专论与综述

Y-box 结合蛋白对 mRNA 的隐蔽作用

孔维华　高春蕾　左嘉客*

（*上海市计划生育科学研究所　上海　200032　山东大学生命科学学院　济南　250100）

Y-box 结合蛋白家族成员是自细菌到人类细胞中广泛表达的转录因子[1]，其中最初发现的是人类 YB1 蛋白，这种蛋白结合于 MHC Class Ⅱ基因和生殖细胞中具专一功能的一些基因的启动子区中 Y-box DNA 序列（CTGATTGGCCAA）[2]，这段序列的中心为反向 CCAAT box，是一段为所有 Y-box 结合蛋白能识别并结合的高度保守区。Y-box 结合蛋白既可结合于含 Y-box 的启动子，作为一种或负正调控因子参与细胞的转录调控，又可同 mRNA 结合，隐蔽 mRNA，起抑制翻译的作用[1]。本文仅就 Y-box 结合蛋白对 mRNA 的隐蔽作用作一综合介绍。

一、Y-box 结合蛋白的隐蔽信息作用

翻译抑制状态的 mRNA 的存储可以发生在所有细胞类型中，在动物和植物早期发育阶段尤为普遍。这些存储的 mRNA 在生理或环境信息的作用下可转变呈翻译状态。典型的例证是母性 mRNA，在卵子发生过程中合成和储存，于卵母细胞成熟和早期胚胎发生时，解除抑制而翻译蛋白质[3]。早期形成的 mRNA 对发育很重要，因为，转录活动被受精后减数分裂的完成和快速的细胞周期排斥在外。在精子发生过程中也存在类似的情况，许许多多的 mRNA，包括编码过渡蛋白 1、2（Transition protein 1、2）和鱼精蛋白 1、2 的 mRNA，在早期圆形精子细胞中就被转录储存达数天之久，直到后期伸长的精子细胞进行染色质包装时才开始翻译[4]。

这种翻译受阻现象是因为 mRNA 被蛋白质所隐蔽。被隐蔽的 mRNA 可通过蛋白质的降解和 poly A 的重建而获得完整的翻译能力[5]。具隐蔽 mRNA 作用的蛋白质可分为两类：一类为结合于 mRNA 特定序列或二级结构，抑制特定 mRNA 的翻译；另一类则对多种不同的 mRNA 均具抑制作用[6]。本文介绍的则就是后一类具通用抑制作用的 Y-box 结合蛋白。

Y-box 结合蛋白的隐蔽作用已被以下工作确信无疑地证实[7,8]：① 在 UV 照射之后，细胞内 mRNA 交联着大量的蛋白质；② 将表达 Y-box 结合蛋白的质粒转染细胞，则该细胞新合成的 mRNA 的翻译将受到抑制[9]。

在爪蟾卵母细胞中，mRNA-蛋白复合物（mRNP）的研究已取得很大进展[10]。爪蟾卵母细胞贮存的 mRNP 颗粒中包含多种丰富的蛋白质，通过 SDS-PAGE 电泳检测，其大小介于 50－60KD 之间。该分子量区间的头两条蛋白带即为 Y-box 结合蛋白，其中，分子量稍大的为 mRNP4（或 P60，P56），其相应的基因为 FRGY2；稍小的为 mRNP3（或 P56，P54），编码该蛋白的基因为 p54。实际上，它们的确切分子量分别只有 37KD 和 36KD，因迁移率几乎相同，故又分别被命名为 FRGY2a 和 FRGY2b。两者在整个卵发育过程中以相同的数量存在，几乎全部的或绝大多数的非多聚核糖体 mRNA 被它们结合，每一个蛋白质分子平均结合 40－50 个核苷酸残基。

小鼠 Y-box 结合蛋白 MSY1、MSY2 在生长和成熟的卵母细胞中被合成和储存；受精后(在 2 细胞的中后期)大量降解，4 细胞期时，合子型 MSY1 开始转录[11,12]。受精后 Y-box 结合蛋白的降解具解除其对 mRNA 隐蔽的功能，在早胚由母型调控向合子型调控的转换过程中可能起重要作用。

近年来，有实验证明雄性哺乳动物精母细胞和圆形精子细胞中也含有 Y-box 结合蛋白(如小鼠的 MSY1、MSY2)[4,11,13]，类同 FRGY2 与母系 mRNA 的结合，它们也与“父系”mRNA 结合，并与其翻译被抑制直接有关[13,14]。

Kutsu 等证实，在金鱼卵母细胞中发现的 Y-box 结合蛋白 P54(编码该蛋白的基因为 GFYP1、GFYP2)可同 Cyclin B 结合并隐蔽其功能，表明 Y-box 结合蛋白也可能在细胞周期调控中起重要作用[15]。

二、Y-box 结合蛋白与 mRNA 的结合特征

所有的 Y-box 结合蛋白都含有一个高度保守的区域，在该 70 个氨基酸组成的结构域中，有 40%以上与细菌冷休克蛋白(Cold Shock Protein，CSP)的冷休克域(Cold Shock Domain，CSD)相同[10]。真核细胞 Y-box 结合蛋白的 CSD 能识别双链、三链(H-Form)和单链的 DNA[16-19]，也能与 RNA 的专一序列(AACAUC)和非专一序列作用[17]。

细菌的冷休克蛋白 CS7.4 和 Csp B 的结构已通过 X-射线衍射图谱等确定[20]，其 CSD 含 5 条 β-折叠链。在真核生物中，CSD 之后连着一个辅助性的尾部结构域(Tail Domain，TD)，由酸性氨基酸区(Asparate 和 Glutamate)和碱性氨基酸区(Histidine，Lysine 和 Arginine)交替组成，各个氨基酸区分别由 30 个左右的氨基酸组成[10]。它有助于脊椎动物 Y-box 结合蛋白形成同源多聚体，也有助于与 DNA 或 RNA 结合[16,17,19]。也有人提出，这些酸性和碱性氨基酸的交替出现，似有电荷拉链(Charge zipper)的功能，具介导蛋白-蛋白间相互作用[21]。按预测，酸性区可形成 α-螺旋，而碱性区由于含有许多 Phe 和 Tyr 残基而被称为碱性/芳香岛(Basic/Aromatic Islands，B/A 岛[7]，图 1)。

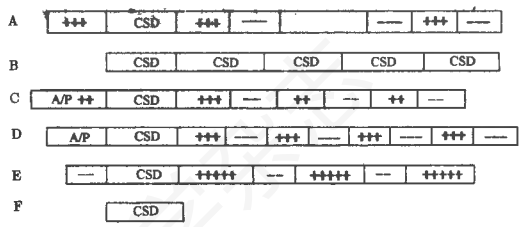

图 1 不同生物的 Y-box 结合蛋白结构模式图

A. 人类的 NSEP1。
B. 哺乳动物的 unr。
C. 大鼠的 RYBa。
D. 脊椎动物 YB1 型(YB1，MSY1，FRGY1，FRGY2)。
E. 无脊椎动物 APYB。
F. 细菌的 CSP(CspB，CS 7.4)。
+. 碱性区。
−. 酸性区。
A/P. 富含丙氨酸和脯氨酸区。

由于真核生物的 CSP 具有高度的序列保守性，可能具有与细菌 CSP 相同的 β-折叠结构，如 FRGY2(图 2)。Csp B 由 5 条反向平行的 β-链形成 2 个 β-折叠片，其中 β-折叠片-1 包括 β-1、β-2、β-3 链；β-折叠片-2 包括 β-1、β-4、β-5 链。高度保守的 B/A 岛自可溶性 β-折叠片-1 表面突出，具结合核酸的能力。其芳香环能与 RNA 的碱基作用，甘氨酸和靠近芳香环残基的短侧链使其结合表面更易接近核酸。另外，CSP 碱性区的正电荷对核酸也有潜在的吸引力[10]。

对大多数 RNA 来说，它们同 Y-box 结合蛋白的结合性能可简单地归纳如下[10]：β-2 链的核酸结合面上含有一个 RNP-1 样的模体(Motif)，而 β-3 链含有一个基本的 RNP-2 样模体，这两个模体相当于 RRM(RNA Recognition Motif)蛋白家族中的保守的 RNA 结合位点。尽管 CspB 和 U1A(RRM)剪接体蛋白的结

构不同，但它们芳香族侧链的空间排列是一致的。因此，冷休克蛋白的结构提示它们对单链核酸（无论是 DNA 或 RNA）的识别能力类同 RRM 家族 hnRNP A/B 类成员的。

除了利用含 FRGY2 某特定区段的重组多肽或专一的蛋白酶酶解的天然 FRGY2 片段，也可用重组 FRGY2 和体外转录本的衰退库（Degenerate Pool），并对被结合的转录本进行扩增和测序，进行比较分析，研究 CSD 识别 RNA 的能力和机制。后一研究结果发现，被结合的这些转录本中均含有 AACUAC 序列。FRGY2 片段的突变缺失实验也证实了识别是由 CSD 介导的。有些其他相关的核苷酸序列也能被结合，但亲和力低些[17]。

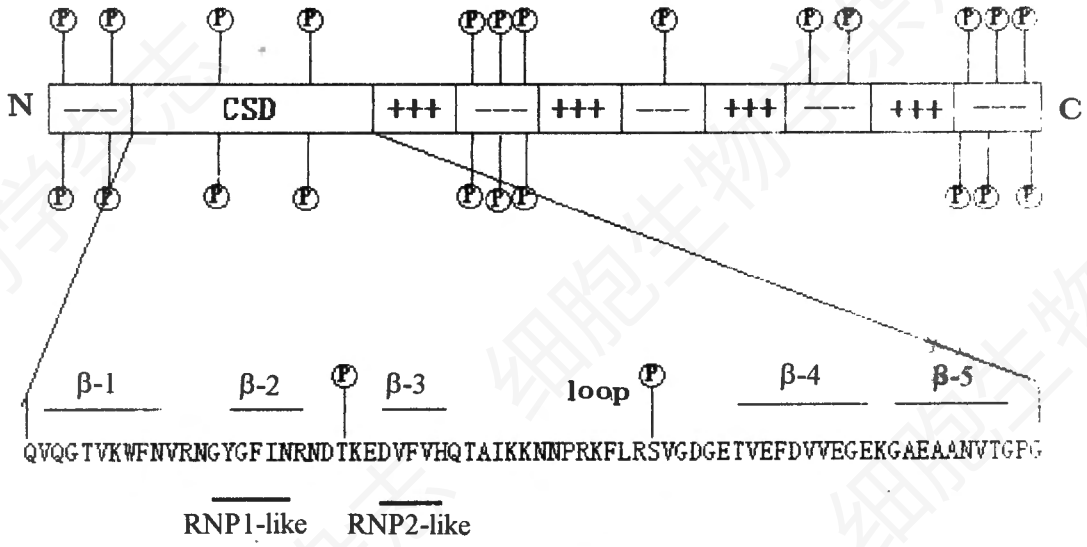

图 2 FRGY2 结构模式图

P 为预测能被酪蛋白激酶 I（Casein kinase-2，CK-2）磷酸化的位点。

哺乳动物的 unr 蛋白（由 N-ras 上游的可读框编码）是一种罕见的 Y-box 结合蛋白，它包括 5 个重复折叠的 CSD 而没有辅助性 TD（图 1）。这种 85KD 的蛋白在许多组织中都有表达，主要位于细胞质特别是内质网中。体外实验证明，unr 对单链 DNA 和 RNA 的选择性结合能力要强于对双链 DNA 的结合，对同源多聚序列 poly（G）的选择性结合强于其他序列[22]。这些发现表明，unr 可作为研究较复杂的 YB 蛋白中 CSD 特性的模型。

三、影响 Y-box 结合蛋白与 mRNA 结合的因素

Y-box 结合蛋白与 mRNA 的结合受多种因素影响：

1. 离子 上述 unr 蛋白与 RNA 的结合对 Mg^{2+} 浓度非常敏感，1－2mmol/L $MgCl_2$ 就足以解除这种结合[22]；FRGY2a/b 与 RNA 的结合也同样受到 Mg^{2+} 浓度的影响。通过有控制的反应条件（如在含 0.5mol/L NaCl 或 1mg/ml 肝素的环境中），可排除 TD 对结合的干扰，由此证实 CSP 完全具有 unr 的结合特征，即对 Mg^{2+} 浓度非常敏感，而对多聚阳离子不敏感。另外，在 1mmol/L $MgCl_2$ 和 1mmol/L 亚精胺的存在下，CSP 的碱性区域可选择性地同 Poly（C，U）作用[23]。这样，通过简单地控制阳离子的环境就可设置选择性结合的开关，如通过增加 Mg^{2+} 浓度可操纵 CSP 的结合倾向性，使之从 Poly（A，G）倾向到 Poly（C，U）[23]。

2. mRNA 的特征 实验证明，在一系列多聚核苷酸中，FRGY2a/b 对 Poly(A,G)和 Poly(G)的选择性作用很强，而对 Poly(A)则很弱[23]。预计其他 Y-box 结合蛋白也有同样的特点。

3. TD 对结合的影响 重组 FRGY2 的 TD 多肽片段能结合 RNA。将 FRGY2 母链经特定蛋白酶水解而获得的多肽片段与 RNA 结合的实验表明：一个独立的 B/A 岛就可足以同 RNA 进行特异结合[23]。将 FRGY2 的 CSD 裂解，余下的 TD 片段仍可特异识别 RNA[23]。在缺 Mg^{++}的情况下，TD 片段也像 CSP 一样，对多聚嘌呤有选择性结合的作用，如与 poly(A,G)和 poly(G)结合，而对 poly(A)无结合作用；在存在有 Mg^{2+}或多胺的条件下，该片段优先同多聚嘧啶混合物中的 poly(C,U)结合[23]。

在大多数 Y-box 结合蛋白中，TD 包含着由一些酸性区分隔的 4 个 B/A 岛(图 1)，其中碱性残基几乎全为聚集成群的 Arg，这样给带负电荷的糖-磷酸骨架(Sugar-Phosphate backbone)提供了一个广泛的电荷 作用环境。Arg 集群的内部含有若干 Phe，Tyr 和 Gly 残基，它们的侧链可同 RNA 的碱基紧密结合，这就是 B/A 岛和 RNA 能产生广泛交联的原因[23]。

4. CSD 襻(loop) CSD 中，β-3 链和 β-4 链间的襻区与含有 5 条 β 链的核糖体蛋白 S17 中的襻类似[24]。Y-box 结合蛋白襻区中含 RKFLR 序列，位于一段具短侧链的残基间，可能起到增强与其他分子作用的功能。

5. CSD 和 TD 的协同作用 体外结合实验表明，Y-box 结合蛋白可与许多不同的 RNA 序列作用，这种多样化识别能力与 CSD 和 TD 这两个不同区域同时存在于一个蛋白质上而产生的协同作用有关。带电荷的 TD 同 RNA 可产生普遍的结合作用，为 CSD 提供一个稳定的作用条件，识别特定序列的 RNA[17]。爪蟾卵母细胞显微注射重组 mRNPs 的实验也证明了两者的协同关系[18]。

6. 磷酸化 在卵母细胞中，FRGY2 的 Ser/Thr 侧链被 CK-2 磷酸化后可促进 FRGY2 与 mRNA 产生充分的光促交联[8]，说明了 Y-box 结合蛋白的结合能力同磷酸化有关。在 Y-box 结合蛋白中，大多数潜在的磷酸化位点位于 B/A 岛之间的酸性区，因此，该区域的负电性增强可促进它与 RNA 的结合。有证据表明，FRGY2a/b 的磷酸化还可增强 FRGY2-RNA 复合物的稳定性，但尚不清楚磷酸化是通过变构效应而利于结合 RNA，或是由于在 mRNP 颗粒内蛋白-蛋白间相互作用的增强来提高其稳定性的[25]。除 TD 外，CSD 内也有 2 个潜在的 CK-2 的磷酸化位点(图 2)，目前尚不清楚该区域的磷酸化是怎样影响它同 RNA 的结合[26]。

另一方面，从母性 mRNP 颗粒中回收的 FRGY2 可区分为多种亚型，这些亚型是由于磷酸化程度不同而产生的。凭借这种磷酸化的差异可区分出所结合的 mRNA 类型[27]。由此推测从 Y-box 结合蛋白上选择性释放出来的 mRNAs 有可能是通过差异脱磷酸化实现的。

四、隐蔽效应及其调节

注入到爪蟾卵母细胞细胞质中的裸露 mRNA 可被高效地翻译为蛋白质，似乎表明细胞质内丰富的 FRGY2 对新注入的 mRNA 并无隐蔽作用。若将特定的报告 RNA 组件(reporter RNA constructs)[28]或从 DNA 中转录出的 RNA[29]注入到核内，它们将被转运到细胞质中，但不能进行翻译。近年来，通过活细胞显微注射和转染报告 RNA 组件进一步研究了 mRNA 的隐蔽发生的原因、位点及影响隐蔽作用的因素，取得了一定的成果。

1. 生殖细胞中隐蔽效应具转录依赖性

利用显微注射法，对爪蟾卵母细胞中编码组蛋白 H1 的 mRNA 隐蔽作用进行了研究。当将体外合成的组蛋白 H1 mRNA 注入到细胞质中时，该 mRNA 能够翻译成蛋白质；当注入到核内并被高效转移到细胞质时，也可被翻译成

蛋白质;但当将组蛋白H1基因的DNA组分注入到核内,经核内转录,随后的情况就发生根本性变化—这些核内转录的mRNA被隐蔽。将从卵母细胞中抽提到的、被隐蔽的mRNP注入到另一批卵母细胞的细胞质中,只有它们在再次注射之前被去蛋白化后,才具翻译功能[29]。说明只有体内合成的mRNA才能被包装成处于翻译抑制状态的mRNP。在这一过程中,Y-box结合蛋白结合了新生的转录产物,使隐蔽mRNA的效应具转录依赖性。但注入核内的组蛋白H1 mRNA(非卵母细胞自身的转录产物)也可同Y-box结合蛋白交联,因而推测尽管隐蔽作用是转录依赖性的,但Y-box结合蛋白同mRNA的结合并不依赖转录。

另一个例证是[30]:CAT报告mRNA被注入到细胞质中,可有效地被翻译,注入到核内却导致翻译的完全抑制。说明注入到核环境中的RNA若不被及时转运到细胞质内,则会暴露于Y-box结合蛋白的作用之下而被隐蔽。抗Y-box结合蛋白的抗体可部分逆转翻译抑制状态,但仅限于注入到核内的而非核外的。

以上结果都显示Y-box结合蛋白是作为核内因子使RNA隐蔽的。

2. 生殖细胞中磷酸化的Y-box结合蛋白对核内装配隐蔽的mRNP是必须的 蛋白质磷酸化在体内mRNA隐蔽过程中的重要性可通过共注射实验得以验证[30]。将报告RNA和抗CK-2的抗体共注射核内时,可使20%具翻译潜能的RNA脱离隐蔽状态。以CK-2的抑制因子DRB(5,6,-dichloro 1-B-D ribofuranosyl benzimidiolazole)或Quercetin处理卵母细胞会产生类似的效果,而用无活性的Quercetin类似物Ratin处理则无效。这个结果说明,核内CK-2通过对FRGY2a/b进行磷酸化使FRGY2a/b得以顺利结合mRNA而发挥其抑制翻译的功能。

孕酮处理长足的卵母细胞也可逆转隐蔽作用,而且在已被隐蔽的CAT报告基因的翻译中起作用。在体内,孕酮可促进卵母细胞成熟,反映许多被隐蔽的、涉及细胞周期和减数分裂依赖性的mRNAs恢复翻译[30]。这种孕酮诱导的成熟是mRNA隐蔽逆转的一个重要阶段。尽管在趋向卵母细胞成熟末期,磷酸酶(Phosphatase)活性有所增加,但尚不清楚它对脱隐蔽有何影响[10]。

孕酮的这种脱隐蔽功能可被一种特异的磷酸酶抑制因子Okadaic所阻断,这意味着Y-box结合蛋白的磷酸化形式对维持mRNA的某种隐蔽状况是必须的。上述这些隐蔽或脱隐蔽效应似乎同聚腺苷酸化(加poly(A))无关,因为加入3-脱氧腺苷(一种阻断继续聚腺苷酸化的抑制剂)对报告mRNA的隐蔽和脱隐蔽没有影响。由此断定,至少在爪蟾卵母细胞中,Y-box结合蛋白的磷酸化是核内装配隐蔽mRNP的驱动力[30]。

另外,最近有人从爪蟾卵母细胞中分离出一种大小为320KD、与翻译调控有关的颗粒,发现该颗粒中含有mRNP3+4(即FRGY2a/b)和9个附加的多肽片段,其中包括结合mRNA多肽和核仁蛋白。该颗粒具蛋白激酶活性,可磷酸化自身(mRNP3+4和核仁蛋白等),在麦胚体外翻译系统和兔网织红细胞裂解物翻译系统中均具有明显的抑制作用[31]。

3. 生殖细胞中隐蔽效应的启动子和内含子依赖性问题 组蛋白H1 mRNA的研究中发现,隐蔽效应似乎不依赖于驱动它表达的启动子类型,与构件中有无内含子也无关。但这并非普遍现象。在对病毒启动子的研究中发现,确有启动子依赖性隐蔽作用的存在,如CMVA启动子可指导爪蟾卵母细胞中报告组件的转录,且转录产物可高效地翻译,而同样的报告组件使用了HIV启动子后,其转录产物不能被翻译[28]。HIV启动子-340位的点突变可逆转翻译受阻现象,而该位点与能结合转录因子GATA家族成员的序列相一致[32]。这一现象同内源性基因的转录是否相关还不太清楚,但看起来,启动子序列的组成和启动子所结合的蛋白谱,通过促进或抑制Y-box结合蛋白与RNA的结

合，能支配其转录本的翻译命运。

将加帽和聚腺苷酸化的、含有 CAT 或荧光素酶翻译报告分子的 mRNAs 注入核内，发现它们直接地进入隐蔽通道[32]。含有功能性内含子的 mRNA 构件则可躲过隐蔽通道，但剪接供体的任一单点突变就足以逆转此效应。推测在缺少内含子或存在错误内含子的情况下，mRNAs 会被隐蔽起来。其他的一些重要例证还有：卵母细胞中被隐蔽的 c-mos、hsp70、核心组蛋白和组蛋白 H1 等的 mRNA 都没有内含子，说明上述情况并非巧合。尽管还不清楚无内含子基因的 mRNA 在被隐蔽的总 mRNAs 中占有多大的比例，但迅速地（未经剪接的）进入隐蔽状况并产生稳定的隐蔽 mRNA，可隔绝致命的错误信息。另外，隐蔽错误拼接的 mRNA，也可从翻译水平上去除错误转录本对细胞的影响[32]。

4. 体细胞中 Y-box 结合蛋白对 RNA 的隐蔽作用 体细胞中 Y-box 结合蛋白对 mRNA 的隐蔽作用已在爪蟾 A6 细胞系中进行了研究[9]。将 hsp70-Cat DNA 构件同 CMV-FRGY2 共转染细胞，由于 hsp70 启动子中含有一段 Y-box 序列，而 FRGY2 可由 CMV 启动子引导表达，这样，FRGY2 即可作为转录因子，又可作为隐蔽效应蛋白。根据共转染的结果发现：hsp70-Cat 的转录效率增加了 3-5 倍，而翻译效率却下降了 4 倍；若将 hsp70 中的 Y-box 序列进行突变，翻译能力的下降仍然存在。产生上述现象的可能原因是：由 FRGY2 调节的转录效应和由 mRNA 包装调节的翻译效应不一致。研究还发现，FRGY2 蛋白和 hsp70-Cat mRNA 共存于含 mRNP 颗粒的密度梯度范围中。将 FRGY2 的 CSD 或 TD 进行适当的缺失并分别表达，发现当 CSD 单独表达时，可促进转录活动，而 TD 单独表达时无此功能，却抑制翻译活动。这些发现同以上讨论的体外结合研究结果是一致的。

P50 为哺乳动物体细胞 mRNPs 的重要核心蛋白，分布在细胞质，已被确定为一种 Y-box 结合蛋白。在 COS-1 细胞中，P50 的数量约为 mRNA 的 5—10 倍，且同 mRNA 呈正相关。用携带 p50 的表达载体瞬时转染 COS-1 细胞，可显著抑制被转染细胞蛋白质的合成，而用表达移码突变的 p50 载体，则无翻译抑制作用。说明 p50 在这些细胞内的表达和量的增加是产生抑制翻译作用的原因[33]。

五、展 望

核酸与蛋白质可组成核蛋白复合体，该类结构具调控基因转录和翻译的作用。业已知，核蛋白复合体调控基因表达的功能是通过改变复合体的结构和稳定性来实现的。近年来，一些遗传和生化的实验结果已揭示由复合体中的单一蛋白即可完成调控转录和翻译的多功能机制，并可能由此推断出供调控基因表达的一些新调节位点。Y-box 结合蛋白就是此类能与 DNA、RNA 相互作用并由此调控一些特异基因转录和翻译的蛋白质。

Y-box 结合蛋白均具冷休克域（CSD）。在原核生物中，CSD 如同 RNA 伴侣分子，对 RNA 二级结构具有去稳定的作用，由此调控低温条件下的翻译活动；它也具有结合 DNA 并调节转录活动的功能。在真核生物中，Y-box 结合蛋白的多功能特性也是通过其高度保守的 CSD 来改变双链 DNA 的结构稳定性和使 RNA 成为单链形式而实现的。对核蛋白复合体的结构、CSD 的活性、Y-box 结合蛋白的丰度、不同 Y-box 结合蛋白的特征以及其识别特定核酸序列和结构的能力等一系列问题的进一步研究，都是确切了解 Y-box 结合蛋白调控基因表达的机制所必不可少的。

在生殖细胞的生理性活动中，翻译调节功能显得特别重要。某些 Y-box 结合蛋白具有将 Pre-mRNA 的核内经历（转录和剪接）与其在细胞质中的命运（翻译）偶联在一起的作用。显然，以核蛋白复合体的形式来调控 mRNA 由“摇篮到坟墓”的活动，成为调控基因表达的一

种新机制。在此过程中，有必要研究和揭示哪些是决定 Y-box 结合蛋白自 mRNA 上释放的因素。

Y-box 结合蛋白是一种磷蛋白，因此，调控其磷酸化的或去磷酸化的酶活性有着修饰调整核蛋白复合体稳定性的作用。基于 Y-box 结合蛋白的诸多特性，应将核蛋白复合体视作基因表达调控作用过程中的一种真正底物。Y-box 结合蛋白的研究之所以受到重视，还因为它不仅是基因表达的多功能调节因子，而且有可能是低温条件下调控细胞生理性功能的一类主要调节因子。因此，深入研究依赖低温表达的 Y-box 结合蛋白在生殖细胞发生和成熟过程中的作用，有望解释依赖温度而出现的生物区域性分布的原因。

值得注意的是，有的 Y-box 结合蛋白（如 YB1）多功能特性还表现在它具有识别特定损伤 DNA 的能力，并与增殖细胞抗原（Proliferating Cell Nuclear Antigen，PCNA）结合[34]，推测它在 DNA 损伤修复或指导 DNA 损伤后的细胞反应中起重要作用。

摘 要

本文介绍了 Y-box 结合蛋白与 RNA 的结合特征、影响因素以及 mRNA 隐蔽作用的调节等，分析了 Y-box 结合蛋白翻译抑制作用的原理和意义。由于 Y-box 结合蛋白特殊的、高度保守的结构，决定了它们与 RNA（或 DNA）的结合特征。任何影响 Y-box 结合蛋白结构的因素都将不同程度地影响其功能。Y-box 结合蛋白被认为是生殖细胞和早胚细胞中含量最丰富的蛋白质之一，为“母系”和“父系”mRNP 颗粒中的主要成分，在隐蔽 mRNA 中起重要作用。因而，对 Y-box 结合蛋白的研究，将对生殖细胞的成熟、早胚发育的分子机制以及母型向合子型过渡等一系列问题的解释都会有帮助。另外，研究范围若扩展到体细胞领域，也将对相关的研究有促进作用。

参 考 文 献

[1] Wolffe, A. P., 1994, *BioEssays*, **16**: 245－251.
[2] Didier, D. K. et al., 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**: 7322－7326.
[3] Richter, J. D. 1991, *BioEssays*, **13**: 179－183.
[4] Kleene, K. 1996, *Mol. Reprod. Dev.*, **43**: 268－281.
[5] Kick, D. et al., 1987, *Nucleic Acids Res.*, **15**: 4099－4109.
[6] Curtis, D. et al., 1995, *Cell*, **81**: 171－178.
[7] Murray, M. T. et al., 1991, *J. Cell Biol.*, **112**: 1－11.
[8] Marello, K. et al., 1992, *Nucleic Acids Res.*, **20**: 5593－5600.
[9] Ranjan, M. et al., 1993, *Genes Dev.*, **7**: 1725－1736.
[10] Sommerville, J. 1996, *FASEB J.*, **10**: 435－443.
[11] GU, W. et al., 1998, *Biol. Reprod.*, **59**: 1266－1274.
[12] Paynton, B. V. 1998, *Dev. Genet.*, **23**: 285－298.
[13] Tafuri, S. T. et al., 1993, *J. Biol. Chem.*, **268**: 12213－12200.
[14] Kwon, Y. K. et al., 1993, *Dev. Biol.*, **158**: 90－100.
[15] Katsu, Y. et al., 1997, *Eur. J. Biochem.*, **249**: 854－861.
[16] Wolffe, A. P. 1992, *new Biol.*, **4**: 290－298.
[17] Bouvet, P. et al., 1995, *J. Biol. Chem.*, **270**: 28297－28303.
[18] Matsumoto, K. et al., 1996, *J. Biol. Chem.*, **271**: 22706－22712.
[19] Nambiar, A. et al., 1998, *J. Virol.*, **72**: 900－909.
[20] Schindelin, H. et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**: 5119－5123.
[21] Ozer, J. et al., 1990, *J. Biol. Chem.*, **265**: 22143－22152.
[22] Jacquemin-Sablon, H. et al., 1994, *Necleic Acids Res.*, **22**: 2643－2650.
[23] Ladomery, M. et al., 1994, *Necleic Acids Res.*, **22**: 5582－5589.
[24] Golden, B. L. et al., 1993, *Biochemistry*, **32**: 12812－12820.
[25] Schnuchel, A. et al., 1993, *Nature (London)*, **364**: 169－171.
[26] Schroder, K. et al., 1995, *Mol. Microbiol.*, **16**: 699－708.
[27] Cummings, A. et al., 1989, *Biochem. Biophys. Acta*, **1014**: 319－326.

[28] Bradock, M. et al., 1990, *Cell*, **62**: 1123－1133.
[29] Bouvet, P. et al., 1994, *Cell*, **77**: 931－941.
[30] Bradock, M. et al., 1994, *Nucleic Acids Res.*, **22**: 5255－5264.
[31] Yurkova, M. S. et al., 1997, *J. Biol. Chem.*, **272**: 10870－10876.
[32] Gunkel, N. et al., 1995, *Nucleic Acids Res.*, **23**: 405－412.
[33] Davydova, E. K. et al., 1997, *Nucleic Acids Res.*, **25**: 2911－2916.
[34] Ise, T. et al., 1999, *Cancer Res.*, **59**: 342－346.

热休克蛋白和蛋白水解酶与生物的应激反应

伍 雁 徐存拴
（河南师范大学生命科学学院 新乡 453002）

1962 年，法国学者 Ritossa 在研究果蝇多线染色体时发现，果蝇一旦经热或化学处理，就会诱导其多线染色体产生一些特异的染色体膨大，即激活一些基因的表达[1]。这些基因的表达产物热休克蛋白（HSP）已被纯化[2]，基因也逐渐被分离[3]。以后进一步研究发现，几乎所有生物，当受到各种应激因子（生物、生理、物理、化学等）刺激时，其细胞和生物体会合成一套保守的多肽即热休克蛋白，从而保护生物免受应激胁迫的损害，这一系列的代谢变化，就是生物的热休克反应（HSR），也称为生物的应激反应（stress response），它是生物在长期的进化过程中保留下来的自我保护机制[3]。

热休克蛋白由一些最保守的蛋白家族构成。热休克蛋白家族包括构成性和诱导性成员。构成性热休克蛋白（HSC）含量比较丰富，存在于正常细胞中，它们主要在细胞的正常发育、分化和代谢中发挥作用[4,5]；诱导性热休克蛋白（HSP）在生物的应激反应中合成，主要在保护生物免受应激胁迫的损害中发挥作用[6,7]。

通常，诱导表达热休克蛋白（HSP）的信号是“异常”蛋白质（即变性蛋白质）的出现[8]。在体内能充分诱导热休克蛋白合成的处理，在体外也能使蛋白质损伤或变性。因此，象高浓度乙醇，重金属离子，氨基酸类似物，嘌呤霉素等这些可导致蛋白质变性的物质，都可诱导一个热休克样的反应[9,10]。另外，外来蛋白和/或变性蛋白在胞内的累积也可诱导很多类型的细胞合成热休克蛋白[8,11]。

现在研究发现，HSPs 至少可通过两个最一般的途径，去帮助细胞处理胁迫造成的多肽链的损伤。第一，HSPs 能促进变性蛋白质的降解。这些受损蛋白的快速降解可以减少其与功能蛋白发生有害联系，可以防止不溶蛋白的有害积累，并可以释放无功能多肽中的氨基酸从而合成其他新的功能蛋白。实际上，一些 HSPs 本身固有蛋白水解活性，而一些 HSPs 在蛋白水解中起辅助作用[9]。第二，HSPs 能使胁迫损伤的变性蛋白质复性。已知一些 HSPs 是“伴侣分子”（chaperone），与变性蛋白质结合，阻止变性蛋白质的聚合并促进其正确的重新折叠。实际上，很多热休克蛋白的分子伴侣功能与它们的蛋白水解功能是重叠的，即它们既能够降解机体受损伤后产生的变性蛋白质，又能够作为分子伴侣结合在变性蛋白质上防止蛋白质的聚集，并帮助变性的蛋白质恢复其天然结构和活性。这种重叠性就大大提高了 HSPs 在应激反应中的作用效率。但是，为什么一些变性蛋白走降解途径，而一些走复性途径，目前还不清楚。有作者认为，当蛋白发生可逆变性时，它们会在 HSPs 的协助下走复性途径；当蛋白发生不可逆变性时，它们会在 HSPs 及其他蛋白（酶）的

感谢北京师范大学生命科学学院薛绍白教授对本文的指导和审改。