

促进高免疫原性 B7-1(+)肿瘤细胞生长,这些结果提示了 B7-H1 对肿瘤免疫治疗的参考价值<sup>[18]</sup>。

除临床应用价值外,众多的 B7 分子及其受体对免疫学本身提出了一系列问题。例如,究竟有多少 B7 分子存在<sup>[19]</sup>? 为什么有如此多的 B7 分子? 目前,在 GENBANK 的 EST 中,与 B7-1 和 B7-2 有 20% 同源性的蛋白质分子还有很多,它们当中,哪些具有共刺激功能,还有待于筛查;人与其他动物 B7 分子的同源性鉴定,B7 分子基因的进化过程等均未明了;不同的 B7 分子有何种不同的功能,它们在整个免疫调节中的地位,不同信号途径之间的相互关系也需进一步研究。对以上问题的回答,不仅有利于免疫学基本原理的完善,对尽快使 B7 分子及其受体用于临床也有指导意义。

另外有实验显示,不同的第二信号分别引起 Th1 或 Th2 极化,而目前对调节性 T 细胞的划分,仅依据其细胞因子分泌格局进行功能性划分,如证明第二信号受配体配接与 Th1 或 Th2 极化之间存在关联,无疑会进一步明确 Th1 或 Th2 细胞亚群表面标志。这一点对基础研究和临床应用都有巨大价值<sup>[20]</sup>。

## 参 考 文 献

- [1] Bugeon L, et al., 2000, *Am J Respir Crit Care Med.*, **162**:S164-168.
- [2] Tamura H, 1999, *Nat Med.*, **5**:1345-1346.
- [3] Dong H, et al., 2001, *Blood*, **97**:1809-1816.
- [4] Finger LR, et al., 1997, *Gene*, **203**:253.
- [5] Vibhakkar R, et al., 1997, *Exp Cell Res.*, **232**:25-28.
- [6] Freeman GJ, et al., 2000, *J Exp Med.*, **192**:1027-1034.
- [7] Wang S, et al., 2000, *Blood*, **96**:2808-2813.
- [8] Brodie D, et al., 2000, *Curr Biol.*, **10**:333-336.
- [9] Khayyamian S, et al., 2002, *Proc Natl Acad Sci USA.*, **99**:6198-6203.
- [10] Nishimura H, et al., 2001, *Trends Immunol.*, **22**:265-268.
- [11] Yoshinaga SK, et al., 1999, *Nature*, **402**:827-832.
- [12] Swallow MM, et al., 1999, *Immunity*, **11**:423-432.
- [13] Kopf M, et al., 2000, *J Exp Med.*, **192**:53-61.
- [14] Bullens DM, et al., 2001, *Int Immunol.*, **13**:181-191.
- [15] Latchman Y, et al., 2001, *Nat Immunol.*, **2**:261-268.
- [16] Chapoval AI, et al., 2001, *Nat Immunol.*, **2**:269-274.
- [17] Linda Liang, et al., 2002, *Curr Opin Immunol.*, **14**:384-390.
- [18] Dong H, et al., 2002, *Nat Med.*, **8**:793-800.
- [19] Sinclair NR, et al., 1999, *Scand J Immunol.*, **50**:10-13.
- [20] Coyle AJ et al., 2001, *Nat Immunol.*, **2**:203-209.

## 赤霉素信号转导研究进展\*

袁高峰 汪俏梅\*\*

(浙江大学园艺系蔬菜研究所 杭州 310029)

**摘 要** 本文综述了 GA 信号转导的最新研究进展,包括 GA 信号转导途径中的正向和反向作用因子;GA 受体,G 蛋白和第二信使,GA 信号转导途径的模型,以及与其他信号转导途径的相互关系等。

赤霉素(Gibberellin,简称 GA)是广泛存在于植物界,并对植物的生长发育有着深刻影响的一类植物激素,具生物活性的 GA 影响植物发育的许多进程,如种子的萌发、叶片的扩展、茎的伸长、开花、性别分化及果实的发育等。由于 GA 种类多,结构复杂,其生物合成和代谢有多条途径,并受到多种内外因子的调控,因而其信号转导和作用机理的研究较难,近年来,在拟南芥和禾谷类等模式植物中的分子遗传学研究使 GA 信号转导取得较大进展,已分离到多个 GA 不敏感型突变体(GA-response mutants),并鉴定了多个 GA 信号转导途径的中间元件,GA 信号转导的模式也已基本建立。本文对近年来 GA 信号转导的研究进展加以综述。

### 一、GA 不敏感型突变体

对外源及内源 GA 或对 GA 抑制剂的反应发生了改变的突变体称为 GA 不敏感型突变体(GA-insensitive mutants),这一类突变体是研究 GA 信号接收、传递过程和机理的好材料。在拟南芥、水稻、豌豆、番茄、大麦、小麦、玉米等植物中都发现了一些 GA 不敏感型突变体,这些突变体一般根据其表型的不同而分为两类:一类是 GA 不敏感型矮化突变体,这类突变体的表现型与 GA 生物合成突变体相

\* 国家自然科学基金(No. 30000015)资助。

\*\* 通讯联系人。E-mail: qiaomeiw2002@yahoo.com

似,半矮化或者完全矮化,发芽率降低,叶片浓绿紧缩,开花延迟,花发育不正常,其中一些突变体是隐性的,如水稻的 *dwarf1* (*d1*) 突变体,拟南芥的 *pickle* (*pk1*) 突变体和 *sleepy1* (*sly1*) 突变体等;另一些突变体为半显性或显性,如拟南芥的 GA-不敏感型突变体 1 (*gai1*),玉米的 D8, D9 突变体和拟南芥的短节间 (*shi*) 突变体等<sup>[1]</sup>。另一类突变体为组成型 GA 不敏感型突变体 (constitutive GA insensitive mutants), 这类突变体植株的 GA<sub>1</sub> 含量只有正常对照的几分之一,但突变体表现出与 GA 过量处理过的野生型相似的表型,叶柄和茎变长,叶片颜色变浅,育性降低,且这些性状不受外加 GA 或 GA 抑制剂的影响。这类突变体很可能是由于这些基因在 GA 信号的吸收和传递过程中起着负调节的作用,基因突变后这种负调节作用被解除,从而表现出与野生型 GA 处理后的表型相似的表型。这类突变体包括拟南芥的 *spindly* (*spy*)、*rga* 突变体,豌豆的 *la:cry<sup>s</sup>* 突变体,大麦的 *sln* 突变体和水稻的 *slr1* 突变体等,这些突变体都是隐性的。

## 二、GA 反应途径的主要组分

通过对 GA 不敏感型突变体的遗传分析,已发现和鉴定了一些与 GA 信号转导相关的基因,根据它们在 GA 信号转导中是起正向调节或负调节作用而把它们分为正向作用因子 (positively acting components) 和反向作用因子 (negatively acting components)。

### 1. 正向作用因子

(1) DWARF1: 水稻 *dwarf1* (*d1*) 突变体的糊粉层细胞中, GA 诱导的  $\alpha$ -淀粉酶基因表达受到抑制<sup>[2]</sup>, 近年来已克隆到 DWARF1 (*D1*) 基因, 并发现它是编码异三聚体 G 蛋白  $\alpha$ -亚基的唯一基因<sup>[3]</sup>, 这验证了以前的药理学研究的结果, 即 G 蛋白参与 GA 的信号转导<sup>[4]</sup>。 *d1* 突变体表型为半矮化、叶片浓绿, 与 GA 缺失型突变体相似; 而 *d1*, *slr1* 双突变体则表现为 *slr1* 突变体细长的表型, 这表明 SLR1 在 *D1* 的下游起作用<sup>[5]</sup>。 与水稻一样, 拟南芥中也仅有一个编码 G 蛋白  $\alpha$  亚基的基因, 但是 G 蛋白  $\alpha$  亚基功能丧失型突变体 (loss-of-function mutation) 的表型却为不矮化<sup>[6,7]</sup>, 所以 G 蛋白  $\alpha$  亚基在 GA 反应中的作用似乎因种类而异。

(2) PHOR1: 短日照条件下生长的马铃薯叶片中, PHOR1 (PHOTOPERIOD RESPONSIVE 1) 的 mRNA 水平提高<sup>[8]</sup>。反义抑制 PHOR1 基因的表

达引起表型的半矮化, 其对 GA 的响应能力降低, 而内源 GA 水平则提高; 过量表达 PHOR1 引起植株过量生长, 且对外源 GA 的响应能力提高。在烟草 BY2 细胞中, GA 处理后, PHOR1:GTP 融合蛋白定位于核内, 而 GA 生物合成抑制剂使之定位于胞质溶胶中。缺失突变分析鉴定了两个对 GA 调节 PHOR1 蛋白定位起重要作用的区域, 其中一个区域是保守的半胱氨酸-脯氨酸-异亮氨酸基序 (CPI), CPI 缺失引起 PHOR1:GTP 融合蛋白组成型地定位于核内, 表明 CPI 是 PHOR1 的胞质溶胶定位信号, 但其作用可以被 GA 所抑制。另一个与 PHOR1 蛋白定位有关的区域是 armadillo 重复序列, armadillo 重复序列是最早在果蝇中发现的一种 42 个氨基酸的多拷贝序列, 在其他生物中也存在, 具有核定位的功能。PHOR1 含有七个 armadillo 重复序列, 缺失实验证明这些 armadillo 重复序列是 PHOR1 的核定位信号, 但其核定位功能可为 CPI 所逆转, 据此可以推测出 PHOR1 发挥作用的模式, 当 GA 信号不存在时, CPI 使 PHOR1 保持在胞质溶胶中, 这时 PHOR1 处于非活性状态; 当 GA 信号转导时, CPI 受到抑制, armadillo 重复序列使 PHOR1 定位到核内, 从而促进 GA 反应中的正向作用因子基因的转录。

(3) PICKLE: *pickle* (*pk1*) 突变体的表现型为半矮化, 与 GA 缺失型突变体相似, 但外源 GA 处理不能使矮化茎延长, 表明 PKL 参与 GA 的信号转导<sup>[9,10]</sup>。另外, *pk1* 突变体种子发芽后, 初生根顶端膨胀保留有胚根的特征, 这是其他 GA 缺失型突变体和 GA 不敏感型突变体所没有的, 初生根的这种表型并不完全外显, GA 处理后外显率 (penetrance) 降低, GA 生物合成抑制剂烯效唑 (uniconazole) 处理后外显率提高, 因此认为 PKL 调节发芽过程中 GA 诱导的根分化<sup>[10]</sup>。迄今为止, PKL 在 GA 信号转导中的作用还不清楚, 由于拟南芥中的 PKL 蛋白包含 CH3 染色质重组因子 (chromatin-remodeling factors) 中的特征型功能域<sup>[11]</sup>, 而己知 CH3 蛋白参与构成的复合体具有抑制转录的组蛋白脱乙酰酶活性, 因而对 CH3 染色质重组因子的进一步研究, 可望为揭示 PKL 在 GA 反应途径中的作用机制提供有用的信息。

(4) MYB 转录因子: GAMYB 是 GA 诱导的 MYB 转录因子, 它能使大麦  $\alpha$ -淀粉酶基因启动子活化, 在拟南芥中分离到三个与大麦糊粉细胞起类似功能的 GAMYB 蛋白, 其中的 AtMYB33 可能与 GA

诱导植株开花的生理功能有关<sup>[12]</sup>。

(5) *SLEEPY1*: 隐性的 *sly1* 突变体作为 *abi-1* 突变体(半显性的 ABA 非敏感性突变体)的抑制因子而分离出来,其表型与 GA 缺失型突变体相似,但外源 GA 不能使它逆转,这表明 *SLY* 蛋白是 GA 反应所需的<sup>[13]</sup>,但其功能尚待进一步确定。

## 2. 反向作用因子

(1) RGA/GAI 蛋白: 从拟南芥、大麦、玉米、水稻、小麦等植物中都筛选到 RGA/GAI 蛋白发生变化的 GA 不敏感型突变体,这些突变体可分为两类,一类是在拟南芥、玉米、大麦、小麦中引起矮化的半显性突变体,如拟南芥的 *gai1* 突变体,玉米的 D8 突变体等,另一类是在拟南芥、大麦、水稻中表型为过度生长的隐性功能丧失型突变体,如拟南芥 *rga* 突变体,大麦 *sln* 突变体,水稻 *slr1* 突变体等。

对拟南芥 RGA 基因的克隆和进一步研究表明,RGA 蛋白很有可能是转录调节因子,它抑制 GA 的信号转导<sup>[14]</sup>。RGA 蛋白定位于核内,GA 处理后 RGA 蛋白迅速降解<sup>[15]</sup>。拟南芥 *gai1* 突变体对 GA 的响应能力减弱,而植株内生物活性的 GA 含量升高,表明 RGA/GAI 蛋白参与 GA 生物合成的反馈调节<sup>[16]</sup>。GAI 和 RGA 基因有 82% 的序列相同,它们属于植物特异性 GRAS 调节蛋白基因家族<sup>[15]</sup>。已知的与 GA 信号转导有关的 GRAS 基因都含有一个酸性的氮末端——DELLA 区域,DELLA 区域中 17 个氨基酸的缺失即能产生矮化的表型,如拟南芥的 RGA 基因和水稻的 *SLR1* 基因在 DELLA 区域的缺失均能产生半矮化的表型,因此 DELLA 区域对 RGA/GAI 蛋白的活性很重要<sup>[17]</sup>。此外,RGA/GAI 蛋白都含有七个丝氨酸-苏氨酸-亮氨酸重复序列和假定的核酸定位序列(NLSs)<sup>[15,18]</sup>。RGA/GAI 蛋白的结构特征和核定位功能表明它们是转录调节因子。研究发现,当水稻的 *SLR1* 在菠菜中表达时,对其转录有影响<sup>[19]</sup>。

(2) *SPY*: *spindly* (*spy*) 突变体是一种 GA 组成型不敏感型突变体,其表型与 GA 过量处理过的野生型的表型相似<sup>[20]</sup>,在拟南芥和矮牵牛中 *SPY* 的过量表达产生与 GA 活性降低相应的表型,表明 *SPY* 是 GA 信号转导的反向调节因子。已经分离到 *SPY* 基因<sup>[20]</sup>,并在大麦中分离到同源基因 *HvSPY*<sup>[21]</sup>。大麦糊粉细胞原生质体中,*HvSPY* 的瞬间表达能够抑制 GA 诱导的  $\alpha$ -淀粉酶基因的表达,这进一步证明 *SPY* 和 *HvSPY* 是 GA 信号转导的抑制因子。*SPY* 及其大麦同源物(*HvSPY*)的序

列分析表明,*SPY* 与老鼠和人的 Ser/Thr 氧联 N-乙酰氨基葡萄糖转移酶(UDP-GlcNAc protein transferase, 简称 OGT) 基因具有很高的同源性<sup>[22]</sup>。OGTs 通过 Ser/Thr 残基的糖基化来修饰目的蛋白,以调节蛋白质的活性,而且 OGT 的作用区域一般是典型的富含 Ser/Thr 的区域,其作用位点是在脯氨酸,缬氨酸或者酸性氨基酸残基附近,由于 RGA/GAI 蛋白的氮末端都包含这样的序列,所以推测 RGA/GAI 蛋白可能是 *SPY* 的靶蛋白,它们经 *SPY* 的 N-乙酰氨基葡萄糖基化修饰后活化,但目前这种推测尚需进一步的实验来验证。

(3) *SHI*: *shi* (*short internodes*) 突变体是从转座子活化标记的突变群体中分离到的,其表型为半矮化<sup>[23]</sup>。*SHI* 基因在还没有快速伸长的幼嫩器官中表达,说明它可防止幼嫩器官对 GA 发生响应而启动伸长生长<sup>[24]</sup>。*SHI* 在大麦糊粉细胞中的表达能使 GA 诱导的  $\alpha$ -淀粉酶的表达受抑制,预示其反向调节 GA 反应<sup>[24]</sup>。*SHI* 蛋白含环状的锌指区基序(zinc finger motif),一般认为,锌指区能调节蛋白质水解或转录调控过程中的蛋白质相互作用,但 *SHI* 在 GA 信号转导中的确切功能尚待确定。

## 三、GA 信号转导途径

尽管迄今为止还没有发现确定的 GA 受体,但可以断定,GA 存在膜受体,随着越来越多的 GA 信号转导中间组分的鉴定,GA 信号转导途径的模式图已基本形成。

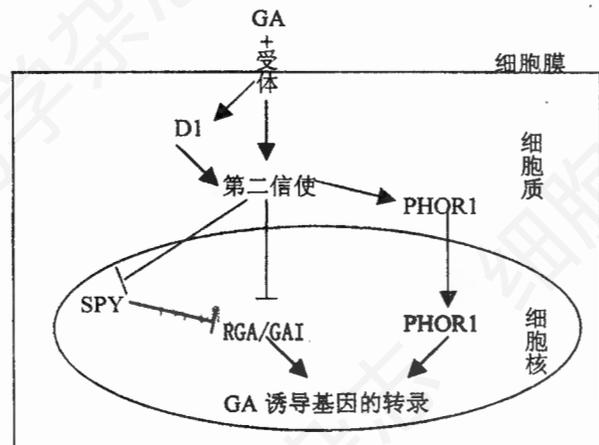


图1 GA 信号转导途径模型

### 1. GA 受体

关于 GA 受体和 GA 诱导基因的研究主要集中在禾谷类糊粉层系统。 $\alpha$ -淀粉酶是糊粉层中 GA 所诱导的含量最丰富的酶,因此, $\alpha$ -淀粉酶基因的表达

分析常被用作检测植物组织中 GA 的响应状态。大量研究表明,GA 存在膜受体,如 Hooley 等用固定在葡聚糖颗粒上的 GA 培养燕麦糊粉细胞原生质体和完整细胞,GA 虽无法进入细胞,但发现在原生质体中有高水平的  $\alpha$ -淀粉酶被诱导,并且这种诱导作用与剂量相关,而在完整细胞中  $\alpha$ -淀粉酶却不能被诱导,表明 GA 信号是在膜上被感知的。Gilroy 等用显微注射法将 GA 注入大麦糊粉细胞原生质体内,发现并不影响  $\alpha$ -淀粉酶的含量,而胞外施用 GA 则促进了  $\alpha$ -淀粉酶的合成与分泌,进一步证实了 GA 在膜上和受体结合后,把信号传递下去。近年来,随着蛋白质分析与纯化技术的发展,已分离到一些与 GA 特异性结合的膜蛋白,如使用光亲和标记技术原位探测野生燕麦糊粉层,发现糊粉细胞膜上存在与 GA 特异性结合的膜蛋白<sup>[25]</sup>,在甜花生叶肉组织中也发现了类似的 GA 膜结合蛋白,但到目前为止,GA 的膜受体还没有被鉴定。今后,GA 结合蛋白的分离及功能分析将是 GA 受体研究的主要内容,而 GA 不敏感型突变体的筛选,也将为克隆 GA 受体基因提供有用的材料。

## 2. 第二信使(second messages)和 G 蛋白

禾谷类糊粉层系统不仅被用于研究 GA 信号感知,而且还被用作研究 GA 信号转导中的第二信使,研究表明,异三聚体 G 蛋白、cGMP、 $\text{Ca}^{2+}$ 、钙调素(CaM)和蛋白激酶等都可能是在 GA 信号转导途径中的第二信使。与 G 蛋白偶联的跨膜受体相互作用的异三聚体 G 蛋白被认为是 GA 信号转导途径的重要组分。Wang 等人最先证实了糊粉细胞质膜上存在 GTP 结合蛋白,并推测大麦糊粉细胞质膜上可能含有结构上类似于异三聚体 G 蛋白的蛋白<sup>[26]</sup>。之后,在燕麦糊粉细胞中克隆到与其他植物中编码 G 蛋白  $\alpha$  亚基和  $\beta$  亚基的 cDNA 高度同源的基因。药理学实验表明,G 蛋白的激活剂可以模拟 GA 诱导的  $\alpha$ -淀粉酶基因表达和  $\alpha$ -淀粉酶分泌的效应,G 蛋白作用的抑制剂则能消除 GA 诱导的  $\alpha$ -淀粉酶启动子报告基因 GUS 基因的表达<sup>[4]</sup>。GA<sub>3</sub> 处理水稻 *dl* 突变体的糊粉细胞后,突变体植株内  $\alpha$ -淀粉酶基因和 GAMYB 基因的表达比野生型要低得多,但增加外施 GA<sub>3</sub> 的浓度, $\alpha$ -淀粉酶的活性又可以恢复到与野生型相同的水平,据此可以推测 G 蛋白的  $\alpha$  亚基参与了 GA 诱导  $\alpha$ -淀粉酶的信号转导过程,但可能同时存在另一种不通过 G 蛋白  $\alpha$  亚基,而敏感性较低的信号转导途径<sup>[5]</sup>。这些研究表明,异三聚体 G 蛋白很有可能在 GA 信号转导中起作用。由于 GA

处理大麦糊粉原生质体后,细胞质中 cGMP、 $\text{Ca}^{2+}$ 、钙调素(CaM)浓度提高,微注射实验也表明 cGMP 调节 GA 诱导的  $\alpha$ -淀粉酶基因的表达和酶的分泌,而  $\text{Ca}^{2+}$  和含 CaM-结构域的蛋白只调节  $\alpha$ -淀粉酶的分泌<sup>[27]</sup>。因此 cGMP、 $\text{Ca}^{2+}$  和 CaM 等也可能是 GA 信号转导途径中的第二信使。

## 3. GA 信号转导模式

具生物活性的 GA 与膜上受体结合后,直接或间接地激活第二信使和 G 蛋白(D1),并使 PHOR1 定位到核内,同时引起核内 RGA/GAI 的快速降解。在核中,GA 信号可能通过抑制 SPY 的活性,提高 RGA/GAI 的磷酸化,或者激活与 OGT 特异性作用的 N-乙酰半乳糖胺酶而使 RGA/GAI 失活。RGA/GAI、PHOR1 以及其他转录因子能调节特定基因的转录(图 1)。

## 四、与其他信号转导途径的相互关系

除了 GAMYB 外,糊粉细胞的早期 GA 反应还包括胞质  $\text{Ca}^{2+}$ 、钙调素和定位于内质网(ER-localized)上的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶的增加,这些变化表明了糊粉细胞中的  $\text{Ca}^{2+}$  信号转导在调节 GA 反应中的重要性。 $\text{Ca}^{2+}$ /钙调素信号传递的靶位点是一种定位于内质网的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶,这种  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶可以为含  $\text{Ca}^{2+}$  的金属酶(如  $\alpha$ -淀粉酶)的合成与分泌提供  $\text{Ca}^{2+}$ 。

糊粉细胞中许多 GA 反应被 ABA 所抑制。近来的研究发现了这两条信号转导途径在糊粉细胞中是怎样互作而调节基因表达的。大麦 *sln1* 突变体糊粉细胞中  $\alpha$ -淀粉酶表达受 ABA 抑制,这表明 ABA 信号转导在 SLN1 的下游起作用<sup>[28]</sup>,这与 GA 所激活的 SLN1 的降解不受 ABA 的抑制是相一致的<sup>[29]</sup>。Gubler 等也报道,ABA 阻止 GA 诱导的 GAMYB 转录水平的提高<sup>[29]</sup>,而蛋白激酶 PKABA1 可能在 ABA 抑制 GAMYB 转录中起作用<sup>[28]</sup>。所以,ABA 很有可能在 SLN1 和 GAMYB 之间阻断 GA 反应。也有证据表明, $\text{Ca}^{2+}$  信号可能是 ABA 信号转导的靶位点,因为 GA 诱导的胞质  $\text{Ca}^{2+}$  水平的提高受 ABA 抑制。

## 五、结束语

虽然 GA 信号转导研究在近年来取得突破性进展,但其信号转导途径还不完全清楚,还有一些中间组分有待确定。今后一方面需要通过筛选突变体,分离更多的 GA 不敏感型突变体,并克隆相应的基

因,分析其功能;另一方面,可利用研究蛋白质相互作用的方法,如酵母双杂交(yeast two hybrid)等,从已知的上游组分寻找与之相互作用的下游元件。当更多的 GA 信号转导组分被确定之后,还需要系统的基因间相互作用分析、生物化学、细胞生物学等研究来确定这些组分在 GA 信号转导中的功能;同时,一些新技术如原位杂交技术、免疫染色技术、基因芯片技术等的应用和新兴的基因组学和蛋白组学的发展都将进一步推进 GA 信号转导研究。

在植物细胞中不同的信号相互交错,呈现网络状,因此不同信号转导途径之间的相互联系(cross talking)的研究是信号转导领域的研究热点。已知 GA 的合成和代谢受到光质和光周期的控制,但光信号和 GA 信号转导之间的相互联系还不清楚。关于 GA 信号转导和 ABA 信号转导之间的相互联系已有一些报道,但 GA 信号与其他几种植物激素信号转导之间的相互联系还未见报道,今后,需要进一步研究 GA 信号和光信号及其他植物激素信号转导之间的相关性,以最终揭示 GA 在植物生长和发育中的作用机理。

### 参 考 文 献

- [1] Yamaguchi S et al., 2000, *Plant Cell Physiol*, **41**: 251 - 257.
- [2] Mitsunaga S et al., 1994, *Theor Appl Genet*, **87**: 705 - 712.
- [3] Ashikari M et al., 1999, *Proc Natl Acad Sci USA*, **96**: 10284 - 10289.
- [4] Jones H D et al., 1998, *Plant Cell*, **10**: 245 - 253.
- [5] Ueguchi-Tanaka, M et al., 2000, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**: 11638 - 11643.
- [6] Ullah, H et al., 2001, *Science*, **292**: 2066 - 2069.
- [7] Wang, X. Q et al., 2001, *Science*, **292**: 2070 - 2072.
- [8] Amador, V et al., 2001, *Cell*, **106**: 343 - 354.
- [9] Ogas, J et al., 1997, *Science*, **277**: 91 - 94.
- [10] Ogas, J et al., 1999, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**: 13839 - 13844.
- [11] Fujisawa Y et al., 1999, *Acad Sci USA*, **96**: 7575 - 7580.
- [12] Gocal, G. F. W et al., 2001, *Plant Physiol.* **127**: 1682 - 1693.
- [13] Steber CM et al., 1998, *Genetics*, **149**: 509 - 521.
- [14] Silverstone AL et al., 1998, *Plant Cell*, **10**: 155 - 169.
- [15] Talon, M et al., 1990, *Planta*, **182**: 501 - 505.
- [16] Silverstone AL., 1997, *Genetics*, **146**: 1087 - 1099.
- [17] Harberd N P et al., 1998, *Biossays*, **20**: 1001 - 1008.
- [18] Peng J et al., 1997, *Genes Dev*, **11**: 3194 - 3205.
- [19] Ogawa, M et al., 2000, *Gene*, **245**: 21 - 29.
- [20] Jacobsen SE et al., 1996, *Proc Natl Acad Sci USA*, **93**: 9292 - 9296.
- [21] Robertson M et al., 1998, *Plant Cell*, **10**: 995 - 1007.
- [22] Kreppel L et al., 1997, *J Biol Chem*, **272**: 9308 - 9315.
- [23] Fridborg, I et al., 1999, *Plant Cell*, **11**: 1019 - 1031.
- [24] Fridborg, I et al., 2001, *Plant Physiol*, **127**: 937 - 948.
- [25] Wlaker R P et al., 1994, *Plant Growth Regulation*, **12**: 1 - 9.
- [26] Wang M et al., 1993, *FEBS Letters*, **329**: 243 - 246.
- [27] Ritchie S et al., 1998, *Plant Physiol.*, **116**: 765 - 776.
- [28] Gomez-Cadenas et al., 2001, *Plant Cell*, **13**: 667 - 679.
- [29] Gubler, F et al., 2002, *Plant Physiol.*, **129**: 191 - 200.

## 研究工作

# 特异性下调 GRP94 对人大肠癌细胞生物学特性的影响

陈 瑶 陈誉华 宋今丹\*

(卫生部细胞生物学重点实验室 中国医科大学发育生物学研究室 沈阳 110001)

**摘 要** 为观察 GRP94 对培养的人大肠癌细胞系 CCL229 生物学特性的影响,将特异性裂解 GRP94 mRNA 翻译起始区的核酶,用脂质体介导的转染方法导入培养的 CCL229 细胞中。在确定获得稳定转染株后,我们检测了细胞生物学特性的变化。结果为:(1)转染 GRP94 核酶的细胞在 A23187 诱导 16h 后,细胞生长率显著降低。(2)核酶表达细胞诱导后的聚集能力明显下降。(3)核酶表达细胞在 A23187 诱导后,停滞在  $G_0/G_1$  期的比例明显升高。结论为 GRP94 与应激的大肠癌细胞的生长和侵袭能力密切相关;特异性下调 GRP94 能改变人大肠癌细胞系 CCL229 的一些生物学特性。实验结果为深入研究 GRP94 与肿瘤细胞发生、发展和转移的关系奠定了基础,在癌症的基因治疗上将具有一定意义。

本文 2002 年 9 月 12 日收到,2003 年 1 月 18 日接受。  
本研究受国家自然科学基金资助(项目编号 39780009)。

\*联系人。E-mail: jdsong@mail.cmu.edu.cn