

# 前体 mRNA 剪接及剪接调节因子 SR 蛋白和 Tra2 蛋白

陈献华 林万敏 徐平

(复旦大学生命科学学院基因生理学研究室 复旦大学立人实验室 上海 200433)

在真核生物中,从 DNA 转录而来的“前体 mRNA”(pre-mRNAs)中的蛋白质肽链编码区域(外显子)通常被多个非编码的插入序列(内含子)所分隔,这些前体 mRNA 需要经过一系列的加工过程才能形成成熟的 mRNA,包括 5'末端的加帽(加上 m<sup>7</sup>-Gppp),内含子的切除,相邻外显子的连接,以及在 3'末端多聚腺苷酸化。在真核生物中,平均每个细胞基因包含约 8 个内含子,前体 mRNA 的长度通常为成熟 mRNA 的 4-10 倍,绝大多数部分在加工过程中被切除。这一切除内含子并将相邻的外显子拼接起来的过程即为前体 mRNA 的剪接(pre-mRNA splicing)。

## 一、前体 mRNA 剪接位点的基本序列特征

研究证明,哺乳动物前体 mRNA 的剪接位点及其附近的核苷酸通常具有较强的保守特征(图 1(a))<sup>[1,2]</sup>。如:内含子的 5'剪接位点(5' Splicing Site, 5'SS)符合通用序列 AG|GURAGU(竖线指示剪接位置,R 为嘌呤核苷酸,下同),内含子的 3'剪接位点(3'SS)通常为 YAG,在该位点前面是一个嘧啶富含区(polypyrimidine tract, PPT, 含 10-20 个嘧啶核苷酸),在 3'剪接位点的上游 18-40 个核苷酸的位置有一个分枝位点(branch point, 又名 lariat site),其核苷酸序列通常为 YNYURAY(A 为分枝位点,Y 表示嘧啶核苷酸,N 表示任意核苷酸)。这些保守序列通常便是 pre-mRNA 剪接过程中各种剪接调节因子结合和作用的位点,它们的存在是对前体 mRNA 进行准确和有效剪接的重要前提之一。

## 二、组成性剪接和选择性剪接

前体 mRNA 的剪接有两种互相关联的机制:组成性剪接(constitutive splicing)和选择性剪接(alternative splicing, 或称调节性剪接, regulated splicing)。

高等真核生物中,绝大多数基因的前体 mRNA 中的内含子-外显子边界均与上述通用序列非常吻

合,这些区域与核内小核糖体蛋白颗粒(small nuclear ribonucleoprotein particles, snRNPs)以及其他的一些基本的剪接因子具有高度亲和能力,因而,在转录了这些前体 mRNA 的细胞中,这些通用序列附近的剪接位点通常能得到准确和有效的利用,这种剪接方式称为组成性剪接。在组成性剪接中,剪接位点的利用不因细胞种类不同、发育阶段不同或环境的变化而改变,其结果是,无论在何种类型的细胞、何种发育阶段,该基因转录产物经过组成性剪接就只能形成同一种成熟的 mRNA,进而编码相同的一条蛋白质链<sup>[3]</sup>。

而选择性剪接则不同,它可通过对某个剪接位点的利用与否来决定某一个内含子或外显子的切除或保留,从而将同一种前体 mRNA 剪接成多种不同的成熟 mRNA,进而形成多个可能具有不同生理学功能的蛋白质。被选择性剪接的基因通常含有一个或多个毗邻一些弱剪接位点(weak splice site)的外显子,由于这些弱剪接位点的核苷酸序列与通用序列有很大差异,它们与 snRNPs 的亲合能力相对较弱,所以,它们的识别需要依赖于一些组织特异性的因子的帮助。就是说,这些外显子在成熟 mRNA 中的“去”或“留”依赖于特殊的细胞类型、发育阶段、生理阶段以及分化阶段中的一系列的活性因子。此外,选择性剪接并不总是表现在某个外显子在成熟 mRNA 中的完全的除去或保留,有些情况下,在一个外显子的同一侧存在两个或两个以上的可供选择的剪接位点,其中有些位点功能较弱,仅仅在少数数的细胞类型或生物学状态下才被利用,称为隐蔽(cryptic)位点<sup>[4]</sup>。在这种情况下,前体 mRNA 中的外显子或内含子有可能被部分切除或保留。

因此,尽管在高等真核生物中,经过选择性剪接的基因仅占 5%,但由于选择性剪接的多样性和可变性,使这些基因的编码容量大大增加,并由此产生了显著的生物学效果。例如:鸟类 K 通道蛋白基因(cSlo)中多个可变剪接位点经不同剪接方式的组合后,至少可能编码 576 种蛋白亚型。在鸟内耳中,这种 cSlo 基因剪接方式的差别使不同的感觉受体细

胞中该蛋白不同亚型的表达存在明显差异,从而使内耳中 10,000 个不同的感觉受体细胞能分别感受不同频率的声音<sup>[5]</sup>。又如果蝇的 *dsx*(double sex) 基因的雌性特异性的剪接引起了决定雌性性状的一系列的蛋白质的形成<sup>[3]</sup>。此外,选择性剪接还可能通过引入前体 mRNA 中的终止密码子来调控基因表达的开关<sup>[4]</sup>。

总之,已发现了选择性剪接方式与生物体的许多正常生理现象,如细胞分化、生物体发育、性别决定等以及一些疾病发生都有着密切的联系。近十年来,对选择性剪接的发生和调节机制的研究已形成一大颇有重要成果领域。

### 三、前体 mRNA 的剪接机制 ——剪接小体的组装

高等生物中,一些其他的前体 RNA(如 pre-tRNA)通过自我剪接方式进行剪接(如:Group I, Group II 剪接)。而前体 mRNA 与之不同,它的剪接需要依赖一个称为剪接小体(spliceosome)的大分子复合体的作用才能完成。其剪接反应过程与 Group II 类似,即:经过先后两步转酯反应,前体 mRNA 中的内含子被切除并形成套环(lariat)结构,而相邻的外显子被连接起来<sup>[3,6]</sup>。

剪接小体由 U1, U2, U4/U6 和 U5 等至少 5 种 snRNP 和若干非 snRNP 剪接调节因子(包括 SR 蛋白、SR 相关蛋白(Tra、Tra2、U2AF 蛋白等)在前体 mRNA 上组装而成,依据目前的共识,其组装过程大致如下<sup>[2,3]</sup>[参见图 1(b)]:

首先,前体 mRNA 新转录后,其剪接位点立即被多种 hnRNPs、帽结合复合物(CBC)和剪接因子(U1 snRNP, SF1, U2AF) 等所结合(其中, U1 snRNP 结合到 5' 剪接位点;SF1(splicing factor 1, 又名 BBP, branch point binding protein)结合在分枝位点;U2 snRNP 的辅助因子 U2AF(U2 Auxiliary Factor)的两个亚基——65kDa 和 35kDa 亚基分别识别 PPT 位点和 3' 剪接位点的 AG);继后,在“桥梁分子”——SR 蛋白(SRp)的作用下,将结合在 5' 剪接位点的 U1 snRNP 和结合在 3' 剪接位点的 SF1/U2AF 靠近到一起,形成早期的剪接小体复合物(early spliceosomal complex, commitment complex);然后, U2 snRNP 结合在分枝位点,在 ATP 水解的作用下,形成前剪接小体复合物(pre-spliceosome complex)。在以上两种复合物中,均包括连接 5' 和

3' 剪接位点的蛋白-蛋白相互作用,如图中所示,这些相互作用可能发生在将被剪去的内含子两侧[如图 1(b)左],或者,也可能开始于外显子的两侧[如图 1(b)右]。在跨内含子的复合体(complexes across intron)形成的过程中,SR 蛋白可通过辅助 U1 snRNP 和 U2AF 的结合来促进早期剪接复合体的组装,它们可能形成 5' 和 3' 剪接位点之间的“桥梁”;另一种可能的跨内含子桥梁相互作用可能是在 SF1/BBP 和 U1 snRNP 之间。而在外显子决定的复合体(exon definition complex)中,SR 蛋白则结合在外显子的剪接增强子(exonic splicing enhancer, ESE)上。

在前剪接小体复合物的基础上,通过 U5 和 U4/U6 snRNP 的进一步结合,形成跨内含子的成熟的剪接小体。最后,被剪接的 mRNA 从剪接小体上释放出来,它所结合的 hnRNP 组分还会变化,以利于 mRNA 在细胞核和细胞质间的运输。

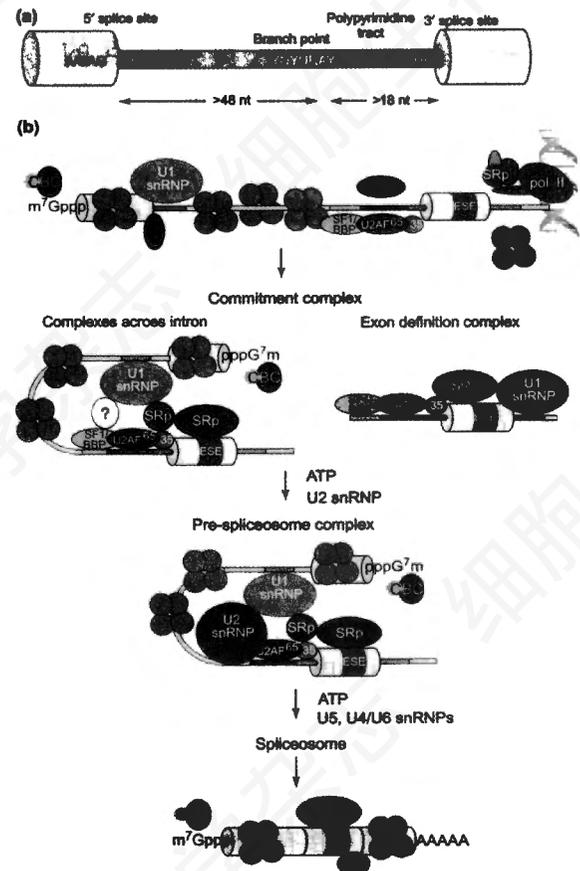


图 1 前体 mRNA 剪接位点序列特征和剪接复合体在剪接位点附近的组装过程示意图<sup>[2]</sup>

a. 典型的后生动物的内含子通用剪接位点序列特征(Y. 嘧啶;R. 嘌呤;N. 任意碱基)。

b. 剪接复合体在剪接位点附近的组装过程示意图。

#### 四、前体 mRNA 剪接的调节因子 ——SR 蛋白和 SR 相关蛋白

从上述简介中已可知,在高等真核生物中,参与前体 mRNA 剪接调节的因子众多,如:snRNPs, hnRNps, SR 蛋白, SR 相关蛋白等,调节机制也很复杂。这里仅就其中的两种——SR 蛋白和 SR 相关蛋白(主要是 Tra2 蛋白)的功能及研究近况进行简单介绍。

##### (一) SR 蛋白

SR 蛋白是高等真核生物中的一族高度保守的、在基础性和选择性剪接中均为必需的前体 mRNA 剪接因子,目前已知的至少有 10 种,如:ASF/SF2, SC35, SRp20, SRp30c, SRp40, SRp55, SRp75, 9G8 等,分子量为 20 - 75kDa。其中所有成员均包含至少一个 N-末端 RNA 识别序列(RNA recognition motif, RRM, 或 RNA binding domain, RBD)和一个 C-末端的精氨酸(R)和丝氨酸(S)富含区域(RS 区域),该区域由交替排列的精氨酸和丝氨酸组成,故此得名(图 2)。SR 家族的所有成员具有一个相同的功能,即每一个 SR 蛋白均可以和剪接缺陷的细胞质提取物 S100 互补(S100 中包含了除 SR 蛋白以外的其他所有组成性剪接必需因子),从而可在体外(in vitro)剪接实验中剪接前体 mRNA<sup>[9,10]</sup>。

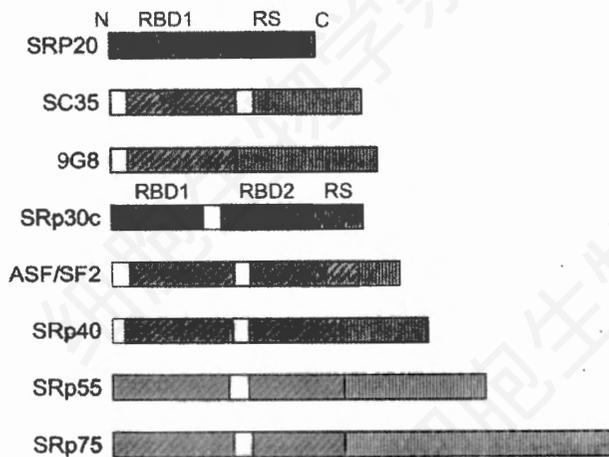


图 2 SR 蛋白家族的成员均包含 N 末端的 1-2 个 RBD 区域(斜线框)和 C 末端的具有不同长度和序列组成的 RS 区域(竖线框)<sup>[8]</sup>

在 SR 蛋白的作用机制的研究方面,目前了解可大致概括为:SR 蛋白通过其 N-末端的 RBD 介导而与前体 mRNA 之间产生特异性结合,而其 C 末端的 RS 区域则通过蛋白质-蛋白质相互作用与

SR 蛋白或其他剪接因子(如:snRNPs, U2AF 35kDa 亚基等)结合,从而将剪接因子聚集到前体 mRNA 的剪接位点附近,以便对前体 mRNA 进行剪接。关于 SR 蛋白在选择性剪接中对剪接位点的调控,主要是通过与其上游附近的 ESE 或 ESS 结合来增强或减弱对其上游附近 3' 或 5' 弱剪接位点的识别和利用<sup>[9,11,12]</sup>。

早期的研究发现,SR 蛋白各成员之间存在功能上的冗余(redundant),但随后越来越多的研究表明,每一个 SR 蛋白应该至少存在一些其他 SR 蛋白无法取代的功能。由此,人们便开始了大量的有关 SR 蛋白的功能特异性的研究。

1. 决定 SR 蛋白和 mRNA 序列结合的特异性区域——RBD 区域 首先关注 SR 蛋白的 RNA 结合特异性方面的研究。在该研究中,SELEX(systematic evolution of ligands by exponential enrichment)分析方法<sup>[13]</sup>得到了广泛的应用。该方法利用直接检测蛋白质与 RNA 的相互作用的手段,从具有随机序列的 RNA“池”(RNA pool)中筛选出 SR 蛋白的高亲和力序列。利用这一方法,人们对很多种 SR 蛋白进行了研究,包括人 ASF/SF2, SC35, SRp20, 9G8<sup>[14,15]</sup> 以及果蝇中的 RBP1<sup>[16]</sup> 和 B52/SRp55<sup>[17]</sup>。如:由 SELEX 方法筛选出一个与 ASF/SF2 蛋白具有高亲和力的 RNA 序列,该序列与已经确定存在于前体 mRNA 中的很多富含嘌呤的 ESE 非常一致,提示 ASF/SF2 在激活天然的富含嘌呤的 ESE 中起重要作用<sup>[14]</sup>。此外,若将与 ASF/SF2 具有高亲和力的 RNA 序列进行 3 拷贝(3 copies),则其具有激活 ASF/SF2 对其上游的 3' 弱剪接位点的识别和利用的功能(即:具有 ASF/SF2 的 ESE 的功能)。对 SC35 的相关研究也发现了它的两个高亲和 RNA 序列,一个富含嘌呤、一个富含嘧啶。体外实验证明,两者均能特异性地激活 SC35 的选择性剪接调节作用<sup>[18]</sup>。实际上,一系列的研究也证明了 SR 蛋白对 ESE 的特异性识别是选择性剪接中决定剪接位点选择的重要因素。

既然 SR 蛋白已被确定为序列特异性的 RNA 结合蛋白,那么,其特异性是如何决定的? 对此,已有众多研究。虽然各个实验的设计不同,但大多利用了一种共同的手段,即利用产生基因位点突变或缺失来进行研究。研究证明,去掉 RS 区域的 SR 蛋白同样可以启动对特异性剪接位点的识别,但没有剪接功能;将在 SRp20 蛋白的前体 mRNA 的剪接中识别不同剪接位点的两种 SR 蛋白(ASF/SF2 和

SRp20)的RS区域相互替换后,并不影响其各自的剪接位点的识别<sup>[19]</sup>,但ASF/SF2的2个RBD中的一个发生变化,却会影响其在剪接中的特异性作用。显然,在SR蛋白中,RBD区域是决定剪接位点选择特异性的关键因素,它在选择性剪接中起着重要的调节作用,而RS区域似乎与此无关。

2. RS区域的功能 那么,SR蛋白中,RS区域的作用是什么?这一问题引起了人们很大的兴趣。研究表明,RS区域的功能主要是介导蛋白质-蛋白质的相互作用,即通过蛋白质-蛋白质相互作用来与SR蛋白或其他剪接调节蛋白结合,从而将剪接因子聚集到前体mRNA的剪接位点附近,并对前体mRNA进行剪接。在这方面,不同SR蛋白的RS区域功能的重复性与特异性很值得进一步关注。

(1) RS区域功能的重复性 体外剪接实验<sup>[20]</sup>发现,将一个前体mRNA中的正常的ESE用噬菌体MS2蛋白的RNA结合位点序列取代,同时将MS2 RNA结合蛋白与SR蛋白的RS区域融合,形成的杂合蛋白即可启动对上述前体mRNA中相应内含子的剪接。而且,用含RBD和各种SR蛋白的RS区域的组合蛋白进行实验后发现,只要RBD与前体mRNA上ESE相应位置上的RNA区域结合,则作者所采用的几种SR蛋白中的任何一种的RS区域均可启动对其上游附近内含子的剪接。由此推测,SR家族中各成员蛋白的RS区域的功能可以相互代替,它们在功能上可能具有一定程度的重复。

Wang等<sup>[21]</sup>利用一株鸡B细胞系(DT40-ASF)进行了相关的体内实验。在该细胞系中,ASF/SF2的表达受控于一个四环素抑制的启动子,在四环素存在时,DT40-ASF细胞死亡。他们的研究目的是观察一个在该细胞株中能稳定转染和表达外源SR蛋白的质粒是否能对抗四环素的致死效应。他们发现,如果外源表达的ASF/SF2缺乏RS区域,则该细胞在四环素诱导下仍会死亡,说明RS区域的存在是ASF/SF2正常功能不可缺少的部分。但如果ASF/SF2中的RS区域由其他任意一个SR蛋白的RS区域所取代,则ASF/SF2的正常功能可以恢复,即:外源表达的该种“嵌合型”ASF/SF2蛋白可使DT40/ASF细胞在四环素的作用下存活。这说明,至少在前体mRNA剪接方面,在in vivo条件下,其他SR蛋白的RS区域完全可以替代ASF/SF2的RS区域并使其发挥正常功能。该实验还发现,一种SR相关蛋白——Tra2蛋白的两个RS区域中的任

意一个也可以替代ASF/SF2的功能而使该细胞能对抗四环素诱导的致死效应。这说明,RS区域的功能重复现象已不仅仅限于SR蛋白本身,而是延伸到了经典的SR家族之外。

(2) RS区域功能的特异性 实验证明,各SR蛋白的RS区域的功能并非完全的重复,它们或多或少存在一些各自特有的功能。Gravely等<sup>[22]</sup>研究发现,绝大多数RS区域的活性强度与其所包含的精氨酸和丝氨酸残基的总数有直接的关系。可见,不同SR蛋白的RS区域存在作用强度大小上的差异。还有实验证明,不同的SR蛋白的RS区域在代替和恢复果蝇中的Tra2蛋白的RS区域的功能方面存在很大的差异,说明至少在果蝇中,不同的RS区域的功能有很大的差异。此外,就目前所知,SR蛋白的RS区域的功能特异性还可能较多地体现在蛋白质的亚细胞定位方面。Caceres<sup>[23]</sup>等利用共转染分析发现,在介导SR蛋白的核定位方面,不同SR蛋白的RS区域之间有明显的差异,如:虽然SRp20和ASF/SF2的RS区域均可以将一个异源的、不相关的蛋白质引导到细胞核内,但仅有SRp20的RS区域才能将其引导到核内SR蛋白聚集的斑点(speckle)上。这些斑点由SR蛋白在核内一定的区域聚集而成,它很可能与SR蛋白和其他剪接因子在核内的储藏和循环利用有关<sup>[24]</sup>。此外,他们还发现,一些SR蛋白可能在胞核和胞质之间穿梭(shuttle)<sup>[25]</sup>,而且,RS区域在其中起了重要的作用。相应的实验证据是:作为穿梭蛋白的ASF/SF2,其RS区域可将一个非穿梭蛋白SRp40转化为穿梭蛋白,若将SRp40的RS区域取代ASF/SF2的RS区域,则这一杂合蛋白不再有穿梭能力<sup>[25]</sup>。

由此可见,在前体mRNA剪接中,SR蛋白的RS区域很可能既有功能上的重复,也有各自功能的特异性。

关于SR蛋白活性的调节机制,目前的研究还很少,从目前一些有关的研究结果来看,SR蛋白的磷酸化状态可在不同程度上影响它们在前体mRNA识别、剪接复合体组装和剪接催化中的功能<sup>[26]</sup>。

## (二) SR相关蛋白——Tra2蛋白

在参与前体mRNA剪接的调节因子中,还有一些蛋白也有富含精氨酸和丝氨酸的RS区域,但它们在功能上与SR蛋白有一个明显的差别,即:它们不能与细胞质抽提物S100互补,从而对前体mRNA进行剪接。所以,它们通常不为组成性剪接所必需,但在选择性剪接中的剪接位点决定方面却起着重要

作用。

1. Tra2 蛋白家族的成员 Tra2 (Transformer 2) 蛋白最先发现存在于果蝇,它与果蝇的性别决定密切相关。随后又在哺乳动物(大、小鼠和人类)中相继发现了它的类似物。现已纳入 Tra2 蛋白家族的成员有两类: Tra2 $\alpha$  和 Tra2 $\beta$ , 其中 Tra2 $\alpha$  已发现有两种已知的亚型,它们由同一个基因的前体 mRNA 经过不同方式的选择性剪接形成; Tra2 $\beta$  现已确定的 mRNA 亚型有 5 种,同样也是由同一种前体 mRNA 经过不同方式的剪接形成。除个别亚型外, Tra2 蛋白均包含 RS 区域和 RNA 识别区域 (RRM domain, RBD domain)。

2. 果蝇的 Tra2 $\alpha$  蛋白是与发育调节相关的选择性剪接因子 研究发现, Tra2 $\alpha$  蛋白与果蝇的性别决定有密切的关系。其作用机制也已研究得较为清楚: Tra2 蛋白是在果蝇发育过程中通过调节其 dsx 基因的前体 mRNA 的剪接方式来影响果蝇的性别决定的。果蝇 dsx 基因的 exon4 上游有一个 3' 弱剪接位点,在雄性特异的剪接中,该位点不被识别,所以 exon 4 被切除;而在雌性特异的剪接中, Tra2 蛋白在一个雌性特异性表达的蛋白——Tra 蛋白的协助作用下,能通过与 exon4 中的富含嘌呤的 ESE 的有效结合来促进该弱剪接位点的识别。虽然 Tra 蛋白本身与该 ESE 的结合很弱,但它能通过与 Tra2 的相互作用来促进 RBD1 (一种 SR 蛋白) 和 Tra2 两者与 dsx 的 exon 4 的 ESE 的共同结合,形成稳定的剪接增强子复合物,并进而将其他的剪接元件聚集到增强子上游的相对较弱的 3' 剪接位点,从而促进该雌性特异性的位点的剪接<sup>[31]</sup>。

3. 哺乳动物中 Tra2 蛋白很可能也是前体 mRNA 的剪接调节因子,证据来自下列两方面的实验

(1) Tra2 蛋白的 RS 区域在功能上与 SR 蛋白 RS 区域具有相似性 利用 *in vitro* 和酵母双杂交系统检测发现,哺乳动物中,同种亚型 Tra2 蛋白之间,不同亚型的 Tra2 蛋白之间以及 Tra2 蛋白与基本剪接因子 ASF/SF2 之间均有特异的蛋白-蛋白相互作用。而且,研究发现, Tra2 $\beta$ 1 蛋白的两个 RS 区域中,有一个是这种蛋白-蛋白相互作用不可缺少的,而另一个 RS 区域的存在与否对此没有影响<sup>[28]</sup>。

利用缺乏 Tra2 蛋白的 HeLa 细胞 S100 抽提物进行体外剪接分析时发现,人的 Tra2 $\alpha$  和 Tra2 $\beta$  均不是组成性剪接所必需的因子,它们不能代替 SR 蛋白的剪接功能<sup>[27]</sup>。尽管如此,但 Tra2 蛋白的 RS

区域的功能却和 SR 蛋白的 RS 区域有着一定的相似性。Wang 等人<sup>[21]</sup>的研究发现, Tra2 蛋白的两个 RS 区域中的任意一个均可以替代 ASF/SF2 的功能而使一株鸡 B 细胞 DT40-ASF 在四环素诱导下存活。

(2) Tra2 蛋白与 mRNA 结合具有序列特异性 研究发现<sup>[27]</sup>, 哺乳动物 Tra2 蛋白存在于 HeLa 细胞的核抽提物 (NE) 中,而且, SELEX 和 gel-mobility shift 分析结果显示, Tra2 具有 RNA 结合特异性,其高亲和的 RNA 位点为包含 2 拷贝 GAA 的富含嘌呤的序列,该序列与 ASF/SF2 的高亲和序列及很多天然的富含嘌呤的 ESE 序列非常相似,而且, 3 拷贝的 Tra2 蛋白的高亲和 RNA 序列 (A3 增强子) 可激活 Tra2 蛋白对该序列上游的弱剪接位点的识别与利用 (即: 具有 ESE 的作用)。

从 Tra2 蛋白与 SR 蛋白相似的结构、RNA 序列结合特异性和其 RS 区域与 SR 蛋白相应区域的功能相似性看来, Tra2 蛋白很可能在前体 mRNA 的剪接调控中具有重要作用。

4. 在哺乳动物中 Tra2 蛋白的表达具有可调节性以及组织和发育阶段分布特异性 在缺氧刺激后重新给氧的体外培养的大鼠星形胶质细胞中, Tra2  $\beta$  1 (又名 RA301) 的 mRNA 的含量迅速明显地升高。同时, 缺血后复氧的大鼠大脑中同样诱导出了大量的 Tra2  $\beta$  1 mRNA 的表达<sup>[30]</sup>; 在神经损伤后的神经细胞中, 已检测出 Tra2  $\beta$  蛋白的表达上调<sup>[29]</sup>。此外, 对 Tra2  $\beta$  各亚型在大鼠组织中的表达分布检测发现, Tra2  $\beta$  1 的表达虽然在各组织中普遍存在, 但用定量 RT-PCR 能检测出其在各组织中表达量的差异; Tra2  $\beta$  3 和 Tra2  $\beta$  4 的表达也均存在明显的发育阶段差异和组织分布特异性<sup>[32]</sup>。我们在对 Tra2  $\alpha$  和 Tra2  $\beta$  各亚型 mRNA 在人胚胎组织中的表达分布的检测中也发现, 它们的表达量在不同组织和不同发育阶段都存在明显的差异 (待发表)。由此, 推测它们在细胞特异性或阶段特异性的选择性剪接调节方面可能具有重要作用。

虽然已有了很多关于 Tra2 蛋白的选择性剪接调节功能的研究报道, 但到目前为止, Tra2 蛋白在哺乳动物体内的作用机制还远未清楚。对哺乳动物中 Tra2 蛋白在调控细胞特异性或阶段特异性前体 mRNA 剪接中的准确功能的阐明, 可能最终还需要进行在体的遗传学分析, 虽然和在果蝇中相比, 在哺乳动物中做类似的研究要复杂和困难得多。

## 五、前体 mRNA 剪接 异常与疾病发生

作为基因表达调节的一个重要环节,前体 mRNA 剪接的意义自是不言而喻。研究表明,约有 15% 的人类遗传疾病是由于基因突变而破坏了原有的功能性剪接位点,或产生了新的剪接位点而导致的<sup>[33]</sup>。

一些遗传性疾病,如:地中海贫血和遗传性椭圆形红细胞增多症等,便是因为有些基因突变时产生了正常情况下没有的隐含剪接位点,或使正常的隐含位点变得具有强剪接位点的特性,从而导致错误的 pre-mRNA 剪接,形成没有编码蛋白能力的 mRNA,或编码异常的蛋白质<sup>[4]</sup>。

人类有一种散在性 (sporadic) 神经退行性疾病——ALS (肌萎缩性侧索硬化症),其中有 60% - 70% 的患者的大脑运动皮层和脊髓的星形胶质细胞中缺少 30% - 95% 的谷氨酸转运蛋白 EAAT2,该蛋白缺失使细胞外谷氨酸的浓度增加,从而导致兴奋性毒性,引起神经退化。研究表明,这种 EAAT2 蛋白的缺失便是由于其前体 mRNA 的异常剪接 [包括 exon 9 的异常切除 (skipping) 和 exon7 之后的内含子的滞留 (rentation) 而引起的<sup>[34]</sup>]。

此外,研究发现,CD44 蛋白在正常情况下具有引导细胞迁移和附着在细胞外基质和其他细胞表面的功能,但在很多不同类型的恶性肿瘤中存在异常剪接产生的异常 CD44 蛋白,而且,这些异常蛋白的存在与病人的低存活率有关<sup>[35]</sup>。说明异常的前体 mRNA 剪接与肿瘤发生也有一定的关系。

### 摘 要

在高等真核生物中,前体 mRNA 的剪接及其调节是一个复杂的、由多因子参与的过程,它对基因的正常功能的发挥起着重要的作用,任何一种剪接调节因子的异常变化均有可能导致疾病的发生。因此,研究参与前体 mRNA 剪接调控的相关因子的功能及作用机制,对前体 mRNA 剪接机制的阐明,无疑是相当必要的。本文着重介绍了两类重要的 mRNA 剪接调节蛋白——SR 蛋白和 Tra2 蛋白的研究近况,以期对前体 mRNA 剪接机制的研究的重要性和复杂性有更多的了解。

### 参 考 文 献

- [1] Sharp, P. A., 1994, *Cell*, **77**: 805 - 815.
- [2] Christopher, W, et al., 2000, *TIBS*, **25**: 381 - 388.
- [3] Kramer, A., 1996, *Annu. Rev. Biochem.*, **65**: 367 - 409.
- [4] Edward J., et al., 1997, *Transactions of the American climatological association.*, **108**: 79 - 93.
- [5] Black, D. L., 1998, *Neuron*, **20**: 165 - 168.
- [6] Burge, C et al., 1999, *RNA World II*, Cold spring harbor laboratory press.
- [7] Berglund, J. A, et al., 1997, *Cell*, **89**: 781 - 787.
- [8] Varani, G., et al., 1998, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **27**: 407 - 445.
- [9] Tacke, R., et al., 1999, *Current opinion in cell biology*, **11**: 358 - 362.
- [10] Michael, R. G., 1991, *Annu. Rev. Cell Biol.*, **7**: 559 - 599.
- [11] Manley, J. L., et al., 1996, *Genes & Development*, **10**: 1569 - 1579.
- [12] Zhi, M. Z., et al., 1998, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **95**: 14088 - 14093.
- [13] Gold, T. C., 1990, *Science*, **249**: 505 - 510.
- [14] Manley, T. R., 1995, *EMBO J.*, **14**: 3540 - 3551.
- [15] Cavaloc, Y et al., 1999, *RNA*, **5**: 468 - 483.
- [16] Heirichs, V., et al., 1995, *EMBO*, **14**: 3987 - 4000.
- [17] Shi, H. et al., 1997, *Mol Cell Biol.*, **17**: 2649 - 2657.
- [18] Scahaal, T. D., et al., 1999, *Mol. Cell Biol.*, **19**: 261 - 273.
- [19] Jumaa, H., et al., 2000, *Biochimica et Biophysia Acta.*, **1494**: 137 - 143.
- [20] Graveley, B. R., et al., 1998, *Mol. Cell*, **1**: 765 - 771.
- [21] Wang, J., et al., 1998, *Genes Dev.*, **12**: 2222 - 2233.
- [22] Graveley, B. R., et al., 1998, *EMBO J.*, **17**: 6747 - 6758.
- [23] Caceres, J. F., et al., 1997, *J. Cell Biol.*, **138**: 225 - 238.
- [24] Singer, R., et al., 1997, *Cell*, **91**: 291 - 294.
- [25] Romas, P., et al., 1992, *Nature*, **355**: 730 - 732.
- [26] Tacke, R., et al., 1997, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**: 1148 - 1153.
- [27] Tacke, R., et al., 1998, *Cell*, **93**: 139 - 148.
- [28] Amrein, H., et al., 1994, *Cell*, **76**: 735 - 746.
- [29] Sumiko Kiryu-Seo et al., 1998, *Molecular Brain Research*, **62**: 220 - 223.
- [30] Matsuo, N., et al., 1995, *J. Biol. Chem.*, **270**: 28216 - 28222.
- [31] Lynch, K. W., et al., 1996, *Genes Dev.*, **10**: 2089 - 2101.
- [32] Nayler, O., et al., 1998, *Genomics*, **53**: 191 - 202.
- [33] Cooper, T. A. et al., 1997, *Am. J. Hum. Genet.*, **61**, 259 - 266.
- [34] Chien-liang et al., 1998, *Neuron*, **20**: 589 - 602.
- [35] Benjamin, J. et al., 2000, *TIBS*, **25**: 106 - 110.