

文章编号:1004-0374(2010)02-0103-06

· 评述与综述 ·

蛋白质合成中的核糖核酸蛋白质复合物

马晶晶, 王恩多*

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031)

摘要: 细胞中的RNA和RNA结合蛋白质(RNA-binding proteins, RBPs)相互作用形成核糖核酸蛋白质(ribonucleoprotein, RNP)复合物。RNP复合物分布广泛, 功能众多。蛋白质生物合成包括转录及其调控、mRNA加工转运、tRNA传递、翻译及其调控等, 是核酸编码的遗传信息流向活性蛋白质的过程。多种RNA分子参与这一过程, 有的与对应的RNA结合蛋白质形成RNP复合物。RNP复合物的多样性和重要功能在此得到了最好的体现。该文以其中起核心作用的RNA分子为主线, 对蛋白质合成中的RNP复合物进行了综述。

关键词: 蛋白质合成; RNA; 核糖核酸蛋白质复合物

中图分类号: Q71; Q522 文献标识码: A

Ribonucleoprotein (RNP) complex in protein synthesis

MA Jing-jing, WANG En-duo*

(State Key Laboratory of Molecular Biology, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract: In cells, RNA and the RNA-binding proteins (RBPs) interact with each other to form RNP complexes which are wide-spread and multi-functional. Protein synthesis is a process in which the genetic code is transferred from nuclear acids to active proteins, consist of transcription and its regulation, mRNA processing and transfer, tRNA transfer, and translation and its regulation. Various RNA molecules participate in this process, some of which form the RNP complexes with cognate RNA-binding proteins. The diversity and functional importance are fully demonstrated in the process of protein synthesis. Here, we summarize the RNP complexes in protein synthesis according to the core RNA molecules.

Key words: protein synthesis; RNA; ribonucleoprotein (RNP) complex

细胞中的RNA和RNA结合蛋白质(RNA-binding proteins, RBPs)相互作用形成核糖核酸蛋白质(ribonucleoprotein, RNP)复合物。RNP复合物存在于蛋白质合成中的几乎任何地方, 行使着各种功能。

蛋白质合成包括转录、转录调控、mRNA的加工转运、tRNA的传递、翻译及调控等, 是非常复杂的生理过程。原核生物的转录和翻译在生理上是偶联的, 在真核生物中, 转录和翻译被隔离开来, 分别发生在细胞核与细胞质中, 这就导致真核生物对前体mRNA采取非常复杂的转录后加工, 并提供了更多的基因调控的手段。因此, 在真核生物中, mRNA与各种RBP形成的mRNP所经历的事

件, 是蛋白质合成中最为重要的部分之一。

构成RNP的RBP种类繁多, 在哺乳动物中有数千种。RBP影响RNA的结构和相互作用, 在RNA的生物合成、稳定性、功能、转运和细胞定位中起到重要作用。RBP含有一个或多个结合结构域, 而后者更常见。某些被详细描述 RNA 结合结构域有: RNA结合结构域(RNA-binding domain, RBD)

收稿日期: 2009-07-28; 修回日期: 2009-08-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(30570380)

* 通讯作者: Tel: 021-54921241; E-mail: edwang@sibs.ac.cn

[或者叫做RNP结构域和RNA识别模体(RNA recognition motif, RRM)]、K同源(K-homology, KH)结构域(一类和二类)、RGG(Arg-Gly-Gly)框、Sm (small nuclear ribonucleoprotein)结构域、DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp)/DEAH(Asp-Glu-Ala-His)框、锌指结构、双链RNA结合结构域(dsRBD)和冷休克结构域等^[1]。

蛋白质合成中参与形成RNP的RNA,既有小分子的RNA,如tRNA、rRNA,也有大分子的mRNA,且各mRNA的长度、序列和结构都非常具有多样性,还有一种涉及蛋白质降解的特殊的tmRNA。在与各种RBP结合形成RNP时,RNA大都是主角,或是作为介导复合物结构形成的关键分子,或是复合物中具有催化活性的部分,或是此RNA分子的命运是RNP复合物形成的原因。

1 mRNA的形成、加工和转运

mRNP复合物在染色体上形成,其中的RNA组分先由RNA聚合酶II(RNA polymerase II, RNA pol II)合成前体-mRNA。前体-mRNA一经合成,即和蛋白质一起形成RNP纤维,直径5~10 nm^[2-3]。如果转录产物足够长,这种纤维也可能进一步组装成小颗粒。

前体-RNP复合物需经加工,包括加帽、剪接和多聚腺苷酸化,而后成熟。这些过程招募大量的蛋白质。与RNA相互作用的蛋白质主要是两类蛋白质家族中的成员:核不均一RNP(heterogeneous nuclear RNP, hnRNP)^[4]以及富含丝氨酸-精氨酸(serine-arginine-rich, SR)蛋白质^[5]。加帽反应需要3种蛋白质,而剪接需要超过100种的蛋白质(形成剪接体spliceosome),剪切或多聚腺苷酸化需要5~10种蛋白质。近期的研究表明,这些蛋白质在细胞内并不是单独行使功能,而是与转录机器有紧密的相互作用,在一定程度上也彼此作用,如RNA聚合酶II也参与前体-mRNA的加工。它的尾部区域(the C-terminal domain, CTD)将加帽、剪接以及多聚腺苷酸化的各种蛋白质因子传输至mRNA上。在前活化复合物中,当与启动子相关的蛋白质结合时,CTD是去超磷酸化(hypophosphorylated)状态,在活化的延伸状态下,CTD转为超磷酸化(hyperphosphorylated)状态^[6]。超磷酸化的CTD的形状更为伸展,这有助于和延伸中的转录产物相互作用。此外,转录机器能通过与转录起始和延伸因子的相互作用将加工因子招募到前体-mRNA上来。

剪接体是蛋白质合成过程中较先形成的RNP。它含有U1、U2、U4、U5和U6 snRNP及相当多的蛋白质。RNA是剪接体催化核心的主要成分,这一催化是以RNA为基础的^[7]。然而,建立起这样一个有活性的RNA网络需要有蛋白质的协助^[8]。有几种蛋白质可能是剪接体的核心:Prp8,它直接与前体-mRNA的5'端剪接位点、分支点序列(branch-point sequence, BPS)和3'端剪接位点作用^[9];Prp19和一组与其紧密结合的蛋白质(酵母中的19复合物(nineteen complex, NTC)或人中的Prp19-CDC5复合物);SF3a和SF3b复合物,它们接触前体mRNA的BPS或BPS上游序列,稳定U2-BPS的相互作用^[10-11]。

Bessonov等^[12]在高盐的条件下纯化了哺乳动物的剪接体。研究发现,当剪接体的活性位点形成时,剪接体从B到C复合物的转变中,其组成蛋白质发生了很大的变化。SF3a和SF3b在第一步催化反应中是必需的,但后来却从剪接体上解离下来;而Prp19-CDC5及其相关蛋白质、U5蛋白质却保持与U2、U5和U6 snRNA相结合。这很有可能就是剪接体的RNP核心构架。新近解析出了U1 snRNP的晶体结构表明,组装在U2、U4和U5 snRNA上的Sm蛋白质环可能提供了蛋白质进一步组装的平台,则可能揭示了snRNP组装的通用规则^[13]。

成熟的mRNA在蛋白质因子的介导下转运出细胞核进入细胞质,也可以边转录边出核。关键的输出因子是输出受体,如酵母中的Mex67 Mtr2和后生动物中的NXF(TAP) p15,它们帮助mRNP粒子穿越核孔^[14,15]。受体和转录的mRNP相偶联是通过一种保守的转运复合物TREX(transcription-coupled export, 转录偶联出核)实现的。TREX由一个多亚基的THO复合物(名字来源于THO2基因, Suppressors of the Transcriptional defects of hpr1Δ by Overexpression)、RNA解旋酶UAP56以及接头蛋白Aly/REF(在酵母中后两者分别为Sub2和Yra1)组成^[16,17]。在细胞中还有其他的mRNA输出途径,如后生动物中的SR蛋白质和酵母中的SR类似蛋白质Npl3,可作为接头蛋白质,已被人们深入研究。

有研究表明,新生的RNP复合物及其成熟是由一种监控机器,即RNA外切体(exosome)监控的^[18]。外切体是一种高度组织和调控的高分子机器,只含有少数酶活性成分。它含有3'到5'的核酸外切酶,阻滞并降解异常的mRNA,以保证只有正确加工的转录产物被转运出核。近期的研究表明,外切体的一种成分Rrp44(也叫做Dis3)也是一种活跃的核酸内

切酶^[19]。在细胞核外, 外切体也参与翻译过程中发现的异常的 mRNA 降解。

当 mRNP 复合物从基因上被释放后, 在核质内随机运动, 最终与核孔复合物结合, 穿过核孔, 进入细胞质。

越来越多的信息表明, 基因表达中的众多步骤紧密相联、相互调节。前文说到, RNA 聚合酶 II 的转录是在与前体 mRNP 的加工及 mRNP 输出复合物的形成等事件紧密联系在一起的, 因此, 正进行的转录也可能和后续事件相联。那么转运系统则可监测转录状态, 并对 mRNP 的积累和需求变化产生快速反应。2009 年, Johnson 等^[20]发现, 酿酒酵母中的 mRNP 转运出接头蛋白质 Yra1, 与 Pcf11p 有着特异性的和直接的相互作用, Pcf11p 是 mRNA 3' 末端剪接复合物的一个组分, 也预备着转录的终止。这为细胞内转录、mRNP 形成和运输的广泛的“沟通”提供了例证。

mRNP 转运出核的过程是没有方向性的, 它也可能从细胞质重新回到核中, 将它从其受体上解离下来则可终止此步骤。原则上说, 在 mRNP 到达细胞质后使之发生改造(remodelling), 可以阻止它逆向运动返回细胞核中。依赖 ATP 的 RNA 解旋酶, 如 Dbp5, 参与这一过程。Dbp5 在核孔复合物的胞质面有结合位点, 属于含有 DEAD-框蛋白质家族, 参与构成 mRNP。最近的研究表明, Dbp5 在转运 mRNA 出核中是必需的, 它比解旋酶似乎更起到 RNP “改造者(remodeller)”的作用^[21]。受核孔蛋白 Gel-1 调控, 当 mRNP 转运至核孔的胞质一面后, Dbp5 取代靶蛋白和转运因子, 同时防止 mRNA 滑回核内。

2 小分子 RNA 的出核转运

在真核生物中, 参与翻译的 tRNA 及核糖体(ribosomal)(r)RNA, 在出核转运时遵循相似的模式, 即出核因子 exportin 参与的 Ran 循环。

tRNA 的前体在核中合成, 接下来被加工成熟。成熟的 tRNA 被运送至胞质内, 但也有某些例外, 比如在胞质内发现 tRNA 的加工酶, 或者发现成熟的 tRNA 也可被运回细胞核内。

1998 年人们发现一种蛋白质, 是 tRNA 出核的受体, 于是命名为 exportin-t^[22]。它属于 importin- β 超家族。tRNA 出核时, 与 exportin-t、RanGTP 结合成 RNP 复合物, 转运出核, 而后 RanGAP 刺激 Ran 上结合的 GTP 水解, 使 tRNA 从 exportin-t 上释

放出来。Exportin-5 是该家族的另一蛋白质, 被认为是一种辅助性的受体^[23]。tRNA 的出核很可能还有其他通路。

主要在酿酒酵母中研究了核糖体的生物合成和转运出核。rRNA 前体在核中合成后, 即与在胞质中合成并转运进核的核糖体蛋白质组装。前体 60S 和前体 40S 颗粒在核内组装完成。由不同的通路出核, 前体 60S 颗粒的出核机制也在后生动物中得到了阐明。此过程也是一个 Ran 参与的循环, 以 Crm1 为出核受体, Nmd3 为其接头蛋白质。此 RNP 转运进细胞质后, RanGTP 水解, Crm1 从 Nmd3 上解离下来, 然后 Nmd3 也在一个胞质 GTP 酶的作用下从 60S 亚基上解离下来, 同时核糖体蛋白质 Rpl10 装配到 60S 亚基上^[24]。60S 亚基还可通过其他途径出核, 使它能更高效地出核。前体 40S 亚基的出核相对较简单, 但也依赖于 Crm1p 和 RanGTP 酶系统的作用, 但不需要接头蛋白质。它很快穿过核质及核孔复合物进入胞质中, 然后进一步地成熟^[25]。哺乳动物细胞的核糖体亚基的出核也依赖 Crm1p 和 RanGTP 酶, 但还需要其他分子^[26], 如已发现, Nucleophosmin (NPM) 在核糖体大小亚基的出核中的一个限速因子^[27]。

3 翻译及调控

当 mRNA 从核内输出, 帽结合蛋白质 20 (cap-binding protein 20, CBP20) 起始了首先一轮的翻译, 然后 CBP20-CBP80 被胞质内主要的帽结合蛋白质, 真核翻译起始因子 4E (eIF4E) 取代, eIF4E 招募形成翻译起始复合物, 这一复合物的招募促使蛋白质的翻译和多聚核糖体的组装。新生的 mRNA 也可能组装进运输颗粒, 被运输到胞质内的指定地点后才开始翻译。

翻译调控提供了一种快速控制基因表达的机制, 它是由一系列的 mRNA 的 RBP 和小 RNA (microRNA, miRNA) 形成的 mRNP 和 miRNP 复合物介导。这些 RNP 调控手段通常有: 影响转录产物的稳定性和定位, 影响翻译^[28]。

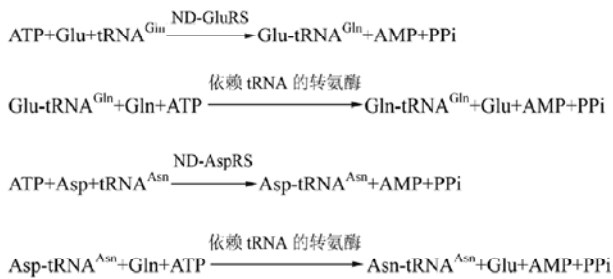
mRNA 的翻译结束后, 在体细胞中, 多聚核糖体的解聚可能引发胁迫颗粒(stress granules, SGs)的形成, 或者是 P 小体(processing bodies, PBs)的形成。在有环境压力的情况下, mRNA 结合一系列的蛋白质形成 SG, 翻译沉默。而 PB 形成导致 mRNA 被降解或翻译沉默, 后生动物中, PB 的形成需要 RNA 诱导的沉默复合物(RNA-induced silenc-

ing complex, RISC)及 mRNA 降解机器^[29]。

RISC 引导位点特异的靶 mRNA 的降解。RISC 由人免疫性缺陷一类病毒(HIV-1)反式活化应答(trans-activating-response)RNA 结合蛋白质 Ago2 和 miRNA 组成,介导转录水平的基因沉默(transcriptional gene silencing, TGS)。这种现象在植物、果蝇、线虫和裂殖酵母(*S.Pombe*)中都存在。后来又发现,在人细胞中注入合成的 siRNA 也能导致 TGS 的发生^[30]。

4 tRNA 依赖的氨基酸修饰

某些物种以一条特殊的通路生成 Asn-tRNA^{Asn} 或 Gln-tRNA^{Gln} :



转氨基化在氨基-氨基酰-tRNA(amide aminoacyl-tRNAs)的合成中占统治地位,在绝大多数生物中,包括大多数细菌、古菌和真核细胞器;但这种机制引发了两个问题:如何防止误氨基酰化的氨基酰-tRNA 中间体流入翻译体系;氨基酰-tRNA 的酯键往往是很容易水解的,如何解决这种不稳定性。通过氨基酰-tRNA 的通道输送原理(tRNA channeling)将误氨基酰化的中间体传递给转氨酶似乎可以解决这些问题。

Kern 等在 *T.thermophilus* 中发现一种三聚体 RNP,含有非分辨的(nondiscriminating, ND)-AspRS 二聚体、依赖 tRNA 的转氨酶(tRNA-dependent amidotransferase, AdT)三聚体及 tRNA^{Asn},将之命名为转氨体(transmidosome)^[31]。在此复合物中,tRNA 介导了两种并无显著亲合力的蛋白质间的组装,此 RNP 以游离的 Asp 和氨基供体为底物,将 Asp 结合到 tRNA 上,然后才将之转变为 Asn。Asn-tRNA^{Asn} 形成后,导致复合物解体。

该复合物有重要作用:首先,误氨基酰化的 Asp-tRNA^{Asn} 酯键很容易被水解,是不稳定的,它被直接转运到 AdT 上,无需先从 AspRS 上解离下来,可以稳定该中间体,因此复合物的形成可以提高 Asn-tRNA^{Asn} 的产量;第二,转氨体截留了 Asp-

tRNA^{Asn},可以防止在翻译过程中 Asp-tRNA^{Asn} 错误地掺入蛋白质。

除 Asn 外,Gln、Cys 和硒代半胱氨酸(Selenocysteine, Sec)也能由此依赖 tRNA 的途径合成。在真核细胞的胞质及小部分的细菌中,Gln-tRNA^{Gln} 由直接的通路合成,但在大部分的细菌、古菌及叶绿体中,是由间接的转氨通路合成。细菌仅使用一种异源三聚体的 AdT,叫做 GatCAB,而古菌使用的是一种异源二聚体的 AdT,叫做 GatDE。最近发现酵母的线粒体使用一种新的三聚体 AdT,称为 GatFAB,并且其胞质 GluRS 进入线粒体,在那里行使非分辨的 GluRS 的功能,合成 AdT 的底物 Glu-tRNA^{Gln}^[32]。在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中,也发现线粒体和叶绿体共同使用转运至其中的 GatCAB 作为 AdT^[33]。

在某些古菌中,不存在半胱氨酸-tRNA 合成酶(CysRS),另外,它们中的一些也缺乏半胱氨酸生物合成所需的酶类。所以也通过依赖 tRNA 的非寻常途径合成 Cys。合成 Cys-tRNA^{Cys} 的步骤如下:O-磷酸丝氨酰-tRNA 合成酶(SepRS)将 O-磷酸丝氨酰(Sep)连接到 tRNA^{Cys} 上,然后由 Sep-tRNA:Cys-tRNA 合成酶将其修饰生成 Cys-tRNA^{Cys} ^[34]。Sec 比较特殊,是发现的第二十一种掺入蛋白质的氨基酸,它存在于三界生物中的很多物种中。到目前为止,虽然存在 tRNA^{Sec},但还没有发现硒代半胱氨酸-tRNA 合成酶(SecRS)。合成 Sec-tRNA^{Sec} 的第一步是由丝氨酰-tRNA 合成酶(SerRS)将 Ser 加载到 tRNA^{Sec} 上。在原核生物中,硒代半胱氨酸合成酶(Selenocysteine synthase, SelA)将 Ser-tRNA^{Sec} 转化成 Sec-tRNA^{Sec}^[35]。在古菌及真核生物中,O-磷酸丝氨酰-tRNA 激酶磷酸化 Ser-tRNA^{Sec},然后此中间体由 Sep-tRNA:Sec-tRNA 合成酶修饰成为 Sec-tRNA^{Sec}^[36]。

这些依赖 tRNA 的氨基酰-tRNA 合成的过程中都形成误氨基酰化中间体,为使反应高效进行,且不发生蛋白质合成的误掺事件,有理由认为它们的机制与 Asn 合成一致,即参与反应的酶由 tRNA 介导形成一个 RNP。

人们认为这种间接的合成 Gln-tRNA^{Gln} 和 Asn-tRNA^{Asn} 的通路比直接合成的通路更早进化出来,而对应的直接通路中的 GlnRS 和 AsnRS 是在进化的晚些时候才出现的。合成 Cys-tRNA^{Cys} 的直接和间接通路在最后基本的共同祖先(last universal commu-

nal ancestor, LUCA)阶段都是存在的, 而 Sec-tRNA^{Sec} 在自然界生物中都是间接合成的途径。尽管不能一概而论地说间接合成的通路更古老, 但它确实在进化中保存下来的特征。例如, Sec 和 Cys 是非常类似的氨基酸, 而 Sec-tRNA^{Sec} 的间接合成可以提供一种与 Cys 区分的方法^[37]。

5 降解错误蛋白质产物的tmRNP

tmRNP 由 tmRNA 和一种小蛋白质 SmpB (small protein B) 组成。tmRNA 也叫 10SRNA, 兼有 tRNA 和 mRNA 的性质。其中的一个结构域叫做“tRNA-类似结构域(transfer RNA-like domain, TLD)”, 有一个可接受丙氨酸的氨基酸接受茎和一个有修饰碱基的 T 茎环, 但是没有 D 茎环及反密码子茎环。tmRNA 的另一个结构域叫做“mRNA 类似结构域(mRNA-like domain, MLD)”, 位于富含假结(pseudoknot)的区域, 含有一个编码 AANDENYALAA 的开放阅读框, 下游即是一个常规的终止密码^[38]。

现已清楚, 当 mRNA 受损, 原先合成的蛋白质不能从核糖体上解离时, tmRNA 占据停止翻译的核糖体的 A 位点, 然后该核糖体从原先残缺的 mRNA 的 3' 末端跳到或滑到 MLD 上, 从一个被称为“重新开始密码子(resume codon)”开始, 沿着 tmRNA 的开放阅读框继续进行常规的翻译, 直至碰到 MLD 上的终止密码子, 因此在原先翻译的错误蛋白质的 C- 端带入一段蛋白水解酶进攻的标签肽, 使错误的蛋白质降解。这一过程称作“反式-翻译(trans-translation)”。细菌用此看上去繁杂的手段降解那些由受损的 mRNA 翻译产生的蛋白质, 或者可能更重要的是, 重新活化和回收核糖体, 继续进行其他蛋白质的翻译。在每一细菌细胞中都发现有此重要功能^[38]。

tmRNP 的另一重要成分是 SmpB 蛋白质^[39], 它与 tmRNA 紧密结合, 对维持 tmRNA 的结构、稳定性以及活性都是必需的。SmpB 刺激 tmRNA 的丙氨酰化, 并保护 Ala-tmRNA 不被水解, 同时也保护 tmRNA 在细胞内不被降解^[39]。tmRNA 与核糖体小亚基结合及占据空的 A 位点都需要 SmpB^[40]。最近的研究发现, 在“反式-翻译”的过程中, SmpB 和 tmRNA 以 1:1 的比例结合^[41], 并发现, SmpB 修饰了核糖体 30S 亚基上的保守核酸 A1492、A1493 和 G530 的构象, 其 C- 末端的尾部与 G530 相互作用^[42]。

6 小结与展望

RNP 似乎参与细胞几乎所有的生命活动。我们仅简单综述了蛋白质生物合成中的 RNP。RNA 与蛋白质结合在一起行使功能的形式, 似乎比蛋白质在一起行使功能的形式要古老, 比如在嗜热古细菌 *T. thermophilus* 中的转氨酶是 RNP, 其结构由 tRNA 维持, 它的蛋白质因子要靠 tRNA 介导结合; 而高等真核生物细胞质中的氨基酸-tRNA 合成酶复合物结构却由三个蛋白质辅因子维持。tmRNP 在细菌和真核细胞中来源于细菌的细胞器中广泛分布, 而在真核生物胞质中, 由于转录和翻译被隔开, mRNA 经过加工选择才进行翻译, 否则 tmRNP 无存在的必要, 且代替 tmRNP 进行翻译质量控制的, 多是与 mRNA 作用的蛋白质因子。在进化过程中, 由 RNA 行使的酶功能, 渐渐被蛋白质所替代。蛋白质链的 22 种(包括 Sec 和吡咯酪氨酸(pyrrrolysine)Pyl^[43])组成元件, 比核糖核酸的 4 种组成元件更能组成多种序列, 在蛋白质上进行的氨基酸残基修饰的种类, 也比在核酸上多得多。因此, 似乎可以这样说, 简单、保守、准确的核酸, 继续保留为遗传信息的储存形式; 而丰富多样的蛋白质, 逐渐替代核酸, 成为细胞中生物学功能的主要行使者。

蛋白质生物合成体系中存在 RNP, 也使得“传递系统(channeling system)”运转。各阶段的 RNP 通过其中的蛋白质传递, 更加保证了蛋白质合成的精确性。同时, 各蛋白质因子之间相互作用, 使转录、加工、转运、翻译成为一个相互联系和通讯的网络, 使细胞对外界环境的反应更加有效和迅速。

[参 考 文 献]

- [1] Lunde BM, Moore C, Varani G, RNA-binding proteins: modular design for efficient function. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(6): 479-90
- [2] Lönnroth A, Alexciev K, Mehlin H, et al. Demonstration of a 7-nm RNP fiber as the basic structural element in a premessenger RNP particle. *Exp Cell Res*, 1992, 199(2): 292-6
- [3] Fakan S. Perichromatin fibrils are in situ forms of nascent transcripts. *Trends Cell Biol*, 1994, 4(3): 86-90
- [4] Dreyfuss G, Kim VN, Kataoka N. Messenger-RNA-binding proteins and the messages they carry. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3(3): 195-05
- [5] Bourgeois CF, Lejeune F, Stevenin J. Broad specificity of SR (serine/arginine) proteins in the regulation of alternative splicing of pre-messenger RNA. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 2004, 78: 37-88

- [6] Phatnani HP, Greenleaf AL. Phosphorylation and functions of the RNA polymerase II CTD. *Genes Dev*, 2006, 20(21): 2922-36
- [7] Valadkhan, S, Manley JL. Splicing-related catalysis by protein-free snRNAs. *Nature*, 2001, 413(6857): 701-7
- [8] Will CL, Lührmann R. Protein functions in pre-mRNA splicing. *Curr Opin Cell Biol*, 1997, 9(3): 320-8
- [9] Grainger RJ, Beggs JD. Prp8 protein: at the heart of the spliceosome. *RNA*, 2005, 11(5): 533-57
- [10] Gozani O, Feld R, Reed R. Evidence that sequence-independent binding of highly conserved U2 snRNP proteins up stream of the branch site is required for assembly of spliceosomal complex A. *Genes Dev*, 1996, 10(2): 233-43
- [11] Will CL, Schneider C, MacMillan AM, et al. A novel U2 and U11/U12 snRNP protein that associates with the pre-mRNA branch site. *EMBO J*, 2001, 20(16): 4536-46
- [12] Bessonov S, Anokhina M, Will CL, et al. Isolation of an active step I spliceosome and composition of its RNP core. *Nature*, 2008, 452(7189): 846-50
- [13] Pomeranz Krummel DA, Oubridge C, Leung AKW, et al. Crystal structure of human spliceosomal U1 snRNP at 5.5 Å resolution. *Nature*, 2009, 458(7237): 475-80
- [14] Stutz F, Izaurralde E. The interplay of nuclear mRNP assembly, mRNA surveillance and export. *Trends Cell Biol*, 2003, 13(6): 319-27
- [15] Rodriguez MS, Dargemont C, Stutz F. Nuclear export of RNA. *Biol Cell*, 2004, 96(8): 639-55
- [16] Reed R. Coupling transcription, splicing and mRNA export. *Curr Opin Cell Biol*, 2003, 15(3): 326-31
- [17] Reed R, Cheng H, TREX SR. Proteins and export of mRNA. *Curr Opin Cell Biol*, 2005, 17(3): 269-73
- [18] Saguez C, Olesen JR, Jensen TH. Formation of export-competent mRNP: escaping nuclear destruction. *Curr Opin Cell Biol*, 2005, 17(3): 287-93
- [19] Lebreton A, Tomecki R, Dziembowski A, et al. Endonucleolytic RNA cleavage by a eukaryotic exosome. *Nature*, 2008, 456(7224): 993-6
- [20] Johnson SA, Cubberley G, Bentley DL. Cotranscriptional recruitment of the mRNA export factor Yra1 by direct interaction with the 3' end processing factor Pcf11. *Mol Cell*, 2009, 33(2): 215-26
- [21] Tran EJ, Zhou YN, Corbett AH, et al. The DEAD-Box protein Dbp5 controls mRNA export by triggering specific RNA: protein remodeling events. *Mol Cell*, 2007, 28(5): 850-9
- [22] Kutay U, Lipowsky G, Izaurralde E, et al. Identification of a tRNA-specific nuclear export receptor. *Mol Cell*, 1998, 1(3): 359-69
- [23] Calado A, Treichel N, Muller EC, et al. Exportin-5-mediated nuclear export of eukaryotic elongation factor 1A and tRNA. *EMBO J*, 2002, 21(22): 6216-24
- [24] Hedges J, West M, Johnson AW. Release of the export adapter, Nmd3p, from the 60S ribosomal subunit requires Rpl10p and the cytoplasmic GTPase Lsg1p. *EMBO J*, 2005, 24(3): 567-79
- [25] Moy TI, Silver PA. Nuclear export of the small ribosomal subunit requires the ran-GTPase cycle and certain nucleoporins. *Genes Dev*, 1999, 13(16): 2118-33
- [26] Trotta CR, Lund E, Kahan L, et al. Coordinated nuclear export of 60S ribosomal subunits and NMD3 in vertebrates. *EMBO J*, 2003, 22(11): 2841-51
- [27] Maggi LB Jr, Kuchenruether M, Dadey DY, et al. Nucleophosmin serves as a rate-limiting nuclear export chaperone for the mammalian ribosome. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(23): 7050-65
- [28] Hieronymus H, Silver PA. A systems view of mRNP biology. *Genes Dev*, 2004, 18(23): 2845-60
- [29] Anderson P, Kedersha N. RNA granules: post-transcriptional and epigenetic modulators of gene expression. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(6): 430-6
- [30] Morris KV, Chan SW, Jacobsen SE, et al. Small interfering RNA-induced transcriptional gene silencing in human cells. *Science*, 2004, 305(5688): 1289-92
- [31] Bailly M, Blaise M, Lorber B, et al. The transamidosome: a dynamic ribonucleoprotein particle dedicated to prokaryotic tRNA-dependent asparagine biosynthesis. *Mol Cell*, 2007, 28(2): 228-39
- [32] Frechin M, Senger B, Brayé M, et al. Yeast mitochondrial Gln-tRNA^(Gln) is generated by a GatFAB-mediated transamidation pathway involving Arc1p-controlled subcellular sorting of cytosolic GluRS. *Genes Dev*, 2009, 23(9): 1119 - 30
- [33] Pujol C, Bailly M, Kern D, et al. Dual-targeted tRNA-dependent amidotransferase ensures both mitochondrial and chloroplastic Gln-tRNA^{Gln} synthesis in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(17): 6481-5
- [34] Sauerwald A, Zhu W, Major TA, et al. RNA-dependent cysteine biosynthesis in archaea. *Science*, 2005, 307(5717): 1969-72
- [35] Böck A, Thanbichler M, Rotherand M, et al. The aminoacyl-tRNA synthetases [M]. Georgetown: Landes Bioscience, 2005
- [36] Yuan J, Palioura S, Salazar JC, et al. RNA-dependent conversion of phosphoserine forms selenocysteine in eukaryotes and archaea. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(50): 18923-7
- [37] Yuan J, Sheppard K, Söll D. Amino acid modifications on tRNA. *Acta Biochim Biophys Sin: Shanghai*, 2008, 40(7): 539-53
- [38] Keiler KC, Waller PR, Sauer RT. Role of a peptide tagging system in degradation of proteins synthesized from damaged messenger RNA. *Science*, 1996, 271(5751): 990-3
- [39] Barends S, Karzai AW, Sauer RT, et al. Simultaneous and functional binding of SmpB and EF-Tu GTP to the alanyl acceptor arm of tmRNA. *J Mol Biol*, 2001, 314(1): 9-21
- [40] Hanawa-Suetsugu K, Takagi M, Inokuchi H, et al. SmpB functions in various steps of trans-translation. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(7): 1620-9
- [41] Bugaeva EY, Shpanchenko OV, Felden B, et al. One SmpB molecule accompanies tmRNA during its passage through the ribosomes. *FEBS Lett*, 2008, 582(10): 1532-6
- [42] Nonin-Lecomte S, Germain-Amiot N, Gillet R, et al. Ribosome hijacking: a role for small protein B during trans-translation. *EMBO Rep*, 2009, 10(2): 160-5
- [43] 凌晨,王恩多. 吡咯赖氨酸: 第 22 种氨基酸. *生物化学与生物物理进展*, 2005, 32(6): 490-4