

# mRNA 结构及其稳定性的关系

熊高飞<sup>1,2</sup> 熊向阳<sup>2</sup> 张吉翔<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 南昌大学第二附属医院消化科, 分子医学重点实验室, 南昌 330006;

<sup>2</sup> 南昌大学基础医学院生理学教研室, 生物化学教研室, 南昌 330006)

**摘要** mRNA 结构与 mRNA 稳定性关系密切, mRNA 稳定性与基因表达调控之间也有着紧密的联系。现从 mRNA 结构中所含的 5' 端帽结构、3' 端 poly(A) 尾、5' 非翻译区、3' 非翻译区、编码区、富 AU 元件等方面综述了 mRNA 结构与 mRNA 稳定性之间的关系, 为深入了解基因表达调控的分子机制提供理论基础。

**关键词** mRNA 结构; mRNA 稳定性; 基因表达

mRNA 是蛋白质合成的模板, 它是在 RNA 聚合酶 II 的作用下, 在细胞核中由蛋白质编码基因转录而来的。mRNA 与 rRNA 和 tRNA 相比稳定性较差。细胞通过改变基因转录速率和调控 mRNA 稳定性而调节蛋白质的水平。近年来 mRNA 稳定性的调节成为愈来愈热的研究焦点, 研究发现 mRNA 稳定性与基因表达调控有着密切的联系<sup>[1]</sup>。影响 mRNA 稳定性的因素有许多, 包括 5' 端帽结构、3' 端 poly(A) 尾、5' 非翻译区(5'untranslated region, 5'UTR)、3' 非翻译区(3'untranslated region, 3'UTR)、顺式作用元件、反式作用因子等。有实验证实, mRNA 的稳定性与基因结构有着直接的联系<sup>[2]</sup>。本文就 mRNA 结构与 mRNA 稳定性之间的关系作一综述。

## 1 Poly(A)尾与 mRNA 稳定性

poly(A)尾具有多种功能: 参与前体 mRNA 的核加工、转运到胞浆中、翻译以及影响胞浆中 mRNA 的稳定性。实验证实 poly(A)尾可以保护 mRNA 不被迅速降解, 从而提高 mRNA 的稳定性。<sup>①</sup>许多 mRNAs 降解的第一步是脱腺苷酸<sup>[3]</sup>。<sup>②</sup>在体外实验中, mRNA 3' 末端 poly(A)尾与 poly(A)结合蛋白(poly(A) binding protein, PABP)作用形成的 poly(A)-PABP 复合体可以保护 mRNA 不被迅速降解, 提高了 mRNA 的稳定性。当聚腺苷酸化的 mRNA 与去除了 PABP 的提取物共培养时, mRNA 会迅速降解, 而提取物中重新加入 PABP 后, mRNA 稳定性又显著增加。但是, 将 mRNA 的 3' 末端去掉 poly(A)尾之后, 不管有无 PABP, mRNA 的稳定性都是降低

的<sup>[4]</sup>。

在哺乳动物细胞内, PABP 的数量远远大于其与 poly(A)结合那部分的数量, 同时 PABP 具有与 poly(A)结合的高亲和力, 故认为哺乳动物细胞 mRNA 绝大多数甚至全部的 poly(A)都可能与 PABP 结合形成复合体, 这有利于提高 mRNA 稳定性。

有实验证实 poly(A)尾可以促进 mRNA 翻译, 而 mRNA 的不断翻译又可以影响 mRNA 的稳定性。poly(A)尾与帽结构通过翻译起始因子(eIF)发生相互作用, 从而促进翻译; 翻译通过影响去腺苷酸、去帽、5' 至 3' 核酸外切酶消化来影响 mRNA 稳定性(图 1)<sup>[5]</sup>。

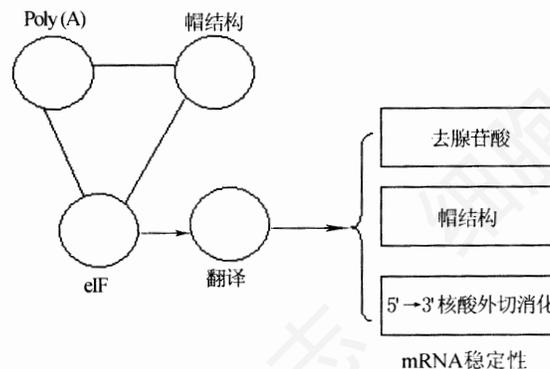


图 1 poly(A)尾与 mRNA 稳定性的关系<sup>[5]</sup>

收稿日期: 2005-11-03 接受日期: 2006-04-13

国家自然科学基金资助项目 (No.30360037, No.30160032)

\* 通讯作者。Tel: 0791-6292706, E-mail: jixiangz@tom.com

## 2 3'UTR与mRNA稳定性

有实验证实 mRNA 3'UTR 存在着降解信号, 而且此区还影响 mRNA 的半衰期<sup>[6]</sup>。转染实验也揭示了 3'UTR 作为一个影响 mRNA 不稳定性的决定因素发挥着重要作用<sup>[7]</sup>。

### 2.1 组蛋白基因 mRNA 3' 末端茎-环结构与 mRNA 稳定性

研究发现, 细胞周期调控性组蛋白基因 mRNAs 缺少 poly(A), 但其 3'UTR 影响着细胞核内 mRNA 的加工、转运、翻译及降解速率。在 S 期接近结束时, 组蛋白基因 mRNA 转录速率降低, 前体 mRNA 加工效率也降低, 且胞浆内 mRNA 半衰期降低至 10 min 左右, mRNA 稳定性大大降低。将组蛋白基因 mRNA 3' 末端的 30 个核苷酸插入珠蛋白基因 mRNA 中, 珠蛋白基因 mRNA 稳定性大大降低。因此, 组蛋白基因 mRNA 3' 末端的 30 个核苷酸中含有降低 mRNA 稳定性的信号序列<sup>[8]</sup>。研究证实, 其中起决定性作用的结构是一个 3' 末端 6 个碱基对的茎和 4 个碱基的环, 茎-环结构几乎存在于所有细胞周期调控性组蛋白基因 mRNA 中。实验也发现, 人为添加组蛋白基因 mRNAs poly(A), 位于 poly(A) 下游的茎-环结构则不能降低 mRNA 稳定性。若将一段长度大于 500 bp 的核苷酸插入翻译终止密码子与 3' 末端之间的 3'UTR, 则不能准确地调控 mRNA 的稳定性, 因此认为茎-环结构与最后的翻译核糖体之间的距离也对调控 mRNA 稳定性起着至关重要的作用<sup>[9]</sup>。

### 2.2 富 AU 元件(AU-rich elements, ARE)与 mRNA 稳定性

有实验证实 ARE 与 mRNA 稳定性有关。研究发现, mRNA 3'UTR 含有 ARE 和 / 或寡(U)区时, mRNA 倾向于不稳定<sup>[10]</sup>。将一个不稳定的单核-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)基因 mRNA 3'UTR 所含有的 ARE 插入到  $\beta$  珠蛋白基因 mRNA 的 3'UTR, 结果发现  $\beta$  珠蛋白 mRNA 迅速降解, mRNA 稳定性大大降低, 而缺少 ARE 的  $\beta$  珠蛋白基因 mRNA 则稳定得多。

许多富含 AU 的 RNA 序列可以作为 mRNA 去稳定信号而发挥作用。同时, 不同的 ARE 在影响 mRNA 稳定性方面也是各不相同的。细胞癌基因 *c-fos* mRNA 的 ARE 是一个强有力的去稳定元件, 它对细胞内原癌基因 *c-fos* 和病毒癌基因 *v-fos* 的生物学

效应也起着至关重要的作用。研究证实, ARE 含有两个结构域: I 和 II。结构域 I 大概有 40~50 个核苷酸, 富含 AU, 并且包括几个 AUUUA 寡聚五核苷酸, 而结构域 II 含有大约 20 个核苷酸组成的富含 U 区域。如果结构域 I 中的 AUUUA 变成了 AUUAA 或 AUAUA, 则脱腺苷酸降解速率降低, mRNA 稳定性却大大增加。倘若仅仅去掉结构域 II 中的富含 U 区域, mRNA 稳定性也增加, 以上实验说明 ARE 中的 AUUUA 寡聚五核苷酸序列可以促进 mRNA 降解途径, 降低 mRNA 稳定性, 同时 ARE 中的富含 U 区域有促进 mRNA 降解和协同 AUUUA 寡聚五核苷酸去稳定的功能<sup>[11]</sup>。

研究 *c-fos* 基因的实验表明了 mRNA 的稳定性对细胞功能产生重要的影响。病毒癌基因 *v-fos* 与细胞癌基因 *c-fos* 两者之间最重要的区别之一是它们各自 mRNA 3'UTR 的不同。成纤维细胞中的原癌基因 *c-fos* 的致癌作用是极其微弱的, 但是当它的 mRNA 3'UTR 的 ARE 被去掉之后, mRNA 稳定性大大增加, 其致癌作用也随之大大增加了。

有实验观察到宫颈癌与人乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)16 型之间有密切的联系。HPV-16 病毒基因通常整合到宫颈癌细胞染色体。HPV-16 基因的 mRNA 3'UTR 含有 ARE, mRNA 稳定性很低。当 HPV-16 基因与人基因组整合后, 病毒 mRNA 3'UTR 的 ARE 丢失, 导致 mRNA 稳定性大大增加, 表达出对人体过量的肿瘤蛋白, 从而使肿瘤生成。

也有研究者通过实验发现, 3'UTR 含有 ARE 的 mRNA 在翻译时是不稳定的, 而 mRNA 不翻译时其稳定性却大大增加, 故此认为只有当 mRNA 与核糖体相作用时, ARE 才会作为一种去稳定信号行使其功能。

### 2.3 铁反应元件(iron-responsive element, IRE)与 mRNA 稳定性

研究证实 IRE 与转铁蛋白受体(transferrin receptor, TfR)基因和铁蛋白(ferritin)基因 mRNA 的稳定性有密切的联系。TfR 主要负责将铁从细胞外转运至细胞内, 铁蛋白则是一个主要的细胞内铁存储蛋白, TfR 与铁蛋白之间的平衡影响着细胞内铁的平衡。一个由 23~27 个碱基对的茎和 6 个核苷酸的环所组成的 IRE 可以调控 mRNA 的稳定性。IRE 通过结合铁调节蛋白(iron-regulatory protein, IRP)来发挥作用, 且 mRNA 结构中不同位置上的 IRE 在影响 mRNA 稳定性方面也是不尽相同的。TfR 基因 mRNA

的3'UTR含有5个IRE,其中3个负责调控mRNA的半衰期。铁蛋白基因mRNA的5'UTR含有一个单独的IRE,这个IRE却起着调控mRNA翻译的作用。

TfR基因mRNA的稳定性与细胞内铁浓度是呈负相关的。当细胞内铁过剩时,IRE不与IRP结合形成IRE-IRP复合体,IRE发挥去稳定功能,TfR基因mRNA的稳定性大大降低。反过来,当细胞内铁浓度下降时,IRP的构象发生改变,IRE与IRP结合形成IRE-IRP复合体,mRNA稳定性大大增加。因此,TfR合成增加,从而满足细胞对铁的需求。同时,细胞内低铁条件下铁蛋白基因mRNA中的IRE也会和IRP结合,从而抑制铁蛋白基因mRNA的翻译。所以,TfR基因mRNA与铁蛋白基因mRNA通过IRE调控mRNA稳定性及翻译,从而维持细胞内铁浓度的动态平衡<sup>[12]</sup>。

## 2.4 胰岛素样生长因子II的长茎-环结构与mRNA稳定性

胰岛素样生长因子II(insulin-like growth factor II, IGF-II)主要在胚胎细胞中表达,也可见于成人血清中。IGF-II对细胞增殖及分化发挥着至关重要的作用。在人、小鼠、大鼠IGF-II基因mRNA 3'UTR中茎-环结构是一个mRNA稳定性的重要影响因素,它也是核酸内切酶的剪切位点。

有研究发现,在IGF-II基因mRNA 3'UTR, poly(A)尾上游约1.7 kb处有一个长茎-环结构。核酸内切酶对mRNA实行剪切必须要有两个片断的存在:一个大小约100个核苷酸,位于mRNA 3'翻译终止位点(translation termination site, TTS)下游75核苷酸处;另一个大小约300个核苷酸,位于mRNA 3'TTS下游2 kb处。这两个相隔近2 kb的区域形成了一个稳定的带有几个突出的茎和环的复式结构。颠倒此结构中主茎的核苷酸序列会降低或阻断核酸内切酶对它的剪切作用。因此,茎-环结构对于其发挥正常功能是至关重要的。IGF-II基因mRNA 3'UTR的茎-环可以远距离互换,且每一个茎-环都可以被剪切。因此,每一个茎-环都能作为一个独立的剪切位点被识别<sup>[13]</sup>。

总之,mRNA 3'UTR的几个序列可以影响mRNA的稳定性。除此以外,mRNA 3'UTR也可以通过影响mRNA翻译或mRNA位置来调控mRNA半衰期,从而间接影响mRNA稳定性。例如,*c-myc*基因mRNA 3'UTR可以指引mRNA到细胞骨架结合多聚核糖体(cytoskeleton-bound polysomes),然后局

限在细胞中一个特定的区室影响mRNA半衰期。

## 3 mRNA编码区与mRNA稳定性

实验证实mRNA编码区与mRNA稳定性有密切的联系<sup>[14]</sup>。*c-fos*、*c-myc*与微管蛋白(tubulin)基因mRNA编码区的突变可以导致mRNA半衰期发生巨大变化。一些mRNA编码区稳定性决定子(determinant)也是蛋白质结合位点。虽然在*c-fos*、*c-myc*基因mRNA 3'UTR去掉诸如ARE之类去稳定元件,但它们半衰期仍然很短,仅有1~2 h。因此,截短的mRNA必然在其5'UTR和/或编码区含有一个mRNA去稳定元件。编码区与5'端引入无义突变后会引起mRNA稳定性降低。

将去除血清的细胞暴露于血清或生长因子中,则*c-fos*基因mRNA稳定性增加,其蛋白质水平也上升<sup>[15]</sup>。研究发现,*c-fos*基因mRNA结构中至少含有3个mRNA去稳定信号,一个是位于3'UTR的ARE,另外两个位于mRNA编码区。其中一个编码区决定子含有320个核苷酸,位于mRNA近中心处,它编码对*c-fos*蛋白发挥正常功能至关重要的亮氨酸拉链区。将这320个核苷酸序列插入到球蛋白基因mRNA编码区,则球蛋白基因mRNA的稳定性大大降低。对于*c-fos*基因而言,mRNA本身的结构决定了mRNA的不稳定性,而且与它所编码的蛋白质无关。相反地, $\beta$ -微管蛋白基因mRNA的不稳定性以及生长相关蛋白(growth-associated protein, GAP-43)基因mRNA的稳定性则与它们各自的编码区决定子所编码的氨基酸有关。

*c-myc*基因mRNA编码区决定子编码*c-myc*蛋白羧基末端60个氨基酸,包括螺旋-环-螺旋中的一部分以及所有亮氨酸拉链模体。在肌原细胞向肌管分化期间,全长*c-myc*基因mRNA稳定性降低,但是去除编码区决定子的mRNA却是稳定的,同时它与放线菌酮无关。研究发现,在完整细胞中,将*c-myc*基因mRNA编码区稳定性决定子插入球蛋白基因mRNA中,与插入了一个稳定的甘油三磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)mRNA的球蛋白基因mRNA相比较,前者mRNA稳定性比后者低。

$\beta$ -微管蛋白基因mRNA稳定性与细胞内微管蛋白单体浓度成反比。研究发现,当用秋水仙碱诱导微管解聚或将小管单体微注射入胞浆中, $\beta$ -微管蛋白基因mRNA稳定性降低,认为mRNA稳定性与

mRNA 结构中编码区 5' 端 12~13 个核苷酸有密切的联系。将所有下游的编码核苷酸序列去除或用报道蛋白的编码序列替换, 结果发现, mRNA 稳定性仍是下降的, 进一步证实了 mRNA 稳定性与 mRNA 编码区上游结构有关。研究证实, 真正对 mRNA 稳定性起决定作用的结构位于  $\beta$ -微管蛋白基因 mRNA 编码区起始处编码蛋氨酸-精氨酸-谷氨酸-异亮氨酸(Met-Arg-Glu-Ile)的核苷酸序列, 而且此结构必须与多聚核糖体相联系才能影响 mRNA 稳定性<sup>[16]</sup>。

#### 4 5'UTR、mRNA 帽结构及 mRNA 位置与 mRNA 稳定性

mRNA 5'UTR 是否会直接影响 mRNA 稳定性尚不清楚, 但是 5'UTR 可以通过影响 mRNA 半衰期间接调控 mRNA 稳定性。理论上, 改变 mRNA 5'UTR 可以影响 mRNA 翻译效率, 进而影响 mRNA 半衰期; 在 5'UTR 中引入一个抑制翻译的茎-环结构可以改变 mRNA 半衰期。有研究发现, mRNA 5'UTR 的长度可能通过一种翻译非依赖性的方式来影响 mRNA 半衰期<sup>[17]</sup>。此外, 基因 mRNA 5'UTR 也可能通过其与一个结合蛋白相互作用来影响 mRNA 半衰期, 进而调控 mRNA 稳定性。

研究发现, 卵母细胞中有帽结构的 mRNAs 要比无帽结构的 mRNAs 稳定得多<sup>[18]</sup>。因此, 理论上去帽是哺乳动物细胞 mRNA 降解的一个限速步骤。Steiger 等<sup>[19]</sup>研究证实了在酵母细胞中去帽过程可以调控 mRNA 稳定性。许多实验证实, mRNA 5' 帽结构具有多方面的功能: 参与前体 mRNA 的剪接和 mRNA 3' 末端聚腺苷酸化, 阻止核酸外切酶对它的降解, 通过与帽结合蛋白以及之间的相互作用来提高稳定性等。

通过影响 mRNA 的位置可以来调控所有 mRNA 稳定性。免疫球蛋白重链基因 mRNA 在完全分化的浆细胞中要比在 B 细胞中稳定得多, mRNA 稳定性对于 mRNA 定位于膜结合多聚核糖体(membrane-bound polysomes)是必需的, 而在 B 细胞分化期间, 通过内质网的积聚, mRNA 稳定性增加。组蛋白基因 mRNA 通常在游离多聚核糖体上翻译, 当位于膜结合多聚核糖体上时就不被细胞周期调控了。

#### 5 其他

无义介导的 mRNA 降解(nonsense-mediated mRNA decay, NMD)在 mRNA 稳定性和基因表达调控方面发挥着至关重要的功能<sup>[20]</sup>。有文献报道<sup>[21]</sup>, NMD 在遗传病和癌症的病因中也起着重要的作用。与 NMD 有关的顺式作用元件包括: 提前终止密码子、下游序列元件、稳定作用元件等<sup>[22]</sup>。

#### 6 小结

mRNA 结构与 mRNA 稳定性密切相关, 而 mRNA 稳定性又直接或间接调控基因表达。通过对细胞内 mRNA 的结构及其稳定性的研究将有助于人们对基因表达的调控有一个更深入的了解。同时对 mRNA 结构及其稳定性的研究也将有助于人们在转基因工作中提高转基因的稳定性, 从而加强转基因产物的表达和生产。此外, mRNA 结构及 mRNA 稳定性与肿瘤发生发展也有一定的联系, 对于癌基因, 人们可以通过去除其 mRNA 结构中稳定信号, 增加不稳定信号, 使其稳定性降低, 使 mRNA 迅速降解, 从而达到抑制肿瘤生长或阻断肿瘤生成的目的。

#### 参考文献 (References)

- [1] Maret D et al. *J Thromb Haemost*, 2004, 2: 1969
- [2] Guhaniyogi J et al. *Gene*, 2001, 265: 11
- [3] Schwartz DC et al. *Mol Cell Biol*, 2000, 20: 7933
- [4] Seal R et al. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33: 376
- [5] Schwartz DC et al. *Mol Cell Biol*, 1999, 19: 5247
- [6] Misquitta CM et al. *Cell Calcium*, 2005, 37: 17
- [7] Naveh-Many T et al. *FEBS Lett*, 2002, 529: 60
- [8] Harris ME et al. *Mol Cell Biol*, 1991, 11: 2416
- [9] Levine BJ et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 6189
- [10] Caput D et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83: 1670
- [11] Alberta JA et al. *J Biol Chem*, 1994, 269: 4532
- [12] Koeller DM et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 7778
- [13] Scheper W et al. *Mol Cell Biol*, 1995, 7: 1024
- [14] Drapier D et al. *Plant J*, 2002, 31: 687
- [15] Schuringa JJ et al. *Cytokine*, 2001, 14: 78
- [16] Pachter JS et al. *Cell*, 1987, 51: 283
- [17] Anthonisen IL et al. *RNA*, 2001, 7: 1024
- [18] Peltz SW et al. *J Biol Chem*, 1987, 262: 9382
- [19] Steiger M et al. *RNA*, 2003, 9: 231
- [20] Couttet P et al. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32: 488
- [21] Ionov Y et al. *Oncogene*, 2004, 23: 639
- [22] Messenguy F et al. *Curr Genet*, 2002, 41: 224

## The Relationship between mRNA Structure and Its Stability

Gao-Fei Xiong<sup>1,2</sup>, Xiang-Yang Xiong<sup>2</sup>, Ji-Xiang Zhang<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Digestion, the Key Laboratory of Molecular Medicine, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China; <sup>2</sup>Department of Physiology, Department of Biochemistry, Basical Medical College, Nanchang University, Nanchang 330006, China)

**Abstract** mRNA structure is closely correlated with mRNA stability which is involved in the regulation of gene expression. To better understand the molecular mechanisms of gene expression, the relationship between mRNA structure, including 5' cap structure, 3' poly(A) tail, 5' untranslated region *et al.*, and mRNA stability was reviewed in this work.

**Key words** mRNA structure; mRNA stability; gene expression

---

Received: November 3, 2005      Accepted: April 13, 2006

This work is supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30360037, No.30160032)

\*Corresponding author. Tel: 86-791-6292706, E-mail: jixiangz@tom.com