

转录因子GATA3 mRNA 5'非翻译区内部核糖体进入位点的活性

陶义芬¹ 马 晶² 朱瑞宇² 段作营¹ 金 坚^{2*} 李华钟^{1*}

(¹工业生物技术教育部重点实验室, 江南大学药生物工程学院, 无锡 214122; ²江南大学药学院, 无锡 214122)

摘要 GATA3(GA-TA-binding protein-3)是锌指蛋白GATA家族成员之一, 在细胞的增殖和分化中起着重要的作用, GATA3在细胞中的异常表达也是导致众多肿瘤形成的原因。通过对GATA3 mRNA 5'非翻译区(untranslated region, UTR)进行分析, 发现其UTR长达557 bp并且具有复杂的二级结构。将GATA3 mRNA 5' UTR克隆至双荧光素酶报告载体pRL-FL中, 瞬时转染至细胞中然后对细胞进行无血清培养后, 发现GATA3 mRNA 5' UTR介导的翻译明显升高。将GATA3 mRNA 5' UTR克隆至ΔpRL-FL载体上, 瞬时转染细胞后检测萤火虫荧光素酶的表达, 发现GATA3 mRNA 5' UTR不具有隐含启动子, 进而确定GATA3 mRNA 5' UTR具有内部核糖体进入位点(internal ribosome entry sites, IRES)元件; 进一步对GATA3 mRNA 5' UTR进行序列截短分析, 发现GATA3 mRNA 5' UTR中345~557 bp区间可能是抑制IRES活性的调控元件, 而95~344 bp区间则是IRES元件的主要活性中心调控域, 并且在不同的细胞系中GATA3 IRES元件的活性存在显著的差异。该研究结果表明, GATA3 mRNA的5' UTR可参与GATA3的表达调控。

关键词 GATA3; 内部核糖体进入位点; 5'非翻译区; 荧光素酶

Activity of Internal Ribosome Entry Site in mRNA 5' Untranslation Region of Transcription Factor GATA3

Tao Yifen¹, Ma Jing², Zhu Ruiyu², Duan Zuoying¹, Jin Jian^{2*}, Li Huazhong^{1*}

(¹Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

²School of Pharmaceutical Science, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract GATA3 is a member of GA-TA-binding protein family and plays an important role in cell proliferation and differentiation, and the abnormal expression of GATA3 in cells is also one cause of many tumor formations. In this paper, the mRNA 5' untranslated region (UTR) of GATA3 was analyzed, and it was found that the UTR was so long as 557 bp and had a complex secondary structure. When the mRNA 5' UTR of GATA3 was cloned into the bicistronic luciferase plasmid pRL-FL, it was found that the translation level of FL which was mediated by GATA3 mRNA 5' UTR was significantly augmented under the condition of serum starvation. While the GATA3 mRNA 5' UTR was inserted into the bicistronic luciferase plasmid ΔpRL-FL and transiently transfected into cells, the 5' UTR of GATA3 mRNA had no promoter activity according to the expression of firefly luciferase, which indicated that GATA3 mRNA 5' UTR had IRES element. By the truncated analysis of GATA3 mRNA 5' UTR sequence, it was revealed that the 345-557 bp might inhibit the IRES activity of GATA3 and the 95-344 bp might be the main active center of

收稿日期: 2016-01-14

接受日期: 2016-04-25

国家自然科学基金(批准号: 81101667)和江苏省基础 Research 计划(自然科学基金)(批准号: BK2009-071)资助的课题

*通讯作者: Tel: 0510-85913650, Fax: 0510-85913682, E-mail: jinjian31@hotmail.com, hzhli@jiangnan.edu.cn

Received: January 14, 2016

Accepted: April 25, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81101667) and the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (Grant No.BK2009-071)

*Corresponding authors. Tel: +86-510-85913650, Fax: +86-510-85913682; E-mail: jinjian31@hotmail.com, hzhli@jiangnan.edu.cn

网络出版时间: 2016-07-04 14:43:54

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160704.1443.004.html>

GATA3 mRNA IRES element. It was also found that this IRES activity was various in different cell lines. These results showed that the 5' UTR of *GATA3* mRNA can participate in the regulation of *GATA3* gene expression.

Keywords GATA3; internal ribosome entry site; 5' UTR; luciferase

GATA结合蛋白家族(GA-TA-binding protein family)是一类可特异结合到GATA结合位点,在细胞生命中起着重要作用的蛋白质,它们参与造血功能的调节及心血管、神经和泌尿生殖系统的发展^[1-4]。哺乳动物GATA转录因子家族根据其功能的不同可分为两组,GATA1(GA-TA-binding protein-1)、GATA2、GATA3主要作用于造血细胞^[5],而GATA4、GATA5、GATA6则主要作用于中胚层和外胚层器官^[6]。其中,GATA3在很多组织中都有表达,如乳腺和神经系统等^[7-8]。在神经母细胞瘤中,GATA3对细胞的分化和增殖起着重要的调节作用^[9-10]。而在乳腺癌的发展过程中,研究发现,GATA3的功能从最初的肿瘤抑制逐渐转变为促进肿瘤的形成^[11]。不仅如此,GATA3在T淋巴细胞的形成和分化过程中也是必不可少的^[12-13]。最近的一项研究发现,GATA3可作用于p38信号途径的下游,进而对造血干细胞的自我更新和分化之间的平衡进行调节^[14]。

内部核糖体进入位点(internal ribosome entry sites, IRES)是一段位于mRNA 5'非翻译区(untranslated region, UTR)的特殊序列,与传统的帽子依赖型翻译方式不同,这种IRES序列可以直接招募核糖体到mRNA上进行翻译。IRES最初于1998年发现于脊髓灰质炎病毒中^[15]。随后,在其他一些病毒中接连发现存在IRES元件,并且这些IRES结构对病毒蛋白质的翻译起着重要的作用。随着对IRES研究的深入,研究者们发现,不仅是在病毒中,细胞mRNA的5'非翻译区也同样存在IRES元件。*Bip*(binding immunoglobulin protein)是第一个被报道含有IRES的细胞mRNA^[16]。随后,越来越多的细胞mRNA被发现含有IRES元件,如*c-myc*(cellular-myelocytomatosis viral oncogene)、*VEGF*(vascular endothelial growth factor)、*XIAP*(X-linked inhibitor of apoptosis protein)和*DDB2*(damage-specific DNA binding protein 2)等。有研究者在*GATA4*和*GATA6*的mRNA中发现了IRES元件,并且其IRES元件在蛋白的表达中起着重要的作用^[17-18]。本文对*GATA3* mRNA的5' UTR进行分析,发现*GATA3* mRNA也具有IRES活性,并且在不同的细胞系中其IRES活性存在较大的差异。该发现将为

*GATA3*蛋白质的表达和调控的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

重组质粒pRL-FL和ΔpRL-FL均为本实验室构建和保存,含有*GATA3*和*Lamb1* mRNA 5' UTR全长基因序列的重组质粒pRL-GATA3-FL和pRL-Lamb1-FL及感受态大肠杆菌*Escherichia coli* DH5α均购自生工生物工程(上海)股份有限公司。HEK293、A2780、NIH3T3和Hct-8细胞株均为本实验室保存。限制性核酸内切酶*Nde* I和*EcoR* I均购自美国Fermentas公司。T4 DNA连接酶和Prime STAR HS DNA聚合酶购自TaKaRa公司。DMEM和1640细胞基础培养基及胎牛血清(FBS)购自美国Gibco公司。Opti-MEM培养液和Lipofectamine™ 2000购自美国Invitrogen公司。Dual-Luciferase® Reporter Assay System购自美国Promega公司。

1.2 IRES元件检测系统

1.2.1 检测IRES元件双顺反子报告系统的工作原理对于检测某个mRNA是否含有IRES元件,研究方法大多是使用双顺反子载体。在该结构中,5'的顺反子由帽子依赖型机制介导翻译起始,而可能的IRES元件则插入到第一个顺反子的3'端和第二个顺反子的5'端之间,进而介导第二个顺反子的翻译^[15]。本研究中所使用的双顺反子报告载体中含有萤火虫荧光素酶(firefly luciferase, FL)和海参荧光素酶(renilla luciferase, RL)两个报告基因。如图1所示,在RL和FL之间具有多克隆位点,可将所要研究的目的基因片段克隆至*Nde* I和*EcoR* I两酶切位点之间,根据两个荧光素酶的活性比来确定目的基因IRES元件的活性,若FL相对RL的活性较高则可判断该目的基因可能具有IRES元件。但在上述系统中,FL的表达也可能是由目的基因中存在的隐含启动子介导的。为了排除该可能,我们将载体pRL-FL的SV40启动子删除而得到载体ΔpRL-FL,将目的基因克隆至该载体的*Nde* I和*EcoR* I两酶切位点之间,若目的基因中具有隐含启动子则FL将高表达。

1.2.2 引物设计与合成 根据在GenBank中查到

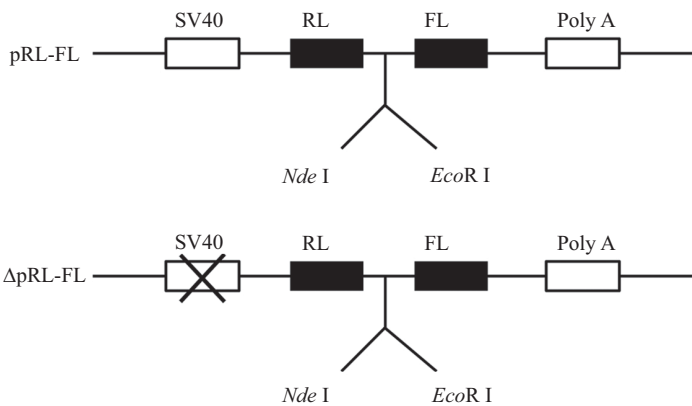


图1 双顺反子报告载体示意图

Fig.1 The diagram of the bicistronic report vectors

的*GATA3* mRNA基因序列信息(NM_002051)设计*GATA3* mRNA 5' UTR全长基因序列引物及各截短引物序列(GATA3-J1至GATA3-J4, 分别位于1~344 nt、1~244 nt、1~144 nt和1~94 nt), 引物需要扩增的目的片段的长度和引物序列见表1, 其中带下划线的是*Nde* I和*EcoR* I的酶切位点和保护碱基。所有引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.2.3 重组质粒的构建 以重组质粒pRL-GATA3-FL为模板扩增*GATA3* 5' UTR全长和各截短基因序列(GATA3-J1至GATA3-J4), 并将*GATA3* 5' UTR全长克隆至不含SV40启动子的载体ΔpRL-FL上构建ΔpRL-GATA3-FL; 同时, 将各截短片段克隆至载体pRL-FL上, 构建GATA3各截短片段重组质粒pRL-GATA3 J1-FL至pRL-GATA3 J4-FL。将各重组质粒转化到感受态大肠杆菌*Escherichia coli* DH5α中, 扩大培养后, 将菌液送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

1.2.4 重组质粒瞬时转染细胞和双荧光素酶表达的检测 将细胞培养至对数生长期时进行铺板, 24孔板每孔接种3×10⁵细胞, 然后置于细胞培养箱中, 37 ℃、5% CO₂条件下培养12 h。使用Lipofectamine™ 2000将质粒瞬时转染至细胞中, 放入细胞培养箱中, 继续培养4~6 h后更换为完全培养基, 继续培养18~24 h后收集细胞裂解液进行检测。若要对转染后的细胞进行无血清培养, 则在细胞转染4 h后更换为不含血清的基础培养基, 继续培养18 h, 然后收集细胞裂解液。取20 μL细胞裂解液于96孔板中, 首先加入100 μL萤火虫荧光素酶底物LARII, 充分混合, 采用荧光检测仪检测萤火虫荧光素酶的活性; 测定后, 立即加入100 μL的终止液Stop&Glo® Reagent, 检测海肾荧光素酶的活性。

1.3 无血清培养条件下检测细胞周期

细胞生长至对数期后, 以每孔3×10⁵细胞铺6孔板, 培养12 h后进行无血清培养, 培养18 h后收集细胞, 用70%乙醇固定过夜。离心去除乙醇, 然后用

表1 引物序列

Table 1 Sequences of primers

引物 Primers	序列(5'→3') Sequences (5'→3')
GATA3-F	<u>GGA ATT CCA TAT</u> GGG CGC CGT CTT GAT ACT TTC AG
GATA3-R	CGG AAT <u>TCG</u> GCC TCG GCT GTG CTC GCG CCC TCT CGC
GATA3-J1-F	<u>GGA ATT CCA TAT</u> GGG CGC CGT CTT GAT ACT TTC AG
GATA3-J1-R	CGG AAT <u>TCG</u> AGA AGA AGG GGA AGA CAA AAA TC
GATA3-J2-F	<u>GGA ATT CCA TAT</u> GGG CGC CGT CTT GAT ACT TTC AG
GATA3-J2-R	CGG AAT <u>TCG</u> CTC CTC TGC ACC GGG GTC CTC AG
GATA3-J3-F	<u>GGA ATT CCA TAT</u> GGG CGC CGT CTT GAT ACT TTC AG
GATA3-J3-R	CGG AAT <u>TCA</u> CCT GCT CGG TCA GAT TGC GTT GC
GATA3-J4-F	<u>GGA ATT CCA TAT</u> GGG CGC CGT CTT GAT ACT TTC AG
GATA3-J4-R	CGG AAT <u>TCT</u> CTC TCT CTT CTT CTC TCT CTC TC

PBS洗涤2~3次, RNA酶37 °C处理30 min, 最后用PI避光染色30 min。处理好的细胞用流式细胞仪检测细胞周期。

2 结果

2.1 *GATA3* mRNA 5' UTR IRES元件活性的初步检测

将重组质粒pRL-*GATA3*-FL、pRL-*Lamb1*-FL及pRL-FL分别瞬时转染至HEK293和A2780细胞中, 培养24 h后检查RL和FL的活性, FL的表达效率用FL对RL的比值表示。其中, *Lamb1*已被报道含有IRES元件^[19], 作为阳性对照, pRL-FL为阴性对照。检测结果如图2所示, 在这两种细胞株中, *Lamb1*和*GATA3*的FL/RL的值都要远高于pRL-FL, 表明

GATA3 mRNA的5' UTR可以如*Lamb1*一样有效地介导下游萤火虫荧光素酶的表达, *GATA3* mRNA的5' UTR可能含有IRES元件。

2.2 *GATA3* mRNA 5' UTR隐含启动子活性的排除

为了证明*GATA3* mRNA 5' UTR起始下游萤火虫荧光素酶翻译表达是通过其IRES元件而不是其可能含有的隐含启动子引起的, 本研究将*GATA3* 5' UTR克隆至不含启动子的载体ΔpRL-FL上, 构建ΔpRL-*GATA3*-FL重组质粒。同时, 将质粒pRL-*GATA3*-FL和ΔpRL-*GATA3*-FL瞬时转染至A2780细胞中, 培养24 h后检查FL的表达。结果如图3所示, ΔpRL-*GATA3*-FL的FL活性很低, 仅为pRL-*GATA3*-FL质粒FL活性的0.04倍, 且差异具有显著的统计学意义。此结果表明, *GATA3* mRNA 5' UTR不具有隐含启动

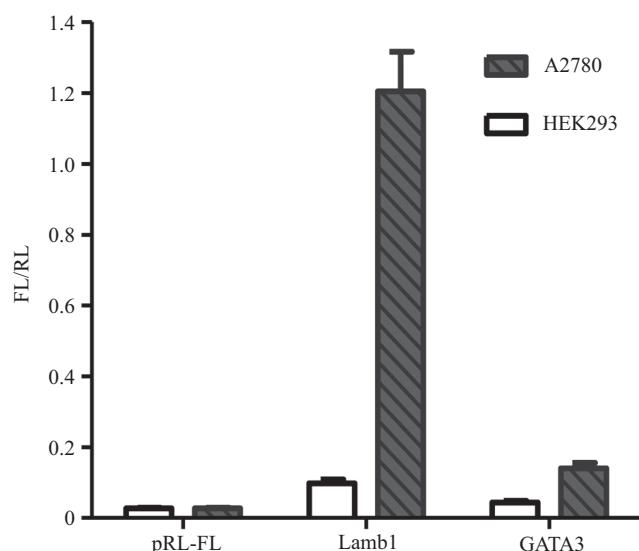


图2 重组质粒pRL-*GATA3*-FL、pRL-*Lamb1*-FL及pRL-FL转染细胞的相对荧光活性比

Fig.2 Relative fluorescent activities of cells transfected with recombinant plasmids pRL-*GATA3*-FL, pRL-*Lamb1*-FL and pRL-FL

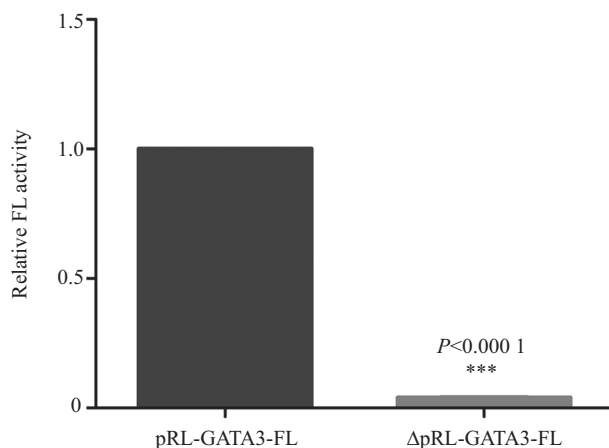


图3 重组质粒pRL-*GATA3*-FL和ΔpRL-*GATA3*-FL转染细胞的萤火虫荧光素酶的相对活性

Fig.3 Relative FL activities of cells transfected with recombinant plasmids pRL-*GATA3*-FL and ΔpRL-*GATA3*-FL

子, 进而证明GATA3 mRNA 5' UTR具有IRES活性。

2.3 GATA3 mRNA 5' UTR的二级结构和GATA3 mRNA 5' UTR中影响IRES活性的序列分析

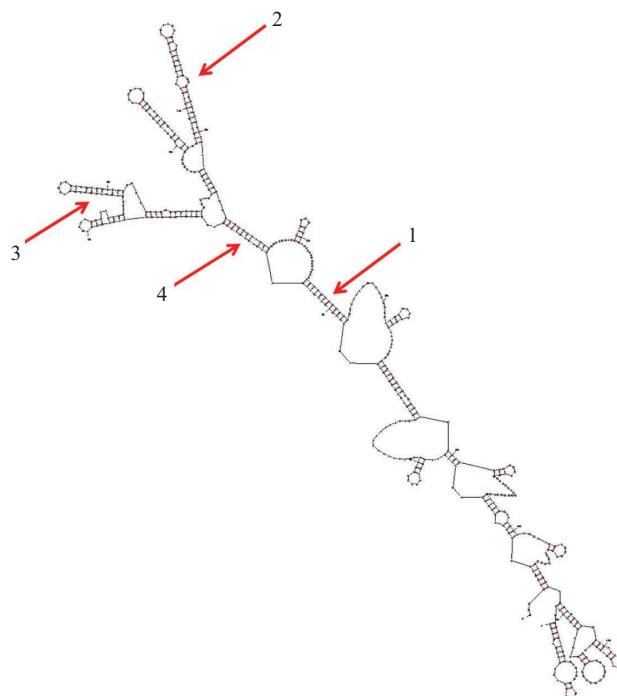
通过在GenBank中GATA3 mRNA基因序列信息的查找, 我们发现, GATA3的5' UTR长达557 bp, 并且GC含量丰富。为进一步研究GATA3 5' UTR, 我们使用mfold软件(<http://unafold.rna.albany.edu/?q=mfold>)对GATA3 5' UTR的RNA二级结构进行了模拟。如图4所示, GATA3 5' UTR的RNA二级结构十分复杂, 由很多的茎和环组成。以上这些特点都与已发现的细胞IRES元件的特征^[20]相符合。按照模拟出的二级结构, 我们从3'端对GATA3 5' UTR进行了序列截短分析(具体截短方案见图4), 将截短序列克隆至载体pRL-FL上, 构建GATA3 5' UTR的截短质粒。然后将这些质粒分别瞬时转染至A2780细胞中检测其IRES活性。结果如图5所示, 当截去345~557 bp之间的序列而保留GATA3 5' UTR中1~344 bp片段时, 其最高IRES活性远高于其5' UTR全长的活性($P=0.0065$), 并且随着截短活性逐渐降低。这些结果表明, GATA3 5' UTR中345~557 bp区间可能是抑制IRES活性的调控元件; 而当序列截短继续至只保留1~94 bp时, 发现与GATA3相比, 其几乎没有IRES

活性($P=0.0012$), 表明95~344 bp区间是调节GATA3 IRES元件活性的主要区域。

为进一步研究GATA3的IRES元件, 对截短片段的二级结构进行了模拟, 结果如图5C所示。1~344 bp和1~244 bp二级结构相比较1~144 bp和1~94 bp的二级结构, 它们的二级结构更为复杂, 并且呈现一个大的“Y”形, 与已报道的BIP RNA的IRES元件的二级结构类似^[21], 可能这种结构更适合RNA结构的稳定从而有利于招募核糖体起始翻译。

2.4 无血清压力条件对GATA3 mRNA 5' UTR介导翻译的影响

很多研究发现, 对于可以抑制帽子依赖型翻译起始机制的各种细胞压力条件, 不同的细胞IRES元件具有不同的应答方式^[22], 以维持相应基因的表达。有报道发现, 在无血清培养条件下, IRES元件的活性具有上调的现象^[23]。于是, 我们将pRL-GATA3-FL重组质粒瞬时转染至A2780细胞中, 然后对细胞进行无血清培养, 将细胞阻滞在G₁期, 检测FL相对RL的活性。结果如图6所示, 无血清条件下, 细胞多数被阻滞在G₁期(表2), GATA3 mRNA 5' UTR介导的FL的表达相对RL明显升高。此结果表明, 无血清压力条件下, GATA3的IRES元件的活性上调, 而这也可能是细胞压

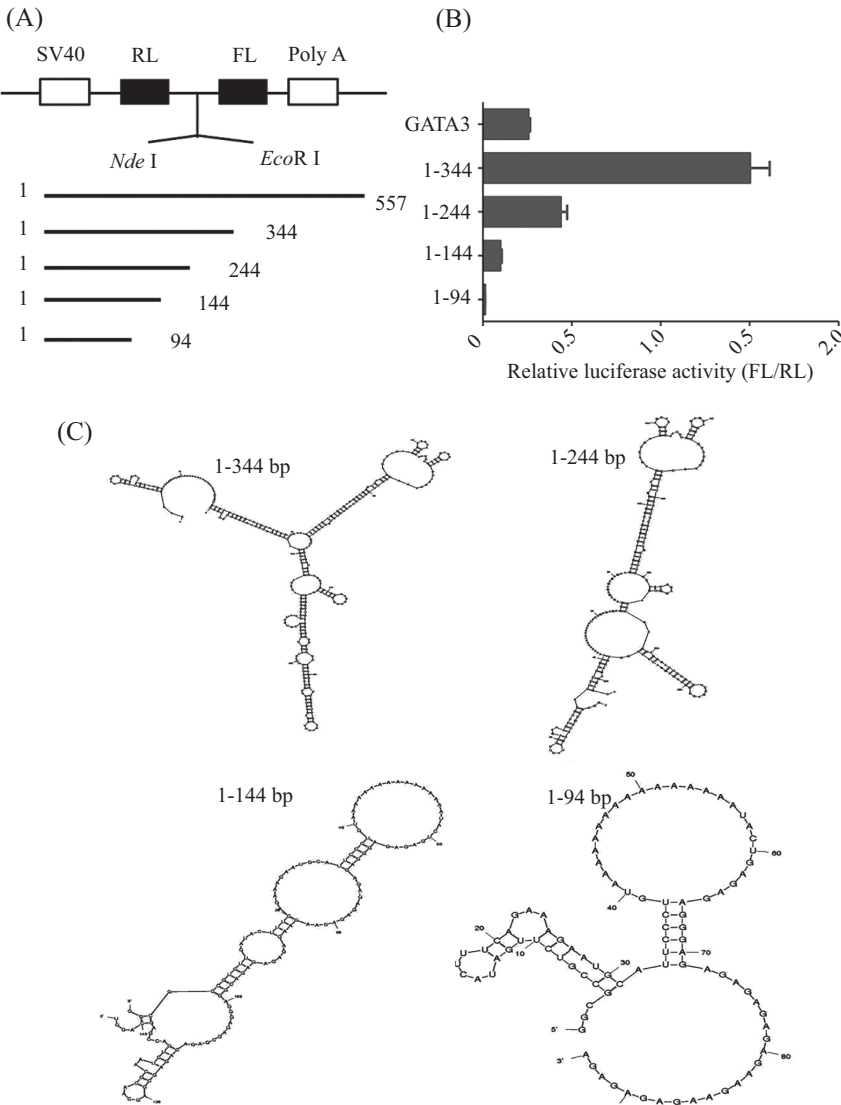


图中1、2、3、4表示对GATA3 mRNA 5' UTR截短的位置。

1, 2, 3 and 4 indicated the sites to truncate GATA3 mRNA 5' UTR.

图4 mfold软件模拟GATA3 5' UTR的RNA二级结构

Fig.4 The secondary structure of GATA3 5' UTR RNA as predicted by the mfold program



A: *GATA3* mRNA 5' UTR截短示意图; B: *GATA3* 5' UTR截短序列重组质粒转染A2780细胞的相对荧光活性; C: mfold软件模拟出的*GATA3* mRNA 5' UTR截短片段的二级结构。

A: schematic of truncated *GATA3* mRNA 5' UTR; B: IRES activity was measured from transfected dual-luciferase DNA constructs containing *GATA3* mRNA 5' UTR truncation parts into A2780 cells; C: schematic showed the secondary structures of the deletions fragment of *GATA3* mRNA 5' UTR as predicted by the mfold program.

图5 *GATA3* 5' UTR截短序列的IRES活性分析

Fig.5 IRES activity analysis of *GATA3* 5' UTR deletion fragments

表2 无血清压力下A2780细胞周期分布

Table 2 Phases of the A2780 cell cycle during serum starvation

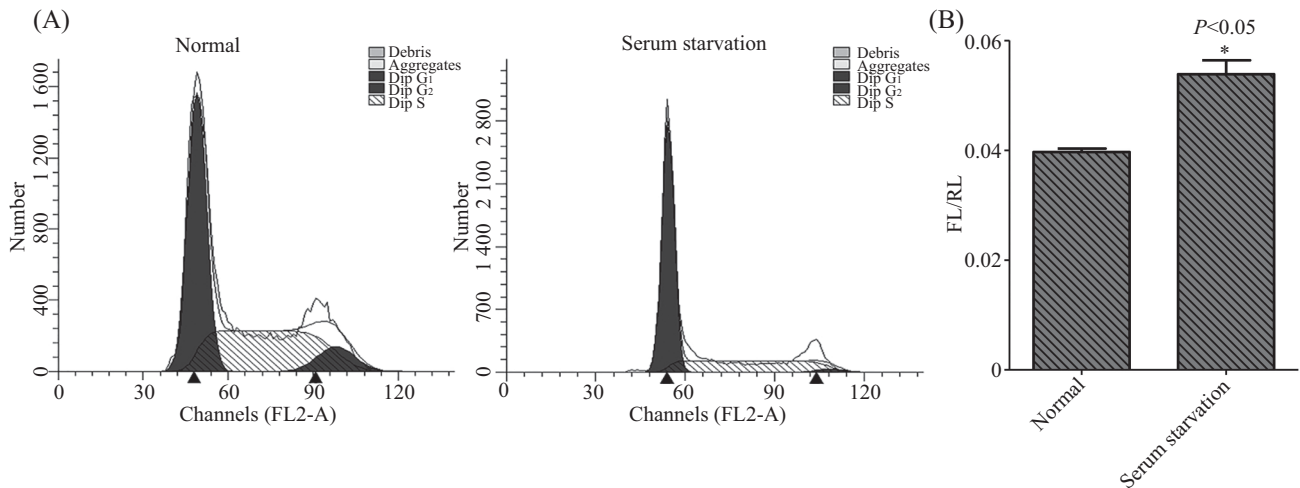
细胞周期	G ₁ 期	S期	G ₂ 期
Phases of the cell cycle	G ₁	S	G ₂
Normal	49.07%	42.24%	8.69%
Serum starvation	66.86%	31.25%	1.89%

力条件下*GATA3*基因表达异常的原因之一。

2.5 *GATA3* mRNA 5' UTR IRES元件在不同细胞系中的活性

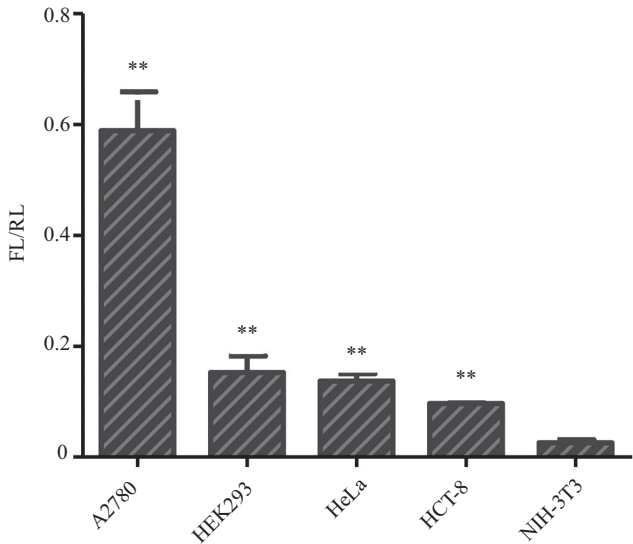
为检验不同细胞系对*GATA3* IRES元件活性变

化的影响, 我们将pRL-*GATA3*-FL重组质粒瞬时转染至不同的细胞系中, 然后检测其IRES活性。结果如图7所示, *GATA3* IRES元件的活性在不同的细胞系中, 具有明显差异(P 在0.003~0.008之间)。在人源肿瘤细胞中, *GATA3* IRES元件都表现出较高的活性, 特别是在A2780细胞中活性很高, 而在鼠源细胞NIH-3T3中, *GATA3* IRES元件几乎没有活性。这个结果与已报道的IRES元件在不同细胞系中活性的变化相一致^[23], 而IRES元件功能的发挥需要相应的IRES反式作用因子(IRES trans-acting factor, ITAF)的



A: 无血清条件下对A2780细胞周期的分析; B: 无血清条件下GATA3 IRES元件的活性。
A: analysis cell cycle of A270 cells under serum starvation; B: IRES activities of GATA3 during serum starvation.

图6 无血清压力条件对细胞周期和GATA3 IRES元件活性的影响
Fig.6 The cell cycle and IRES activities of GATA3 during serum-starved condition



** $P < 0.01$, 在多种细胞中GATA3 IRES活性与其在NIH-3T3中的活性相比较。
** $P < 0.01$ when GATA3 IRES activities in various cell lines compared with that in NIH-3T3 cells.

图7 GATA3 IRES元件在不同细胞系中的活性
Fig.7 The IRES activities of GATA3 in various cell lines

作用^[24], 鼠源NIH-3T3细胞中不具有GATA3 IRES元件的ITAFs可能是其没有表现出活性的主要原因, 而在不同的细胞系中, 这些ITAFs种类和含量不同则可能是GATA3 IRES元件在不同细胞系中存在活性差异的原因。

3 讨论

随着对IRES研究的深入, 研究者们更深刻地感受到IRES介导的翻译途径的神秘性和复杂性。由于所有的细胞IRES元件都具有帽子结构, 那么含有IRES元件的mRNA是同时使用两种机制进行翻译的

还是帽子结构实际上是支持内部翻译起始的, 就成为了大家关注的焦点。未来, 关于IRES介导的翻译途径的研究将更多地集中在细胞内的特定途径上。理解在不同细胞条件下IRES介导翻译的途径及其上游和下游调节机制, 将对确定新的药物靶点起着十分重要的作用。

本研究发现并证明了GATA3 mRNA 5' UTR具有IRES元件, 表明GATA3 mRNA 5' UTR可参与GATA3蛋白质翻译水平的调控。而在一些肿瘤细胞中发现, GATA3蛋白质翻译水平调控十分异常^[25], 是否与该翻译调控机制有关还需进一步的验证。通

过对*GATA3* mRNA 5' UTR进行序列截短分析, 初步发现了在*GATA3* IRES元件功能的发挥中不同区域的作用。同时发现, *GATA3* IRES元件在不同的细胞系中存在较大的活性差异, 特别是在A2780细胞中, 其IRES活性非常高, 这可能和IRES反式作用因子(ITAFs)有关。IRES功能的发挥需要ITAFs的作用^[24], 在不同的细胞系中这些ITAFs种类和含量不同, 可能是导致其活性差异的主要原因, 在这方面还需要实验的进一步验证。而在无血清培养条件下, *GATA3* IRES元件活性的升高可能是细胞在压力条件下蛋白质翻译水平异常的原因, 这点也需要更多的实验数据进行证明。

参考文献 (References)

- 1 Pevny L, Simon MC, Robertson E, Klein WH, Tsai SF, D'Agati V, *et al.* Erythroid differentiation in chimaeric mice blocked by a targeted mutation in the gene for transcription factor GATA-1. *Nature* 1991; 349(6306): 257-60.
- 2 Zhou Y, Lim KC, Onodera K, Takahashi S, Ohta J, Minegishi N, *et al.* Rescue of the embryonic lethal hematopoietic defect reveals a critical role for GATA-2 in urogenital development. *EMBO J* 1998; 17(22): 6689-700.
- 3 Dasen JS, O'Connell SM, Flynn SE, Treier M, Gleiberman AS, Szeto DP, *et al.* Reciprocal interactions of Pit1 and GATA2 mediate signaling gradient-induced determination of pituitary cell types. *Cell* 1999; 97(5): 587-98.
- 4 Cassidy LD, Narita M. CELL BIOLOGY. GATA get a hold on senescence. *Science* 2015; 349(6255): 1448-9.
- 5 Noh JY, Gandre-Babbe S, Wang Y, Hayes V, Yao Y, Gadue P, *et al.* Inducible Gata1 suppression expands megakaryocyte-erythroid progenitors from embryonic stem cells. *J Clin Invest* 2015; 125(6): 2369-74.
- 6 Molkentin JD. The zinc finger-containing transcription factors GATA-4, -5, and -6. Ubiquitously expressed regulators of tissue-specific gene expression. *J Biol Chem* 2000; 275(50): 38949-52.
- 7 Wendroth SM, Mentrikoski MJ, Wick MR. GATA3 expression in morphologic subtypes of breast carcinoma: A comparison with gross cystic disease fluid protein 15 and mammaglobin. *Ann Diagn Pathol* 2015; 19(1): 6-9.
- 8 Kouros-Mehr H, Slorach EM, Sternlicht MD, Werb Z. GATA-3 maintains the differentiation of the luminal cell fate in the mammary gland. *Cell* 2006; 127(5): 1041-55.
- 9 Peng H, Ke XX, Hu R, Yang L, Cui H, Wei Y. Essential role of GATA3 in regulation of differentiation and cell proliferation in SK-N-SH neuroblastoma cells. *Mol Med Rep* 2015; 11(2): 881-6.
- 10 顾 鹏, 周光炎. Notch信号及其对T细胞发育和分化的调节. 中国细胞生物学学报(Gu Peng, Zhou Guangyan. Notch signaling and its regulation of T cell development and differentiation. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2008; 30(4): 440-4.
- 11 Cohen H, Ben-Hamo R, Gidoni M, Yitzhaki I, Kozol R, Zilberberg A, *et al.* Shift in GATA3 functions, and GATA3 mutations, control progression and clinical presentation in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2014; 16(6): 464-80.
- 12 Ting CN, Olson MC, Barton KP, Leiden JM. Transcription factor GATA-3 is required for development of the T-cell lineage. *Nature* 1996; 384(6608): 474-8.
- 13 刘智多, 孙 兵. 转录因子Gata3在Th2细胞分化过程中的作用. 中国细胞生物学学报(Liu Zhiduo, Sun Bing. The role of transcription factor Gata3 in the process of Th2 cell differentiation. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2009; 31(6): 749-53.
- 14 Frelin C, Herrington R, Janmohamed S, Barbara M, Tran G, Paige CJ, *et al.* GATA-3 regulates the self-renewal of long-term hematopoietic stem cells. *Nat Immunol* 2013; 14(10): 1037-44.
- 15 Pelletier J, Sonenberg N. Internal initiation of translation of eukaryotic mRNA directed by a sequence derived from poliovirus RNA. *Nature* 1988; 334(6180): 320-5.
- 16 Macejak DG, Sarnow P. Internal initiation of translation mediated by the 5' leader of a cellular mRNA. *Nature* 1991; 353(6339): 90-4.
- 17 Sharma A, Masri J, Jo OD, Bernath A, Martin J, Funk A, *et al.* Protein kinase C regulates internal initiation of translation of the GATA-4 mRNA following vasopressin-induced hypertrophy of cardiac myocytes. *J Biol Chem* 2007; 282 (13): 9505-16.
- 18 Takeda M, Obayashi K, Kobayashi A, Maeda M. A unique role of an amino terminal 16-residue region of long-type GATA-6. *J Biochem* 2004; 135(5): 639-50.
- 19 Petz M, Kozina D, Huber H, Siwiec T, Seipelt J, Sommergruber W, *et al.* The leader region of Laminin B1 mRNA confers cap-independent translation. *Nucleic Acids Res* 2007; 35(8): 2473-82.
- 20 Fitzgerald KD, Semler BL. Bridging IRES elements in mRNAs to the eukaryotic translation apparatus. *BBA-Mol Cell Res* 2009; 1789 (9/10): 518-28.
- 21 Le SY, Maizel JV. A common RNA structural motif involved in the internal initiation of translation of cellular mRNAs. *Nucleic Acids Res* 1997; 25(2): 362-9.
- 22 Schepens B, Tinton SA, Bruynooghe Y, Parthoens E, Haegman M, Beyaert R, *et al.* A role for hnRNP C1/C2 and Unr in internal initiation of translation during mitosis. *EMBO J* 2007; 26(1): 158-69.
- 23 Dai W, Ma W, Li Q, Tao Y, Ding P, Zhu R, *et al.* The 5'-UTR of DDB2 harbors an IRES element and upregulates translation during stress conditions. *Gene* 2015; 573(1): 57-63.
- 24 Komar AA, Hatzoglou M. Cellular IRES-mediated translation: the war of ITAFs in pathophysiological states. *Cell Cycle* 2011; 10(2): 229-40.
- 25 程 凯, 周晓蝶, 余 波, 王 海, 周晓军, 石群立. 乳腺肿瘤组织中GATA3的表达及临床意义. 临床与实验病理学杂志(Chen Kai, Zhou Xiaodie, Yu Bo, Wang Hai, Zhou Xiaojun, Shi Qunli. GATA3 expression in breast tumor tissue and its clinical significance. *Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology*) 2015; 31(7): 725-8.