

• 综述 •

## 多种功能的 Poly(C)-结合蛋白

霍丽蓉, 王晓民\*

(首都医科大学基础医学院生理学系 教育部神经变性病重点实验室, 北京 100069)

**摘要** 细胞内的 RNA 一般不会单独存在,而是与各种各样的 RNA 结合蛋白(RBPs)绑定在一起,形成核糖核蛋白复合体(RNP complexes)影响着 RNA 的加工与转归。Poly(C)-结合蛋白是一类重要的 RNA 结合蛋白,可分为两组:hnRNP K 和 PCBP1-4。它们以序列特异的方式与核酸嘧啶富含区相结合。这类蛋白具有共同的结构模体(motif),即 hnRNP K 同源(KH)域。KH 域是与 mRNA 结合的结构基础,也是机体内调控系统的组成部分,可使得 Poly(C)-结合蛋白参与蛋白/核酸、蛋白/蛋白之间的相互作用,范围涉及复制、转录、mRNA 稳定和翻译控制过程等。对 Poly(C)-结合蛋白功能的深刻认识可使我们洞察多种疾病的病理生理过程。

**关键词** 核不均一核糖核蛋白; hnRNP K 同源(KH)域; RNA 结合蛋白; 转录后调控

中图分类号 Q71

## Multifunctional Poly(C)-binding Proteins

HUO Li-Rong, WANG Xiao-Min\*

(Department of Physiology, Key Laboratory for Neurodegenerative Disorders of Ministry of Education,  
Capital Medical University, Beijing 100069, China)

**Abstract** The processing and ultimately turnover of mRNA are complex processes that are highly regulated. Within a cell, RNA is usually not in a naked form. It forms ribonucleoprotein (RNP) complexes with various RNA-binding proteins (RBPs), thereby influencing processing and turnover events. Poly(C)-binding proteins (PCBPs), generally known as RBPs, interact in a sequence-specific fashion with single-stranded poly(C). They can be divided into two groups: hnRNP K and PCBP1-4. PCBPs and hnRNP K share a common structural motif, the hnRNP K homology (KH) domain, which provides a structural basis for mRNA binding. The KH-domains are components of a modular system, which enables the proteins to be engaged in both protein/nucleic acid and protein/protein interactions. The latter interactions are involved in cell signaling events. As components of different mRNA-protein complexes, PCBPs and hnRNP K have been identified as factors involved in regulating duplication, transcription, mRNA stability and translation. They have also been found related to some pathological processes, such as Hutchinson-Gilford Progeria syndrome, virus infections and malignancy.

**Key words** hnRNPs; hnRNP K homology (KH) domain; RNA binding proteins; post-transcriptional regulation

真核生物 mRNAs 所包含的大量信息除了编码多肽的部分,更重要的是控制 mRNA 功能的 5'-和 3'-非翻译区(untranslated regions, UTRs)。这些区域的功能包括翻译控制、mRNA 稳定或细胞内定位等,而这些功能的体现主要通过具有反式作用的 RNA 结合蛋白(RNA binding proteins, RBPs)与 UTRs 结合来介导<sup>[1]</sup>。核不均一核糖核蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoproteins, hnRNPs)参与 RNA 相关的一些生物学过程,比如转录、前 mRNAs 的加工成

熟、mRNAs 从核内的运出<sup>[2]</sup>,以及某些蛋白的翻译

收稿日期: 2010-12-03; 接受日期: 2011-01-07

国家重点基础研究发展规划(973 计划)资助项目(No. 2006CB500700)

\* 联系人 Tel: 010-83911707; E-mail: xmwang@ccmu.edu.cn

Received: December 3, 2010; Accepted: January 7, 2011

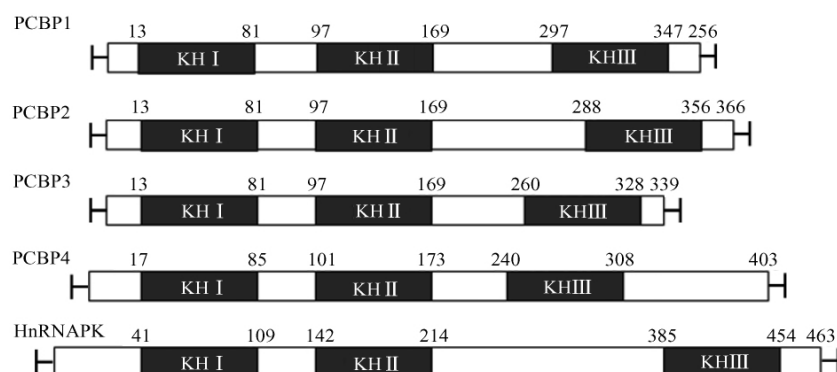
Supported by Major State Basic Research Development Program of China (973 Program, No. 2006CB500700)

\* Corresponding author Tel: 010-83911707;

E-mail: xmwang@ccmu.edu.cn

控制. 目前, 已知的 hnRNPs 从 A1 到 U 共约 20 多种. 其中 1 个亚家族可被分为 2 组: hnRNP K 和 hnRNP E1-4 (又被称为 poly-(C)-结合蛋白, 即 PCBP s). 它们属于同一类 RNA 结合蛋白, 都有 3 个

高度保守的 hnRNP K 同源 (hnRNP-K-homology, KH) 域 (如 Fig. 1 所示), 通过 KH 域可与核酸靶分子的嘧啶富含区相互结合而发挥作用, 有转录调节和稳定胞浆 mRNA 的功能<sup>[3,4]</sup>.



**Fig. 1 The corresponding genetic loci of PCBP1-4 and hnRNP K** The position of each KH domain was indicated by a shaded box. Numbers above the protein diagrams indicated the sizes of each protein in amino acids. These proteins all bore three copies of an RNA binding motif, the hnRNP K homology (KH)-domain consisting of 65-70 amino acids<sup>[3]</sup>

从组成上来看, PCBP1 和 PCBP2 具有高度的氨基酸序列同源性 (89%), 其基因位点分别在 2p12-13, 12q13.12-q13.13. 其中 PCBP1 最早被发现<sup>[5]</sup>, 它由 356 氨基酸组成, 分子量 43/38 kD, 在骨骼肌、胸腺、神经组织、外周血白细胞中表达丰富, 在前列腺、脾脏、睾丸、卵巢、小肠、心脏、肝脏、肾上腺、甲状腺细胞中也有表达. PCBP3 与 PCBP1/2 有较大差异, 而 PCBP4 差异最大 (与 PCBP2 差异度大于 52%, Fig. 1).

## 1 高度保守的 KH 域

KH 域是 hnRNP K 或 PCBP1-4 与 RNA 结合的结构基础. 其最初定义为: 在 hnRNP K 中重复了 3 次的 45-55 个氨基酸残基的保守区域. 但后来研究进一步证实, KH 域由 65-75 个保守的氨基酸残基组成 (Fig. 1), 并且除了 hnRNP K, 在其它众多的蛋白序列中都有 KH 域. 例如, nova 是有 3 个 KH 域的神经元特异蛋白, 仅表达于中枢神经系统; 脆性 X 智障基因 (fragile X mental retardation, FMR1) 编码的蛋白包含 2 个 KH 域, 在第 2 个 KH 域中仅 1 个氨基酸残基的突变 (I304-Asp) 就会使之失去与 RNA 的结合活性, 这与脆性 X 染色体精神延迟综合征的发生有关. 从排列上看, hnRNP K、PCBP1/2/3 及 nova 中 3 个 KH 域均以一种相似的方式排列: 2 个 KH 域位于 N 末端, 1 个 KH 域位于 C 末端, 中间为可变长度的中央区. 这种保守性暗示, 具有相同数目或具

有相同氨基酸序列 KH 域蛋白在不同的组织中有相似的功能. 进一步研究证实, 当诱变 Nova 使其 KH 域与 hnRNP E/K 的 KH 域相似时, 它们识别结合 RNA 的能力的确变得相近<sup>[6]</sup>.

对于 KH 域的生化结构, Musco 等<sup>[7]</sup>最先运用核磁共振发现它由稳定的 3 股反向平行  $\beta$  片层, 3 个反向  $\alpha$  螺旋组成. 这种稳定的  $\beta\alpha\alpha\beta\alpha$  折叠暴露出一个可结合 RNA 的表面, 即前 2 个螺旋之间的 4 肽链 (Gly-Lys-X-Gly) 部位, 其中央位点由 1 个带正电荷的残基所占据. 这些残基的保守性是 KH 域的一种固有结构. 目前, 体外试验已确定 PCBP1/2 的第 1 和第 3 的 KH 域有 poly(C) 结合活性并可被磷酸化作用抑制, 但不同 KH 域结合 mRNA 的能力并非完全相同<sup>[8]</sup>. Musunuru 等<sup>[6]</sup>对上述几种蛋白的 KH 域进行了结构和功能分析, 发现有 1 个保守的精氨酸对结合 RNA 是重要的. 哺乳动物和果蝇的 hnRNP K/E 的 KH 域中第 32 位是固定的精氨酸, 但 Nova 中却非如此. 这就意味着第 32 位精氨酸是 hnRNP E/K 与 Nova 蛋白结合 RNA 能力的差异所在. 另外, hnRNP K 还有 2 个额外的结构域: N 末端双向的核定位信号 (nuclear localization signal, NLS) 和位于第 2 和第 3 的 KH 域间的 hnRNP K 特异的核关闭信号, 这些信号提供了通过核膜进行双向运输的能力. 另外, hnRNP K/E 的 KH 域除与 RNA poly(C) 的区域具有结合活性外, 它们与 DNA 的结合也总是在富含 C 的端粒模体上, Bandiera 等<sup>[9]</sup>通过亲

和层析分离 K562 细胞并由质谱技术鉴定了与 DNA 富含 C 序列相结合的蛋白,发现这些蛋白全部属于 hnRNP 家族,包括 hnRNP K/E,尤其 hnRNP E1 表现出了与端粒 (CCCTAA)<sub>n</sub> 重复模体相结合的显著特异性. 这是否牵涉到端粒的功能尚在争议中.

总之, hnRNP K/E 的 KH 域是机体调节系统的组成成分,可参与蛋白/核酸及蛋白/蛋白间的相互作用,这些相互作用连接了细胞的多种信号转导事件,对控制 mRNA 的翻译和稳定极为重要<sup>[10]</sup>.

## 2 胞浆 mRNAs 的调节者

hnRNP K 和 PCBP1-4 不仅可参与维持 mRNA 的稳定性,而且是胞浆 mRNA 翻译的调节者. 网织红细胞 15-酯氧合酶 (reticulocytes-15-lipoxygenase, r15-LOX) 是红细胞分化的关键酶,该酶在线粒体膜上催化完整磷脂分子的双氧化并参与红细胞成熟的最后阶段线粒体的崩解. 当外周血网织红细胞到了即将成熟的最后阶段时, r15-LOX mRNA 才开始翻译,线粒体降解就随之开始. 在 LOX mRNA 的 3'-UTR 区,1 个富含 CU 重复序列的分化控制元件 (differentiation-control element, DICE) 参与该翻译的调控,经鉴定 PCBP1 和 hnRNP K 与 DICE 结合在一起,使得红细胞中 80s 核糖体的装配受到 r15-LOX mRNA 3'-UTR hnRNP K/PCBP1-DICE 复合体的抑制而终止了翻译过程. 现已明确, r15-LOX 的 DICE 是一种多功能的顺式作用元件,存在于网织红细胞和众多真核细胞 mRNAs 的 3'-UTRs 区,它可通过与 KH 域类蛋白 PCBP 的结合,调节相应 mRNA 的稳定性和控制翻译<sup>[4]</sup>. 已有研究表明,在体外转染有 hnRNP K/E1 的细胞中,如果在不同的 mRNA 3'-UTR 中插入 38 个核苷酸形成的 DICE,就足以使得相应 mRNA 发生翻译沉默. 后来发现,重组 PCBP2 在体外也可替代 PCBP1 发挥调节作用.

那么 hnRNPs 究竟是如何与 DICE 连接并抑制翻译, Ostareck-Lederer 等<sup>[10]</sup>认为,这种调节发生在翻译起始水平. DICE 由 10 个连续的 19 ntCU 富含区重复序列组成,非磷酸化的 hnRNP K/PCBP1 天然可与该 CU 富含区发生结合. 从化学结构上来讲,1 个 CU 区已足够同 PCBP1 相结合,但在翻译调控过程中至少需要 2 分子的 PCBP1<sup>[4]</sup>. 仍以红细胞内翻译为例,红细胞成熟后必须被翻译的 mRNAs 之前一直被贮存在沉默的核糖核蛋白复合体中. 那么这些 mRNAs 在网织红细胞趋于成熟的最后阶段如何被激活并被翻译? 目前已证实,是由于酪氨酸激酶

c-Src 和 hnRNP K 之间的相互作用引起. c-Src 被它的底物 hnRNP K 激活后,活化的 c-Src 使得 hnRNP K 磷酸化并解除了它与 DICE 的结合活性,从而使 mRNAs 上沉默的 DICE 活化<sup>[4]</sup>. 但是,由 Erk 激酶作用导致的丝氨酸磷酸化的 hnRNP K 可在胞浆聚集并增强 DICE 依赖的 mRNAs 翻译抑制作用,提示 hnRNP K 可以阳性及阴性主体参与不同的信号调节. 与 hnRNP K 相比,PCBP1 不是 c-Src 的激活子或底物,目前尚未鉴定出怎样修饰的 PCBP1 可影响它与 DICE 的结合活性. 由于 hnRNP K 与 hnRNP E1/E2 可以直接相互作用,因此有人设想 PCBP1 与 hnRNP K 绑定在一起,当 hnRNP K 的酪氨酸磷酸化后,它们就被一同释放出来. 近些年又有报道认为,PCBP1 有 1 个新的 NLS,可选择性地允许它结合到核中 r15-LOX 的 mRNA 上<sup>[11]</sup>.

一方面,PCBP1 与 DICE 一起可控制 r15-LOX 的 mRNA 翻译,另一方面,PCBP1 在红细胞可以稳定人  $\alpha$ -球蛋白的 mRNA,使之持续翻译. 在红细胞成熟阶段,  $\alpha$ -球蛋白 mRNA 的聚集及持续的翻译是  $\alpha$ -复合体的稳定化所造成. 其稳定性取决于  $\alpha$ -复合体中所固有的 3'-UTR 的相关元件. 该  $\alpha$ -复合体由 6 个不同的蛋白或蛋白家族所组成. 其中一个家族就是由 PCBP1 和 PCBP2 组成. 研究揭示,  $\alpha$ -球蛋白 mRNA 的稳定性与  $\alpha$ -复合体形成之间存在正相关. 这个复合体在终止密码子下游嘧啶富含区形成, PCBP1 和 PCBP2 是其主要成分但并没有直接绑定在 mRNA 上. 比较 PCBP1/2 与 r15-LOX 及  $\alpha$ -球蛋白的 mRNA 3'-UTR 之间的相互作用产生了一些有趣的问题:PCBP1/2 是如何使 r15-LOX mRNA 的静默却允许  $\alpha$ -球蛋白 mRNA 稳定持续的翻译. 这些不同的功能是 PCBP1/2 与不同 mRNA 结合的拓扑现象还是有其它的作用伙伴? 用 HeLa 细胞 cDNA 文库进行酵母双杂交分析发现, hnRNP D (或称为 AUF1) 及胞浆多聚 A 结合蛋白 (PABP-C) 与  $\alpha$ -复合体中的 PCBP1/2 有相互作用. PABP-C 是鼠的红白血细胞中  $\alpha$ -复合体的成分,它绑定在多聚 A 尾或 PCBP1/2 上,参与稳定  $\alpha$ -复合体. 同时,  $\alpha$ -复合体保护了红细胞内的核糖核酸内切酶 (erythroid enriched endoribonuclease, ErEN) 的裂解位点,从而使其裂解反应受到抑制<sup>[12]</sup>.

目前发现, hnRNP E1、A1 和 K 可参与胶原蛋白 I 和 III 基因的转录后调控,同样它们与编码胶原蛋白 I 和 III mRNA 的 3'-UTRs 区相互作用,通过稳定其 mRNAs 来刺激胶原蛋白的表达. 因而通过调节

RNA 结合蛋白的表达可以在 mRNA 水平上调胶原的合成<sup>[13]</sup>。此外,血管紧张肽原酶(renin)的稳定性调控是由环一磷酸腺苷(cyclin AMP,cAMP)及 20 多种蛋白共同参与,包括 PCBP1、HuR、HADHB、Dynamin、Nucleolin、YP-1、hnRNP K 及 MINT-同源蛋白等。其中 cAMP 是关键的调节子。研究发现,PCBP1 结合在 Renin mRNA 的 C-富含区可使其稳定,而 HuR 结合在 Renin AU-富集区则使其 mRNA 不稳定,而 cAMP 可通过上调不同结合蛋白的表达最终影响到 Renin 的表达。总之,这里主要以不同阶段红细胞内 hnRNP K/E 的功能体现,表明了 poly(C)-结合蛋白在细胞内转录调控中的功能多样性。

### 3 PCBP 对细胞生长的影响

de Hoog 等证实了 RNA 及包括 PCBP1 在内的 RNA 结合蛋白通过铺展起始中心(spreading initiation centers,SIC)参与了 MRC5 细胞生长铺展的早期阶段<sup>[14]</sup>。研究者采用 SILAC(stable isotope labeling by amino acids in cell culture)技术及共聚焦显微技术证实,SIC 是有别于粘着斑的核糖核蛋白复合体,并证明了 RNA 及 RNA 结合蛋白在细胞伸展开始时起到重要的作用<sup>[15]</sup>。研究中发现,RNA 结合蛋白的 2 个家族成员:Sm 蛋白和 hnRNPs,它们在粘着斑形成之前特异定位于 SIC,SIC 也仅存在于细胞铺展的早期阶段,被肌动蛋白鞘及核糖体 RNA 包绕。同时还观察了不同的细胞中 SIC 的存在是否特异。在铺展开始后 50 min,WS1(一种人纤维母细胞系)和 MEFs(primary mouse embryo fibroblasts)细胞可形成由肌动蛋白包绕的 SIC-样的结构,包括 paxillin、vinculin、PCBP1 及 hnRNP K。但在任何转化的和非纤维母细胞类型中没有类似的现象,也就是说,SIC 只出现于初级或非肿瘤来源的细胞并且只在细胞铺展的很早阶段出现。另外,在 MRC5 悬浮细胞中加入相应蛋白的抗体以观察 SIC 结构及组成蛋白的功能。结果发现,FUS/TLS,hnRNP K 和 PCBP1 的抗体对铺展的发生有更大的阻碍作用,这其中可能存在着功能蛋白之间的比例协调。特定抗体对细胞铺展强烈影响的事实表明,相应的蛋白在这个过程中起着重要的作用。另外,在上调神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞中的 PCBP1 表达后,与之相关的几百种蛋白的翻译过程被激活并且表现为上调的现象<sup>[16]</sup>。培养的细胞呈现出增殖旺盛的现象。提示 PCBP 细胞生长中具有潜在的作用。近期又有研究认为,PCBP1 和 PCBP2 在细胞周期进展中处于中枢

地位,如果从 K562 细胞(一种造血细胞)中敲除这 2 个基因,则细胞增殖受阻,细胞周期被阻滞在 G<sub>1</sub> 期<sup>[17]</sup>。

### 4 PCBP 与疾病——核纤层疾病

既然 Poly(C)-结合蛋白在细胞中发挥着如此重要的作用,几乎在所有的水平上调节基因的表达,提示它们扮演着桥梁分子的角色<sup>[18]</sup>,那么反过来,在一些疾病中它们又会产生什么样的作用同样值得探讨。目前,对 PCBP 多限于纵深研究,较少从疾病的角度去观察。现已发现一种最为严重的核纤层疾病——早老综合症(Hutchinson-Gilford Progeria syndrome,HGPS)与 PCBP1 可能有一定关系。该病的发病机理还不十分清楚。有学者认为,是由 LMNA 缺陷引起,这种缺陷会影响到核膜的结构,导致核纤层蛋白的异常连接。早老综合症发病的主要因素就是由编码核纤层蛋白 A/C 的基因 LMNA 的缺陷导致前核纤层蛋白 C-末端附近 50 个氨基酸残基的丢失而引起,被截短的核纤层蛋白 A 就被称作 Progerin<sup>[19,20]</sup>。在 HGPS 中,等位基因突变表达的 Progerin 只占正常核纤层蛋白 A/C 的 1/10,却可使核膜出现“脐形”结构<sup>[20]</sup>。在其发病机制的研究中,研究者认为,突变的 Progerin 对正常的核纤层蛋白 A/C 会有一显著的负效应,推测 Progerin 可干涉正常核纤层蛋白 A/C 参与的核被膜装配,或干扰核纤层蛋白 A/C 与核纤层蛋白的连接或导致与其它非核纤层蛋白的新连接。已有实验证明,PCBP1 不仅是 Progerin 的一个相互作用伙伴,而且与正常的 Lamin A/C 也有结合位点。目前尚不清楚 PCBP1 在其中究竟扮演了何种角色,只是在实验中观察到了较多的 PCBP1 被固定在了核内膜上,是否细胞内其它区域 PCBP1 的相对减少影响了细胞的生长需求而参与疾病机制尚需进一步研究。有学者认为,核纤层蛋白 A/C 的功能不同,可能是由它们与不同的蛋白伙伴相互作用的结果。因此发现 PCBP1 是 Progerin 新的作用伙伴可能会进一步揭示 HGPS 的发病机制。

### 5 PCBP 与疾病——病毒感染及恶性肿瘤

PCBP 不仅影响着细胞 mRNAs 的命运,而且在病毒 RNA 的复制和翻译中也具有重要作用。PCBP1/2 可结合到脊髓灰质炎病毒 RNA 5'末端的三叶草结构上,利于病毒的 3C 蛋白酶前体与 RNA 聚合酶 3D 的相互作用,该作用可促使病毒 RNA 的

复制. 另外,PCBP2 在体外也可与三叶草结构稳定地结合. 将 PCBP1 和 PCBP2 抗体注入非洲蟾蜍卵母细胞时,由病毒体内部核糖体进入位点 (internal ribosome entry site ,IRES) 序列介导的翻译可被强烈地抑制,表明 PCBP1/2 对 IRES 介导的翻译过程是必需的. 从 HeLa 细胞中删除 2 种蛋白也会导致脊髓灰质炎病毒 RNA 无法翻译,通过增加重组 PCBP1/2 的量可使翻译部分恢复.

鉴定与特殊核酸结构相结合的特异蛋白能够加深对这些蛋白在体内功能的理解,并促成发现与核酸结构相关的调节基因. 如许多恶性和正常的人类细胞通过叶酸受体 (folate receptor ,FR) 介导摄取叶酸,在叶酸缺乏时 FRs 表达上调,而在随后叶酸量充足时 FRs 的表达量下调,其中的调节机制并不清楚. 人胎盘组织富含 FR,FR 通过糖基化磷脂酰肌醇锚定在膜上,对叶酸从母体到胎儿的转运起到关键作用. 有学者从人胎盘组织中分离、鉴定了 PCBP1 是与 FR mRNA 相结合的反式作用因子<sup>[21]</sup>,它与 FR mRNA 的 5'-UTR 的 1 个 18 碱基的顺式作用元件的相互作用是 FR 合成的关键. 另外,母鼠叶酸缺乏会引起胚胎组织畸变包括细胞丢失、结构异常以及过早分化,还可引发神经管缺损和神经性分泌病<sup>[22]</sup>. 此时,PCBP1 和叶酸受体表达应激性上调,阐明了多功能性的 PCBP1 在真核细胞 mRNA 调节中的又一个角色. 有些研究者采用二维电泳和质谱分析法检测与 HeLa 细胞核酸结构相结合的特异蛋白,发现其中 5 个为 hnRNP 家族 (K, L, A2/B1, E1, I)<sup>[23]</sup>. 后来又有学者研究了 FR 和 PCBP1 在正常女性子宫,子宫颈发育异常组织及癌组织中表达的相关性,体外发现 PCBP1 可与人乳头瘤病毒-16 (human papillomavirus 16, HPV-16)、L2 衣壳蛋白的 mRNA 结合并抑制其合成,而降低 PCBP1 的表达会加剧 HPV 感染的宫颈组织从宫颈发育不良到癌的转变<sup>[24]</sup>. 宫颈癌在许多西方国家的发病率已达 1/10<sup>4</sup>,发展中国家达到 4/10<sup>4</sup>,在印度宫颈癌是最普遍的妇科恶性肿瘤,它是女性癌症中最主要的死亡原因. 所以这个发现无疑为相应的患者带来了福音. 随即,有学者致力于 FRs 表达机制的研究,当将宫颈癌细胞的叶酸含量从满负荷下调到低水平,而没有按比例增加 FR 的 mRNA 或 PCBP1 时,仍发现 FRs 表达呈渐进性上调. 同时,在培养的细胞中伴随着代谢产物高半胱氨酸的渐进性积累<sup>[25]</sup>. 高半胱氨酸以剂量依赖的方式刺激 FR mRNA 的顺式作用元件与 PCBP1 的相互作用,从而引起 FRs 翻译的上调. 也

就是说,FR mRNA 与 PCBP1 之间相互作用模式的某种改变就可促进 FR 的表达.

传统观点认为,真核基因表达主要有 2 个可控事件:DNA 转录成 mRNA 和 mRNA 翻译成蛋白质. hnRNP K 和 PCBP1/2 通过结合到特异的调节序列以分化依赖的方式介导细胞及病毒 mRNAs 的翻译控制. 如与卡波西肉瘤相关的疱疹病毒 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV) 的 ORF57 基因是疱疹病毒家族中的保守基因,它是转录后调节子的同系物,对病毒基因的复制是必要的. Nishimura 及其同事们<sup>[26]</sup>用 ORF57 蛋白的单克隆抗体发现该蛋白表达于 KSHV 感染的细胞,同时 ORF57 蛋白还与 PCBP1 有相互作用. 二者的相互作用提高了 KSHV IRES 的活性. 因此提示了 ORF57 蛋白作为 PCBP1 的功能伙伴参与转录后调节并通过 IRES 参与细胞和病毒基因的表达调节<sup>[27]</sup>.

## 6 hnRNPs 其它重要生物学功能

对 hnRNPs 较分散的研究反而表明了这类蛋白的重要性,这些重要性体现在细胞生命活动中的多个方面. 在神经组织细胞中,PCBPs 同样有不可忽视的作用. 已有研究显示,神经纤维的发育有 PCBPs 的参与,当脊椎动物的轴突发育成熟时,神经丝-M (NF-M) 表达增加,一定程度上归因于 NF-M mRNA 的稳定,而 NF-M mRNA 的稳定是由于特定的蛋白结合到相应 mRNA 的 3'-UTR 区进行转录水平调控的结果. 亲和纯化及质谱分析鉴定该特定的蛋白是由 PCBP1 和 hnRNP K 分别参与形成的 70-和 47-kD 的复合体,这两种复合体识别并结合到 NF-M mRNA 3'-UTRs 的 CU-富含区,伴随轴突的成熟,稳定了 mRNA 并增加了胞浆 NF-M 的水平<sup>[28]</sup>. 而 NFs 的调控紊乱与多种神经系统的疾病发生相关<sup>[29]</sup>. hnRNP A2 是一种反式作用的 RNA 结合蛋白,可介导少突胶质细胞髓鞘的 RNA 包括 A2RE mRNA 的运输,当运输 A2RE mRNA 进入少突胶质细胞的髓鞘以及神经元的树突中时,PCBP1 与 hnRNP A2 绑定在一起被招募到 A2RE mRNA 上. PCBP1 起到了在颗粒运输中抑制 A2RE mRNA 翻译的作用<sup>[30]</sup>.

炎症反应中,Nishinakamura 等<sup>[31]</sup>研究发现 PCBP1 能够与组成性激活的 STAT3 (constitutively activated STAT3, STAT3C) 相互作用,抑制 NF- $\kappa$ B 的活性;并且过量表达的 PCBP1 可增强 IL-4 对 IL-6 (前炎症因子) 的拮抗作用,沉默 PCBP1 则使得这种拮抗作用减弱. 提示 PCBP1 可参与 STAT3 介导的

对 NF- $\kappa$ B 活化通路的抑制作用,有利于细胞处于抗凋亡状态。

近期发现,PCBP1 还具有胞浆铁分子伴侣的功能,可将  $\text{Fe}^{2+}$  转送到运铁蛋白。PCBP1 可结合 3 个铁原子,结合铁后绑定到运铁蛋白并增加铁蛋白的矿化作用<sup>[32]</sup>。如采用 siRNA 敲低 PCBP1 可强烈地降低进入运铁蛋白中的铁离子量,但不影响运铁蛋白的水平或细胞铁的摄入量<sup>[33,34]</sup>。因此,只有在 PCBP1 的伴随下,铁才能安全的储存在胞浆内的运铁蛋白中。

## 7 小结与展望

总的来说,PCBPs 几乎所有的水平上调节基因的表达:DNA 复制、转录、mRNA 加工与运输,mRNA 的稳定性和翻译控制。这种广泛性提示它们扮演着桥梁分子的角色,便于多成分调节系统中蛋白质之间的联结。另外,此类蛋白在对环境信号的协调反应中,以及在感染与炎症反应中具有关键的作用。同时,其作为分子伴侣参与细胞内生理生化的过程也渐为人知。因此,在特定疾病中关注它们的改变及其所起的作用,对单独或联合运用这类蛋白治疗某些相关疾病无疑会成为医学领域中令人感兴趣的热点。

## 参考文献 (References)

- [1] Farina KL, Singer RH. The nuclear connection in RNA transport and localization [J]. *Trends Cell Biol*, 2002, **12** (10): 466-472
- [2] Akindahunsi AA, Bandiera A, Manzini G. Vertebrate 2xRBD hnRNP proteins: a comparative analysis of genome, mRNA and protein sequences [J]. *Comput Biol Chem* 2005, **29** (1): 13-23
- [3] Choi HS, Hwang CK, Song KY, *et al.* Poly (C)-binding proteins as transcriptional regulators of gene expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2009, **380** (3): 431-436
- [4] Reimann I, Huth A, Thiele H, *et al.* Suppression of 15-lipoxygenase synthesis by hnRNP E1 is dependent on repetitive nature of LOX mRNA 3'-UTR control element DICE [J]. *J Mol Biol*, 2002, **315** (5): 965-974
- [5] Aasheim HC, Loukianova T, Deggerdal A, *et al.* Tissue specific expression and cDNA structure of a human transcript encoding a nucleic acid binding [oligo (dC)] protein related to the pre-mRNA binding protein K [J]. *Nucleic Acids Res*, 1994, **22** (6): 959-964
- [6] Musunuru K, Darnell RB. Determination and augmentation of RNA sequence specificity of the Nova K-homology domains [J]. *Nucleic Acids Res*, 2004, **32** (16): 4852-4861
- [7] Musco G, Stier G, Joseph C, *et al.* Three-dimensional structure and stability of the KH domain: molecular insights into the fragile X syndrome [J]. *Cell*, 1996, **85** (2): 237-245
- [8] Sidiqi M, Wilce JA, Porter CJ, *et al.* Formation of an alphaCP1-KH3 complex with UC-rich RNA [J]. *Eur Biophys J*, 2005, **34** (5): 423-429
- [9] Bandiera A, Tell G, Marsich E, *et al.* Cytosine-block telomeric type DNA-binding activity of hnRNP proteins from human cell lines [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2003, **409** (2): 305-314
- [10] Ostareck-Lederer A, Ostareck DH. Control of mRNA translation and stability in haematopoietic cells: The function of hnRNPs K and E1/E2 [J]. *Biol Cell* 2004, **96** (6): 407-411
- [11] Chkheidze AN, Liebhaber SA. A novel set of nuclear localization signals determine distributions of  $\alpha$ CP RNA-binding proteins [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, **23** (23): 8405-8415
- [12] Waggoner SA, Liebhaber SA. Regulation of alpha-globin mRNA stability [J]. *Exp Biol Med* (Maywood) 2003, **228** (4): 387-395
- [13] Thiele BJ, Doller A, Kahne T, *et al.* RNA-binding proteins heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1, E1, and K are involved in post-transcriptional control of collagen I and III synthesis [J]. *Circ Res*, 2004, **95** (11): 1058-1066
- [14] de Hoog CL, Foster LJ, Mann M. RNA and RNA binding proteins participate in early stages of cell spreading through spreading initiation centers [J]. *Cell*, 2004, **117** (5): 649-662
- [15] Ong SE, Kratchmarova I, Mann M. Properties of 13C-substituted arginine in stable isotope labeling by amino acids in cell culture (SILAC) [J]. *J Proteome Res*, 2003, **2** (2): 173-181
- [16] Huo LR, Zhong N. Identification of transcripts and translantants targeted by overexpressed PCBP1 [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, **1784** (11): 1524-1533
- [17] Waggoner SA, Johannes GJ, Liebhaber SA. Depletion of the poly (C)-binding proteins alphaCP1 and alphaCP2 from K562 cells leads to p53-independent induction of cyclin-dependent kinase inhibitor (CDKN1A) and G1arrest [J]. *J Biol Chem*, 2009, **284** (14): 9039-9049
- [18] Fujimura K, Katahira J, Kano F, *et al.* Selective localization of PCBP2 to cytoplasmic processing bodies [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, **1793** (5): 878-887
- [19] De Sandre-Giovannoli A, Bernard R, Cau P, *et al.* Lamin A truncation in Hutchinson-Gilford Progeria [J]. *Science*, 2003, **300** (5628): 2055
- [20] Eriksson M, Brown WT, Gordon LB, *et al.* Recurrent de novo point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford Progeria syndrome [J]. *Nature*, 2003, **423** (6937): 293-298
- [21] Xiao XL, Tang YS, Mackins JY, *et al.* Isolation and characterization of a folate receptor mRNA-binding trans-Factor from human placenta [J]. *J Biol Chem*, 2001, **276** (44): 41510-41517
- [22] Xiao S, Hansen DK, Horsley ET, *et al.* Maternal folate deficiency results in selective upregulation of folate receptors and heterogeneous nuclear ribonucleoprotein-E1 associated with multiple subtle aberrations in fetal tissues [J]. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 2005, **73** (1): 6-28
- [23] Guillonau F, Guieysse AL, Le Caer JP, *et al.* Selection and identification of proteins bound to DNA triple-helical structures by combination of 2D-electrophoresis and MALDI-TOF mass

- spectrometry [J]. *Nucleic Acids Res*, 2001, **29** (11): 2427-2436
- [24] Pillai MR, Chacko P, Kesari LA, *et al.* Expression of folate receptors and heterogeneous nuclear ribonucleoprotein E1 in women with human papillomavirus mediated transformation of cervical tissue to cancer [J]. *J Clin Pathol*, 2003, **56** (8): 569-574
- [25] Antony AC, Tang YS, Khan RA, *et al.* Translational upregulation of folate receptors is mediated by homocysteine via RNA-heterogeneous nuclear ribonucleoprotein E1 interactions [J]. *J Clin Invest*, 2004, **113** (2): 285-301
- [26] Nishimura K, Ueda K, Guwanan E, *et al.* A posttranscriptional regulator of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus interacts with RNA-binding protein PCBP1 and controls gene expression through the IRES [J]. *Virology*, 2004, **325** (2): 364-378
- [27] Nishimura K, Ueda K, Guwanan E, *et al.* A posttranscriptional regular of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus interacts with RNA-binding protein PCBP1 and controls gene expression through the IRES [J]. *Virology*, 2004, **325** (2): 364-378
- [28] Thyagarajan A, Szaro BG. Phylogenetically conserved binding of specific K homology domain proteins to the 3'-untranslated region of the vertebrate middle neurofilament mRNA [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279** (48): 49680-49688
- [29] Thyagarajan A, Szaro BG. Dynamic endogenous association of neurofilament mRNAs with K-homology domain ribonucleoproteins in developing cerebral cortex [J]. *Brain Res*, 2008, **1189**: 33-42
- [30] Kosturko LD, Maggipinto MJ, Korza G, *et al.* Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein (hnRNP) E1 binds to hnRNP A2 and inhibits translation of A2 response element mRNAs [J]. *Mol Biol Cell*, 2006, **17** (8): 3521-3533
- [31] Nishinakamura H, Minoda Y, Saeki K, *et al.* An RNA-binding protein alphaCP-1 is involved in the STAT3-mediated suppression of NF-kappaB transcriptional activity [J]. *Int Immunol*. 2007, **19** (5): 609-619
- [32] Goralska M, Ferrell J, Harned J, *et al.* Iron metabolism in the eye: A review [J]. *Exp Eye Res*, 2009, **88** (2): 204-215
- [33] Shi H, Bencze KZ, Stemmler TL, *et al.* A cytosolic iron chaperone that delivers iron to ferritin [J]. *Science*, 2008, **320** (5880): 1207-1210
- [34] Garrick MD, Garrick LM. Cellular iron transport [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, **1790** (5): 309-325

## 科学出版社生命科学分社新书推介 2011-1-2

### 新疆鸟类分布名录

著译者 马鸣 ISBN 978-7-03-030046-1  
 定价 ¥66.00 开本 B5  
 装帧 平装 营销分类 生物分类  
 出版时间 2011年1月

本书是一部新疆鸟类种和亚种分类与分布的专著。编写过程参考了30多年来的考察成果和近10年的观鸟记录。书中共收录鸟类453种(约598种及亚种),隶属于21目,65科,196属,占中国鸟类种数的34%。另外,对于有疑问的94种鸟类单独列在正文之后,以备参考。正文给出每个种的中文名、拉丁名(学名)、英文名、地理分布(至县级地名及主要地理单元)、生态习性等。每科附有形态照片对应,图文并茂。书后罗列参考文献、新疆地名中英文对照、考察年表、新疆鸟类数量统计与比较、中文名索引、学名索引、英文名索引和致谢等。新疆占据国土面积约六分之一,与八国接壤,鸟类资源极其丰富。

读者对象 本书是一部最完整的边疆野鸟名录,可供生物教学、科学研究以及从事农业、畜牧、林业、环境、野生动物管理、自然保护区、艺术创作、国际交流、旅游和观鸟等人士使用。

编辑推荐 该书是迄今最为完整的一个新疆鸟类分布名录,中共收录鸟类453种(约596种及亚种),隶属于21目,65科,198属,占中国鸟类种数的34%。另对于有疑问的近100种鸟类单独列在书后,以备参考。可供生物教学、科学研究以及从事农业、畜牧、林业、环境、野生动物管理、自然保护区、艺术创作、国际交流、旅游和观鸟等人士使用。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书

联系人:科学出版社科学销售中心 周文宇

电话:010-64031535 email:zhouwenyu@mail.sciencep.com

网上订购: <http://shop.sciencepress.cn> 联系我们:010-64012501

[www.lifescience.com.cn](http://www.lifescience.com.cn)

email:lifescience@mail.sciencep.com

更多精彩图书请登陆网站,欢迎致电索要书目