

核仁蛋白 B23 的研究进展

杨 新 林*

(北京师范大学生物系细胞室 100875)

一、核仁蛋白 B23 的研究 简史及生物学特性

1973 年, Orrick 等在正常肝和 Novikoff 肝腹水细胞的核仁提取物的双向电泳图谱上, 将 B 区第 23 号蛋白命名为 B23 蛋白^[1], 首次描述了 B23 蛋白的存在。当用 ³²P 体内标记细胞或体外标记纯化的核仁时, 发现 B23 蛋白都能被 ³²P 标记, 说明 B23 在体内以磷蛋白存在^[2,3]。Lischwe 等利用类似于细胞核仁组织者(NOR)的银染方法, 发现 B23 和 C23 两种蛋白在聚丙烯酰胺凝胶上选择性着色, 说明 B23 蛋白是 NOR 区两种主要银染蛋白之一^[4]。1981 年, Michalik 等建立了将 B23 蛋白从核仁中高度纯化出来的方法, 并制备了 B23 抗体, 然后利用间接过氧化物酶法, 直接证明 B23 蛋白分布在大鼠肝细胞的核仁部位^[6]。1984 年, Spector 等利用免疫电镜进一步观察到 B23 蛋白定位于核仁的颗粒区^[6]。

Yung & Chan^[7] 利用亲和层析法, 纯化得到寡聚体和单体两种形式的 B23 蛋白, 分子量分别为 230 kD 和 37 kD。他们证明寡聚体是六聚体, 由 4 个 α 亚基和 2 个 β 亚基组成; 而 37 kD 的单体则相当于 α 亚基。 α 和 β 亚基分子量较为接近, β 亚基稍小于 α 亚基。在 7 M 尿素存在条件下, 寡聚体解离为两种亚基; 在 SDS 样品液中煮 5 分钟或保存 24 小时以上, 也会导致寡聚体解离。他们推测 B23 蛋白在体内可能以六聚体的结构形式和前核糖核蛋白颗粒结合, 并认为两种形式的 B23 在体内可能行使不同的功能。

• B23 蛋白也称为核基质素 (Numatrix)^[8],

核磷素 (Nucleophosmin)^[9] 和 NO 38^[10]。迄今为止, B23 蛋白被证明在真核生物中广泛存在, 其一级结构在人、大鼠、小鸡、非洲爪蟾中显示高度保守^[9, 11]。B23 蛋白不仅存在于体细胞, 也存在于生殖细胞^[12]。B23 蛋白存在的广泛性及其结构的高度保守性表明, 它在真核细胞中执行着一定的生理功能。

二、核仁蛋白 B23 在核糖核蛋白体的 包装和转运中的作用

核仁是核糖体 RNA (rRNA) 合成和核糖体前体组装的部位。核糖体大、小亚基在核仁中加工和装配, 转运至细胞质后结合形成有功能的核糖体^[27]。核糖体前体加工、装配和转运的机制还不清楚, 但许多证据表明, 核仁蛋白在其中起着关键作用。首先, B23 蛋白定位在核仁的颗粒区, 恰好是核糖体前体的装配场所^[6]。其次, B23 蛋白在核仁中与核糖体前体颗粒相结合, 它可能是一种 rRNA 结合蛋白^[13]。第三, Borer 等证明 B23 和 Nucleolin 在细胞核与细胞质之间不断穿梭, 提示它们可能担负着从细胞核到细胞质运输核糖体颗粒, 以及将细胞质中合成的核糖体蛋白运送到细胞核中的任务^[14]。第四, 细胞内 B23 的含量或分布与 rRNA 合成的增强与抑制密切相关。当静止期细胞因刺激进入增殖状态时, B23 蛋白迅速合成和积累, rRNA 合成也增加^[15-17]; 肿瘤细胞中 rRNA 合成速率和核糖体前体颗粒的数目普遍高于正常细胞^[18], 而肿瘤细胞中 B23 蛋白含量也普遍高于正常细胞^[9, 15-17];

* 现在中国科学院动物研究所生殖生物学重点实验室, 邮编 100080。

在血清饥饿细胞,或用一些细胞毒试剂,包括 actinomycin D, doxorubicin, toyocarmycin, luzopepins 和 mitomycin C 处理细胞时, rRNA 合成受到抑制而 B23 蛋白则由核仁漂移至核质^[18,19,20]。

尽管上述的种种证据将 B23 蛋白和核仁的活性直接联系起来,但最近 Biggiogera 等的结果却得到了不同的结论。他们研究了小鼠精子形成过程中细胞内 B23 蛋白的变化。精子形成的不同阶段伴随 rRNA 合成速率显著改变。精原细胞中 rRNA 合成旺盛,第一次减数分裂前期 rRNA 合成速率更高,到中粗线期达到最高,随后则持续下降,直至为零。Biggiogera 等发现,小鼠精原细胞→早期精母细胞(含 33% B 型精原细胞, 66% 前细线期精母细胞)→粗线期精母细胞→圆形精细胞, B23 mRNA 水平持续上升;而粗线期精母细胞和圆形精细胞中, B23 蛋白含量没有显著差异,但在成熟的精子中则检测不到 B23 蛋白的存在。同时,在精子发生过程中,并没有观察到 B23 蛋白由核仁漂移至核质的现象^[12]。

三、核仁蛋白 B23 与细胞生长调节

细胞 B23 蛋白的含量与细胞生长密切相关, Ballal 等(1974)发现在肥大的大鼠肝细胞的核仁中, B23 含量较正常肝细胞的高^[21], 肝腹水癌细胞又比肥大的大鼠肝细胞高^[22]。Busch 等(1984)比较 HeLa 细胞和正常人肝细胞中 B23 含量,发现前者是后者的 6 倍^[23]。Feuerstein 等证明各种淋巴瘤细胞的 B23 含量比促有丝分裂剂活化的正常淋巴细胞 B23 含量丰富得多,而且 B23 蛋白含量在其它的恶性细胞系,如人表皮样癌细胞和肝癌细胞中普遍较高^[16]。上述结果表明, B23 蛋白在恶性细胞中过量表达,类似于一些位于核内的癌蛋白,说明 B23 蛋白可能也参与细胞生长的调节过程。

Feuerstein 等还研究了细胞在 G₀ 期进入增殖状态后, B23 蛋白含量的变化^[9,18,24]。

在 B、T 淋巴细胞和培养的 Swiss 3T3 细胞被促有丝分裂剂刺激进入细胞周期时,也伴随着 B23 蛋白含量的迅速升高。这一变化发生于早 G₁ 期,即 DNA 合成之前。在 S 期开始时 B23 含量达最大值,随后降低, S 期结束时已没有 B23 蛋白合成。这些结果表明 B23 蛋白可能参与 DNA 复制过程的启动,同时说明 B23 蛋白的合成是有丝分裂诱导的一个早期事件,因而可能参与信号传导。

Ochs 等^[25]利用间接免疫荧光方法检测 B23 蛋白在细胞周期不同时期的 Pt₂K₂ 细胞中的分布,发现 B23 蛋白随周期进程而分布也有改变。在间期, B23 分布在细胞的核仁部位;有丝分裂前期则分布到整个胞质中,而且荧光强度有所增加;到前中期, B23 仍分布在胞质中,但荧光较弱;中期和后期, B23 荧光出现在染色体上;末期细胞 B23 荧光消失;进入 G₁ 期, B23 荧光重新出现在新形成的核仁部位。B23 蛋白在细胞内分布的周期性改变,说明它可能参与细胞周期进程的某些事件。

B23 蛋白在体内以磷蛋白形式存在,因此它的功能可能受磷酸化作用的调节。Chan 等分析了它的磷酸化位点的序列,发现与 PKA 蛋白激酶的 RII 亚基的磷酸化位点的序列高度一致,因此推测酪氨酸激酶 II (CKII) 可能是其体内的激酶^[20]。然而,最近 Peter 等^[30]证明,两种主要的核仁蛋白 B23 和 Nucleolin (核仁素)在有丝分裂起始时磷酸化程度大大提高,在体外能被纯化的 p 34^{cdc2} 蛋白激酶磷酸化,其体外磷酸化位点序列与它在有丝分裂起始时的磷酸化位点序列相同。因此有理由认为,这两种核仁蛋白在体内也是 p 34^{cdc2} 的底物。鉴于 p 34^{cdc2} 激酶在有丝分裂起始时起着核心作用,并且通过使一些关键性底物磷酸化而发挥其调节功能^[22,26],所以很可能 B23 和 Nucleolin 两种蛋白的磷酸化导致了有丝分裂重要事件之一——核仁降解的发生。另一方面,由于 B23 蛋白可能功能颇多,也许不同的功能

涉及到不同激酶的作用,因此它在体内也可能是其它蛋白激酶的底物。

摘 要

B23 蛋白是真核细胞核仁的主要蛋白组份之一,对于维持核仁的结构和功能都起着重要作用。B23 蛋白在真核生物中广泛存在,其一级结构在人、大鼠、小鸡、非洲爪蟾等真核生物中高度保守。B23 蛋白不仅存在于体细胞,也存在于生殖细胞。B23 蛋白在核糖体前体的加工、装配和运输过程中起着重要作用。另外许多证据也表明, B23 蛋白与细胞生长的调节有关。

参 考 文 献

- [1] Orrick, L. R., et al., 1973, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 70: 1316.
- [2] Olson, M. O. J., et al., 1974, *J Biol Chem.*, 249: 2823.
- [3] Kang, Y. J., et al., 1974, *J Biol Chem.*, 249: 5580.
- [4] Lischwe, M. A., et al., 1979, *Life Sci.*, 25: 701.
- [5] Michalik, J., et al., 1981, *Life Sci.*, 28: 1371.
- [6] Spector, D. L., et al., 1984, *Chromosoma*, 90: 139.
- [7] Yung, B. Y. M. & Chan, P. K., 1987, *Biochem Biophys Acta.*, 925: 74.
- [8] Feuerstein, N. & Mond, J. J., 1987, *J Biol Chem.*, 262: 11389.
- [9] Chan, W. Y., et al., 1989, *Biochemistry*, 28: 1033.
- [10] Peter, M. et al., 1990, *Cell*, 60: 791.
- [11] Chang, J. H., et al., 1988, *J Biol Chem.*, 263: 12824.
- [12] Biggiogera, M., et al., 1991, *chromosoma*, 100: 162.
- [13] Dumber, T. S., et al., 1989, *Biochemistry*, 28: 9495.
- [14] Borer, R. A., et al., 1989, *Cell*, 56: 379.
- [15] Feuerstein, N., et al., 1988, *J Cell Biol.*, 107: 1629.
- [16] Bouche, G., et al., 1987, *Proc Natl Acad Sci USA.*, 84: 6770.
- [17] Kelly, K., et al., 1983, *Cell*, 35: 603.
- [18] Kang, Y. J., et al., 1975, *Cancer Res.*, 35: 1470.
- [19] Chan, P. K., et al., 1985, *Exp Cell Res.*, 161: 101.
- [20] Chan, P. K., et al., 1987, *Cancer Res.*, 47: 3798.
- [21] Ballal, N. R., et al., 1974, *Life Sci.*, 14: 1835.
- [22] 杨新林译, 1991, 细胞生物学杂志, 13: 70.
- [23] Busch, R. K., 1984, *Life Sci.*, 35: 1777.
- [24] Feuerstein, N. & Mond, J. J., 1987, *J Immunol.*, 139: 1818.
- [25] Oches, R., et al., 1983, *Exp Cell Res.*, 146: 139.
- [26] 杨新林, 王永潮, 1992, 细胞生物学杂志, 14: 59.
- [27] Alberts, B., et al., 1989, *Mol Biol of the Cell*, P 542, New York and London, Garland Publishing Inc.

《细胞生物学杂志》编辑委员会

主编: 左嘉客 副主编: 姚曾序 周振华 朱治平
 编委: 丁明孝 史 臻 李文安 李逸平 陈汉源 陈瑞阳
 张伟成 杨弘远 柳惠图 施渭康 胡兆庆 唐佩弦
 秘书: 卢建平