

参 考 文 献

- [1] Reyes M., et al., 2001, *Blood*, **98**:2615 - 2625.
- [2] Ferrari G., et al., 2001, *Nature*, **411**:1014 - 1015.
- [3] Petersen BE, et al., 1999, *Science*, **284**:1168 - 70.
- [4] Theise ND., et al., 2000, *Hepatology*, **32**:11 - 16.
- [5] Wang JS., et al., 2000, *J Thorac Cardiovasc Surg.*, **120**: 999 - 1005.
- [6] Toma C., et al., 2002, *Circulation*, **105**:93 - 98.
- [7] Orlic D., et al., 2001, *Ann N Y Acad Sci.*, **938**:221 - 229.
- [8] Jackson KA., et al., 2001, *J Clin Invest.*, **107**:1395 - 1402.
- [9] Mezey E., et al., 2000, *Science*, **290**:1779 - 1782.
- [10] Brazelton TR., et al., 2000, *Science*. Dec 1., **290**:1775 - 1779.
- [11] Krause DS., et al., 2001, *Cell*. **105**:369 - 377.
- [12] Kotton DN., et al., 2001, *Development*. **128**: 5181 - 5188.
- [13] Imasawa T., et al., 2001, *J Am Soc Nephrol.*, **12**:1401 - 1409.
- [14] Grant MB, et al., 2002, *Nat Med.*, **8**:607 - 612.
- [15] Pelosi E., et al., 2002, *Blood*, **100**:3203 - 3208.
- [16] 郭虹等, 2002, 中国医学科学院学报, **24**:606 - 610.
- [17] Seaberg RM. and van der Kooy D., 2002, *J Neurosci.*, **22**:1784 - 1793.
- [18] Rietze RL., et al., 2001, *Nature*, **412**:736 - 739.
- [19] Vescovi AL., et al., 2002, *Nat Med.*, **8**:535.
- [20] Taguchi M., et al., 2002, *J Pathol.*, **197**:638 - 646.
- [21] Lardon J., et al., 2002, *Histochem Cell Biol.*, **117**:535 - 540.
- [22] Forbes S., 2002, *J Pathol.*, **197**:510 - 518.
- [23] Yang L., et al., 2002, *Proc Natl Acad Sci USA.*, **99**: 8078 - 8083.
- [24] Dabeva MD., et al., 1997, *Proc Natl Acad Sci USA.*, **94**:7356 - 7361.
- [25] Ghazizadeh S., et al., 2001, *EMBO J.* **20**:1215 - 1222.
- [26] Lako M, et al., 2002, *J Cell Sci.*, **115**:3967 - 3974.
- [27] Adachi N., et al., 2002, *J Rheumatol.*, **29**:1920 - 1930.
- [28] Jankowski RJ., et al., 2002, *Gene Ther.*, **9**:642 - 647.
- [29] Seale P., et al., 2000, *Cell*. **102**:777 - 786.
- [30] Quaini F., et al., 2002, *N Engl J Med*. **346**:5 - 3415.
- [31] Terada N., et al., 2002, *Nature*, **416**:542 - 545.
- [32] Ying QL., et al., 2002, *Nature*, **416**:545 - 548.
- [33] Wang X. et al., *Nature*, published online 30 March 2003 ahead of print.
- [34] Jiang Y., et al., 2002, *Nature*; **418**:41 - 49.
- [35] Pang W. 2000, *Blood*. **95**:1106 - 8.
- [36] 呼莹等, 2002 中国医学科学院学报 **24**:20 - 24.
- [37] Guo H., et al., 2002, *China J of Mod Med.*, **12**:1 - 6.
- [38] Morshead CM., et al., 2002, *Nat Med.*, **8**:268 - 273.
- [39] Castro RF., et al., 2002, *Science*, **297**:1299.
- [40] Wagers AJ., 2002, *Science*. **297**:2256 - 2259.

真核生物细胞中无终止密码 mRNA 的降解

甘 强* 王逸云

(大连理工大学生物工程系 大连 116012)

摘 要 2002年, Frischmeyer 和 Hoof 等人发现真核生物细胞中具有一种新的 mRNA 监视机制——无终止密码 mRNA 降解途径, 与正常 mRNA 和无义 mRNA 降解途径不同, 无终止密码 mRNA 是在外切酶体介导作用下快速脱腺苷并进行 3'→5' 方向的水解。本文对无终止密码 mRNA 降解途径的研究现状做一简要介绍。

真核生物细胞中存在不同的 mRNA 降解途径, 对于正常 mRNA 降解, 目前已发现 3 种途径。第一, 主要途径是从 Poly(A) 尾巴水解缩短开始的, 随即进行 5' 端脱帽和 5'→3' 方向核酸外切酶作用的水解; 其次, Poly(A) 尾巴水解后直接进行 3'→5' 方向的水解; 第 3 种途径是特异性的核酸内切酶催化的 mRNA 降解^[1]。对于由于模板 DNA 突变、转录及加工过程的固有误差而产生的异常 mRNA (例如由编码氨基酸的密码子突变为终止密码子而使翻译提前终止的无义 mRNA 以及从核中逃逸出来含有内含子的 mRNA 等), 细胞依赖一种称为无义介导

mRNA 降解 (nonsense-mediated mRNA decay, NMD) 途径降解^[2-4], 与正常 mRNA 降解途径不同, NMD 不依赖于 Poly(A) 尾巴的水解缩短而直接进行 5' 端脱帽和 5'→3' 方向的水解。正常 mRNA 和上述的异常 mRNA 都具有终止密码, 但研究表明, 细胞中有些 mRNA 没有终止密码, 在原核生物中, 由无终止密码 mRNA (Nonstop mRNA, NS mRNA) 翻译成的蛋白质经修饰后其羧基末端附加了一段由 tmRNA (transfer-messenger RNA) 编码的

* 通讯作者。E-mail: todna@sina.com

多肽标签,在羧基末端特异蛋白酶(COOH-terminal-specific proteases)水解作用下,这种蛋白质在周质(periplasm)和细胞质中发生降解^[5]。但是,研究人员一直不清楚真核生物细胞是如何识别并降解 NS mRNA 的。2002年, Frischmeyer 和 Hoof 等人^[6,7]构建了无终止密码的转录本 PGK1,结果表明 NS mRNA 与无义 mRNA 一样不稳定,并被细胞识别和快速降解,从而发现了一种新的降解机制——NS mRNA 降解途径。本文就这种新的 mRNA 降解机制做一简要介绍。

一、与 NS mRNA 降解相关的作用因子

与正常 mRNA 及无义 mRNA 降解途径不同, NS mRNA 降解过程并不需要 NMD 的反式作用因子 Upflp、脱帽酶 Dcplp 及 5'→3'方向的核酸外切酶 Xrnlp,也不需要正常 mRNA 降解所需的脱腺苷酶 CCr4p,缺失 Upflp、Xrnlp、Dcplp 或 CCr4p 都没有影响 NS mRNA 的稳定性^[6]。研究结果表明 NS mRNA 的降解与外切酶体、Ski7p 和由 SKi2p、SKi3p 及 SKi8p 组成的异源三聚体解旋酶复合体(简称为 Ski 复合体)密切相关^[7]:(1)对外切酶体核心亚基成份 SK4-1 定点突变以破坏外切酶体对 mRNA 进行 3'→5'方向水解作用但不影响其他已知功能,结果 NS mRNA 稳定性至少提高 5 倍;(2)SKi2p、SKi3p、SKi8p 或 SKi7p 缺失时 NS mRNA 稳定性极大提高。

由于脱腺苷酶 CCr4p 与 NS mRNA 降解无关,而脉冲追踪实验表明,NS mRNA 脱腺苷过程非常迅速,甚至在 Ski7p 缺失的酵母菌株中也没有检测到其脱腺苷的中间态^[6,7]。目前认为,在 NS mRNA 降解中,外切酶体起双重功能,即迅速脱腺苷作用后进行 3'→5'方向的水解;而且由于 SKi2p 和 SKi7p 位于细胞质中,推测 NS mRNA 降解发生于细胞质中^[7-9]。

二、NS mRNA 的降解模型

携带 NS mRNA 的酵母菌株缺失带电荷 tRNA 或经真核蛋白质合成抑制剂环己酰亚胺处理后能极大增强 NS mRNA 的稳定性,表明 NS mRNA 降解与翻译密切相关^[6]。对于正常 mRNA,第一轮翻译后,mRNA5'端和 3'端分别通过 eIF4F 和 Pablp 形成一种环状结构以增强 mRNA 稳定性和翻译效率^[10]。但在终止密码突变的情况下,核糖体沿着 mRNA 一直翻译到 3'非翻译区和 Poly(A)尾巴,导

致 Pablp 的脱落,并破坏 mRNP(核糖核蛋白)的正常结构^[11,12]。不过 NS mRNA 在 Pablp 缺失的酵母菌株中并没有因此而快速降解,表明这不是 NS mRNA 降解的原因^[6]。

在翻译终止阶段,释放因子 eRF3 识别核糖体 A 位的终止密码,从而催化 GTP 水解,使肽链与核糖体解离。由于 Ski7p 的羧基末段区域与延伸因子 EF1A 和释放因子 eRF3 的鸟苷三磷酸酶的区域类似^[13],表明 Ski7p 通过结合在 mRNA3'末端的核糖体中空的 A 位点来识别 NS mRNA 与正常 mRNA,从而指导外切酶体降解 NS mRNA^[7],以下实验结果也支持这一结论:(1)Ski7p 与外切酶体亚基 Ski4p 或 Rrp4p 共纯化且在 1M NaCl 洗脱下仍结合在一起,表明 Ski7p 与外切酶体之间存在强的作用力;(2)Ski7p 通过其 N 端与外切酶体稳定结合,而其 C 端识别外切酶体并使其结合于 NS mRNA3'端;(3)Ski4-1 突变后严重减弱了 Ski7p 与外切酶体的共纯化作用,而且抑制了 NS mRNA 降解,表明 Ski7p 与外切酶体的结合有助于 NS mRNA 降解。据此,van Hoof 等人^[7]提出了如图 1 所示的真核生物中 NS mRNA 的降解模型。这种模型认为,真核生物中 NS mRNA 是经过以下步骤降解的:首先,核糖体沿着 NS mRNA 翻译到 Poly(A)尾巴后,Ski7p 通过核糖体中空的 A 位点来识别 NS mRNA;其次,Ski7p 借助于其羧基末段区域的特殊性,通过其 C 端识别外切酶体并使后者结合于 Poly(A)尾巴的核糖体 A 位点上,而其 N 端则与外切酶体结合;第三,与外切酶体结合后的 Ski7p 募集(recruit)Ski 复合体,从而组成降解 NS mRNA 的完整复合体;第四,外切酶体在 Ski7p 及 Ski 复合体协助下对 NS mRNA 快速脱腺苷并进行 3'→5'方向的水解。

三、NS mRNA 降解的生物学意义

NS mRNA 降解途径是新发现的一种降解机制,而且哺乳动物细胞中 NS mRNA 降解途径与酿酒酵母中的类似,表明这种机制普遍存在于高等真核生物中,具有重要的生物学意义^[6]。同时发现,3'末端位于终止密码上游或编码区内从而导致聚腺苷酸化提前成熟的 mRNA 也是 NS mRNA 降解的底物,进一步表明了这种机制的生物学意义^[6]。例如:酿酒酵母中 3425 个 mRNA 有 40 个的 3'末端位于终止密码上游(占总数的 1.17%);酿酒酵母中的 6375 个 mRNA 和人类中的 32755 个 mRNA 的编码区内分别有 52 个(占总数的 0.8%)和 239 个(占总

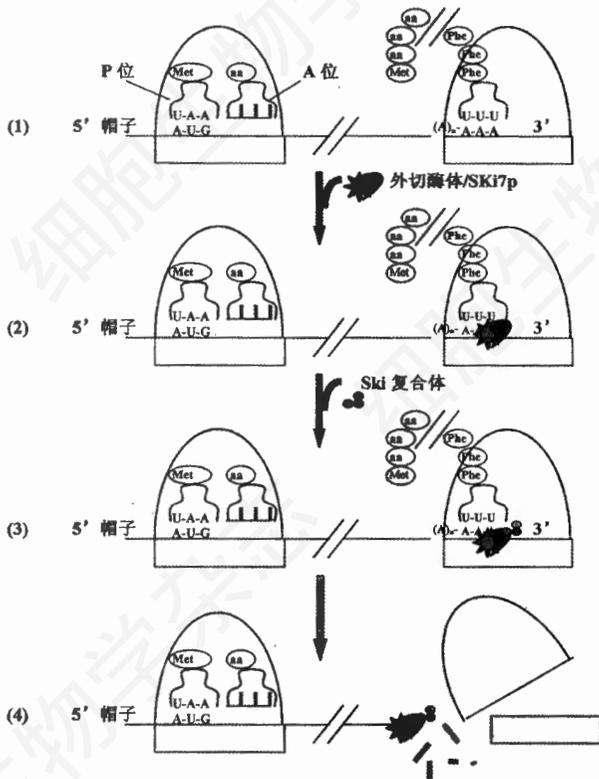


图1 真核生物中 NS mRNA 降解模型(仿文献^[14])

- (1) 核糖体沿 NS mRNA 翻译到 Poly(A) 尾巴后被 Ski7p 识别
- (2) Ski7p C 端识别外切酶体并使其结合于 Poly(A) 尾巴的核糖体 A 位点, 其 N 端与外切酶体结合
- (3) 与外切酶体结合后的 Ski7p 募集(recruit) Ski 复合体
- (4) 外切酶体在 Ski7p 及 Ski 复合体协助下对 NS mRNA 快速脱腺苷后沿 3'→5' 方向水解

数的 0.7%) 包含聚腺苷酸化加工信号。

图 1 的降解模型表明真核生物的 NS mRNA 是在翻译过程中被识别后降解的, 但在其降解前已合成的蛋白质在体内如何水解, 目前还不清楚。不过研究表明, 在 NS mRNA 降解途径受到抑制的条件下, 其翻译生成的异常蛋白质含量随时间的延长而增加, 进而影响细胞的正常生长, 因此 NS mRNA 降解途径可有效阻止异常蛋白质的产生, 维持细胞的正常生理活动^[7]。

参 考 文 献

- [1] Jacobs, J S. et al., 1998, *EMBO J.*, **17**(5):1497-1506.
- [2] Culbertson, M R. et al., 1999, *Trends Genet.*, **15**(2): 74-80.
- [3] Gonzalez, C I., et al., 2001, *Gene*, **274**(1-2):15-25.
- [4] Lykke-Andersen, J., 2001, *Current Biology*, **11**:88-91.
- [5] Keiler, K C., et al., 1996, *Science*, **271**:990-993.
- [6] Frischmeyer, P A. et al., 2002, *Science*, **295**: 2258-2261.
- [7] van Hoof, A., et al., 2002, *Science*, **295**:2262-2264.
- [8] Brown, J T., et al., 2000, *RNA*, **6**(3):449-457.
- [9] Araki, Y., et al., 2001, *EMBO J.*, **20**(17):4684-4693.
- [10] Wang, W., et al., 2001, *EMBO J.*, **20**(4):880-890.
- [11] Weiss, I M., et al., 1994, *Mol Cell Biol.*, **14**(12):8123-8132.
- [12] Wang, X., et al., 1995, *Mol Cell Biol.*, **15**(3):1769-1777.
- [13] Benard, L., et al., 1999, *Journal of Virology*, **73**(4): 2893-2900.
- [14] Maquat, L E., 2002, *Science*, **295**:2221-2222.

SMAD4/DPC4 基因与 TGF- β 超家族信号传导

石松林 李祺福*

(厦门大学生命科学学院细胞生物学研究室 厦门 361005)

摘 要 SMAD4 基因是一个肿瘤抑制基因。本文介绍了 SMAD4 基因和 SMADs 家族在 TGF- β 超家族信号传导中的作用, 并讨论了其抑制肿瘤的机制及其与肿瘤发生与发展的关系。

1996 年 Hahn 等报道了人类染色体 18q21.1 上的候选肿瘤抑制基因 SMAD4/DPC4 (deleted in pancreatic carcinoma, locus 4), 发现它在胰腺、胆、胃肠部的肿瘤中频繁的失活^[1]。Hahn 等发现, 约 90% 的胰腺癌染色体 18q 区域杂合性缺失, 应用 Southern 印迹分析和多重 PCR 技术对 35 例胰腺癌的 DPC4 基因进行分析, 发现其中 23 例(64%)至少有一个纯合性缺失。Schutte 报道约 30% 的胰腺癌

DPC4 为纯合性缺失, 20% 为基因内突变^[2]。在其他一些癌症, 如头颈部癌、膀胱癌、乳腺癌、成胶质细胞瘤、肝细胞癌、肺癌、黑素瘤、骨肉瘤、卵巢癌、前列腺癌和肾细胞癌中, DPC4 也有突变, 突变的频率一般不超过 10%。DPC4 的胚系突变在家族性的青少年息肉病中也有报道。研究表明, DPC4 缺失与失

* 通讯作者。E-mail: chifulee@163.net