

mutagenesis of the lec/EGF domains. *Nature*, 1994, **367** (6463): 532~ 538

10 Iobst S T, Drickamer K. Binding of sugar ligands to Ca²⁺-dependent animal lectins II. generation of high-affinity galactose binding by site-directed mutagenesis. *J Biol Chem*, 1994, **269** (22): 15512~ 15519

11 Brissett N C, Perkins S J. Molecular modelling analysis of the G-type lectin domain in human aggrecan. *Biochem Soc Trans*, 1996, **24** (1): 99s

12 Bezouska K, Yuen C-T, O'Brien J *et al*. Oligosaccharide ligands for NKR-P1 protein activate NK cells and cytotoxicity. *Nature*, 1994, **372** (6502): 150~ 157

13 Bezouska K, Nepovin A, Horvath O *et al*. CD69 antigen of human lymphocytes is a calcium-dependent carbohydrate-binding protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, **208** (1): 68~ 74

14 Brennan J, Takei F, Wong S *et al*. Carbohydrate recognition by a natural killer cell receptor, Ly-49. *J Biol Chem*, 1995, **270** (17): 9691~ 9694

15 Yokoyama W M, Daniels B F, Seaman W E *et al*. A family of murine NK cell receptor specific for target cell MHC class I molecules. *Semin Immunol*, 1995, **7** (2): 89~ 101

16 Yokoyama W M. Hybrid resistance and the Ly-49 family of natural killer cell receptors. *J Exp Med*, 1995, **182** (2): 273~ 277

17 Bezouska K. G-type lectins of natural killer cells: carbohydrate ligands and role in tumor cell lysis. *Biochem Soc Trans*, 1996, **24** (1): 156~ 161

18 Lambeau G, Ancian P, Barhanin J *et al*. Cloning and expression of a membrane receptor for secretory phospholipases A₂. *J Biol Chem*, 1994, **269** (3): 1575~ 1578

19 Jiang W, Swiggard W J, Heufler C *et al*. The receptor DEC-205 expressed by dendritic cells and thymic epithelial

cell is involved in antigen processing. *Nature*, 1995, **375** (6527): 151~ 155

20 Fearon D T, Locksley R M. The instructive role of innate immunity in acquired immunity response. *Science*, 1996, **272** (5259): 50~ 54

Mammalian G-Type Lectin Superfamily. CHEN Zhengliang (*Department of Immunology, The First Military Medical University, Guangzhou 510515, China*).

Abstract Based on primary structure comparisons of their carbohydrate-recognition domains (CRDs), the superfamily of mammalian G-type lectins can be divided into six main families: proteoglycans, type II transmembrane receptors, collectins, selectins, natural killer cell receptors and multi-CRD type I transmembrane receptors, while all members of each family have homologous amino acid sequences, same overall molecular architecture and similar biological functions. The molecular basis for selective carbohydrate recognition by mammalian G-type lectins has been established at the primary to tertiary structure level of CRDs.

Key words G-type lectins, carbohydrate recognition domains, structure, function

一类新内含子的研究状况

刘晓琼 施先宗

(华中师范大学昆虫学研究所, 武汉 430079)

摘要 在真核细胞基因组中发现一类新内含子——AT-AC 内含子, 除结构特征与普遍存在的核 mRNA 前体内含子有明显不同外, 剪接机制上也存在一定差异. 文章介绍了该内含子的分布, 结构特征及剪接机理, 并与主内含子作了相应比较.

关键词 AT-AC 内含子, 主内含子, 剪接体, 剪接位点, snRNP

内含子是不连续基因转录后被剪接去除的 RNA 序列, 或与之对应的 DNA 序列. 在真核细胞中广泛存在的核 mRNA 前体 (pre-mRNA) 内含子属于剪接体介导剪接内含子,

由于其所占比例最大, 分布最广, 因而又被称为主内含子 (major class of introns). 主内含子

收稿日期: 1996-09-09, 修回日期: 1997-04-22

的典型特征是其 DNA 序列上的 5'剪接位点和 3'剪接位点末端分别是高度保守的 GT 和 AC 二核苷酸序列。然而,最近在脊椎动物基因组和无脊椎动物基因组中均发现了一类新型的核 mRNA 内含子——AT-AC 内含子,与主内含子比较,它不仅在两端的保守核苷酸处发生了改变,而且还具有其他不同的结构特点和自身特有的剪接机制。

1 AT-AC 内含子的分布

迄今为止的研究中,在以下四种基因中发现了 AT-AC 内含子的存在: P120 基因,存在于包括人在内的几种哺乳动物中;人和鸡的基因组中的 CMP (cartilage matrix protein) 基因;鼠 *Repr 3* 基因和果蝇的 *prospero* 基因。这四种基因除各具一个 AT-AC 内含子外,还包括有其他几个主内含子^[1]。

然而,AT-AC 内含子究竟仅仅是 GT-AG 内含子的双位点突变体,还是一类自然存在的独立成员?对 AT-AC 内含子序列结构特征的进一步分析证实了后者的可能性。

2 结构特征

对 AT-AC 内含子与主内含子的序列结构进行分析和比较^[1],发现两者除第一与最后的核苷酸不同外,其他位置上的保守序列也有明显差异。首先,在 5'剪接位点处,AT-AC 内含子是八核苷酸的 ATATCCTT 保守序列,而主内含子此处的标准共有序列为 GTAAGT,两者同源性小,且后者的保守程度也比前者低。其次,AT-AC 内含子 3'剪接位点的保守序列为 YCCAC,主内含子则是 NCAG。尤为突出的是,AT-AC 内含子中还存在第三个高度保守的序列——3'上游分支点区域的 TCCT-TAAC 序列,而在主内含子中,这个区域是易于变化和少有保守性的。此外,AT-AC 内含子中缺乏主内含子 3'剪接位点上游-4~-20 核苷酸处的多嘧啶区。在主内含子中,该多嘧啶区作为主要的识别因子,可能帮助识别分支点和 3'剪接位点,因而缺乏多嘧啶区的 AT-AC

内含子可能更依赖其分支点处的高度保守序列。

3 剪接机制

核 mRNA 内含子的剪接机制包括两个反应步骤:剪接体的组装和剪接反应的进行。AT-AC 内含子主要在前一过程中表现出与主内含子的差异,而后一过程则可能采取与主内含子相似的途径。

3.1 剪接体的组装

与结构特征的差异相一致,AT-AC 内含子组装剪接体采用的 snRNP (核内小分子核糖核蛋白) 因子与主内含子也有所不同。已有的研究结果表明^[2],主内含子剪接体是在 U1、U2、U5、U4 和 U6 等五种 snRNP 成分及其他非 snRNP 蛋白质的共同参与下装配形成。U1snRNP 通过碱基配对识别并结合在 pre-mRNA 的 5'剪接位点上,然后促进 U2snRNP 识别并结合在内含子的分支点区域,随后, U5、U4 和 U6snRNP 以三聚体的形式加入正在组装的复合物,使复合物结构发生剧烈重排,形成有催化活性的剪接体。然而 Tarn 等^[3]研究人 P120 基因的 AT-AC 内含子时却发现在 AT-AC 内含子剪接体组装过程中,除 U5snRNP 外,不存在其他在主内含子中发挥重要作用的 U1、U2、U4 和 U6snRNP 组分,相反,却使用了 U11、U12snRNP 等 snRNP 家族中低丰度的成员。

3.1.1 U12snRNP、U2snRNP 与分支点: U12snRNP 是 SmsnRNP 家族中的成员,它与 U2snRNP 在二级结构上相似,但在细胞中的含量却很低,在 HeLa 细胞中, U12snRNP 只有 U1snRNP 水平的 1/100^[4]。Hall 等^[1]曾对各类 snRNP 序列进行分析,发现只有 U12snRNP 的序列与 AT-AC 内含子分支点有良好的碱基配对关系,除去分支点倒数第二个腺苷酸不进行配对外, U12snRNP 的第 16~25 核苷酸间有七个碱基适于与分支点互补。Tarn 等则利用体外剪接体系通过补骨脂素 (psoralen) 交联及引物延伸反应证实了这一

点. 而在主内含子中 U2snRNP 也是识别结合在分支点, 并通过与 U6snRNP 配对形成螺旋 1 (helix 1) 拉近分支点与 5' 剪接位点的距离以利于下一步的亲核进攻和转酯反应^[2]. 实验证明 U2snRNP 同样可以结合在 AT-AC 内含子的分支点, 并与 U12snRNP 竞争, 抑制其与分支点的结合. 因而 Tarn 等认为 AT-AC 内含子的 U12snRNP 就是主内含子 U2 snRNP 的功能类似物, 在剪接体组装中发挥与其相似的作用.

3.1.2 U11snRNP, U1snRNP 与 5' 剪接位点: 主内含子中, U1snRNP 起着识别 5' 剪接位点并促进 U2snRNP 识别结合分支点的作用. U11snRNP 的二级结构与 U1snRNP 相似, 其可以与 U12snRNP 结合形成复合物的特性也类似于 U1snRNP 结合 U2snRNP. 核苷酸序列分析表明: U11snRNA 的 5' 端可以与 AT-AC 内含子的 5' 剪接位点形成 6 个碱基的互补配对. 尽管如此, Tarn 等的实验却未证实 U11snRNP 具有识别并结合 AT-AC 内含子 5' 剪接位点的特性. 在用互补的寡核苷酸抑制 U11 的作用时, 即使抑制物的浓度增加到了较高水平也仍对正常的剪接反应无所影响. 那么 U11snRNP 在 AT-AC 内含子中究竟起何作用, 以及 AT-AC 内含子剪接体的组装过程中由谁来识别 5' 剪接位点, 这些问题有待于进一步的工作来阐明.

3.1.3 共有 U5snRNP 组分: 在两类内含子中 U5snRNP 是唯一共有的 snRNP 成分, 这可能与它担任的重要作用有关. U5snRNP 被认为在拉近两端的外显子以进行最后的连接反应方面起重要作用. U5snRNP 结构中有一个系统发育中恒定不变的突环, 在 U5snRNP 加入正在组装中的剪接体后, 这个突环便与 5' 外显子紧握在一起, 同时它也与 3' 外显子密切相关^[5]. U5snRNP 的尿嘧啶富含区则在两个外显子序列中起传递信息的作用. 进一步的工作将分析 U5snRNP 在 AT-AC 内含子中的具体作用方式.

3.1.4 缺少 U4 和 U6snRNP 成分: 在主内含

子, U4 和 U6snRNP 都起着重要的作用. 尤其是 U6snRNP, 它可以校正阅读 5' 剪接位点, 并可通过与 U2snRNP 碱基配对形成的螺旋 1 拉近 5' 剪接位点和分支点的距离^[2]. 但在 AT-AC 内含子中检测不到 U4 和 U6snRNP 的存在, 在用 U6snRNP 与 U12snRNP 进行相互作用的实验中也未发现类似 U2 和 U6 的螺旋 1 结构. 因而, 在 AT-AC 内含子中谁取代了 U4 和 U6snRNP 以及它们怎样发挥作用都有待进一步的研究解决.

3.1.5 AT-AC 内含子剪接体的装配途径: Tarn 等对不同时间的剪接反应提取物进行电泳分析, 发现随时间依次出现的 A、B、C 复合体中, A、B 只包括了一些未剪接的前体和降解片段, 而 C 除了 mRNA 前体外还包含有剪接中间产物和终产物, 代表了具催化活性的剪接体. RNA 杂交的结果显示, U11snRNP 仅出现在复合体 A 中, U5snRNP 出现在复合体 B 和 C 中, 而 U12snRNP 在三种复合体中都存在. 根据这些实验结果, Tarn 提出了 AT-AC 内含子剪接体组装的可能途径: 在剪接反应条件下, U11 和 U12snRNP 首先结合在 pre-mRNA 上形成前剪接体, 即复合体 A, 其中 U12snRNP 通过碱基配对结合在分支点区域, 然后 U5snRNP 加入复合体 A 形成迁移率较慢的复合体 B, 复合体 B 后再转变为具有催化活性的复合体 C, 最终产生剪接中间物和终产物. 可以看出, AT-AC 内含子与主内含子的剪接体装配过程在大致轮廓上相似, 但两者在具体细节上存在多大的差异目前尚未可得知.

3.2 剪接反应

由于 AT-AC 内含子剪接反应的中间物呈套索状结构, 并且引物延伸反应证实其分支点倒数第二个核苷酸也是一个突出于双链之外, 不与任何碱基配对的腺苷酸, 因而推测 AT-AC 内含子的剪接反应采取的是与主内含子相似的途径, 即由分支点腺苷酸的 3'-OH 亲核进攻 5' 剪接位点, 将 5' 外显子与内含子连接点的 3', 5' 磷酸二酯键断裂, 形成自由的 5' 外显子

和套索状的内含子——3外显子中间物，然后由5外显子的3'-OH进攻3'剪接位点，导致内含子的剪接和相邻两个外显子的连接。

对AT-AC内含子的新发现扩充了pre-mRNA内含子家族，也给现代基因的起源及分子进化提出了许多新的问题。根据外显子重排假说，单一结构类型的内含子由于其剪接位点的一致性是有利于外显子的随机组合的，而多样化的剪接位点则显然会极大地增加外显子重排的困难性。那么，后生动物的基因在分子进化的过程中是如何出现了第二种不同的剪接位点及剪接机制，这类AT-AC内含子的存在历史及其进入并得以在现代基因结构中保存的机制，都将成为人们研究这一领域时感兴趣的问题。

参 考 文 献

1 Hall S L, Padgett R A. Conserved sequences in a class of rare eukaryotic nuclear introns with non-consensus splice sites. J Mol Biol, 1994, **239** (3): 357~ 365

2 Nilsen T W. RNA-RNA interactions in the spliceosome: unraveling the ties that bind. Cell, 1994, **78** (1): 1~ 4

3 Tarn W Y, Steitz J A. A novel spliceosome contain U11,

U12, and U5snRNPs excises a class (AT-AC) intron *in vitro*. Cell, 1996, **84** (5): 801~ 811

4 Montzla K, Steitz J A. Additional low-abundance human small nuclear ribonucleoprotein: U11, U12. etc. Proc Natl Acad Sci USA, 1988, **85** (23): 8885~ 8889

5 Newman A J, Norman C. U5snRNA interacts with exon sequences at 5' and 3' splice sites. Cell, 1992, **68** (4): 743~ 754

Studies on a New Class of Introns. LIU Xiao-qiong, SHI Xianzong (*Institute of Entomology, Central China Normal University, Wuhan 430079, China*).

Abstract A new class of introns that possess AT and AC respectively at their 5' and 3' ends, has been identified in eukaryotic genome. The AT-AC introns differ from the major class of pre-mRNA introns both in structural features and in splicing mechanism. The distribution, structural features and splicing mechanism of AT-AC introns are discussed and compared with major class of introns.

Key words AT-AC introns, major class of introns, spliceosome, splice site, snRNP

神经元的迁移机制*

于文斗 张锦珠

(中国科学院生物物理研究所, 北京 100101)

摘要 在脊椎动物的脑发育过程中，未成熟的神经元在时间和空间上的精确迁移到达最后行使功能的目的地，是中枢神经系统发育的一个重要阶段。最近的研究结果表明这一过程涉及到一系列分子事件，包括细胞表面分子的相互作用、离子通道的激活和细胞骨架的作用等。对这些事件的了解不但有助于了解神经元迁移的机制，而且对阐明由于神经元异常迁移而引起的脑紊乱失调等病理现象的机理都是必要的。

关键词 神经元，神经胶质细胞，迁移，细胞粘连分子，细胞外基质，钙离子，细胞骨架

脊椎动物脑的一个重要特征是神经细胞的胞体和轴突是严格地分层排布的。这种排布在发育过程中是怎样形成的，是发育神经生物学的一个主要问题，它涉及到细胞增殖、细胞迁

移、轴突伸长、细胞接触、细胞识别、突触的活动等一系列过程。小脑的颗粒细胞 (granule

* 国家自然科学基金资助项目 (39370193).
收稿日期: 1996-09-09, 修回日期: 1997-01-17