

真核 mRNA 3' 非翻译区的功能研究进展*

刘定干

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

摘要 真核 mRNA 的 3' 非翻译区的功能比人们目前认为的更为复杂. 近年来的研究揭示, mRNA 3' 非翻译区不但决定该 mRNA 的稳定性, 而且还控制着该特定 mRNA 的翻译时间、翻译地点和翻译产物. 值得注意的是真核 mRNA 3' 非翻译区内的突变可能导致肿瘤的发生. 文章介绍了 1991—1992 年间国际上关于 3' 非翻译区的一些新发现.

关键词 mRNA, 3' 非翻译区, 功能

真核生物 mRNA 的 3' 非翻译区 (3'-UTR) 在基因表达调控中是必不可少的. 现已阐明, 3'-UTR 不仅控制 mRNA 的体内稳定性和降解速率, 而且能决定其所表达的细胞种类; 控制 mRNA 的利用效率; 协助辨认特殊密码子; 甚至增强 mRNA 对肿瘤促进剂的响应. 3'-UTR 内的突变可引起遗传性疾病. 本文简介近一两年来关于 3'-UTR 的新发现.

1 3'-UTR 控制酵母 mRNA 降解^[1,2]

酵母 a 接合因子 (MFA2) mRNA 的编码区只有 114 核苷酸, 而 3'-UTR 较长 (169 核苷酸). 用含 MFA2 cDNA 的表达质粒在酵母细胞内所作的实验说明, 在 3'-UTR 内发生点突变后, MFA2 mRNA 的半衰期显著长于野生型. 当 248 位、251 位和 282 位同时发生点突变时, MFA2 mRNA 的半衰期 (14.5min 左右) 比野生型的 (约 3—5min) 长近 4 倍. 缺失突变分析也指出, 在 MFA2 3'-UTR 内存在加速该 mRNA 降解必需的序列, 这些序列的二级结构对加速降解的程度有很大影响.

对酵母 poly A 核酸酶的研究也得出了相似的结论. MFA2 mRNA 的 3'-UTR 具有增强 poly A 核酸酶降解它的 poly A 活力的性质; 这是因为在 3'-UTR 影响下, poly A 核酸酶在一次攻击中能降解更多的 rA. 将 3'-UTR

的反义核酸片段接在 MFA2 mRNA 上, 就能完全抑制 poly A 核酸酶对 MFA2 mRNA 的 poly A 尾的降解, 增加 mRNA 的稳定度. 目前还不清楚这一现象的作用机制.

2 3'-UTR 是精蛋白 (protamine) mRNA 翻译的定时因素^[3]

在小鼠的精子发生过程中, 精蛋白 mRNA 在圆形精原细胞阶段就已转录出来, 但要在精原细胞胞质内贮存 3—7d 方被翻译成蛋白. 这段延迟时间是精蛋白 mRNA 的 3'-UTR 控制的. 把小鼠精蛋白 1 mRNA 的 3'-UTR 换成一个不相干的 mRNA 的 3'-UTR (实际是用了人生长激素的 mRNA), 则精蛋白的 mRNA 刚转录出来就被翻译, 而失去了延迟时间的功能. 换回小鼠精蛋白 1 mRNA 的 3'-UTR 后, 翻译又被推迟到长形精原细胞阶段. 用 RNA 电泳滞后 (RNA gel retardation) 法和 RNase T1 定位 (RNase T1 mapping) 法分析, 发现一个约分子量为 18 000 的蛋白和小鼠精蛋白 2 mRNA 结合; 该蛋白可能就是与 3'-UTR 作用的细胞因子.

* 国家 863 计划人抗癌基因课题资助项目.

收稿日期: 1993-03-19, 修回日期: 1993-05-18

3 3' -UTR 是糖皮质激素和某些细胞因子对 mRNA 的调控位点^[4-7]

上面提到的分子量为 18 000 的蛋白也是一例。最近发现,糖皮质激素对干扰素 mRNA 的调控是通过其 3' -UTR 来实现的,不过并非直接作用于 3' -UTR。已知地塞米松能降低人成纤维细胞被诱导后的干扰素产量,并加速所产生的干扰素 mRNA 的周转。实验证明,对于不含 5' -UTR 的 β -干扰素 (IFN- β) 基因,地塞米松仍然具有上述作用;因此推测该类固醇激素的作用可能与 3' -UTR 有关。使用表达质粒人工转染小鼠培养细胞的方法,发现 IFN- β cDNA 在将 3' -UTR 内的富 AU 区域除去以后,其转录物的周转速率明显地不受地塞米松的影响,即地塞米松不能使 IFN- β mRNA 的量减少。向实验系统中加入蛋白质合成的专一抑制剂放线菌酮,仍可观察到地塞米松“失效”的现象。所以上述效应不需要合成新的蛋白。推测这种效应可能与原已存在的某种 IFN- β mRNA 降解酶有关。

淋巴激活素类的调控也有其 mRNA 的 3' -UTR 参与。已发现了一个胞质因子 AU-B,能选择性结合于白介素 2 (IL2),肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 的 mRNA 的 3' -UTR 中的富 AU 区域。AU-B 不与 c-myc mRNA 的 3' -UTR 中的富 AU 区域结合。外来刺激通过 T 细胞介导可以诱导合成 AU-B; AU-B 的合成和淋巴激活素基因的表达平行。值得注意的是,肿瘤促进剂佛波醇十四烷酸乙酸酯 (PMA) 与抗 CD3 的抗体同时作用于 T 细胞,能使 GM-CSF mRNA 稳定化,同时与 AU-B 的结合降低。

TNF 的 3' -UTR 的作用也很令人感兴趣。小鼠 TNF 基因的启动子能使氯霉素乙酰转移酶 (CAT) 报导基因在三种非巨噬细胞的细胞系 (HeLa, NIH3T3 和 L929) 中表达;但若在 CAT 表达质粒中 CAT 的 3' 端加上 TNF 3' -UTR,则 CAT 在上述任何一种细胞中都不能表达。这表明 TNF 3' -UTR 能抑制 TNF 基

因在非巨噬细胞中的表达。若在含 TNF 启动子, CAT, TNF 3' -UTR 的表达质粒中再接入 TNF 5' -UTR,则它在小鼠 L929 细胞里也能少量表达。这是因为 L929 细胞中有一个活化因子,它的效应依赖 TNF 5' -UTR。这些实验不但说明 3' -UTR 能控制特定基因表达的特定地点,而且提示基因的不表达不一定就是不转录。

最近又发现有两个胞质蛋白复合物能专一结合到小鼠组蛋白 H4 和人组蛋白 H2A 的 mRNA 的 3' -UTR;这种结合活力是强保守性的。但其功能尚不明。

4 3' -UTR 控制辨认特殊遗传密码^[8]

三联码 UGA 在普通情况下是终止码。但在某些特殊蛋白 (如 I 型碘代甲状腺原氨酸脱碘酶——ITD-I) 中,UGA 却编码罕见的硒代半胱氨酸,其半胱氨酸分子中的 -SH 变为 -SeH。大鼠的 ITD-I mRNA 的编码区为 7—780 位核苷酸,UGA 在其近中间的 382—384 位。如把 ITD-I mRNA 的 907 位及下游序列全部除去,则由其翻译出的 ITD-I 完全没有活力,这种翻译产物不含硒代半胱氨酸。由此可见 ITD-I mRNA 的 3' -UTR 能指导正确地将硒代半胱氨酸参入其蛋白分子。推测 ITD-I mRNA 的 3' -UTR 的功能与其二级结构有关。

5 3' -UTR 与癌基因及化学促癌剂的关系^[9]

在癌基因 v-src 转化的鸡胚细胞 (CEF) 中有种称为 9E3/pCEF4 的 mRNA 表达量显著增多。在静止细胞中该 mRNA 水平极低;当细胞受血清或 PMA 作用后,该 mRNA 即迅速增多,可增加 20 倍。这种诱导不需要新蛋白合成,用启动子区和 5' -UTR 的结构也不足以解释如此剧烈的应答。用 CAT 报导基因法证实,当 CAT 质粒中有 9E3/pCEF4 的 3' -UTR 存在时,v-src 诱导下 CAT 活力升高 10 倍,没有该 3' -UTR 时则仅升高 2—3 倍;v-src 不存

在时, 这个 CAT 也不表达. 细胞受血清或 PMA 刺激后, 含 3'-UTR 的 CAT 活力升高分别为 10 倍 (血清) 和 20 倍 (PMA); 不含 3'-UTR 的 CAT 活力升高则分别为 3 倍和 7 倍. 这些事实表明 9 E 3 / pCE 4 mRNA 的 3'-UTR 控制着它对 v-src, 血清生长刺激因子和 PMA 的响应.

6 3'-UTR 的遗传性异常引起遗传病^[10]

萎缩性肌强直 (myotonic dystrophy) 是较常见的一种遗传病, 主要症状为肌强直和进行性肌萎缩. 此病患者的病状轻重差别很大. 此病的基因位于染色体 19q13, 已经克隆. 该基因是从人心脏 cDNA 文库分离到的, 包括好几个克隆, 其中一个克隆编码该基因的 3' 侧, 包括终止码、3'-UTR 和 poly A 信号等的序列. 这一克隆的序列有个奇异的特点, 即在终止码 (三个读框都有) 的 3' 一侧有五个连续的 CTG. 而从 cos 质粒文库分离的同一基因的相应部分则分别含有 11 个和 20 个 CTG. 显然这些 CTG 都是在萎缩性肌强直基因的 3'-UTR 中. 对正常人群和患者家族成员的 DNA 作杂交实验, 发现几乎所有患者家族 (96/98) 中都至少有一人有增多的 CTG 链, 而且病人中的 70% (180/258) 也显示这种多态性片段的延长. 正常人 (280 人) 则不表现这种延长. PCR+杂交实验又证实上述病人其余的 30% 绝大多数也在一个等位基因上有 CTG 链长度增加, 而在该基因其他部位则并无变化. 因此 3'-UTR 中 CTG 链的延长可能就是萎缩性肌强直病的起因. 该基因被推测为一个丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶. 但发病的分子机制尚待探索.

以上事实显示, 真核 mRNA 的 3'-UTR 的功能比一般设想的控制 mRNA 稳定性的作用, 要多得多. 也许可以认为, 3'-UTR 所规

定的是与特定 mRNA 的“个性”有关的性质. 我们期待着对 3'-UTR 的功能多样性的全面阐明.

最近本文作者的实验也导致了一个 3'-UTR 的“特殊”功能的发现. 我们已证明, 前些时所发现的一个具有抗癌基因活性的 cDNA 克隆^[11,12], 是白细胞介素 6 核内转录因子 NF-IL6^[13] 的 3'-UTR. 细胞恶性转化和 NF-IL6 及其 3'-UTR 的关系, 就作者所知, 尚不清楚. 我们正在继续进行研究, 希望阐明其分子机制.

参 考 文 献

- 1 Muhlrads D, Parker R. *Genes and Dev*, 1992; **6**: 2100—2111
- 2 Lowell J E, Rudner D Z, Sachs A B. *Genes and Dev*, 1992; **6**: 2088—2099
- 3 Kwon Y K, Hecht N B. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991; **88**: 3584—3588
- 4 Peppel K, Vinci J M, Baglioni C. *J Exp Med*, 1991; **173**: 349—355
- 5 Bohujanen P R, Petryniak B, June C H *et al.* *Mol Cell Biol*, 1991; **11**: 3288—3295
- 6 Kruys V, Kemmer K, Shakhov A *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992; **89**: 673—677
- 7 Eeckner R, Birnstiel M L. *Nucleic acids Res*, 1992; **20**: 1023—1030
- 8 Berry M J, Banu L, Chen Y *et al.* *Nature*, 1991; **353**: 273—279
- 9 Blobel G A, Hanafusa H. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991; **88**: 1162—1166
- 10 Mahadevan M, Tsiflidis C, Sabourin L *et al.* *Science*, 1992; **255**: 1253—1255
- 11 刘定干, 王 达, 陈珍珍等. *中国科学 B 辑*, 1991; (7): 730—737
- 12 刘定干, 朱丽华, 野田亮等. *生物化学与生物物理学报*, 1991; **23**: 246—250
- 13 Akira S, Issiki H, Sugita T *et al.* *EMBO J*, 1990; **9**: 1897—1906

Yuping. (*Institute of Botany, Academia Sinica, Beijing 100093*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21**(3): 207

The proteins which bound with lipid layers were named membrane proteins in biomembrane. Because of the large hydrophobic surface in membrane proteins, and the amphiphilic (hydrophobic and hydrophilic) character, their purification and crystallization are very difficult. Introducing small molecular detergent and small amphiphil into crystallization system of membrane protein, a great progress have been made. So far, a few membrane proteins have been crystallized, among them only the reaction center of *Rhodospseudomonas viridis* and *Rhodospseudomonas sphaeroides* have produced crystals and been analysed with 3 Å resolution. Two-dimensional crystal can be formed in a series of membrane proteins and the information of three-dimensional structure may be obtained by electronmicroscopy and image reconstruction.

Key words membrane proteins, detergent and amphiphil, three-dimensional crystal, image reconstruction

Platelet Activating Factor Receptor and Its Signal Transduction. Lu Xiaoyan. (*The First Teaching Hospital of Beijing Medical University, Beijing 100034*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21**(3): 211

Platelet-activating factor (PAF) is a potent phospholipid mediator. It is widely accepted that PAF effects through the reaction with its specific membrane receptors. PAF membrane receptor cDNA was cloned recently. The present paper reviewed developments on research concerning PAF receptor and its signal transduction.

Key words PAF receptor, signal transduc-

tion, gene expression

Recent Advances on the Functions of the 3'-Untranslated Regions of Eukaryotic mRNA's.

Liu Dinggan. (*Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai 200031*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21**(3): 215

Eukaryotic mRNA 3'-untranslated regions' function are much complicated than it is thought. Recent studies showed that the 3'-untranslated regions determine not only the stability of mRNA, but also time, location and products of translation of the mRNA. It is noteworthy that mutations within 3'-untranslated regions can lead to tumorigenesis.

Key words mRNA, 3'-untranslated region, function

DNA Damage Induced by Lipid Peroxidation.

Liu Xiaoqi, Cao Enhua. (*Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing 100101*). *Prog. Biochem. Biophys.* (China). 1994; **21**(3): 218

Lipid peroxidation may lead to base modification, DNA strand breaks and formation of various fluorescent products in model systems, bacteria and eucaryotic cells, and the selective destruction of the base guanine in DNA. The transient metal ions can intensify the DNA damage obviously. Antioxidants and free radical scavengers have the protective effect of varying degrees for DNA damage induced by lipid peroxidation. 8-Hydroxyguanine, which is strongly implicated in mutagenesis and carcinogenesis, has been observed. The molecular mechanism of mutagenesis and carcinogenesis induced by lipid peroxidation aroused great concerns in the field of free radical biology.

Key words lipid peroxidation, DNA damage,