

- biological and clinical importance. *Clin Chem*, 1997, **43** (5): 708~ 714
- 2 Shore D. Telomerase and telomere-binding proteins: controlling the endgame. *TiBS*, 1997, **22** (7): 233~ 235
  - 3 Lundblad V, Wright W E. Telomeres and telomerase: a simple picture becomes complex. *Cell*, 1996, **87** (3): 396~ 375
  - 4 Shore D, Nasmyth K. Purification and cloning of a DNA binding protein from yeast that binds to both silencer and activator elements. *Cell*, 1987, **51**: 721~ 732
  - 5 Conrad M N, Wright J H, Wolf A J, *et al.* RAP1 protein interacts with yeast telomeres *in vivo*: overproduction alters telomere structure and decreases chromosome stability. *Cell*, 1990, **63** (4): 739~ 750
  - 6 Chong L, van Steensel B, Broccoli D, *et al.* A human telomeric protein. *Science*, 1995, **270**: 1663~ 1667
  - 7 van Steensel B, de Lange T. Control of telomere length by the human telomeric protein TRF1. *Nature*, 1997, **385** (6618): 740~ 743
  - 8 Cooper J P, Nimmo E R, Allshire R C, *et al.* Regulation of telomere length and function by a Myb domain protein in fission yeast. *Nature*, 1997, **385** (6618): 744~ 747
  - 9 Billaud T, Koering C E, Binet-Brasselet E, *et al.* The telobox, a Myb-related telomeric DNA binding motif found in proteins from yeast, plants and human. *Nucleic Acids Res*, 1996, **24**: 1294~ 1303
  - 10 Lendvey T S, Morris D K, Sah J, *et al.* Senescence mutants of *Saccharomyces cerevisiae* with a defect in telomere replication identify three additional EST genes. *Genetics*, 1996, **144** (4): 1399~ 1412
  - 11 Lin J J, Zakian V A. The *Saccharomyces* CDC13 proteins is a single-strand TG<sub>1-3</sub> telomeric DNA-binding protein *in vitro* that affects telomere behavior *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93** (24): 13760~ 13765
  - 12 Nugent C I, Hughes T R, Lue N F, *et al.* Cdc13p: a single-strand telomeric DNA-binding protein with a dual role in yeast telomere maintenance. *Science*, 1996, **274** (5285): 249~ 251
  - 13 Grandin N, Nathalie, Steven I, *et al.* STN1, a new *Saccharomyces cerevisiae* gene, is implicated in telomere size regulation in association with CDC13. *Genes Dev*, 1997, **11** (4): 512~ 527
  - 14 McEachern M J, Blackburn E H. Runaway telomere elongation caused by telomerase RNA gene mutations. *Nature*, 1995, **376** (6539): 403~ 409
  - 15 Marcand S, Gilson E, Shore D. A protein-counting mechanism for telomere length regulation in yeast. *Science*, 1997, **275** (5302): 986~ 990
  - 16 Shore D. Different means to common ends. *Nature*, 1997, **385**: 676~ 677
  - 17 Blasco M A, Har-Woong L, Prakash Hande M, *et al.* Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA. *Cell*, 1997, **91**: 25~ 3423
  - 18 Greider C W. Telomerase activity, cell proliferation, and cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95** (1): 90~ 92
  - 19 Nakayama J, Saito M, Nakamura H, *et al.* TLP1: a gene encoding a protein component of mammalian telomerase is a novel member of WD repeats family. *Cell*, 1997, **88** (6): 875~ 884
  - 20 van Steensel B, Smogorzewska A, de Lange T. TRF2 protects human telomeres from end-to-end fusions. *Cell*, 1998, **92** (3): 401~ 413

**Telomere-binding Proteins and Telomere Length Regulation.** CHEN Geng, ZHOU Jian-Xin, DONG Yan-Lin (The Biochemical Department, Third Military Medical College, Chongqing 400038, China).

**Abstract** Loss of telomere DNA repeats in eukaryotic cells is associated with senescence and apoptosis. Activation of telomerase can maintain telomere length stability and make cells immortal. Telomere-binding proteins might regulate the length of telomere by means of regulating telomerase or other relative factors. The progress in study of telomere-binding proteins and the model of telomere length regulation based on it are reviewed.

**Key words** telomere, telomere-binding proteins, length regulation

## 锤头型核酶作用机理的研究进展\*

邓文生 杨希才<sup>1)</sup> 彭毅 康良仪  
(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

**摘要** 概述了锤头型核酶的二级结构特征, 动力学反应的特点以及核酶切割反应的催化机制, 提出了锤头型核酶作用机理有待于深入研究的问题。

**关键词** 锤头型核酶, 动力学反应, 催化机制

**学科分类号** Q52

核酶 (ribozyme) 是 80 年代初期发现的具有催化功能的 RNA 分子。它具有高度专一内切核酸酶的活性。经过科学家十多年的研究, 核酶已被发展成为一项新型技术并广泛应用于动植物抗病、人类疾病防治等领域的研究<sup>[1,2]</sup>, 显示出了广阔的应

用前景。迄今为止, 人们已经发现和研究的核酶类型较多, 而且其结构和作用方式也各不相同, 其中

\* 国家 863 计划资助项目 (863-101-01-0204)。

<sup>1)</sup> 通讯联系人。

收稿日期: 1998-08-21, 修回日期: 1998-12-25

锤头型核酶 (hammerhead ribozyme) 是应用最广泛, 研究最深入的一类. 下面就这类核酶作用机理的研究进行概述.

## 1 锤头型核酶的结构特点及其设计原则

锤头结构核酶存在于许多植物病原物 RNA 中<sup>[3]</sup>. 对来源于烟草环斑病毒卫星 RNA 正链锤头型核酶进行一系列突变研究后, Haseloff 和 Gerlach<sup>[4]</sup>提出核酶催化 RNA 所要求最小结构模型, 主要由三个区域组成即: (A) 紧邻切割位点处包含 GUC 的区域; (B) 包含高度保守序列的二级结构区域; (C) 两侧 RNA 双螺旋识别区. 如图 1 所示, 图 1 中 I, II, III 代表三个双螺旋区. 方框内 13 个核苷酸为绝对保守碱基. 根据锤头型核酶结构特点, 他们提出人工合成核酶相应的三个设计原则, 即 a. 选择 RNA 靶分子上切割所要求的特殊切割位点, 即紧靠切点 5' 侧翼必须是 'NUX' 或 'UX' ( $N = A, G, C, U, X = A, G, C$ ), 但以 GUC 作靶位点切割活性最高; b. 天然核酶中高度保守序列也是人工设计的核酶所必需的; c. 在核酶催化区与 RNA 底物的切割位点精确定位前提下, 确定核酶两侧与靶 RNA 碱基配对的区域. 根据这三个要求, Haseloff 等设计合成了专一切割氯霉素乙酰转移酶 (CAT) mRNA 的三个锤头型核酶, 体外活性测定表明, 它们都具有高度精确切割底物的能力. 从而证明了上述原则在实践中是可行的. 他们的这一研究作为锤头结构核酶的广泛研究奠定了基础.

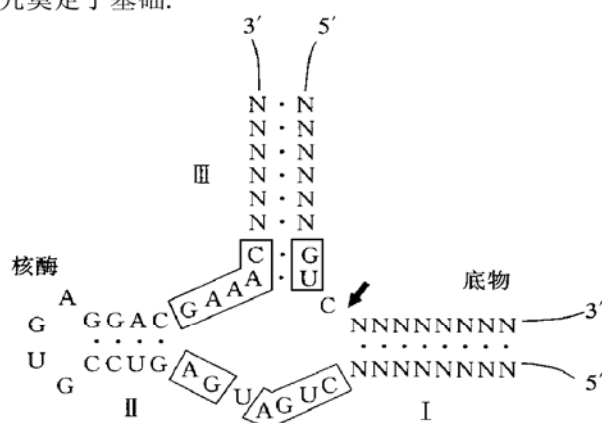


图 1 Haseloff 和 Gerlach 锤头结构核酶

## 2 锤头型核酶反应动力学特点

### 2.1 核酶反应的基本动力学

如前所述, 核酶具有高度专一的核酸内切酶的功能. 因此可以采用研究蛋白酶反应动力学方法来研究核酶反应. 在核酶反应动力学中, 常用速度常数 ( $k$ ), 米氏常数 ( $K_m$ ), 催化常数 ( $K_{cat}$ ), 一级反应速度常数 ( $k_{obs}$ ) 以及反应的平衡解离常数 ( $K_d$ ) 等参数来描述. 而且通常以  $K_{cat}/K_m$  或  $k_{obs}$  来衡量核酶催化反应的效率.

Uhlenbeck 等<sup>[5]</sup>以 ASBV 负链为基础设计合成了切割 24 个核苷酸片段的 RNA 分子 (含锤头结构), 初步研究了核酶反应的一些动力学参数, 结果表明核酶反应的  $K_m$  值 (约  $0.62 \mu\text{mol/L}$ ) 基本符合蛋白质酶催化反应的  $K_m$  值范围, 催化常数  $K_{cat}$  值 ( $0.5 \text{ min}^{-1}$ ) 则低于一般蛋白质酶反应的  $K_{cat}$  值范围 ( $1.0 \sim 1.0 \times 10^8 \text{ min}^{-1}$ ). Symons 等<sup>[6]</sup>对烟草环斑病毒病 (sTRSV) 自切割系统的动力学研究得出的数据与 Uhlenbeck 是一致的. Symons 等认为, 核酶反应的  $K_{cat}$  值之所以比蛋白质酶催化反应低很多是由于核酶切割活性要求的两侧碱基配对所造成的.

正是核酶与底物碱基配对的原因使得核酶催化反应有其自身的特点. 主要表现为两种类型的反应, 其中, 一类为短臂核酶的反应. 这类反应大致过程表现为: a. 核酶与底物依靠碱基配对形成复合物 [ES]; b. 核酶在  $\text{Mg}^{2+}$  参与下, 催化底物发生磷酸转酯反应, 底物被切割成两个产物 ( $\text{EP}_1\text{P}_2$ ); c. 核酶释放出产物  $\text{P}_1, \text{P}_2$ . 由于切割成的两种产物与核酶的解离能力不同, 释放产物有两种途径即或者先释放产物  $\text{P}_1$  或者先释放产物  $\text{P}_2$ .

当锤头型核酶两侧碱基配对序列很长时, 人们称这种核酶为“催化功能的反义 RNA”. 核酶与底物结合非常牢固, 反应不存在产物的释放过程, 在这种反应类型中, 底物与核酶结合速率是速率限制步骤. 研究观察到的切割速率常数是  $0.01 \text{ min}^{-1}$ <sup>[7]</sup>, 比短臂锤头核酶  $K_{cat}$  值低 100 倍<sup>[3]</sup>.

当锤头型核酶两侧碱基配对序列很长时, 人们称这种核酶为“催化功能的反义 RNA”. 核酶与底物结合非常牢固, 反应不存在产物的释放过程, 在这种反应类型中, 底物与核酶结合速率是速率限制步骤. 研究观察到的切割速率常数是  $0.01 \text{ min}^{-1}$ <sup>[7]</sup>, 比短臂锤头核酶  $K_{cat}$  值低 100 倍<sup>[3]</sup>.

### 2.2 影响锤头型核酶反应的因素

**2.2.1 核酶与底物碱基配对区对反应速度的影响:** 核酶只有和底物碱基配对结合成复合物后, 才能发生切割反应, 因此底物与核酶配对区长度和结构稳定性直接影响复合物生成速率并影响整个反应速度. 一般而言, 配对区越长, 核酶与底物亲和力就越大 ( $K_m$  值越小), 但会降低整个反应的催化速率. 那么, 核酶应选择多长的配对区才比较合适呢? Bertrand 等<sup>[8]</sup>设计了一系列不同长度的配对区的核酶, 使其切割同样的靶序列, 研究表明, 配对

区长度为 12 碱基的反应具有更高的  $K_{cat}/K_m$  值 (此时双螺旋自由能 - 67.2 kJ/mol). 若将双螺旋区长度由 14 个碱基增加到 17 个碱基 ( $\Delta G$  从 - 79.5 kJ/mol 降低到 - 109.2 kJ/mol), 核酶的切割活性明显降低, 这归咎于较低的产物解离速率. Hendry 等<sup>[9]</sup>认为核酶的最佳切割效率应该是其中一个底物与核酶配对区双螺旋 I 或双螺旋 III 结合相对弱些, 为了证实这观点, 他们研究了一系列双螺旋 I 和双螺旋 III 不等的核酶. 实验证明双螺旋 I 短于双螺旋 III 的核酶比双螺旋 I 长于双螺旋 III 的核酶切割速率大 1~2 数量级. 并指出当螺旋 III 长度为 10 bp 时, 螺旋 I 的最佳长度为 5 bp.

除了选择适当核酶/底物配对区长度外, 一些改变核酶/底物复合物结构稳定性的因子也能影响核酶催化反应的速率. 在核酶底物配对区两侧设计与底物配对的寡聚核苷酸片段 (称为促进因子). 当促进因子加入到核酶反应中后, 核酶 3' 端促进因子增加切割反应的速度常数, 而 5' 端促进因子降低切割速度常数, 但  $K_m$  值都有所降低<sup>[10]</sup>.

**2.2.2 pH 值、温度、 $Mg^{2+}$  对核酶反应速率的影响:** 由于切割反应是依靠功能性基团去质子化, 而功能性基团  $pK_a$  值比实验的 pH 值高. 而在 pH 值 5.31~8.77 之间核酶和底物核苷酸质子化状态变化不明显, 那么在这个 pH 值范围内研究核酶的切

割反应对 pH 值依赖是可行的. 以切割反应作为速度限制步骤研究一级反应对  $OH^-$  浓度依赖性. 在低 pH 值时, 核酶切割的一级反应速率 ( $k_{obs}$ ) 随  $OH^-$  浓度升高而线性增高, 当 pH 值大于 6.5 时, 一些核酶的  $k_{obs}$  值则开始偏离直线方向而逐渐趋于平稳<sup>[11]</sup>.

核酶切割反应对  $Mg^{2+}$  的依赖表现在两个不同的阶段, 在低  $Mg^{2+}$  ( $< 10$  mmol/L) 浓度下, 核酶切割速度常数随  $Mg^{2+}$  浓度升高呈幂函数形式增加. 在高  $Mg^{2+}$  浓度下, 切割反应的速率常数  $k_{obs}$  与  $Mg^{2+}$  成正比例增加<sup>[11]</sup>, 两者表现为线性关系.

反应温度增加时反应分子的活化能随之增加. 研究表明, 在核酶反应中 (pH=6.45 时) 当温度从 5℃ 上升到 45℃, 核酶切割速率呈线性增加<sup>[11]</sup>.

### 3 锤头型核酶催化机制

在镁离子存在的缓冲体系中, 锤头型核酶将在特异的残基处切割底物, 生成 2', 3'-环化的磷酸端产物和 5'-OH 端的产物<sup>[5]</sup>. 大量研究表明, 核酶的催化活性需要金属离子参与. 因此, 核酶属于金属酶, 金属离子为核酶辅因子. 关于金属离子在核酶催化过程所起的作用, 比较流行的机制有两个: 一个金属氢氧根离子催化机制和两个金属离子催化机制 (图 2)<sup>[12]</sup>.

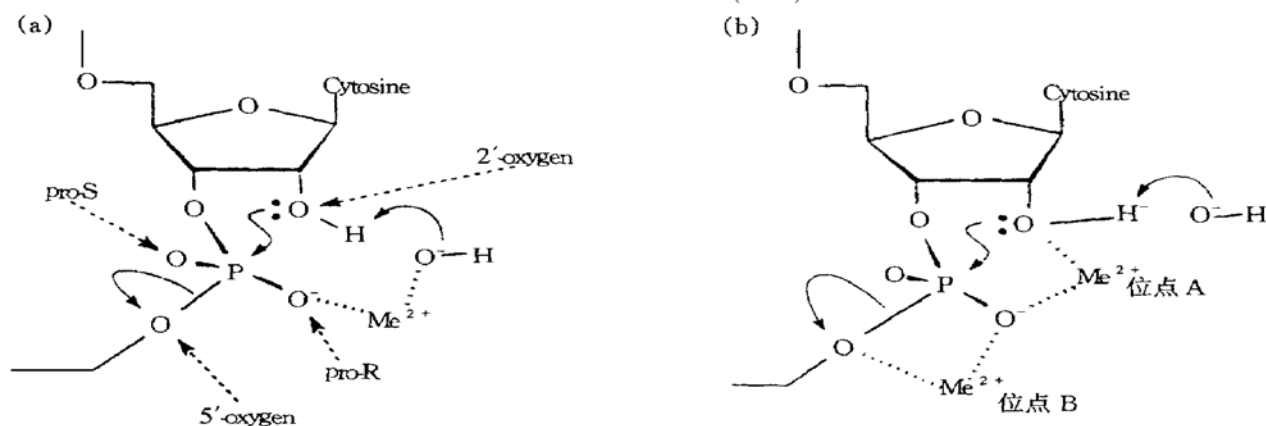


图 2 锤头型核酶催化机制两个可能的化学模型

(a) 一个金属氢氧根离子模型, pro-S: 靠近底物, pro-R: 靠近核酶; (b) 两个金属离子模型,  $Me^{2+}$ : 金属二价阳离子.

在一个金属氢氧根离子模型中, 金属氢氧根离子位于核酶催化中心, 并与切割点处磷酸上靠近核酶的羟基氧进行耦合 (图 2a). 在切割反应的第一步中, 这个金属氢氧根离子充当 Bronsted 碱, 从 2' 羟基上夺取质子, 产生活化 2'-氧碱 (2'-O<sup>-</sup>) 然后充当亲核基团. 通过分子内反应 2'-O<sup>-</sup> 攻击带正电

荷的磷, 进而取代即将断裂的核苷酸上的 5'-氧<sup>[13]</sup>.

金属氢氧根离子  $Me^{2+}$  ( $OH^-$ ) 是金属水合离子  $Me^{2+}$  ( $H_2O$ ) 电离产生的, 其电离平衡常数  $pK_a = -\lg \{ [Mg^{2+} (OH^-)] [H^+] / [Mg^{2+} (H_2O)] \}$ . 根据公式, 金属氢氧根离子浓度越大,

$pK_a$  越小. 假如在核酶反应中, 金属氢氧根离子确实起作用, 而且在活性位点的金属氢氧根离子浓度与溶液的离子浓度是成正比的. 那么按照这一模型, 金属氢氧根离子越高, 核酶的切割活性越高. 研究表明, 金属离子  $pK_a$  值越小, 核酶反应切割活性越高. 说明金属氢氧根离子参与催化作用.

尽管金属氢氧根离子可以充当 Bronsted 碱, 但实际上它是一种弱碱, 不易从  $2'-OH$  上夺取质子. 假定核酶可能的催化机制是碱催化机制, 金属离子确实能促使  $2'-OH^-$  向  $2'-O^-$  平衡, 那么  $2'-O^-$  对中心磷的亲核攻击成为限速步骤. 但金属氢氧根离子实际上不能促进反应朝  $2'-O^-$  方向进行, 因为金属氢氧根离子的酸性更强. 因此实验中所得结论:  $pK_a$  值与切割活性呈负相关性. 这在理论上与金属氢氧根离子化学性质是相悖的. 即按一个金属氢氧根离子模型不应该得出  $pK_a$  与切割活性呈负相关结论. 相反, 依赖于  $pK_a$  的切割活性很容易用两个金属离子模型来解释 (图 2b).

在两个金属离子参与催化的模型中, 一个金属离子而不是金属氢氧根离子直接与  $2'-O$  进行耦合. 如图 2b 中处于 A 位的金属离子充当路易斯酸从  $2'-O$  上接受电子, 以致极化和削弱  $2'-O-H$  之间的键, 使氢质子很容易解离. 假设  $2'-OH$  的去质子是速度限制步骤, 那么酸度更大的金属水合离子,  $pK_a$  值越小, 更容易从  $2'-OH$  上夺取电子, 极化削弱  $O-H$  键, 最终导致核酶的催化活性升高. 在这个模型中, 产生的  $2'-O^-$  充当亲核物质取代即将断裂的核苷上  $5'-O^-$ . 催化中心磷酸上的氧硫取代研究表明, 第二个金属离子是与磷酸上靠近核酶端的氧以及  $5'-O^-$  同时耦合的<sup>[14]</sup>. 如图 2b 所示处于 B 位点处的金属离子也充当路易斯酸, 从  $5'-O^-$  接受电子, 极化和削弱  $O-P$  键, 使氧更容易与磷断裂.  $2'-O^-$  取代  $5'-O^-$  与磷结合, 从而产生  $5'$ -羟基和  $2'3'$  环化磷酸的产物.

但是, 用硫取代核苷和磷酸相连的  $5'$ -氧, 却很大程度上刺激了底物的切割速率, 而且用不同金属离子与这种含硫的底物反应时, 并没有看到明显的切割活性的差异<sup>[15]</sup>. 因此很难相信一个金属离子是与  $5'$ -氧相耦合的, 这个实验似乎否定了两个金属离子的模型, 但是, 最近的  $La^{3+}$  离子和  $Mg^{2+}$  离子的竞争实验表明, 当向已含  $Mg^{2+}$  的核酶反应中加入  $La^{3+}$  离子时, 随着  $La^{3+}$  浓度升高, 切割反应速率呈钟型曲线变化. 研究认为这是由于两个金属离子结合位点调节的结果. 当  $5'-O$  位点被  $La^{3+}$

取代时 (与  $Mg^{2+}$  相比,  $La^{3+}$  结合更强位点) 刺激核酶反应的切割活性. 当  $La^{3+}$  浓度很高时, 与  $2'-O$  耦合的  $Mg^{2+}$  也被取代 (与  $Mg^{2+}$  相比,  $La^{3+}$  结合能力更弱), 切割反应速率剧烈下降, 说明两个金属离子结合位点起着不同的作用. 从而为两个金属离子模型提供了证据<sup>[16]</sup>.

#### 4 有待深入研究的问题

核酶的动力学研究表明, 核酶反应的速率受许多因素制约, 其中核酶与底物的配对区结构的稳定性是关键因素. 尽管有研究认为配对区长度为 12 bp 具有最好的切割效率<sup>[9]</sup>. 但有报道表明, 具有长配对区的核酶虽然在体外切割活性很低, 但转入细胞后比短配对区的核酶更有效<sup>[17]</sup>. 说明核酶切割效率在体内体外表表现是不一致的. 因此, 人工核酶在体内的表现行为如何以及怎样设计和提高核酶在体内的作用效率仍是值得研究的问题.

尽管两个金属离子的切割机制对一些实验数据有较好的解释, 但并不能完全反应核酶的切割机制. 核酶晶体结构研究发现, 核酶至少有五个金属离子结合位点, 其中一个金属离子处于核酶的催化袋中<sup>[18]</sup>, 最近的核酶晶体学研究揭示, 靠近切割磷酸的两个镁离子之间存在  $OH^-$   $\mu$  桥. 模拟实验表明, 若在切割磷酸处的核糖上从  $C-3'$  到  $C-2'$  在结构作一次翻转, 将导致  $2'-OH$  更靠近被攻击的磷原子和  $OH^-$  离子. 研究发现,  $\mu-OH^-$  离子桥合的镁离子簇位于深沟内, 只需局部微小的构型变化,  $OH^-$  离子便激活  $2'-OH$  进行亲核反应<sup>[19]</sup>. 由此可见, 核酶的催化机制是由多少个金属离子参与还不能断定. 处于切割部位  $OH^-$  离子可能起着某种作用. 关于核酶的催化反应过程中构型发生改变还缺乏直接证据, 两个金属离子的催化机制未获得晶体学的证实. 可见, 锤头型核酶的催化机制仍有待于更深入研究.

#### 参 考 文 献

- 1 Atkins D, Young M, Uzzell S, *et al.* The expression of antisense and ribozyme genes exocortis viroid in transgene plants. *Journal of General Virology*, 1995, **76** (7): 1781~ 1790
- 2 Sarver W, Cantin E M, Chang P S, *et al.* Ribozymes as potential anti-HIV-1 therapeutic agents. *Cell*, 1982, **31** (1): 147~ 157
- 3 Symons R H. Small catalytic RNAs. *Annu Rev Biochem*, 1992, **61**: 641~ 671
- 4 Haseloff J, Gerlach W L. Simple RNA enzymes with new and highly specific endoribonuclease activities. *Nature*, 1988, **334** (6182): 585~ 591
- 5 Uhlenbeck O C. A small catalytic oligoribonucleotide. *Nature*, 1987, **328** (6130): 596~ 600

- 6 Jeffries A C, Symons R H. A catalytic 13-mer ribozyme. *Nucleic Acids Res*, 1989, **17** (3): 1371~ 1377
- 7 Hammann M, Tabler M, Tzortzakaki S, *et al.* Extension of helix II of an HIV-1-directed hammerhead ribozyme with long antisense flanks does not alter kinetic parameter *in vitro* but cause loss of the inhibitory potential in living cell. *Nucleic Acids Res*, 1994, **22** (19): 3951~ 3959
- 8 Bertrand E, Pictet R, Grange T. Can hammerhead ribozymes be efficient tools to inactivate gene function? *Nucleic Acids Res*, 1994, **22** (1): 293~ 300
- 9 Hendry P, McCall M J. Unexpected anisotropy in substrate cleavage rates by asymmetric hammerhead ribozymes. *Nucleic Acids Res*, 1996, **24** (14): 2679~ 2684
- 10 Jankowsky E, Schwenzler B. Oligonucleotide facilitators may inhibit or activate a hammerhead ribozyme. *Nucleic Acids Res*, 1996, **24** (3): 423~ 429
- 11 Hendry P, McCall M J. A comparison of the *in vitro* activity of DNA-armed and all RNA hammerhead ribozymes. *Nucleic Acids Res*, 1995, **23** (19): 3928~ 3936
- 12 Pontius B W, Lott B W, von Hippel P H. Observations on catalysis by hammerhead ribozymes are consistent with a two-divalent-metal-ion mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94** (12): 2290~ 2294
- 13 Dahm S C, Derrick W B, Uhlenbeck O C. Evidence for the role of solvated metal hydroxide in the hammerhead cleavage mechanism. *Biochemistry*, 1993, **32** (48): 13040~ 13045
- 14 Slim G, Gait M J. Configurationally defined phosphorothioate-containing oligoribonucleotides in the study of the mechanism of cleavage of hammerhead ribozymes. *Nucleic Acids Res*, 1991, **19** (6): 1183~ 1188
- 15 Knimelis R G, McLaughlin L W. Ribozyme-mediated cleavage of substrate analogue containing an internucleotide bridge 5'-phosphorothioate: evidence for the single-metal model. *Biochemistry*, 1996, **35** (16): 5308~ 5317
- 16 Blott W B, Pontius B W, Von Hippel P H. A two-metal ion mechanism operates in the hammerhead ribozyme-mediated cleavage of an RNA substrate. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95** (2): 542~ 547
- 17 Homann M, Tzortzakaki S, Rittner K, *et al.* Incorporation of the catalytic domain of a hammerhead ribozyme into antisense RNA enhances its inhibitory effect on the replication of HIV-1. *Nucleic Acids Res*, 1993, **21** (12): 2809~ 2814
- 18 Scott W G, Joonch J T, Aron K. The crystal structure of an all RNA hammerhead ribozyme: A proposed mechanism for RNA catalytic cleavage. *Cell*, 1995, **80** (7): 991~ 1002
- 19 Hermann T, Auffinger P, Scott W, *et al.* Evidence for a hydroxide ion bridging two magnesium ions at the active site of hammerhead. *Nucleic Acids Res*, 1997, **25** (17): 3420~ 3427

**Proceeding of Hammerhead Ribozyme in Action Mechanism.** DENG Wen-Sheng, YANG Xi-Cai, PENG Yi, KANG Liang-Yi (*Institute of Microbiology, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China*).

**Abstract** Characteristics of secondary structure, properties of kinetics reaction and possible catalytic mechanism for hammerhead ribozyme were described, the problems to be studied further in action mechanism were also put forward.

**Key words** hammerhead ribozyme, kinetics reaction, catalytic mechanism

## 核不均一性核糖核蛋白在 RNA 加工过程中的作用

曹雪松

(聊城师范学院生物系, 聊城 252059)

**摘要** 在真核细胞中, 初始转录产物 (前体 mRNA) 经过一系列复杂的转录后加工过程形成成熟的 mRNA. 在这一过程中, 大量蛋白质和加工因子有序汇集在核糖核蛋白复合体中并参与对前体 RNA 的加工过程. 该复合体中的蛋白质部分主要由一类约 20 种称为核不均一性核糖核蛋白的多肽分子构成. 除了早期了解的一些结构性功能外, 近来已有许多证据显示这些蛋白质在细胞中 RNA 的代谢及其他活动方面具有更加广泛和积极的作用.

**关键词** 核不均一性核糖核蛋白, RNA 加工, RNA 拼接

学科分类号 Q71

核不均一性 RNA (heterogeneous nuclear RNA, hnRNA) 是真核细胞中由 RNA 多聚酶 II 合成的最丰富的 RNA. 前体 mRNA (pre-mRNA) 也是 hnRNA 中的一种, 它经过一系列复杂的转录后加工过程, 最后产生成熟的 mRNA. 新生 hnRNA 链与大量的蛋白质结合形成核糖核蛋白复合体纤维. 其中的蛋白质部分包含一些反式作用的加工因

子, 如小核核糖核蛋白 (small nuclear ribonucleoprotein, snRNP)、拼接因子 (splicing factor) 等, 但其主要成分是由核不均一性核糖核蛋白 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, hnRNP) 组成.

收稿日期: 1998-07-22, 修回日期: 1998-10-03