 RNA 结合蛋白, 它在小鼠成纤维细胞的冷诱导产生的生长抑制中起到了很大的作用。Dresios^[38]等研究显示, 冷害诱导的小鼠 GRPs 蛋白 MmRBM3 能有效地结合核糖体 60S 蛋白亚基, 并增强细胞内 miRNA 小分子的水平, 从而提高细胞内整体蛋白质合成水平。同时, GRPs 基因也普遍存在于各种植物的基因组中, 如烟草的 NsRGP-1a/1b/1c、NsRGP-2/3^[39]、玉米的 ZmCHEM2 和 ZmGRP 等^[40], 拟南芥的 AtGRP7/8、At-mRBP1a/1b/2a/2b、以及水稻的 OsGRP1 和 OsGRP2^[40]。有很多研究表明, 富含甘氨酸 RNA 结合蛋白 (GRPs) 调控植物逆境诱导反应, 许多逆境因子, 包括冷害、致伤、干旱、过敏反应、脱落酸 (ABA) 处理、水杨酸 (SA) 处理和水逆境 (Water

stress) 等因子均能有效地诱导 GRPs 基因家族的 RNA 水平显著提高^[41]。Carpenter 等对拟南芥研究表明, AtGRP7/8、At-mRBP1a/1b/2a/2b 等基因都受低温诱导表达。Richard 等也对云杉属的 *Picea glauca* PgRNP 基因进行了多种逆境表达研究, 显示该基因除了受低温诱导表达外, 系统伤害、茉莉酸脂 (JA) 和干旱等诱导逆境因子均影响其表达^[42]。而玉米的 ZmMA16 则受脱落酸 (ABA) 处理、脱水和伤害的诱导而表达。因此, 可以认为 GRPs 涉及生物的抗逆性反应调节。

RNA 结合蛋白还在植物光合作用中起着重要作用。植物光合作用中, 光调节一些叶绿体蛋白的供应, 如光合系统中的 D1 蛋白 (由叶绿体 *psbA* 基因编码)。这个光调节过程是一个转录后调节, 同时利用核基因组中的 RNA 结合蛋白作用得以实现。PsbA mRNA 的翻译通过 5' UTR 上的蛋白复合物的组装而激活, 这个蛋白复合物由 4 个 RNA 结合蛋白组成, 命名为 RB38、RB47、RB55 和 RB60。RB47 特异地结合到 PsbA mRNA 的 5' UTR 上并相互作用。缺乏 PsbA mRNA 翻译的莱茵衣藻 (*C. Reinhardtii*) 突变体的生化分析表明: PsbA mRNA 的翻译需要 RB47 和特异 PsbA mRNA 结合活性的同时存在, RB47 在激活翻译起始过程中起着很大的作用; ADP 依赖的 RB60 磷酸化能降低蛋白复合物同 5' UTR 的结合, 复合物的稳定性也通过 RB60 中相邻二巯基的氧化还原反应来调节^[43]。随着光照时间和强度的增加, RB60 变成还原态并激活翻译。尽管研究这个调节机制的主要工作都是在 *C. Reinhardtii* 中进行的, 但是它同样存在于拟南芥叶绿体中。

最近的研究显示, RNA 结合蛋白通过转录后调节机制涉及植物激素信号调节过程^[44]。拟南芥中 ABH1、SAD1 和 HYL1 基因都编码 RNA 结合蛋白, ABH1 和 SAD1 基因突变型对 ABA 特别敏感, 对外部的植物生长素、细胞分裂素敏感程度没有改变^[45]; HYL1 基因突变型对葡萄糖和 ABA 非常敏感, 对植物生长素、细胞分裂素变的不敏感, 根的向地性和顶端优势减弱^[44]。另外, 拟南芥中的另一个 RNA 结合蛋白 FCA, 它含有一个 WW 蛋白作用结构域, 这个结构域在很多蛋白质中存在并涉及细胞信号

过程。过去, 人们一直认为转录调节是信号转导调节基因表达的惟一途径, 尽管很多细胞内信号途径是通过改变特殊转录因子的活性来进行, 但是很多实验证明, 外部信号途径是通过转录后调节机制来进行的^[46]。

4 RNA 结合蛋白与人类疾病

RNA 结合蛋白和男性不育密切相关。研究发现在 Y 染色体长臂远端共有 3 个非重叠的区域, 与正常精子的产生都有关, 这 3 个区域被称为 AZFa、AZFb 和 AZFc 区域, 已克隆多个候选基因。目前已经基本明确与人类精子发生有关的基因, 主要是 RBM、DAZ、TSRY 等^[47]。它们都编码 RNA 结合蛋白, 在精子形成过程中这些蛋白质与各种 RNA 结合, 控制和调节着精子发生的过程。RBM (RNA-binding motif) 是 AZFb 的候选基因之一, Elliott 等研究认为 RBM 编码一种核蛋白, 调节着转录后 RNA 拼接, 许多睾丸特异的 RNA 拼接都是 RBMp 依赖的 RNA 睾丸特异性拼接的失败, 从而间接引起精子形成的缺陷。DAZ (deleted in azoospermia) 是 AZFc 的候选基因之一, 其编码的蛋白质 (DAZp) 是在细胞质中起作用的 RNA 结合蛋白, 它结合的 RNA 所翻译的蛋白质是细胞减数分裂中必需的。TSPY (testis-specific protein Y encoded) 基因可在不同精原细胞亚群中表达, 对其功能分析证明, TSPY 可能在早期精原细胞向精母细胞转化过程中起着磷酸化的作用^[48]。

Elav 类蛋白是一类密切相关的 RNA 结合蛋白, Elav 基因最先在果蝇中克隆, 并发现其编码的产物在神经系统的发育和功能维持中起重要作用^[49]。Elav 类蛋白在人中有 4 个成员, HuD, HuC, Hel-N1 和 HuR。正常情况下 HuD, HuC 和 Hel-N1 常表达于终末分化的神经元, HuR 则是一种在多种组织中都有表达的基因, 已经发现 Elav 类蛋白与某些神经系统的自身免疫疾病有关。另外, Rudolf 等^[50]对多种血管疾病 (包括血管内膜增生、动脉粥样硬化等) 进行了研究, 发现在血管内膜层细胞里 HuR 的量显著增加, 根据这一结果, 他们推断, HuR 促进人类血管平滑肌细胞 (hVSMCs) 的增生从而在血管疾病中起调节作用。Lopez 和 Wang 等还研究得出, HuR 促进正常成纤维细胞和癌细胞的增殖。Pan^[51]等研

究了肝癌细胞在多种胁迫条件下 ATF3 的表达情况, 得出 HuR 和另一个 RNA 结合蛋白 AUF1 同 ATF3 mRNA 的 3' 非翻译区作用来增强 ATF3 mRNA 的稳定性。

目前, 在肿瘤发生和调节机制上对 RNA 结合蛋白的研究也很多。Charles 等^[52]对 CRD-BP 进行研究发现, CRD-BP 是一种多功能的 RNA 结合蛋白, 它结合 c-myc、肌动蛋白 mRNAs、胰岛素样生长因子结合蛋白 mRNAs 和 H19 RNA。CRD-BP 在胎儿中含量很高但在成人中很低或者没有, 他们在一些成年人的乳房、结肠和肺部中检测到 CRD-BP 的表达, 且这些部位产生癌变的概率很高。因此, 他们推测, CRD-BP 涉及肿瘤的形成。Lu 等^[53]用免疫筛选的方法从人肝癌细胞 cDNA 表达文库中分离出一种 RNA 结合蛋白 p62, 免疫组织化学分析显示, 在癌组织恶化细胞的细胞质中检测出大量的 p62, 而相邻的没有恶化的细胞基本没有。进一步的研究显示, p62 在肝癌细胞中通过对一些生长因子调节而进行非正常表达。Croizat 克隆了含有一个 RRM 的基因 TLS (translocated in liposarcoma), 并发现 TLS 的 RRM 被 CHOP (转录因子 C/EBP 家族的一个成员) 的 DNA 结合和亮氨酸拉链结构域替代后会引起人粘液样脂肪肉瘤。近几年, 又发现 TLS 与其他转录因子的融合而造成多种肿瘤的发生, 进一步证实了某些 RNA 结合蛋白在肿瘤发生中的重要作用。

5 展望

RNA 结合蛋白对转录后 RNA 的控制和调节, 构成了生物生长发育过程中基因表达调节的主要途径。大多数 RNA 结合蛋白含有 2 个或多个相同或者不同的 RNA 结合结构域, 这些结构域预示了 RNA 结合蛋白的分子功能。RNA 结合蛋白调节多个靶标 RNA, 充分了解这些靶标 RNA 是全面了解 RNA 结合蛋白调控机制的基础。

RNA 结合蛋白质具有重要的生理功能和分子功能, 有必要对其进一步深入研究。在生命体活动中, 从 RNA 剪接到蛋白质的合成, 从病毒复制到胚胎的发育和遗传疾病的发生, 这其中有很多关于 RNA 结合蛋白的生物学功能及其作用机制有待科学家们去发现和了解。今后可从以下几个方面对

RNA 结合蛋白进行更深入的研究。其一, 研究 RNA 结合蛋白与其他蛋白质的相互作用; 其二, 不断去发掘新的 RNA 结合结构域, 丰富和了解 RNA 结合蛋白的结构, 通过对 RNA 结合蛋白的结构域进行比较分析, 来区分 RNA 结合蛋白的不同功能; 其三, 进一步对细胞转录后调节的分子机制进行研究。有研究 GRPs 在植物中大量存在, 并被认为是涉及逆境调节过程, 但是其分子机制却尚不清楚; 其四, 在充分了解 RNA 结合蛋白、靶标 RNA 的结构及二者相互作用与参与调节的分子机制后, 可以人为设计一些特异性和亲和力强的 RNA 结合蛋白, 这在药物开发等医学方面有很大的发展潜力。

参考文献

- 1 Graumann PL, Marahiel MA. Trends Biochem Sci, 1998, 23: 286-290.
- 2 Oubridge C, Ito N, Evans PR, et al. Nature, 1994, 372: 432-438.
- 3 Dietz HC, Kendzior RJ. Nat Genet, 1994, 8: 183-188.
- 4 Musco G, Stier G, Joseph C, et al. Cell, 1996, 85: 237-245.
- 5 Bycroft M, Grijnert S, Murzin AG, et al. EMBO J, 1995, 14: 3563-3571.
- 6 Kharrat A, Macias MJ, Gibson TJ, et al. EMBO J, 1995, 14: 3572-3584.
- 7 Ghisolfi L, Joseph G, Amelric F, et al. J Biol Chem, 1992, 267: 2955-2959.
- 8 Schwabe JWR, Klug A. Nat Struct Biol, 1994, 1: 345-349.
- 9 Bycroft M, Hubbard TJP, Proctor M, et al. Cell, 1997, 88: 235-242.
- 10 Berglund H, Rak A, et al. Nat Struct Biol, 1997, 4: 20-23.
- 11 Predki PF, Nayak M, Gottlieb MBC, et al. Cell, 1995, 80: 41-50.
- 12 Burd CG, Dreyfuss G. Science, 1994, 265: 615-621.
- 13 Nomata T, Kabeya Y, Sato N. Plant Cell Physiology, 2004, 45: 48-56.
- 14 Hanano S, Sugita M, Sugiura M. Plant Mol Biol, 1996, 31: 57-68.
- 15 Hall TM. Curr Opin Struct Biol, 2002, 12: 82-88.
- 16 Hitti EG, Sallacz NB, et al. FEBS Letters, 2004, 574: 25-30.
- 17 Gallegos M, Petcherski AG, Moulder G, et al. Nature, 2002, 41: 660-663.
- 18 Eckmann CR, Kraemer B, Wickens M, et al. Dev Cell, 2002, 3(5): 697-710.
- 19 Lamont LB, Crittenden SL, Bernstein D, et al. Dev Cell, 2004, 7(5): 697-707.
- 20 Lee MH, Schedl T. Genes Dev, 2004, 18: 1047-1059.
- 21 张景霞, 苏海霞, 李端, 等. 中国公共卫生, 2006, 22(3): 289-290.
- 22 Msria S, Anna S, Giuseppe C, et al. International Journal of molecular medicine, 2003, 11: 509-503.
- 23 Scherly D, Boelens W, et al. Nature, 1990, 345: 502-506.
- 24 Scherly D, Kambach C, et al. J Mol Biol, 1991, 219: 577-584.

- 25 Nina VF. *Plant Biology*, 2002, 5: 452~459.
- 26 Antonia R, Claudia F, Lidia C, et al. *Journal of Cell Science*, 2006, 119: 1442~1452.
- 27 Harada K, Frankel AD. *RNA-Protein Interaction Protocols*, 1999, 118: 177~188.
- 28 Jain C, Belasco JG. *Cell*, 1996, 87: 115~125.
- 29 Dhruva J, SenGupta, Beilin Z, et al. *Proc Natl Acad Sci*, 1996, 93 (16): 8496~8501.
- 30 Tabara H, Yigit E, Somi H, et al. *Cell*, 2002, 109: 861~871.
- 31 Tomari Y, Matranga C, et al. *Science*, 2004, 306: 1377~1380.
- 32 Akira I, Mikiko CS, Haruhiko S. *Genes and development*, 2002, 16 (19): 2497~2508.
- 33 Song JJ, Stephanie K, Smith GJ, et al. *Science*, 2004, 305.
- 34 Okano H, Imai T, Okabe M. *J Cell Sci*, 2002, 115: 1355~1359.
- 35 Sakakibara S, Nakamura Y, Yoshida T, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 15194~15199.
- 36 Boy S, Souopgui J, et al. *Development*, 2004, 131: 851~862.
- 37 Ziemiencowicz A, Haasen D, Staiger D. *Plant Molecular Biology*, 2003, 53: 201~212.
- 38 Dresios J, Aschrafi A, Owens GC, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 1865~1870.
- 39 Moriguchi K, Sugita M, Sugiura M. *Plant J*, 1997, 12 (1): 215~21.
- 40 Chin EC, Senior ML, et al. *Genome*, 1996, 39 (5): 866~873.
- 41 Heintzen C, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 8515~8520.
- 42 Richard S, Drevet C, Jouanin L. *Gene*, 1999, 240: 379~388.
- 43 Trebitsh T, et al. *Mol Cell Biol*, 2000, 20: 1116~1123.
- 44 Lu C, Fedoroff N. *Plant Cell*, 2000, 12: 2351~2366.
- 45 Hugouvieux V, Kwak JM, Schroeder JI. *Cell*, 2001, 106: 477~ 487.
- 46 Paul L. *Sci STKE*, 2003, 179: ref6.
- 47 史本涛, 贺大林, 南勋义. *国外医学遗传学分册*, 2004, 27 (2): 119~122.
- 48 杨建华. *实用男性不育诊疗学*. 上海: 第二军医大学出版社, 2002, 123~129.
- 49 Antonia R, Claudia F, Lidia C, et al. *Journal of Cell Science*, 2006, 119: 1442~1452.
- 50 Rudd P, Magdalena J, Isabel L, et al. *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280 (24): 22819~22826.
- 51 Pan YX, Chen H, Michael SK. *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280 (41): 34609~34616.
- 52 Charles R. *Cancer Research*, 2004, 64: 209~214.
- 53 Lu ML, Robert M, Nakamura, 2001, 159 (3): 945~953.

(上接第 8 页)

- 3 Ganz P R, Dudani AK, Tackaberry ES, et al. Expression of human blood proteins in transgenic plants: the cytokine GM-CSF as a model protein [A]. In: Owen MRL, Pen J. *Transgenic plants: A production system for industrial and pharmaceutical proteins* [C]. London: John Wiley Sons, 1996, 281 ~ 297.
- 4 Whitlam GC. *Journal of the science of food and agriculture*, 1995, 68: 1 ~ 9.
- 5 Giddings G. *Curr Opin in Biotechnol*, 2001, 12: 450 ~ 454.
- 6 Ma JK, Drake PM, Christou P. *Nature Reviews Genetics*, 2003, 4 (10): 794 ~ 805.
- 7 Negouk V, Eisner G, Lee H, et al. *Plant Science*, 2005, 169: 433~438.
- 8 Hood EE. Plants as Enzyme Factories. In: R. Fischer and N. Emans, Eds. *Handbook of Plant Biotechnology* [M]. London: John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, 2004, 308 ~ 314.
- 9 Hood, EE, Woodard SL, Horn ME, et al. *Curr Opin Biotechnol*, 2002, 13 (6): 630 ~ 635.
- 10 HAN Mei, SU Tao, ZU Yuan-Gang, et al. *Acta Genetica Sinica*, 2006, 33 (4): 285 ~ 293.
- 11 Commandeur U, Twyman RM, Fischer R, et al. *AgBiotechNet*, 2003, 5: 110 ~ 111.
- 12 Nancy M, Cory N, Joe B, et al. *International Biopharm*, 2006, 6: 45~52.
- 13 Ma JK, Hiatt A, Hein M, et al. *Science*, 1995, 268 (5211): 716 ~ 719.
- 14 Twyman RM, Stoger E, Schillberg S, et al. *Trends in Biotechnology*, 2003, 21 (12): 570 ~ 578.
- 15 Schillberg S, Fischer R, Emans N. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2003, 60 (3): 433 ~ 445.
- 16 Gallie DR, Tanguay RL, Eathers V. *Gene*, 1995, 165 (2): 233 ~ 238.
- 17 Rajabi -Memari H, Jalali -Javaran M, Rasaei MJ, et al. *Hybridoma (Larchmt)*, 2006, 25 (4): 209 ~ 215.
- 18 Schillberg S, Twyman RM, Fischer R. *Vaccine*, 2005, 23 (15): 1764 ~ 1769.
- 19 Sriraman R, Bardor M, Sack M, et al. *Plant Biotechnology Journal*, 2004, 2 (4): 279 ~ 287.
- 20 Triguero A, Cabrera G, Cremata JA, et al. *Plant Biotechnology Journal*, 2005, 3 (4): 449 ~ 457.
- 21 Koprivova A, Stemmer C, Altmann F, et al. *Plant Biotechnology Journal*, 2004, 2 (6): 5175 ~ 23.
- 22 Strasser R, Altmann F, Mach L, et al. *FEBS Lett*, 2004, 561 (1-3): 132 ~ 136.
- 23 Stoger E, Fischer R. *Current Opinion in Biotechnology*, 2005, 16: 167 ~ 173.