

文章编号: 1004-0374(2011)05-0470-07

生物钟的转录后与翻译后水平调控进展

俞波, 吴涛, 倪银华, 周静露, 诸葛芬, 孙璐, 傅正伟*

(浙江工业大学生物与环境工程学院, 杭州 310032)

摘要: 哺乳动物中的昼夜节律系统由位于下丘脑 SCN 核内的生物钟主钟和位于多数外周细胞中的子钟组成。在分子水平上, 生物钟的节律振荡由生物钟基因及其编码蛋白的转录和翻译形成的自主的反馈环路组成, 并接受外界因素的影响与环境周期保持同步。为此, 就生物钟的调控机制而言, 除了转录水平的基因表达调控外, 生物钟转录产物和蛋白质的修饰也可以显著影响生物钟基因的表达时相。讨论了一些转录后与翻译后的修饰作用及其对生物钟的影响, 并对其今后的研究方向作了展望。

关键词: 昼夜节律; 转录后调控; 翻译后调控; 磷酸化

中图分类号: Q41; R741 **文献标志码:** A

Posttranscriptional and posttranslational regulation of circadian clock

YU Bo, WU Tao, NI Yin-Hua, ZHOU Jing-Lu, ZHU-GE Fen, SUN Lu, FU Zheng-Wei*

(College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China)

Abstract: The circadian system in mammals is composed of a master pacemaker in the suprachiasmatic nucleus (SCN) of the hypothalamus and slave clocks in most peripheral cell types. The clock genes and their coding proteins compose the feedback loops of the circadian system. As for the regulating mechanism of circadian clock, the modification of core clock transcripts and proteins can significantly affect the phase of circadian clock in addition to the transcriptional regulation. This article briefly reviews the advances on some of the posttranscriptional and posttranslational modifications and their effects on the circadian clock, and also suggests the future research direction.

Key words: circadian rhythms; posttranscriptional regulation; posttranslational regulation; phosphorylation

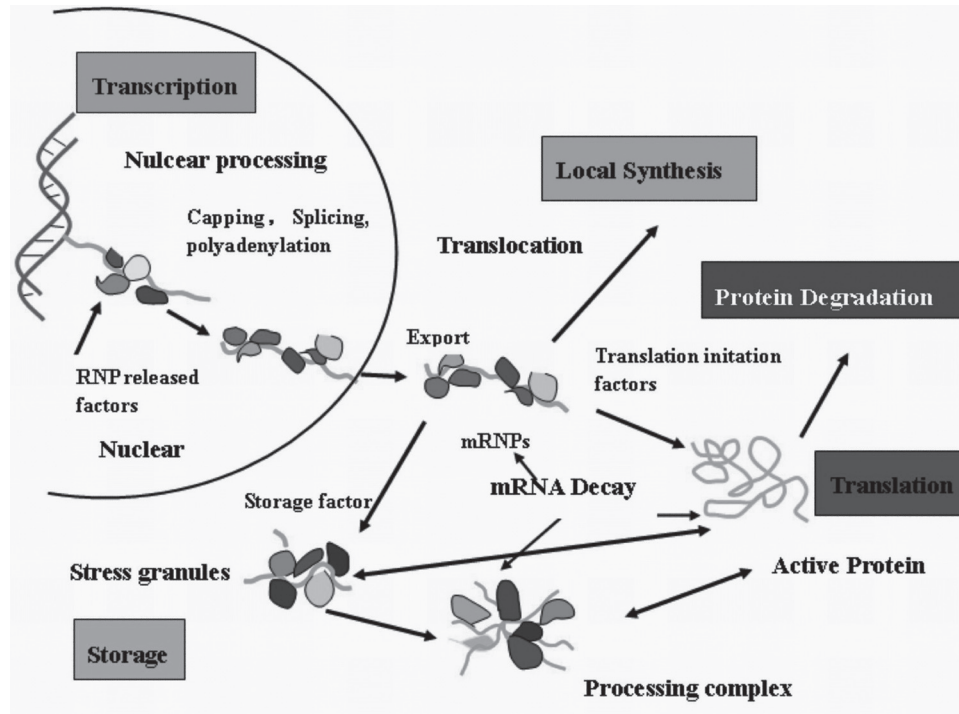
几乎所有生物的生理和行为活动都存在与环境保持同步的周期性节律, 我们称之为生物节律, 其中以 24 h 为运行周期的生物节律称为近日节律 (circadian rhythms)。对哺乳动物、鸟类、昆虫、植物、真菌的观察研究表明, 在某一特定的组织细胞中有 1%~10% 的转录表达是受到昼夜节律性控制的^[1-2]。除了 mRNA 水平的日周振荡外, 生物钟核心蛋白质产生的日周振荡也是生物钟系统表达的一个重要特征。为了维持这种振荡, 一方面, 一些转录后/翻译后修饰对维持其稳定状态的产生十分必要; 另一方面, 生物体内基因表达的调控是一个复杂的过程。该过程包括几个受到严格调控的步骤:(1) 转录;(2)mRNA 的加工 (加帽、剪接、多聚腺苷酸化);(3) 核输出;(4) 分拣和运输 (大多数 mRNA 直接被翻译,

其他的则被储存或是易位至特定的细胞区域); (5) 翻译; (6)mRNA 降解 (图 1)。目前的研究仅仅证实其中的一些步骤是由生物钟系统调控的, 但是理论上基因表达过程中的所有步骤都可能是昼夜节律的调控位点。在本文中, 我们着重讨论了转录后和翻译后修饰对生物钟系统组成部分的影响作用。按照整个昼夜节律循环中不同的生物钟分子对不同的修饰进行了分析, 总结回顾了生物钟基因表达中一些代表性的转录后调控和翻译后调控过程。

收稿日期: 2010-11-25; 修回日期: 2011-02-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(30970364); 浙江省自然科学基金项目(Y3090563)

*通信作者: E-mail: azwfu2003@yahoo.com.cn



生物钟基因在多水平上受到严密的调控, 其中基因表达的调控过程非常复杂。在转录后水平, mRNA与RNA结合蛋白之间的相互作用, 酶、脚手架蛋白以及其他一些调节蛋白决定了mRNA的加工过程和最终的命运

图1 生物钟基因表达存在多水平的调控

1 生物钟基因的转录后调控

1.1 mRNA的选择性剪接

mRNA的选择性剪接为生物钟基因表达的调控提供了一个重要机制, 不同的外显子从相同的转录单元中被选择出来, 产生多种不同功能的蛋白质, 最终表现为生物钟功能调控的多样性^[3]。如通过对果蝇的3个*Per*基因的cDNA研究发现, 这3个cDNA通过不同的选择性剪接方式编码3种不同的PER蛋白。此外, 研究还发现, *Per*只能编码两种类型的转录产物, 这两种转录产物的区别在于3'端非编码区的一个内含子的存在(A型)或缺失(B型)^[4], 而转基因果蝇只表达A型转录产物, 并且表现出行为活动时相延滞以及PER蛋白积累速度减慢, 说明3'端非编码区内含子的存在与否会影响*Per* mRNA的翻译速率。这种差异性的剪接方式可能成为机体感知温度和光周期变化的机制, 通过温度、光照和生物钟三者之间的相互作用共同调节3'端非编码区的剪接行为, 形成感知季节性变化的传感器。在哺乳动物中也存在3个*Per*基因, 但并不存在选择性剪接, 而且*mPer1*的mRNA的3'非编码区在哺乳动物中是高度保守的, 能对自身表达产生阻遏

作用。因此, 视交叉上核(SCN)中*mPer1*的3'非编码区的其中一个功能可能是调控*mPer1*转录和翻译之间的时间间隔^[5]。

生物钟系统中另一个受选择性剪接调控的成员是*Bmal*基因。在小鼠中, *Bmal1*基因长32 kb, 含有17个能产生3个剪接变异体的外显子, 这3个剪接变异体编码3个不同的基因。此外, 每种BMAL亚型在组织分布上也不相同。研究业已证实, 在小鼠、大鼠和人体内均存在*Bmal1*和*Bmal2*的多种剪接变异体和翻译起始位点。此外, 人的BMAL2亚型在体外具有不同的转录活性, 这些都表明选择性剪接可能可以调节中央和外周振荡器的振幅。

1.2 多聚腺苷酸化水平的调控

mRNA的选择性剪接并不是生物钟基因表达调控的唯一机制, 生物钟系统还存在多聚腺苷酸化水平的调控。大鼠SCN中加压素mRNA的多聚腺苷酸尾的长度是受到日周性调控的, 但在脑的其他区域却并不存在这种调控。精氨酸加压素(arginine vasopressin, AVP)mRNA的poly(A)尾长度独特的日周节律证实了生物钟对多聚腺苷酸化的作用, 特别是在SCN中, 加压素mRNA的转录水平是严格受

到昼夜节律性调控的。在研究中观察到夜间位于最低水平时的加压素大多以含有短链多聚腺苷酸尾的 mRNA 的形式存在。核连缀实验发现在夜间加压素转录速率大约下降了 30%，而已知脱腺苷酸化（多聚腺苷酸尾的缩短）会引起 mRNA 的降解，由此我们推测当加压素 mRNA 的多聚腺苷酸尾长度变短时 mRNA 的降解速率会升高，这有助于维持加压素转录水平的节律性。因此，poly(A) 尾的长度变化有助于调节 AVP 的 mRNA 和蛋白质在一天中不同时间段的稳定性。另一方面，精氨酸加压素 mRNA 将会转移到树突局部合成蛋白质^[6]。因此，多聚腺苷酸长度的变化也会影响这一神经调质在突触区域的时间节律性的产生。目前对整个生物钟周期中不同生物钟基因 poly(A) 尾的长度的分析还没有进行广泛的研究论证，但是这种修饰可能是一种重要的机制，生物钟可以借助这种机制调控多聚腺苷酸化水平的高低并以此控制 mRNA 表达的稳定性。

非洲爪蟾视网膜的研究发现 *Nocturnin*(*Noc*) 的 mRNA 表达也受多聚腺苷酸化水平的调控^[7-8]。经研究发现，xNOC 是 Mg^{2+} 依赖性 poly(A) 特异性核糖核酸酶（脱腺苷酸酶）^[9]。*Nocturnin* 在爪蟾视网膜含有生物钟基因的感光细胞层中显示出高振幅的昼夜节律性表达，而且哺乳动物的 *Noc* 也在许多含有生物钟基因的组织如肾脏、肝脏和心脏中呈现节律性地表达^[10-11]。NOC 蛋白确切的底物还没有确定，但是它的定位和节律性表达提示了 *Nocturnin* 也许以昼夜节律性的方式对特定的转录产物进行脱腺苷化，以此影响特定 mRNA 的稳定性和维持振荡。

1.3 mRNA 代谢转化调控

近年来，在 mRNA 的降解机制方面的研究取得了很大进展，特别是非编码 RNA 和新的细胞质子区域的发现为这一领域带来了革新，并且迅速改变了我们对 mRNA 降解和翻译调控的传统观念^[12-15]。新生的转录物仍在继续合成的过程中，它可能已被 RNA 结合蛋白 (RBPs)、酶和非编码的调节型 RNA 等调节因子组成的复合因子所包被，这些核糖核蛋白复合物十分活跃并且会根据前体 mRNA 的加工、转录产物的运输、翻译和在某种情况下的储存和特定的局部化等不同的功能过程而改变自身的组成结构（图 1）。基因的活性取决于与其启动子中调节位点相作用的转录因子的排列位置，但是 mRNA 的功能则取决于与其顺式作用元件相作用的 RBPs 和非编码的调节型 RNAs 的组合类型^[16]。

不同 mRNA 的半衰期长短不等，有些只存在于细胞周期的某些阶段，而有些则能持续存在于多个分裂周期中。正常 mRNA 降解的途径包括脱腺苷酸化依赖性的 mRNA 降解、非脱腺苷酸化依赖性的 mRNA 降解和内切酶介导的 mRNA 降解三种途径。mRNA 的 G 帽和 poly(A) 尾结构通过与翻译起始因子 4E (eIF4E) 和 poly(A) 结合蛋白 (PABP) 的相互作用来稳定转录产物，保护其免受 RNA 外切酶的伤害并且能抑制翻译作用的增强。目前认为依赖脱腺苷酸化的 mRNA 降解是真核生物的生物钟基因大多数转录物的主要降解途径^[16]，并且是大多数转录产物的代谢转化过程中的限速步骤和受调控最多的步骤。在脱腺苷酸酶作用下，poly(A) 尾的酶促缩短启动这一降解过程。脱腺苷化后，mRNA 在一种含有核酸外切酶和附属蛋白的化合物外切体的作用下沿着 3'→5' 方向被降解，剩余的 m7Gppp 帽在清道夫去帽酶 DCPS 的作用下被水解^[17]。此外，脱腺苷酸化的 mRNA 也可能先在 DCP1 和 DCP2 作用下脱帽，然后被 RNA 外切酶 XRN1 消化，以此实现从 5'→3' 方向的降解。

此外，启动子缺陷的转基因果蝇表达 *PER* 的实验也能为转录后调控提供例证^[18]。这些果蝇尽管缺乏 *Per* 启动子，*Per* 的 mRNA 却仍以低振幅形式进行节律性振荡，并且能够弥补突变体行为的无节律性。因此，我们推测可能存在影响 *Per* 转录物稳定性的转录后调控过程。利用含有 *Per* 启动子和不同的 *Per* 可转录区域的 *Per*- 荧光素酶报告基因进行研究，研究发现这种转录后调控是由定位于 *Per* 的第一个内含子中的某些区域所介导的^[18]。核连缀分析实验发现，*Per* 呈现节律性的转录，同时 mRNA 的转录速率和积累速率存在一定的差异，但是这种差异在衰变期却并没有观察到。以上的实验结果都表明，*Per* 的节律性表达在一定程度上是由转录后机制所调控的，并且能够影响 *Per* mRNA 的稳定性。因此，生物钟基因在 mRNA 水平上的日周节律也许是 mRNA 的稳定性发生节律性变化的结果，转录水平的调控似乎是生物钟基因 mRNA 水平产生节律性变化的主要机制。

运用 DNA 微阵列技术研究发现，果蝇和小鼠体内某些编码 RNA 结合蛋白的基因的转录过程是受生物钟系统调控的^[19-20]。虽然这些 RNA 结合蛋白在翻译调控中所起的作用还不明确，可能是通过调控节律性转录物的输出和（或）翻译来参与生物钟表达系统的运行，其中 *Lark* 基因编码的 RNA 结

合蛋白可能参与调控节律性转录产物的翻译过程。研究证实 *Lark* 基因的突变会延缓果蝇羽化模式的节律性, 但却不影响果蝇的运动节律或其中央生物钟系统。值得注意的是, *mLARK* 和 *dLark* 在 mRNA 水平上比较稳定, 但是它们的蛋白质积累速率却存在节律性, 这表明了它们在蛋白质水平上的表达是受节律性的转录后调控的^[21]。

2 生物钟基因的翻译后调控

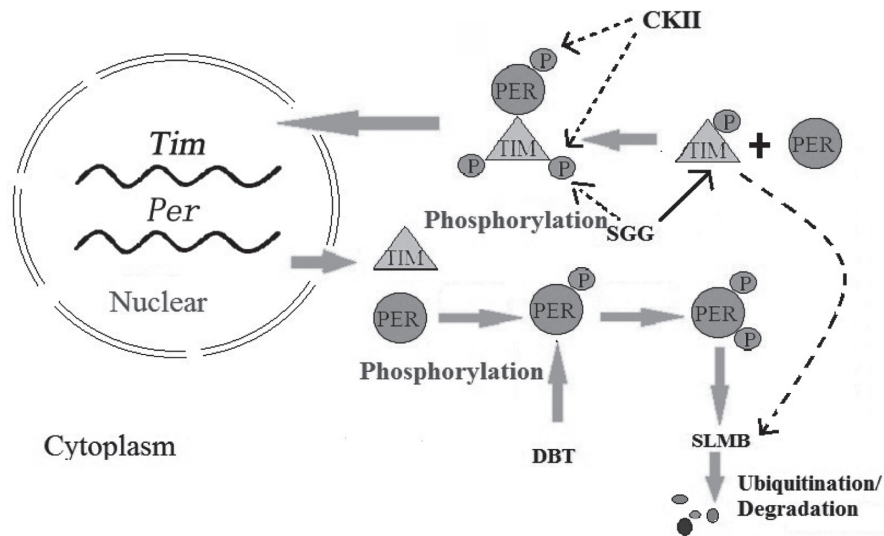
2.1 细胞质中的磷酸化作用

PER 和 TIM 的蛋白质水平在果蝇体内呈现昼夜节律性的振荡, 但是它们的振荡似乎是独立于 RNA 翻译的节律。研究显示 *Per* 的 mRNA 的节律性表达对维持 PER 蛋白质的节律性不是必需的^[22], 但是并不清楚在缺乏节律性的转录物的情况下, 蛋白质的节律表达是如何维持的, 我们推测 PER 蛋白表达的节律可能是由它和 TIM 蛋白相互作用引起的。

PER 和 TIM 的翻译后修饰有助于产生一个大约 24 h 的周期, 在许多已知的翻译后修饰 (包括甲基化、乙酰化和糖基化) 中, 磷酸化过程是研究的最深入的, 并且已经证明对果蝇和其他许多物种的生物钟系统起到关键作用。在细胞质中, 磷酸化通过两种方式影响果蝇生物钟基因表达的时相: (1) 通过调节 PER 的稳定性; (2) 通过调节 PER-TIM 复

合物进核的时间 (图 2)。磷酸化、泛素化和去磷酸化的下游反应也对 24 h 节律的产生起到十分重要的作用。

磷酸化是通过调节细胞质中 PER 的稳定性, 从而调控生物钟基因的表达。果蝇细胞质中的 PER 在 DOUBLETIME(DBT) 介导下发生磷酸化作用。DBT 是存在于果蝇体内的哺乳动物酪蛋白激酶 Iε(CKIε) 的同系物^[23]。 *Dbt* 基因发生突变的果蝇会产生短 (*dbtS*) 节律或是长 (*dbtL*) 节律, 或者甚至完全丧失节律^[23-24]。在磷酸化发生障碍的 *Dbt* 突变体中, PER 处于低磷酸化水平并且大量积累, 表明 DBT 在调控 PER 的磷酸化和稳定性方面发挥重要作用^[23]。DBT 介导下的磷酸化作用破坏了 PER 的稳定性, 从而促进或抑制了生物钟基因的表达。这种作用一直维持到 TIM 在细胞质中积累到足够的水平能够结合 PER 时, TIM 与 PER 的结合能够稳定 PER, 保护其免受随后的降解^[23-24]。这就在 *Per* 和 *Tim* 的转录物与 PER-TIM 复合物的形成过程之间引入了一个时间延搁, 这个延搁有助于生物钟形成一个大约 24 h 的周期。此外, 链胞霉菌蛋白 FRQ 在 CKI (以及其他激酶) 作用下磷酸化, 如果抑制 FRQ 的磷酸化就能够稳定蛋白质^[25]。在哺乳动物中, CKIε 和 CKIδ 都已被证明在体内和体外均能够与哺乳动物 PER 蛋白 (PER1 和 PER2) 结合, 并且在体外能使这些蛋白发生磷酸化^[26]。与果蝇和



DBT能够使PER磷酸化, 在SLMB的介导下将PER作为降解靶目标并延缓PER的积累。但是目前还不清楚TIM是否也是SLMB的靶标。TIM的积累能够使PER与TIM结合成为复合物, SGG和CKII能够促进PER-TIM复合物进入细胞核。SGG能够磷酸化TIM, 而CKII则能使PER和TIM磷酸化。虚线代表此路径还不明确

图2 果蝇细胞质中的生物钟翻译后水平的降解

链胞霉菌生物钟类似,这种磷酸化能够引起哺乳动物的 PERs 更迅速的代谢转化^[26],从而通过调节 PER 的稳定性来调控生物钟基因的表达水平。

CKI 也能调控哺乳动物细胞中 PERs 的核输入过程。Takano 等证明了 CKI ϵ 在 COS-7 细胞中能帮助 PER1 和 PER3 转移入细胞核,但是 Vielhaber 等却发现 CKI ϵ 在 HEK 293 细胞中帮助 PER1 从细胞核中重新定位于细胞质中。这些截然相反的结果也许反映了实验中所使用的细胞类型的差异,但是从另一方面也提示了哺乳动物 PERs 的亚细胞定位是动态的,并且可能受到其他因素的影响。哺乳动物 GSK-3 的直系同源物——果蝇 SGG 能够通过促进 PER 和 TIM 在细胞核中的积累来调控生物钟蛋白的入核过程^[27]。果蝇侧神经元中 SGG 的超量表达会促进 PER-TIM 复合物提前转运入核,从而产生短周期的活动节律,而 SGG 的减量表达则会产生相反的效应,抑制了 PER-TIM 异二聚体的入核过程,以此引起果蝇长周期的活动节律^[27]。我们推测 TIM 也许是 SGG 的底物,当 SGG 的表达量减少时, TIM 会发生显著的低磷酸化(但是 PER 的磷酸化模式不受影响),反之 SGG 的过量表达将 TIM 转换为高磷酸化形式^[27]。在体外, TIM 可在 GSK-3 作用下被磷酸化,这些结果都表明了 TIM 是 SGG 磷酸化的直接靶目标。

与 SGG 类似,CKII 也能够促进 PER 和 TIM 的核积累过程。CKII 可以在体外磷酸化 PER,也可以在较低程度上磷酸化 TIM^[28]。CKII β 结合 CKII α 并异二聚化形成 CKII 全酶。*Andante* 突变会破坏 β 亚基的二聚作用和 α : β 亚基的相互作用,使其不能聚合成有功能的 CKII,同时突变导致了 PER 和 TIM 含量的增高,表明 CKII 在调控这些蛋白质的稳定性与 PER 和 TIM 延迟的核转运过程中起着重要的作用。CKII 可以作为 PER 和 TIM 磷酸化的“启动激酶”,有利于它们随后在 DBT 和(或)SGG 作用下的磷酸化过程,同时 DBT 和 SGG 自身也可能被 CKII 磷酸化^[30]。PER 和 TIM 磷酸化水平的高低决定了它们核转运的时间。还不清楚 CKII 是否在哺乳动物的昼夜节律系统中也起相同的作用,但是已经证明,它作为生物钟一个高度保守的组成构件在拟南芥和链胞霉菌中都发挥了重要的作用。

2.2 细胞核中的磷酸化作用

近年来的一些研究也使我们与上述细胞质中的磷酸化反应起着同样作用的细胞核内的一些生化

反应有了更深入的了解。对行为节律突变的生物体内蛋白质磷酸化模式的分析表明,核磷酸化作用在每一次生物钟循环周期的终止过程中起到非常重要的作用,磷酸化促进了昼夜节律启动子反式作用蛋白的降解。在循环磷酸化作用下对转录调节因子活性的调控也同时调节了负反馈的持续时间,这些机制都有助于产生和维持周期大约为 24 h 的分子节律。通过 Western 实验发现许多生物钟元件的磷酸化过程主要发生在细胞核中。哺乳动物 PER 蛋白在 CT21 中达到很高程度的磷酸化状态,其中大多数 mPER 信号存在于细胞核部分^[24]。目前许多磷酸化过程的分子功能还并不清楚,在表型上,一些与激酶或其亚基的突变密切相关的生化过程能够改变不同生物钟元件的磷酸化状态。DBT 的缺失导致了低磷酸化 PER 在果蝇起搏器神经元细胞核中高水平的积累。DBT 的短周期和长周期等位基因分别降低和增加核 PER 蛋白的稳定性^[24]。果蝇细胞培养(S2 cells)证明 DBT 的活性能够影响 PER 的转录抑制活性^[29]。哺乳动物生物钟系统中的 CKI 的功能至少在一定程度上是保守的,并且能调节 mPER 蛋白的核稳定性与 BMAL1 的转录活性^[5]。S2 细胞培养的初步研究数据表明 CKII 能影响果蝇体内核 PER 的抑制活性和链胞霉菌中 FRQ 蛋白的稳定性。在人类中,家族性睡眠综合征(familial advanced sleep phase syndrome, FASPS)与人类 PER2 基因的点突变有关,这种突变在体外影响了 CKI ϵ 作用下的 hPER2 的磷酸化率,可能改变了核 hPER2 的稳定性,并因此改变人体分子钟负反馈的持续时间^[26]。

蛋白质互作的丧失可以改变磷酸化速率。果蝇 *timUL* 突变体中 PER-TIM 复合体的稳定性的增强抑制了 PER 在生物钟细胞核内的磷酸化过程^[23]。PER 在复合物中的稳定性大大增强,减缓了它的降解并推迟下一个循环周期的开始。磷酸化可能作为一个信号,在降解过程中标记 PER 蛋白。事实上,磷酸化决定了 PER 蛋白泛素化的速率。磷酸化的 PER 被认为是 E3 泛素连接酶 SCF 家族的一员,通过连接酶复合物的 SLMB 蛋白亚基与磷酸化的残基直接结合。在果蝇体内,SLMB 水平高低会影响磷酸化的 PER 蛋白的稳定性^[30]。SLMB 低水平的活性能延长果蝇生物钟的周期,这大概是通过增加核 PER 蛋白的稳定性来达到这一作用的;SLMB 的超量表达也会延长活动周期^[30],可能是因为细胞质中积累的 PER 蛋白降解率的增加延缓了 PER 的核运输过程。目前还不清楚是细胞质需要 SLMB 还是细

胞核需要 SLMB, 或是两者都需要 SLMB。除了蛋白质的稳定性外, 果蝇 PER 的转录阻遏因子的活性也受磷酸化的调控。在体内, 与 TIM 结合形成复合物的核内 PER 的释放与其自身启动子的转录阻遏作用和磷酸化作用的加强有关^[24]。在培养细胞中, DBT 和 CKII 水平的下降减轻了依赖 PER 的转录阻遏作用^[29]。因此, 磷酸化依赖性的启动子的活性受到生物钟蛋白复合物的调控, 这可能也是许多生物钟系统的一个普遍特征。

蛋白质的去磷酸化作用也能影响细胞核的稳定性, 并且也许会影响果蝇 PER 的活性和链胞霉菌 FRQ 蛋白的活性。增强 PP2A 的活性能产生稳定的组成型核 PER 蛋白, 而磷酸酶活性的下降则会降低 PER 的总体丰度^[28]。链胞霉菌中, PP1 和 PP2A 的突变也会影响生物钟系统的功能: 链胞霉菌 PP2A 酶调节亚基 RGB-1 的突变会造成 frqRNA 和总体蛋白的低水平表达, 而 PP1 的突变似乎是通过直接影响 FRQ 蛋白的降解来调节 FRQ 蛋白的稳定性^[31]。

3 结束语

生物钟属于细胞自主性活动, 转录后和翻译后水平的调控对生物节律的产生是十分必要的。这些修饰过程在生物体的整个昼夜节律周期中引入了一些短暂的时间延搁以确保生物钟循环周期延长至大约 24 h, 产生正常的生物周期节律。此外, 这些修饰也能够感知外界环境的变化并且迅速做出应答, 将信息翻译给中央生物钟, 使生物钟系统能够调整效应器的活动与环境周期保持同步。在过去几年对昼夜节律性行为的研究取得了很大的进展, 对生物钟基因 mRNA 的选择性剪接、多聚腺苷酸化水平上的调节以及在细胞质与细胞核内的磷酸化作用的研究也取得初步成果, 但是在生物钟的转录后和翻译后调控方面还有许多领域未被探索。在转录后水平, 关于 mRNA 加帽反应的昼夜节律性调控、选择性剪接的昼夜节律性调控和 RNA 从核到细胞质的运输等方面我们还知之甚少。此外, 生物钟蛋白的其他一些化学修饰, 如甲基化、糖基化和乙酰化等翻译后修饰在生物钟中所起的作用还未被阐明。目前对这些复杂的生化过程的研究其实才刚刚起步, 在这一领域的探索还需要更多的努力。对生物钟基因的转录后和翻译后水平的调控机制的深入研究, 对揭示生命节律性活动的本质、生物进化的分子基础和开拓遗传学研究新领域都具有重要意义,

可为今后医疗保健和农牧业生产实践提供新的理论依据。

[参 考 文 献]

- [1] Duffield GE. DNA microarray analyses of circadian timing: the genomic basis of biological time. *J Neuroendocrinol*, 2003, 15: 911-1002
- [2] Chen R, Schirmer A, Lee Y, et al. Rhythmic PER abundance defines a critical nodal point for negative feedback within the circadian clock mechanism. *Mol Cell*, 2009, 36: 417-30
- [3] Guo J, Cheng P, Yuan H, et al. The exosome regulates circadian gene expression in a posttranscriptional negative feed-back loop. *Cell*, 2009, 138: 1236-46
- [4] Benito J, Zheng H, Ng F, et al. Transcriptional feedback loop regulation, function and ontogeny in *Drosophila*. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2007, 72: 437-44
- [5] Bozek K, Relógio A, Kielbasa SM, et al. Regulation of clock-controlled genes in mammals. *PLoS ONE*, 2009, 4(3): e4882
- [6] Girardet C, Becquet D, Blanchard MP, et al. Neuroglial and synaptic rearrangements associated with photic entrainment of the circadian clock in the suprachiasmatic nucleus. *Eur J Neurosci*, 2010, 32(12): 2133-42
- [7] Green CB, Besharse JC. Identification of a novel vertebrate circadian clock-regulated gene encoding the protein nocturnin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(25): 14884-8
- [8] Green CB, Besharse JC. Use of a high stringency differential display screen for identification of retinal mRNAs that are regulated by a circadian clock. *Brain Res*, 1996b, 37: 157-65
- [9] Dupressoir A, Morel AP, Barbot W, et al. Identification of four families of yCCR4- and Mg²⁺-dependent endonuclease-related proteins in higher eukaryotes, and characterization of orthologs of yCCR4 with a conserved leucine-rich repeat essential for hCAF1/hPOP2 binding. *BMC Genomics*, 2001, 2: 9
- [10] Li R, Yue J, Zhang Y, et al. CLOCK/BMAL1 regulates human nocturnin transcription through binding to the E-box of nocturnin promoter. *Mol Cell Biochem*, 2008, 317: 169-77
- [11] Kawai M, Green CB, Lecka-Czernik B, et al. A circadian-regulated gene, *Nocturnin*, promotes adipogenesis by stimulating PPAR- γ nuclear translocation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(23): 10508-13
- [12] Valencia-Sanchez MA, Liu J, Hannon GJ, et al. Control of translation and mRNA degradation by miRNAs and siRNAs. *Genes Dev*, 2006, 20: 515-24
- [13] Eulalio A, Behm-Ansmant I, Izaurralde E. P bodies: at the crossroads of post-transcriptional pathways. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8: 9
- [14] Parker R, Sheth U. P bodies and the control of mRNA translation and degradation. *Mol Cell*, 2007, 25: 635-46
- [15] Pillai RS, Bhattacharyya SN, Filipowicz W. Repression of protein synthesis by miRNAs: how many mechanisms?

- Trends Cell Biol, 2007, 17: 118-26
- [16] Keene JD. RNA regulations: coordination of post-transcriptional events. Nat Rev Genet, 2007, 8: 533-43
- [17] Liu Q, Greimann JC, Lima CD. Reconstitution, activities, and structure of the eukaryotic RNA exosome. Cell, 2006, 127: 1223-37
- [18] Stanewsky R, Lynch KS, Brandes C, et al. Mapping of elements involved in regulating normal temporal period and timeless RNA expression patterns in *Drosophila melanogaster*. J Biol Rhythms, 2002, 17: 293-306
- [19] Saithong T, Painter KJ, Millar AJ. The contributions of interlocking loops and extensive nonlinearity to the properties of circadian clock models. PLoS ONE, 2010, 5: e13867
- [20] Panda S, Antoch MP, Miller BH, et al. Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. Cell, 2002, 109: 307-20
- [21] Kojima S, Matsumoto K, Hirose M, et al. LARK activates posttranscriptional expression of an essential mammalian clock protein, PERIOD1. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(6): 1859-64
- [22] Landskron J, Chen KF, Wolf E, et al. A role for the PERIOD: PERIOD homodimer in the *Drosophila* circadian clock. PLoS Biol, 2009, 7(4): e3
- [23] Sekine T, Yamaguchi T, Hamano K, et al. *Casein kinase Iε* does not rescue double-time function in *Drosophila* despite evolutionarily conserved roles in the circadian clock. J. Biol. Rhythms, 2008, 23: 13-5
- [24] Kivimäe S, Saez L, Young MW. Activating PER repressor through a DBT-directed phosphorylation switch. PLoS Biol, 2008, 6(7): e183
- [25] Tang CT, Li S, Long C, et al. Setting the pace of the *Neurospora* circadian clock by multiple independent FRQ phosphorylation events. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106: 10722-27
- [26] Meng QJ, Logunova L, Maywood ES, et al. Setting clock speed in mammals: the CK1 epsilon tau mutation in mice accelerates circadian pacemakers by selectively destabilizing PERIOD proteins. Neuron, 2008, 58: 78-88
- [27] Bagheri N, Lawson M, Stelling J, et al. Modeling the *Drosophila melanogaster* circadian oscillator via phase optimization. J Biol Rhythms, 2008, 23(6): 525-37
- [28] Smith EM, Lin JM, Meissner RA, et al. Dominant-negative CK2α induces potent effects on circadian rhythmicity. PLoS Genet, 2008, 4: e12
- [29] Mehra A, Baker C, Loros J, et al. Post-translational modifications in circadian rhythms. Trends Biochem Sci, 2009, 34(10): 483-90
- [30] Chiu JC, Vanselow J, Kramer A, et al. The phospho-occupancy of an atypical SLIMB-binding site on PERIOD that is phosphorylated by DOUBLETIME controls the pace of the clock. Genes Dev, 2008, 22(13): 1758-72
- [31] Guo JH, Liu Y. Molecular mechanism of the *Neurospora circadian oscillator*. Protein Cell, 2010, 1(4): 331-41