

- 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

真核细胞中的 hnRNP 是由一系列约 20 种蛋白质构成, 这些蛋白质在体内可结合到 hnRNA 上. 以往认为 hnRNP 的基本功能是参与新生 hnRNA 链的包装以保护其免于降解并形成一个类似于核小体样的结构 (核糖核小体, ribonucleosome). 但近年来越来越多的证据显示 hnRNP 具有更加多样化的功能.

1 RNA 结合特异性

所有 hnRNP 都与 RNA (及单链 DNA) 具有亲和性. 但 hnRNP 具有明显的 RNA 结合特异性, 如 hnRNPP 优先结合于 poly (A), hnRNPE、F、H、M 优先结合于 poly (U)^[1]. hnRNPK 可特异性地结合到单一嘌呤或单一嘧啶序列 (CT 单位), 而 CT 单位位于 C-myc 基因 P1 启动子上游 100~150 bp 处^[2], 所以有可能这种结合作用可启动并增加基因的表达, 即表明 hnRNPK 可能具有转录调节作用. hnRNP 的 RNA 结合特异性主要由其分子中的 RNA 结合结构域所决定.

2 hnRNP 在 RNA 包装过程中的作用

已有证据表明 hnRNP 可以“底物呈递”的方式参与 RNA 的加工过程^[1], 并且 hnRNP 与 RNA 形成的复合体呈动态变化而非静止状态, 其中的蛋白质组分在单一转录水平上不断变化, 另外 hnRNP 可募集加工因子到前体-mRNA 上的特定位置, 从而有助于确定 mRNA 的成熟途径 (图 1).

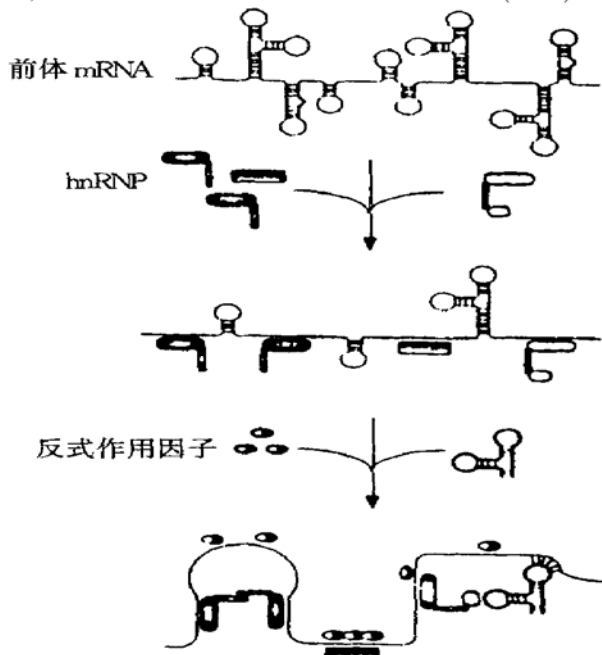


图 1 hnRNP 与 pre-mRNA 相互作用模式图

在 mRNA 成熟过程中, hnRNP 结合到前体-mRNA 的特定部位上并引起其二级结构的改变, 从而有利于以反式作用方式作用的一些加工因子接近并结合到前体-mRNA 上的特定部位并产生作用.

3 链退火活性

从人细胞核中已分离到具链退火活性的物质, 并且已知多种 hnRNP 与此活性有关. 在体外 hnRNPA1 可使互补链的重新配对速率增加 500 倍^[3], 由于 A1 可介导蛋白质间的相互作用, 所以有人提出一种“媒介者” (matchmaker) 模型来说明 hnRNP 在 mRNA 加工过程中的作用 (图 2-A). hnRNPA1 结合到前体-mRNA 链上的特定部位, A1 蛋白相互结合使两条 mRNA 链相互靠近, A1

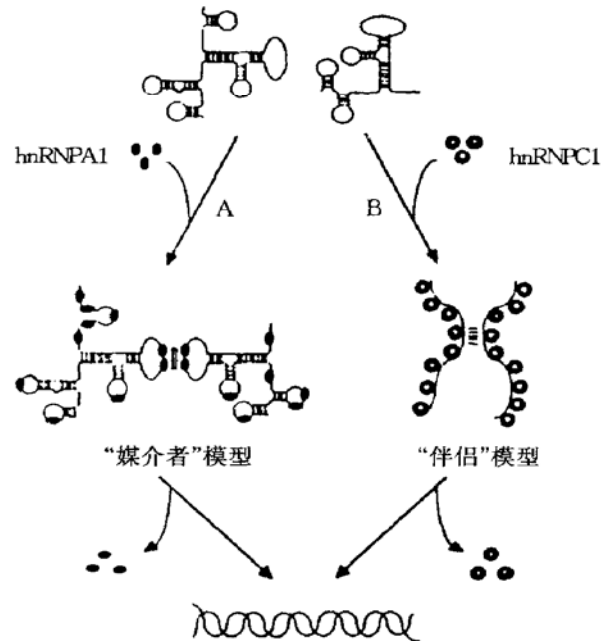


图 2 hnRNP 的链退火作用模式图

的链退火活性导致 RNA 二级结构的变化, 即产生链退火作用, 复性后的 RNA 相互配对形成双链. 与 A1 蛋白不同的是, hnRNPC1 的链退火及复性活性主要由 RNA 结合结构域 (RBD) 所决定, 因而又提出一种所谓“分子伴侣” (chaperone) 模型 (图 2-B), 即当 hnRNPC1 结合到前体 mRNA 上后, 迫使 RNA 形成伸展的单链结构, 从而两互补链相互配对并形成双链. hnRNP 的这两种作用方式可能共存并同时产生作用. 另外在“伴侣”模型中, RNA 形成的单链结构有利于其他反式作用因子接近暴露的位点, 故 hnRNP 可被视为一个“RNA 底物呈递因子”而有利于其他 RNA 加工因子对 RNA 产生作用. 如体外的 hnRNP 可增强锤头

状核糖酶 (ribozyme) 的催化活性^[4].

4 蛋白质间的相互作用

hnRNP 可参与多蛋白的聚集作用, 在缺乏 RNA 的条件下, 分离的 hnRNP 核心蛋白倾向于形成化学组成一定的复合体, 体内、体外实验都发现 hnRNPA1 可发生同型或异型的相互作用并且还可与属于 SR 蛋白家族的拼接因子相互结合^[5], 由此可以推测 RNA 与蛋白质以及蛋白质间可形成复合体, 从而呈递适当构型的底物并募集拼接因子到 RNA 特定的位点, 从而对 RNA 产生作用.

5 在 RNA 拼接过程中的作用

已报道 hnRNPC 在拼接体 (spliceosome) 的催化活性中具有重要功能, 另外 hnRNP 与拼接信号分子具有优先的亲合性, hnRNPA、B、I 等在拼接位点的选择过程中发挥作用^[6]. 体外实验中 hnRNPA1 和拼接因子 ASF 或 SF2 的相对比率决定 β -球蛋白形成过程中对 5' 端重复拼接位点的选择特异性, 如 A1 的相对高浓度有利于对远侧端的选择而过量的 ASF 或 SF2 将利用近侧端的位点^[6]. 而 hnRNPI 则是结合到特定内含子的多聚嘧啶上并通过与其他 (如 U2AF 类) 拼接因子竞争而选择性地抑制 3' 端拼接位点. α 和 β -原肌球蛋白前体-mRNA 的拼接以及骨骼肌和平滑肌特异性拼接途径的选择都是按后一种方式进行的. 以上这些实验说明 hnRNP 决定 mRNA 的不同拼接方式, 基因的表达产物也就不同.

6 在成熟 mRNA 核输出中的作用

RNA 从核中的输出至少包括: a. RNA 从基因 (DNA) 上转移到核周边部分, 这一过程伴随核蛋白体的形成及加工过程; b. RNA 的跨核膜转移. 利用摇蚊 (*Chironomus tentans*) 所做的研究表明 mRNA 从核中的输出形式不是裸露的 RNA, 而是一种核糖核蛋白复合体^[7], 有些 RNA 结合蛋白在 RNA 转移之前已从 RNA 上移去而留在核中, 而其他的 (如 hnRNPA1) 可结合到 mRNA 上并一起从核中输出, 并且能再次输入到核中^[8]. 以上的证据显示 hnRNP 可能是成熟 mRNA 的转移蛋白之一. 目前对真核细胞 RNA 的核-质转移作用的调节机理所知甚少, 但有证据显示 hnRNPL 可能通过增加缓慢加工的前体-mRNA 核输出的动力以及启动不依赖于内含子的 mRNA 核输出作用而对 RNA

的转移产生作用^[9].

除了以上的功能之外, 现初步显示 hnRNP 基因表达的失控或受阻可能与一些人类疾病有关. 相信随着研究的深入, 将会发现更多的 hnRNP 的功能, 从而进一步加深对真核生物转录后加工过程的了解.

参 考 文 献

- 1 Dreyfuss G, Matunis M J, Pino-Roma S, *et al.* HnRNP proteins and the biogenesis of mRNA. *Annu Rev Biochem*, 1993, **62** (1): 289~ 321
- 2 Michelotti E F, Tomonaga K, Krutzsch H, *et al.* Cellular nucleic acids binding protein regulates the CT element of the human C-myc protooncogene. *J Biol Chem*, 1995, **270** (16): 9494~ 9499
- 3 Munroe S H, Dong X F. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 catalyzes RNA-RNA annealing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89** (10): 895~ 899
- 4 Herschlag D, Khosle M, Tsuchihashi Z, *et al.* An RNA chaperone activity of non specific RNA binding proteins in hammerhead ribozyme catalysis. *EMBO J*, 1994, **13** (2): 2913 ~ 2924
- 5 Cartegni L. HnRNPA1 selectively interacts through its Gly-rich domain with different RNA-binding proteins. *J Mol Biol*, 1996, **259** (3): 337~ 348
- 6 Mayeda A, Munroe S H, Caceres JF, *et al.* Function of conserved domains of hnRNPA1 and other hnRNPA/B proteins. *EMBO J*, 1994, **13** (6): 5483~ 5495
- 7 Mehlin H, Daneholt B, Skoglund U. Structural interaction between the nuclear pore complex and a specific translocating RNA particle. *J Cell Biol*, 1995, **129** (8): 1205~ 1216
- 8 Pino-Roma S, Dreyfuss G. Shuttling of pre-mRNA binding proteins between nucleus and cytoplasm. *Nature*, 1992, **355** (6362): 730~ 732
- 9 Liu X, Mertz J E. HnRNPL binds a cis-acting RNA sequence element that enables intron-independent gene expression. *Genes Dev*, 1995, **9** (14): 1766~ 1780

The Role of Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein (hnRNP) in RNA Processing. CAO Xue-Song (*Liaocheng Teachers College, Liaocheng 252059, China*).

Abstract In eukaryotic cells, messenger RNAs are formed by extensive post-transcriptional processing of the primary transcripts, assembled with a large number of proteins and processing factors in ribonucleoprotein complexes. The protein part of these complexes mainly constitutes a class of about 20 major polypeptides called heterogeneous nuclear ribonucleoproteins (hnRNPs). In addition to previous models that hypothesised a mere structural function, a more diversified and dynamic role for these protein is now proposed. They might actively participate in the events of RNA metabolism and other cellular functions.

Key words heterogeneous nuclear ribonucleoprotein, RNA processing, RNA splicing