

- 7 Takai H, Kanematsu M, Yano K, *et al.* Transforming growth factor- β stimulates the production of osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor by bone marrow stromal cells. *J Biol Chem*, 1998, **273** (42): 27091~ 27096
- 8 Murakami T, Yamamoto M, Yamamoto M, *et al.* Transforming growth factor- β 1 increases mRNA levels of osteoclastogenesis inhibitory factor in osteoblastic/stromal cells and inhibits the survival of murine osteoclast-like cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, **252** (3): 747~ 752
- 9 Hofbauer L C, Dunstan C R, Spelsberg T C, *et al.* Osteoprotegerin production by human osteoblast lineage cells is stimulated by vitamin D, bone morphogenetic protein 2, and cytokines. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, **250** (3): 776 ~ 781
- 10 Brandstrom H, Jonsson K B, Ohlsson C, *et al.* Regulation of osteoprotegerin mRNA levels by prostaglandin E2 in human bone marrow stroma cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, **247** (2): 338~ 341
- 11 Vidal N O, Brandstrom H, Jonsson K B, *et al.* Osteoprotegerin mRNA is expressed in primary human osteoblast-like cells: down-regulation by glucocorticoids. *J Endocrinol*, 1998, **159** (1): 191 ~ 195
- 12 Akatsu T, Murakami T, Nishikawa M, *et al.* Osteoclastogenesis inhibitory factor suppresses osteoclast survival by interfering in the interaction of stromal cells with osteoclast. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, **250** (2): 229~ 234
- 13 Filvaroff E, Derynck R. Bone remodelling: a signalling system for osteoclast regulation. *Curr Biol*, 1998, **8** (19): R679~ 682
- 14 Hsu H, Lacey D L, Dunstan C R, *et al.* Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96** (7): 3540~ 3545
- 15 Burgess T L, Qian Y, Kaufman S, *et al.* The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol*, 1999, **145** (3): 527~ 538

Recent Advance in Osteoclastogenesis Inhibitory Factor. HE Zhi-Yong^{1,2)}, LI Ming-Feng²⁾, ZHANG Wei-Jie¹⁾, WU Xiang-Fu²⁾ (¹⁾ College of Life Sciences and Technology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030, China; ²⁾ Shanghai Institute of Biochemistry, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China).

Abstract Osteoclastogenesis inhibitory factor or osteoprotegerin (OPG/OCIF) is a novel secreted glycoprotein involved in the regulation of bone density. It is a novel member of the TNF receptor superfamily. Mature OPG/OCIF contains 7 domains and can be divided into 3 regions (TNF receptor cysteine-rich region; death domain region and heparin binding region). The OPG/OCIF gene is a single-copy gene consisting of five exons and four introns. It is located in 8q23~ 24. The factors involved in the regulation of bone formation and resorption (eg. TGF- β 1, 1, 25 (OH) $_2$ VD $_3$ and TNF- α) regulate the expression of OPG/OCIF gene. The mechanisms by which OPG/OCIF inhibits bone resorption can be concluded that: 1) OPG/OCIF inhibits survival of osteoclasts and induces apoptosis of osteoclasts; 2) OPG/OCIF inhibits formation of osteoclasts.

Key words osteoclastogenesis inhibitory factor, TNF receptor superfamily, apoptosis

真核 mRNA 3' 非翻译区的肿瘤抑制功能和表达调控*

刘定干

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

摘要 最近几年来, 关于真核 mRNA 3' UTR 在肿瘤细胞恶性表型抑制中作用的研究, 取得了非常令人鼓舞的进展。目前已经发现, 3' UTR 参与一些已知的癌基因和抗癌基因的功能调控; 一些抗癌基因的失活来源于其 3'-UTR 的结构变化; 而且又发现了一些基因的 3' UTR 在转染恶性细胞后表现抗癌基因活性。此外, 3' UTR 在 mRNA 表达调控中的作用也已研究得更加深入。现将最近几年来在这一领域的一部分研究进展情况, 作一简单综述。

关键词 肿瘤抑制, 表达调控, 3' 非翻译区

学科分类号 Q341, Q75

* 国家 863 计划 863-102-11-03-04 项目资助。 Tel: (021) 64374430-340, E-mail: liudiga@sunm.shnc.ac.cn

收稿日期: 1999-09-07, 修回日期: 1999-12-24

1 3' UTR、抗癌基因、癌基因和癌相关基因

1.1 p53、NF1、c-fos 和 c-sarc

早已熟知 p53 的调控包括转录水平的机制。近年来发现, 在 X 射线辐照过的细胞中, p53 的 mRNA 水平并没有变化, 但与聚核糖体结合的 p53 mRNA 量显著增加, 从而 p53 蛋白的量也增加。Fu 等^[1]发现 p53 mRNA 3' UTR 中有一个区域, 能抑制他们所用的重组质粒的报告基因在细胞内表达; 用 X 射线照射该细胞后, 报告基因的表达即升高。因而, X 射线照射可能影响 P₅₃ 基因的 3' UTR; 而且这一 3' UTR 可能参与 P₅₃ 基因表达在翻译水平上的调控。

NF1 是神经纤维瘤病的抗癌基因, 它编码一个 Ras-GTP 酶活化蛋白——神经纤维瘤因子 (neurofibromin), 在信号传导中起作用。在神经纤维瘤病中, 该蛋白质失活。Cowley 等^[2]发现, NF1 基因的 3' UTR 中存在多种序列多态性; 而在神经纤维瘤病细胞系和患者中, NF1 的两个等位基因是差别表达的 (差别可高达 4 倍); 在遗传分离时, 与神经纤维瘤病相联系的那个等位基因, 其表达降低。一般认为, 3' UTR 控制 mRNA 的翻译速率; 看来是由于它的 3' UTR 的变化造成这些等位基因的差别表达, 从而 NF1 基因的失活。

原癌基因 c-fos 的表达能在转基因小鼠中引起骨肿瘤。最近的实验提示, 肿瘤发生与表达 c-fos 的启动子无关, 而与其非翻译区的改变有关。Ruther^[3]检验了各种表达 c-fos 的重组质粒在转基因小鼠中诱导肿瘤的能力。将已知降低 c-fos mRNA 稳定性的 3' UTR 序列除去, 则 c-fos 在某些器官中高表达, 但没有产生可检测的骨损害。相反, 如将小鼠逆转录病毒的各种长末端重复序列插入 3' UTR 中, 则诱导出骨肿瘤。这提示 (至少在这种情况下), c-fos 基因转变为癌基因是逆转录病毒的调控元件插入其 3' UTR 中所致。

Briestanska 等^[4]利用含来自鸡 c-sarc 3' UTR 的 952 bp 序列的鸟类肉瘤病毒 PR2257, 构建了缺失突变子, 以检验 3' UTR 对该病毒的成瘤性的影响。在 3' UTR 存在下, 体内的成瘤性比不存在时大 3.4 倍, 体外的成瘤性则大 2.5 倍。在 3' UTR 中发现了一些调控模体; 把 3' UTR 的各部分克隆到 LTR CAT 质粒中分析 CAT 的表达, 发现了一个 170 bp 的元件是 CAT 基因高表达的原因。这提示细胞 sarc 原癌基因的 3' UTR 能显著增加鸟类肉瘤

病毒 PR2257 的成瘤性。

1.2 抑癌蛋白、核糖核苷酸还原酶和 p15INK4b 蛋白

抑癌蛋白 (prohibitin) 基因位于人染色体 17q21, 是进化上保守的, 其野生型具有增殖抑制效应。Jupe 等^[5,6]研究了抑癌蛋白在细胞永生化和肿瘤抑制中的效应。具有野生型的 3' UTR 的抑癌蛋白基因 (“非 B 型”) 能抑制含有突变了 3' UTR 的抑癌蛋白基因 (“B 型”) 的细胞的增殖。令人感兴趣的是, 对 22 个乳腺癌细胞系的抑癌蛋白的基因分型发现, 有 17 个对 B 型纯合, 5 个对非 B 型纯合, 没有杂合子。把野生型抑癌蛋白基因导入 3 个对 B 纯合的乳腺癌细胞系并表达后, 这些细胞全都被阻遏而不能通过细胞周期; 而将其导入 1 个对非 B 型纯合的乳腺癌细胞系, 则不起增殖抑制作用。这 3 个对 B 纯合的乳腺癌细胞系中的抑癌蛋白基因, 在 3' UTR 末端的 200 个碱基对中全都有突变; 而对非 B 型纯合的乳腺癌细胞系, 则没有突变。用突变的 SK-BR-3 细胞系做转染实验, 发现单用抑癌蛋白基因的 3' UTR, 即可抑制细胞周期的进行。这些实验指出, 抑癌蛋白基因的抗增殖活性是在其 3' UTR 上; 而且该 3' UTR 是起反式作用的调控 RNA。这和本文作者^[7]1991 年所发现的具有抗癌基因活性的 cDNA 克隆 p14-6 (即人白介素 6 核转录因子基因 3' UTR) 相似。

前几年已经发现^[8], 核糖核苷酸还原酶的 R1 和 R2 两个组分在转入恶性细胞系后, 能够抑制其恶性表型。该酶的 R2 组分, 对于增殖中的细胞的 DNA 合成, 是限速酶。Amara 等^[9]发现, 用转化生长因子 (TGF) - β 1、 β 2 和 β 3 处理 BALB/c 3T3 细胞, 能使 R2 基因的表达增高。这 3 个生长因子与 R2 基因的 3' UTR 均形成同样的 75 ku RNA-蛋白复合物。因而, TGF- β 1、 β 2 和 β 3 可能通过同样的机制调控该 R2 基因, 从而调控细胞的增殖和肿瘤的进展。

p15INK4b 基因是一个恶性血液疾病的抗癌基因, 其本质为依赖周期素 (cyclin) 的蛋白激酶的抑制剂。它和人与啮齿类的肿瘤都有关。原来已知, 该基因在肿瘤中的改变主要是启动子区的 CpG 岛的纯合缺失和超甲基化。最近 Malumbres 等^[10]发现, 小鼠 p15INK4b 基因的 3' UTR 中也有对超甲基化敏感的区域。在正常胸腺中, p15INK4b 3'-UTR 的甲基化程度很低。但是, 在放射线或致癌物诱导的胸腺淋巴瘤中, 多至 30% 的肿瘤中该基因

的 3' UTR 区域的专一甲基化显著升高, 可达 100%。这与该基因在这些肿瘤中的表达降低相一致。p15INK4b 3'-UTR 的超甲基化经常发生在含有杂合性缺失 (LOH)、但没有启动子的 CpG 岛的甲基化或基因内突变的肿瘤中。在使用报告基因的实验中, 3' UTR 的 120 bp 区中只要有 2 个 CpG 岛被甲基化, 就足以干扰报告基因的转录。因此, 这些发现说明, 3' UTR 的超甲基化可能是抗癌基因失活和肿瘤发生的另一种机制。

1.3 Syndecan-1 和透明质酸聚糖受体 RHAMM

Syndecan-1 是一个跨膜肽聚糖, 主要在上皮细胞中表达。在上皮来源的癌中, 它的表达降低。Nakanishi 等^[11]研究了 syndecan-1 在宫颈癌细胞系中的降低与其 3' UTR 的关系。他们发现, syndecan-1 的 3' UTR 在宫颈癌细胞中有缩短; 把宫颈癌细胞的 syndecan-1 3' UTR 接到 CAT 报告质粒上, 则其表达降低。他们的研究指出 3' UTR 的 3' 端的一段碱基序列是影响其在宫颈癌细胞中表达的关键。因为, 3' UTR 的缩短引起 syndecan-1 mRNA 的减少, 这就给宫颈癌细胞的生长提供了方便。

透明质酸聚糖介导的细胞迁移的受体 (receptor for hyaluronan-mediated motility, RHAMM) 基因的表达, 在 TGF- α 1 刺激的纤维肉瘤细胞中显著增高; 在这种情况下 RHAMM 的表达增加了 3 倍, 提示 RHAMM 基因表达的调控也包括转录后机制。Amara 等^[12]发现, RHAMM 基因 3' UTR 中有一个 30nt 的区域, 含有 3 拷贝的 GCUUGC 序列; 在细胞受 TGF- α 1 作用后, 这一区域和胞质内的反式因子形成多种蛋白质复合物, 而使 RHAMM mRNA 变得更稳定。这一点已被 CAT 报告基因的实验所证实。他们推测, 这个 30 nt 的区域在静止的正常细胞中起着使 RHAMM mRNA 不稳定的作用。

1.4 表皮生长因子受体和甾体 5 α 还原酶

在人的星型细胞来源的肿瘤 (如成胶质细胞瘤) 中, 一种显著的遗传变化是表皮生长因子受体基因的扩增, 有 40%~50% 的肿瘤含有这种基因扩增。而且, 扩增的基因的相当一部分丢失了表皮生长因子受体的 3' 端第 2 至第 7 个外显子, 包括 3' 非翻译区; 各个肿瘤的缺失方式并不一样。正常的表皮生长因子受体只在结合了辅基以后才磷酸化, 而突变的表皮生长因子受体却变为组成性磷酸化。在体外培养中, 含突变的表皮生长因子受体的细胞的生长速率没有明显变化。但如把后者接种到裸鼠

身上, 则其成瘤性显著增加。这一发现说明, 包括 3' 非翻译区在内的表皮生长因子受体 3' 端序列的缺失, 是这类神经系统肿瘤发生发展的重要原因^[13, 14]。

一个类似的例子是甾体 5 α 还原酶的 II 型酶。它是前列腺中的活性雄激素——二羟基睾酮的合成酶, 而后的增多可能导致前列腺癌。该酶由 SRD5A2 基因编码。Akalu 等^[15]研究外周血淋巴细胞和微切割的、纯的肿瘤 DNA 样品中 SRD5A2 基因的 3' 非翻译区中一个多态性的二核苷酸重复序列——(TA)_n, 发现在所检验的样品中, 约有 57% 在该区显示杂合性缺失或微卫星不稳定性, 说明 SRD5A2 基因座发生了体细胞突变。这一结果提示 SRD5A2 基因 3' 非翻译区的突变可能参与前列腺癌的发展。

1.5 E-钙粘着蛋白

在实验性肿瘤和人类癌症中都已观察到 E-钙粘着蛋白表达的丧失; 这种丧失与肿瘤的浸润性和低分化有关。Keirsebilck 等^[16]构建了带不同的 E-钙粘着蛋白专一的 3' 非翻译区和组成性启动子、并表达 E-钙粘着蛋白 DNA 的各种质粒, 用它们转染 E-钙粘着蛋白负性的小鼠间充质细胞 MO4; 而且分离出了以均一方式表达 E-钙粘着蛋白基因的转染子。在同系小鼠中, 这种 MO4-Ecad 转染子总是发生纤维肉瘤样肿瘤, 这些肿瘤完全不含 E-钙粘着蛋白。RNA 分子杂交揭示在有些含特定 3' UTR 的 MO4-Ecad 肿瘤中, E-钙粘着蛋白 mRNA 的翻译已调低, 调低是因为含那些 3' UTR 的 mRNA 不稳定。因而, 在一部分肿瘤中, E-钙粘着蛋白基因 3' UTR 与肿瘤发展有相关性。

2 作为调控元件的 3' UTR

2.1 3' UTR 和细胞的反式调控蛋白的相互作用

我们在研究 NF-IL6 3' UTR 的肿瘤抑制功能的分子机制过程中, 曾发现在转染了 NF-IL6 3' UTR 而发生回复突变的细胞系 RR 中, 有一个与该 3' UTR 的转录物特异结合的蛋白质表达增加; 与几种对照细胞系的对照研究表明, 该蛋白质的表达量与细胞恶性度的降低正相关^[17]。近年来, 国际上的研究也表明, 与 3' UTR 结合的细胞蛋白质是基因表达的重要的反式调控因子。

Wang 等^[18]研究了人上皮细胞癌细胞中肿瘤坏死因子 α (TNF α) 基因的 3' UTR 对该 mRNA 翻译的调控, 发现 3' UTR 中的富 AU 重复序列

UUAUUUAU 能与细胞中的结合蛋白专一地结合; 结合的结果是显著降低了肿瘤坏死因子 α 蛋白的产量. 重复序列的个数以及 RNA 和蛋白质的结合程度, 和该蛋白质产量的抑制程度间, 均存在定量关系. 他们还发现, 用 TNF α 处理细胞, 能使上述结合蛋白的量明显增加. 因此, 人肿瘤坏死因子 α 基因的 3' UTR 中的富 AU 重复序列是通过与该序列的专一结合蛋白结合, 来调控其翻译的. 相似地, Hel 等^[19]也发现 TNF α mRNA 的 3' UTR 内有两个分立的位点, 能和巨噬细胞的多种胞质蛋白结合.

与 TNF- α 有关的另一种蛋白质是内皮细胞的一氧化氮合酶 (eNOS). eNOS mRNA 翻译时, 内皮细胞中有一种分子质量为 60 ku 的蛋白质专一地结合在 eNOS mRNA 的 3' UTR 中一个富含胞嘧啶的区域, 增加该 mRNA 的稳定性, 减低 eNOS 的翻译速率. TNF- α 通过增加该 60 ku 蛋白的水平对 eNOS 的表达实行低调, 这一调控可被放线菌酮所抑制; 放线菌酮还能阻止 60 ku 蛋白与 eNOS mRNA 3' UTR 的结合, 使 eNOS mRNA 增高. 这一过程可能与心血管疾病的病理有关^[20].

此外, 关于红细胞生成素和某些病毒基因中作为调控元件的 3' UTR 的研究, 以及一些 mRNA 中 5' UTR 和 3' UTR 通过相互作用来共同调控其表达的研究结果, 都是很有趣的, 限于篇幅, 只能省略.

3 结 语

关于真核 mRNA 3' UTR 和肿瘤发生及抑制关系的研究, 还不到 10 年就取得了突飞猛进的进步. 与细胞增殖有关的真核 mRNA 3' UTR 是肿瘤发生及抑制的重要调控因素, 这一点现在已经没有人怀疑了. 在研究中, 细胞转染技术发挥了巨大的威力; 关于细胞成瘤性的动物实验 (如裸小鼠种植瘤实验), 对于确定受染细胞株的成瘤性也是必不可少的. 相信今后这一领域必将继续取得更大的进展.

参 考 文 献

- 1 Fu L, Benchimol S. Participation of the human p53 3' UTR in translational repression and activation following gamma irradiation. *EMBO J*, 1997, **16** (13): 4117~ 4125
- 2 Cowley G S, Murthy A E, Parry D M, *et al.* Genetic variation in the 3' untranslated region of the neurofibromatosis 1 gene: application to unequal allelic expression. *Somat Cell Mol Genet*, 1998, **24** (2): 107~ 119
- 3 Ruther U. Induction of bone tumors in transgenic mice by C-FOS depends on the presence of a retroviral long terminal repeat. *Cancer Genet Cytogenet*, 1998, **105** (2): 123~ 127
- 4 Briestanska J, Plachy J. Influence of the transduced 3' UTR of the *c-src* oncogene on tumour growth induced by the *v-src* gene of avian sarcoma virus PR2257. *J Gen Virol*, 1996, **77** (Pt 6): 1189~ 1192
- 5 Jupe E R, Liu X T, Kiehlbauch J L, *et al.* The 3' untranslated region of prohibitin and cellular immortalization. *Exp Cell Res*, 1996, **224** (1): 128~ 135
- 6 Jupe E R, Liu X T, Kiehlbauch J L, *et al.* Prohibitin in breast cancer cell lines: loss of antiproliferative activity is linked to 3' untranslated region mutations. *Cell Growth Differ*, 1996, **7** (7): 871~ 878
- 7 刘定干, 野田亮, 王 达, 等. 具有抗癌基因活性的一个 cDNA 克隆. *中国科学 B 辑*, 1991, **7**: 730~ 737
- 8 Fan H, Villegas C, Huang A, *et al.* Suppression of malignancy by the 3' untranslated regions of ribonucleotide reductase R1 and R2 messenger RNAs. *Cancer Res*, 1996, **56** (19): 4366~ 4369
- 9 Amara F M, Smith G M, Kuschak T I, *et al.* A *cis-trans* interaction at the 3'-untranslated region of ribonucleotide reductase mRNA is regulated by TGF-beta 1, TGF-beta 2, and TGF-beta 3. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, **228** (2): 347~ 351
- 10 Malumbres M, Perez de Castro I, Santos J, *et al.* Hypermethylation of the cell cycle inhibitor p15INK4b 3'-untranslated region interferes with its transcriptional regulation in primary lymphomas. *Oncogene*, 1999, **18** (2): 385~ 396
- 11 Nakanishi K, Yoshioka N, Oka K, *et al.* Reduction of syndecan-1 mRNA in cervical carcinoma cells is involved with the 3' untranslated region. *Int J Cancer*, 1999, **80** (4): 527~ 532
- 12 Amara F M, Entwistle J, Kuschak T I, *et al.* Transforming growth factor-beta1 stimulates multiple protein interactions at a unique *cis*-element in the 3'-untranslated region of the hyaluronan receptor RHAMM mRNA. *J Biol Chem*, 1996, **271** (25): 15279~ 15284
- 13 Eley G, Frederick L, Wang X Y, *et al.* 3' end structure and rearrangements of EGFR in glioblastomas. *Genes Chromosomes Cancer*, 1998, **23** (3): 248~ 254
- 14 Nishikawa R, Ji X D, Harmon R C, *et al.* A mutant epidermal growth factor receptor common in human glioma confers enhanced tumorigenicity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91** (16): 7727~ 7731
- 15 Akalu A, Dlmajian D A, Highshaw R A, *et al.* Somatic mutations at the SRD5A2 locus encoding prostatic steroid 5 alpha reductase during prostate cancer progression. *Urol*, 1999, **161** (4): 1355~ 1358
- 16 Keirsebilck A, van Hoorde L, Gao Y, *et al.* Mechanisms of downregulation of transfected E-cadherin cDNA during formation of invasive tumors in syngeneic mice. *Invasion Metastasis*, 1998, **18** (1): 44~ 56
- 17 Liu D G, Akira S, Kishimoto T, *et al.* Overexpression of a reversion-related protein in the revertant RR cells. *Science in China (series C)*, 1996, **39** (3): 300~ 309
- 18 Wang E, Ma W J, Aghajanian C, *et al.* Posttranscriptional regulation of protein expression in human epithelial carcinoma cells by adenine-uridine rich elements in the 3'-untranslated region of

- tumor necrosis factor- α messenger RNA. *Cancer Res*, 1997, **57** (23): 5426~ 5433
- 19 Hel Z, Skamene E, Radzioch D. Two distinct regions in the 3' untranslated region of tumor necrosis factor α mRNA form complexes with macrophage proteins. *Mol Cell Biol*, 1996, **16** (10): 5579~ 5590
- 20 Sanchez de Miguel L, Alonso J, Gonzalez-Fernandez F, *et al.* Evidence that an endothelial cytosolic protein binds to the 3'-untranslated region of endothelial nitric oxide synthase mRNA. *J Vasc Res*, 1999, **36** (3): 201~ 208

Tumor Suppressor Function and Expression Regulation of the 3'-Untranslated Region (3'-UTR) of Eukaryotic mRNA. LIU Ding-Gan (Shanghai Institute of Biochemistry, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China).

Abstract In recent years the research on the roles of

eukaryotic mRNA 3' UTR in suppression of malignant phenotype of tumor cells has achieved very exciting advances. It has been found that the 3' UTR is involved in regulation of function of known oncogenes and antioncogenes; that the inactivation of some antioncogenes came from the structural changes of their 3' UTR; and that the 3' UTR of several genes exerted antioncogene activity after transfection into malignant cells. Apart from these, further studies have also been performed on the roles of 3' UTR in regulation of mRNA expression. Recent advances of part of studies in this field are reviewed.

Key words tumor suppression, expression regulation, 3' untranslated region

苏云金芽胞杆菌杀虫晶体蛋白的结构与功能研究进展

邵宗泽^{1,2)} 刘子铎¹⁾ 喻子牛^{1)*}

(¹⁾华中农业大学微生物科学技术系, 农业部农业微生物重点开放实验室, 武汉 430070; ²⁾山东农业大学生命科学学院, 泰安 271018)

摘要 苏云金芽胞杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 杀虫晶体蛋白的毒性肽由三个典型的结构域组成。结构域 I 位于肽链的 N 端, 为一组由 6~ 7 个两亲的 α 螺旋围绕着一个疏水的 α 螺旋形成的 α 螺旋束, 参与了细胞膜的穿孔; 结构域 II 位于肽链的中间, 为三组以“希腊钥匙”(Greek key) 拓扑结构连接在一起的反平行的 β 折叠片层, 其顶端的突环参与了毒素与受体蛋白的结合; 位于 C 端的结构域 III 是由两组反平行的 β 折叠片层组成的夹心结构, 以 β 果酱卷 (jelly roll) 拓扑结构排列, 可能能够防止蛋白酶对毒素分子的过度降解。

关键词 苏云金芽胞杆菌, 杀虫晶体蛋白, 结构域

学科分类号 Q71

苏云金芽胞杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 是一种重要的昆虫病原细菌, 杀虫晶体蛋白 (insecticidal crystal proteins, ICPs) 是其主要杀虫成分, 也是细菌毒素中结构与功能研究较为深入的一种^[1, 2]。目前, 已克隆到的杀虫晶体蛋白按氨基酸序列同源性分为 138 种^[3]。除 9 种 Cyt 蛋白外, 其他都是由 *cry* 基因编码的 Cry 蛋白, 它们在一级结构上存在 5~ 8 个保守区, 而空间结构都为相似的三结构域球状蛋白。这类蛋白质具有杀虫专一性, 对多种农林和卫生害虫有毒杀作用^[4]。苏云金芽胞杆菌制剂及转杀虫晶体蛋白基因植物已成为害虫生物防治的重要手段, 而杀虫晶体蛋白的结构与功能研究对于阐明其杀虫机理、提高杀虫活性具有重要的指导作用。

1 保守区与结构域

比较毒素的氨基酸序列, 发现大多数毒素在一级结构上都含有 5 个保守区, 一些大分子量毒素 (130~ 140 ku) 还含有另外位于 C 端非毒性区的 3 个保守区 (图 1)^[5]。氨基酸序列同源性系谱显示, 所有的杀虫晶体蛋白 (包括 Cry 蛋白和 Cyt 蛋白) 可明显分成五组, 外加一种 Cry15。第一组包括 Cry1、Cry3、Cry4、Cry7~ Cry10、Cry16、Cry17、Cry19 和 Cry20 共 11 类 Cry 蛋白, 它们全部含有第 1~ 5 个保守区 (图 1); 第二组包括 Cry5、

* 通讯联系人。

Tel: (027) 897396030, E-mail: yz41@public.wh.hb.cn

收稿日期: 1999-09-13, 修回日期: 1999-12-24