

DOI: 10.13376/j.cbls/20210117

文章编号: 1004-0374(2021)09-1063-08

富含鸟嘌呤序列的RNA结合因子(GRSF1)研究进展

孔丽君, 曹思邈, 刘姝晗, 刘梦轻, 梁 洋*

(东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040)

摘要: 富含鸟嘌呤序列的 RNA 结合因子 1 (GRSF1) 是 RNA 结合蛋白, 属于异质核糖核蛋白 (hnRNP) F/H 家族, 该蛋白家族成员均含有两个以上类 RNA 识别基序 (qRRMs) 和至少一个辅助结构域。qRRM (类 RNA 识别基序) 与 RRM (RNA 识别基序) 相似但作用方式不同。在发育、衰老、肿瘤等领域, GRSF1 发挥着重要作用。随着生物信息学和测序技术的发展, GRSF1 的功能和作用机制被逐渐揭示, 但并未得到充分解析。该文对 GRSF1 结构特点、表达调控和作用机制进行了概述, 并总结了其在发育、细胞衰老、肿瘤发生等领域的研究进展, 为深入探究 GRSF1 的作用机制及挖掘其生物功能奠定基础。

关键词: 富含鸟嘌呤序列的 RNA 结合因子 1; 异质核糖核蛋白 (hnRNP) F/H 家族; 作用机制; 研究进展
中图分类号: Q513; Q71 **文献标志码:** A

Research progress of guanine-rich RNA sequence binding factor 1 (GRSF1)

KONG Li-Jun, CAO Si-Miao, LIU Shu-Han, LIU Meng-Qing, LIANG Yang*

(School of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: The guanine-rich RNA sequence binding factor 1 (GRSF1) is an RNA-binding protein belonging to the heterogeneous nuclear ribonucleoprotein (hnRNP) F/H family. Each member of this protein family contains more than two quasi-RNA recognition motifs (qRRMs) and at least one helper domain. qRRM (quasi-RNA recognition motif) is similar to RRM (RNA recognition motif) but acts in different ways. GRSF1 plays an important role in development, senescence, tumorigenesis and other fields. With the development of bioinformatics and sequencing technology, the functions and mechanisms of GRSF1 have been gradually revealed, but not fully resolved. In this review, we summarize the structural characteristics, expression regulation, the molecular mechanism and the research progress of GRSF1 in the fields of development, cell senescence, and tumorigenesis, which lays a foundation for exploring the mechanism of action and biological function of GRSF1.

Key words: guanine-rich RNA sequence binding factor 1; heterogeneous nuclear ribonucleoprotein F/H (hnRNP F/H) protein family; mechanism of action; research progress

富含鸟嘌呤序列的 RNA 结合因子 1 (GRSF1) 是广泛存在于机体组织中的 RNA 结合蛋白 (RNA-binding protein, RBP), 属于异质核糖核蛋白 (hnRNP) F/H 家族。hnRNP F/H 家族包括 hnRNP F、H1、H2、H3 和 GRSF1, 该蛋白家族的每个成员都包含至少两个类 RNA 识别基序 (qRRMs) 和至少一个附加的辅助结构域。qRRM 优先结合靶外显子和 / 或邻近内含子中富含 poly(G) 序列的 RNA, 从而在转录和转录后水平调控基因表达^[1-3]。虽然一些 RBP 功能研究已经较为透彻, 但对 GRSF1 的研究

起步较晚, 最早报道见 1994 年^[4]。有研究表明, GRSF1 参与了胚胎发育、干细胞分化、细胞周期调控和凋亡等多种生理过程, 并被认为是 Wnt 和 mTOR 信号通路的下游成员^[5], 但目前对其具体作用机制、生物功能等研究尚不清楚。因此, 本文对

收稿日期: 2021-03-11; 修回日期: 2021-05-05

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目(LH2020C053), 黑龙江省博士后经费项目(LBH-Q19061)

*通信作者: E-mail: liang11yang@126.com; Tel: 13946092201

GRSF1 结构特点、表达调控和作用机制进行概述,并总结了其在发育、细胞衰老、肿瘤发生等领域研究进展,为进一步挖掘 GRSF1 的功能研究奠定基础。

1 GRSF1结构特点

富含鸟嘌呤序列的 RNA 结合因子 1 (GRSF1) 是异质核糖核蛋白 (hnRNP) F/H 家族成员,该家族成员主要是核蛋白,参与剪接调控等作用^[4,6-7],但 GRSF1 最初被鉴定为一种细胞质 mRNA 结合蛋白。在小鼠中,GRSF1 基因位于 5 号染色体上,由 10 个外显子组成,全长 15 kb,包含 3 个 RNA 结合域;在人类中,GRSF1 基因位于 4 号染色体^[1]。

Qian 和 Wilusz^[4]通过紫外交联和免疫染色实验发现,在细胞质中 GRSF1 能结合到 mRNA 富含 G 的 poly(A)⁺ 区域,这种富含鸟嘌呤的序列在理论上倾向于形成被称为 G-四链体 (G4s) 的特殊四链结构^[8]。该蛋白含有 3 个保守的 RNA 识别基序 (RNA recognition motif, RRM), 分别为 RRM1、RRM2 和 RRM3 (图 1A)。RRM 也被称为 RBD (RNA binding domain, RNA 结合域) 或 RNP (ribonucleoprotein domain, 核糖核蛋白域), 在高等脊椎动物中是最丰富的 RNA 结合域 (该基序存在于约 0.5%~1% 的人类基因中)^[9]。

hnRNP F/H 家族的 RBDs 被称为类 RNA 识别基序 (quasi-RNA recognition motifs, qRRMs)。之所以称为 qRRMs, 是因为它们与经典 RRM 相比识别 RNA 方式不同。经典的 RRM 折叠和 qRRM 折叠均是由四个反向平行的 β 链和两个 α 螺旋交织形成, 拓扑结构为 $\beta\alpha\beta\alpha\beta$ ^[10]。两个中心 β - 折叠包含被称为核糖核蛋白结构域 1 和 2 的共识基序 (RNP-1 八聚体和 RNP-2 六聚体), 经典的 RRM-RNA 结合是

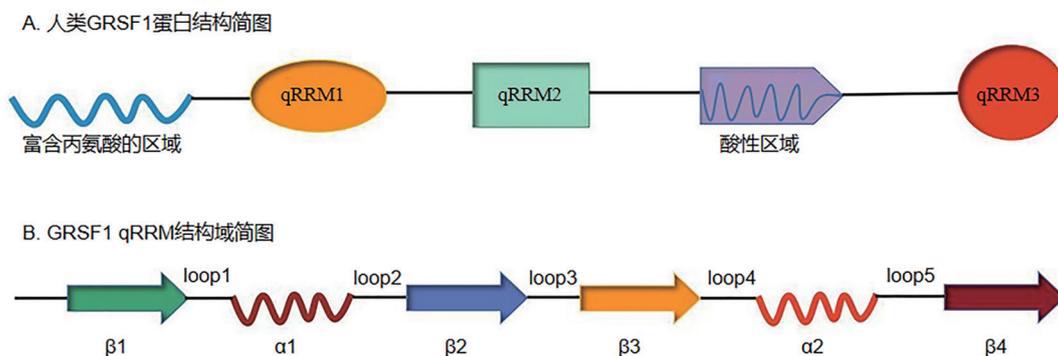
通过 RNP 所在的 β 折叠区域与单链 RNA 之间的特定氢键实现。在 hnRNP F/H 蛋白家族中, RNP 保守性较差^[1], 而这些区域之间连接部分的氨基酸残基却高度保守。qRRMs 不是通过包含两个 RNPs 的典型 β - 折叠界面结合, 而是通过主要存在于连接环中的氨基酸残基与 RNA 底物相互作用^[11]。与 hnRNP F/H 家族其他成员相似, GRSF1 包含 3 个 qRRMs (图 1B), 在 β 折叠之间的氨基酸残基高度保守, 因此推测它是通过这些氨基酸残基识别 RNA 而发挥作用^[11]。

除了含有三个保守的 qRRMs 以外, GRSF1 还包含两个辅助结构域, 即 RRM2 和 RRM3 之间的高酸性 α 螺旋结构域与 N 端富含丙氨酸的区域 (图 1A)^[4]。蛋白质的酸性 α 螺旋区域被证明是转录激活区域。因此, GRSF1 的酸性结构域可能允许 GRSF1 与其他蛋白质相互作用。第二个辅助区域与盘基网柄菌核糖体大亚基 P2 蛋白 (*Dictyostelium* ribosomal large subunit P2 protein) 的 C 端附近富含丙氨酸的区域同源, 意味着 GRSF1 可能在翻译中发挥作用^[4]。

2 GRSF1的表达调控

GRSF1 广泛存在于脊椎动物中, 可在大多数哺乳动物的胚胎发育早期检测到其表达, 表明 GRSF1 在哺乳动物中的作用更为普遍^[5]; GRSF1 也被发现在低等生物中表达, 但分布并不广泛^[12]。GRSF1 基因的表达涉及到转录、转录后以及翻译机制, 但其中很多具体调控机制尚不清晰。

GRSF1 的转录过程依赖于基因启动子区域众多反式作用因子的组装, 包括基础转录因子, 如 TFIIs (RNA polymerase II transcription factor, RNA 聚合酶 II 转录因子) 和启动子特异性转录因子, 如 Sp1 (stimulus protein 1, 刺激蛋白 1)。生信分析表明,



A: 类GRSF1蛋白结构简图; B: GRSF1 qRRM结构域简图

图1 GRSF1蛋白二级结构简图

GRSF1 基因上游区域不存在典型的 TATA-box 或 CCAAT-box, 然而在假定的转录起始位点附近存在丰富的 GC 元件。此外, 在转录起始位点上游大约 200 bp 处, 有 NF- κ B (激活 B 细胞的核因子 κ 轻链增强子) 结合位点, 在上游 2 000 bp 处, 存在 TCF/LEF (T 细胞因子 / 淋巴增强因子) 的识别元件^[1]。NF- κ B 家族的转录因子参与多种基因的转录调控, TCF/LEF 是 Wnt 通路的效应因子, 在小鼠胚胎发育过程中已证明该通路依赖 GRSF1 的活性^[5], 然而, 两者对 GRSF1 表达的调控作用尚未被充分研究。

此外, 控制 GRSF1 表达的调节环路似乎更为复杂, GRSF1 转录后至少有四种不同的 isoforms (亚型, 异构体) 形成^[4], 其中亚型 1 和 2 占主导地位^[1]。Ufer 等^[13] 发现了一种与谷胱甘肽过氧化物酶 mRNA 相互作用的 GRSF1 亚型, 仅在其外显子 1 编码的 N 端序列上有所不同, 其余的下游外显子以经典的方式连接, 并产生三个 qRRM 和酸性区域。产生各种 GRSF1 亚型的机制尚不清楚, 可能与可变剪接或选择性转录起始有关。

有研究显示 GRSF1 mRNA 的翻译被 mTOR (mechanistic target of rapamycin) 通路上调^[1]。mTOR 激活引起 4E 结合蛋白磷酸化, 释放的结合底物 eIF4E (eukaryotic translation initiation factors, 真核翻译起始因子 4E) 能参与翻译复合体的识别, 在翻译启动过程中发挥作用^[14]。此外, 还有研究发现, 在单纯疱疹病毒 (herpes simplex virus, HSV) 感染细胞中, miRNA-101 可以通过作用 GRSF1 的 mRNA 3' UTR 来调控其表达^[12]。

3 GRSF1作用机制

3.1 GRSF1与RNA结合

GRSF1 最初被定位于细胞质, 被认为是一种细胞质 mRNA 结合蛋白^[4], 目前对 GRSF1-RNA 相互作用的分子机制知之甚少。Sofi 等^[15] 对 GRSF1 的不同区域进行突变实验, 结果发现: 三个 RNA 结合区域中的任何一个的缺失都会损害与 RNA 结合的亲和力, 表明这三个区域的同时存在对高亲和力的 RNA 结合至关重要; 缺失富 Ala 辅助结构域对 RNA 结合几乎没有影响; 酸性辅助结构域的缺失改善了 RNA 结合; 独立的 RNA 结合域没有表现出明显的 RNA 结合亲和性。因此认为, 三个 qRRMs 区域的相互协同作用对于高亲和力 RNA 结合是必需的。

GRSF1 同一家族中 hnRNP F 的结构已被阐明,

其 qRRMs 以独特的方式识别 RNA, 且位于环 1、3 和 5 以及 β 1 折叠中的带正电荷的氨基酸都与 RNA 结合有关^[16-17]。氨基酸比对发现人类 GRSF1 中负责 RNA 结合的氨基酸高度保守, 这表明 GRSF1 和 hnRNP F 具有相似的 RNA 结合机制^[18]。hnRNP F 结合 RNA 的机制包括核苷酸碱基与氨基酸残基之间的氢键连接以及核苷酸碱基与芳香氨基酸侧链之间的相互作用^[16-17]。Sofi 等^[18] 通过 GSH- 琼脂糖亲和层析和 RNA 电泳迁移率改变分析检测了自然突变中氨基酸变化对 GRSF1-RNA 结合能力的影响, 并人为创建了 GRSF1 突变体以作为衡量 GRSF1 功能的合适手段。结果表明, Gln155Arg、Thr162Ser (位于 qRRM1)、Tyr318Cys、Phe322Ser (位于 qRRM2) 和 Tyr468Cys (位于 qRRM3) 突变体的 RNA 结合特性存在缺陷。

利用荧光探针法检测蛋白质变化, 发现 GRSF1 点突变不会改变蛋白质的整体结构和热稳定性, 在不同的 qRRMs 中也没有引起显著的结构重排^[18-20]。这说明在几种自然发生的 GRSF1 突变体中观察到的 RNA 结合亲和力降低, 可能与整体蛋白结构的严重紊乱无关, 而是与特定蛋白-RNA 结合力更微妙的局部变化有关。包括 GRSF1 在内的 hnRNP F/H 蛋白的结合基序被描述为短 G-rich 六核苷酸或五核苷酸^[1]。然而, 已知细胞底物的数量太少, 无法对 GRSF1 RNA 底物的一般性质做出结论。因此, 需要做更多的工作来阐明细胞中 GRSF1 与 RNA 分子的复杂相互作用机制。

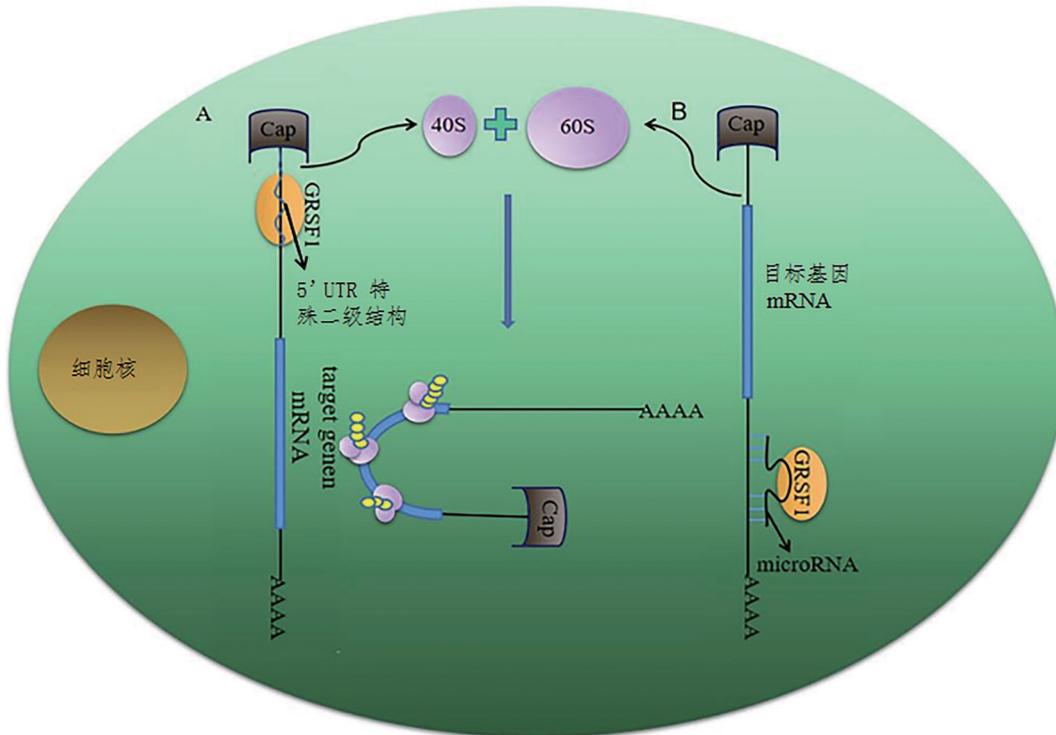
3.2 GRSF1参与翻译启动

含有 RRM 的蛋白涉及许多转录后事件, 如 mRNA 预处理、剪接、mRNA 稳定性、mRNA 输出和翻译调控^[21-22]。研究表明, GRSF1 可以和某些 mRNA 的 5' UTR (5' untranslated regions) 结合 (图 2A), 招募其到多聚核糖体上, 增强转录本翻译。已经证明的有流感病毒^[23]、谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathion peroxidase 4, Gpx4)^[13] 和 Use1^[24] 的 mRNA。这些 mRNA 的 5'UTR 均含有 G-rich 序列供 GRSF1 结合。在对流感病毒 NP (nucleoprotein, 核蛋白) 和 NS1 (流感病毒的一种非结构蛋白) 的研究中, Kash 等^[23] 发现, RRM2 主要负责与 NP 和 NS1 的 5' UTR mRNA 结合, RRM3 可能起到稳定二者结合的作用。

3.3 GRSF1在线粒体中作用机制

3.3.1 GRSF1是线粒体蛋白

GRSF1 也存在于线粒体中, 由核 DNA 编码,



A: GRSF1以不依赖miRNA的方式调控目标基因的表达; B: GRSF1以依赖miRNA的方式调控目标基因的表达

图2 GRSF1蛋白与目标基因mRNA相互作用预测图

在胞浆中翻译,可定位到线粒体^[25]。Antonicka等^[26]证实了GRSF1在线粒体上的定位。其可作为一种可溶性线粒体蛋白,定位于线粒体RNA颗粒,是线粒体翻译和组装所必需的。Bayona-Bafaluy等^[27]发现,GRSF1是线粒体氧化磷酸化所需的蛋白质。在GRSF1主要亚型1和2中,亚型1有线粒体定位信号,亚型2没有。Jourdain等^[28]在分析内源性GRSF1时发现,其定位于线粒体内。

3.3.2 GRSF1参与线粒体RNA转运

GRSF1是RNA结合蛋白家族的成员,参与了一些RNA的定位,并在线粒体动态RNA颗粒(mitochondrial dynamic RNA particles, Mrgs)中被检测到^[26]。一些线粒体长非编码RNA(long non-coding RNAs, lncRNAs)是由核DNA编码的^[29],在细胞质中合成,被导入线粒体^[30]。Noh等^[29]发现了两种与lncRNAs相关的RNA结合蛋白——HuR(human antigen R,人抗原R)和GRSF1。HuR在细胞核中结合RMRP(mitochondrial RNA-processing endoribonuclease,线粒体RNA-加工内切核糖核酸酶),lncRNAs可随着RMRP与HuR被导入线粒体。GRSF1结合RMRP,可影响lncRNAs的转运。

3.3.3 GRSF1参与线粒体RNA生成与降解

GRSF1有三个qRRM^[1],它们参与了转录后

RNA处理^[31]。Antonicka等^[26]发现,GRSF1是装载mRNAs、lncRNAs、核糖体的必要条件。Jourdain等^[28]发现,GRSF1缺失的成熟线粒体编码tRNA减少。另外,Pietras等^[32]发现GRSF1也能参与线粒体的降解。

3.3.4 GRSF1影响线粒体功能

GRSF1是维持线粒体内氧化磷酸化所必需的。Noh等^[29]发现,GRSF1确保了线粒体中复合物I和IV的活动,严格控制线粒体功能蛋白的产生,防止DNA损伤,维持氧化磷酸化活性。Antonicka等^[26]发现,GRSF1对线粒体核糖体的组装和稳态有影响,缺失GRSF1,核糖体蛋白尤其是大核糖体亚基稳态明显下降,小核糖体亚基不能正常聚集。Noh等^[25]发现,GRSF1的缺失可改变相关蛋白的表达程序,损害线粒体呼吸,提高衰老相关的 β -半乳糖苷酶活性,触发DNA损伤,增加活性氧水平,影响IL-6(interleukin 6,白细胞介素6)的分泌等。

3.4 GRSF1与蛋白质结合作用机制

除上述机制外,Dumoulin等^[33]发现COMMD1是GRSF1的结合蛋白,二者以独立于RNA的方式结合。COMM域(COMM domain, COMMD)蛋白是一种异质性蛋白家族,涉及多种不同的同工蛋白^[34],参与了多种细胞过程,如NF- κ B信号通路、钠转运、

HIF-1 信号、蛋白质转换、亚细胞定位和病毒感染。当 GRSF1 与 COMMD1 结合时, Ala-rich 域是重要而非必需的, 即使没有这个结构域, GRSF1 也可以与 COMMD1 结合, 但亲和力会降低^[33]。

Dumoulin 等^[33]应用 siRNA 技术下调 HepG2 细胞中 COMMD1 表达, 发现 GRSF1 与 COMMD1 的表达调控并不是直接耦联, 但 COMMD1-GRSF1 相互作用可能改变两个蛋白的功能特性。COMMD1 参与调控蛋白质的泛素化^[34], 但在 HepG2 细胞中 GRSF1 没有被泛素化, 推测 COMMD1 可能通过 GRSF1 与 E3 泛素连接酶的相互作用参与泛素化^[35]; 或者与 E3 泛素连接酶的结合蛋白 Cullin-2 相互作用, 引起蛋白酶体降解^[36]。此外, COMMD1 能参与调节细胞氧化还原稳态, 升高 COMMD1 导致 SOD1 活性受损和浓度升高^[37], 在敲除 GRSF1 的细胞系中超氧化物水平也升高^[38-39]。Dumoulin 等^[33]证明 GRSF1 能正向调控 SOD1, 但 COMMD1 与 GRSF1 之间的相互作用是否能调控 SOD1 的活性还有待进一步阐明。

4 GRSF1生物功能

目前有研究表明, GRSF1 参与了发育、细胞周期调控和凋亡等多种生理过程, 并与一些疾病发生相关。

4.1 GRSF1与发育

4.1.1 GRSF1与胚胎脑发育

已有研究表明, GRSF1 能上调 Gpx4 的表达, 而 Gpx4 与细胞的抗氧化防御、凋亡和基因表达调控等基本功能密切相关^[40]。Borchert 等^[41]发现, Gpx4 在胚胎脑中有特异性表达, 其缺失与小鼠在妊娠中期子宫内的死亡有关。Ufer 等^[13]发现, GRSF1 可与 Gpx4 mRNA 结合, 上调 Gpx4 mRNA 的翻译, 二者共表达, 在胚胎脑发育过程中起重要作用。敲除 GRSF1 可导致明显的生长迟缓, 胚胎的凋亡状态也会发生改变。过表达 Gpx4 后可抑制 GRSF1 缺陷导致的胚胎的凋亡, 并修复发育迟缓。

Lickert 等^[5]发现, GRSF1 是 Wnt/ β -catenin 信号 (与早期小鼠胚胎发育有关^[42]) 转导中的一种重要介质。GRSF1 在后轴伸长、中/后脑发育和中胚层轴形成中起关键作用, 并和 Fragilis2 编码跨膜蛋白, 调节上皮和近轴中胚层的形成有关。

4.1.2 GRSF1与成肌发育

已有研究表明, hnRNP F/H 家族成员能调控肌肉发育。如 hnRNP K (核不均一核糖核蛋白家族成

员) 被揭示在调控成肌细胞分化中有促进作用, hnRNP K 突变导致肌球蛋白重链 (myosin heavy chain, MHC) 在分化过程中显著降低, 也导致 MyoG 表达的抑制^[43]; AUF1 (又被称作 hnRNP D) 被发现能上调 MEF2C 的翻译 (MEF2C 属于肌细胞增强因子 2 家族一员, 是肌肉分化的关键调节因子), 沉默 AUF1 减缓肌生成, 恢复 MEF2C 的表达则解除抑制作用, 促进肌分化过程^[44]。与上述结果不同, 目前研究显示 GRSF1 对成肌细胞的分化过程起到负调控作用^[39], 在小鼠成肌细胞系 C2C12 中, GRSF1 的 mRNA 水平随分化进程开始而下降。敲除 GRSF1 后, C2C12 中成肌细胞的终末分化标志 MYH3 (myosin heavy chain 3, 肌球蛋白重链 3) 高表达, 过表达 GRSF1 则延迟了 MYH3 的转录和翻译, 且研究推测这种负调控是通过 GRSF1 靶向 Gpx4 的表达, 进而影响 mtROS 水平而实现^[45-46]。

4.2 GRSF1与衰老

细胞衰老与许多正常的生物过程有关, 主要包括端粒依赖的复制衰老和应激诱导的过早衰老^[47]。目前有研究表明 GRSF1 是一种与衰老相关的因子, 可以抑制细胞衰老^[25,48]。

Kim 等^[48]利用细胞衰老模型验证了 GRSF1 在衰老细胞中的表达下调。该团队认为 GRSF1 蛋白水平的下降是由于其表达受到了 DNA 甲基化的负调控, 通过测量幼龄和老年小鼠组织中的 GRSF1 mRNA 水平发现, 在骨骼肌、肝脏和心脏 4、18、32 月龄时, 随着年龄的增长, p21 水平逐渐升高 (p21 参与衰老诱导并作为衰老标志物); 与 18 个月相比, 32 个月时骨骼肌 GRSF1 mRNA 表达显著降低。但 Noh 等^[25]的实验表明, GRSF1 mRNA 在增殖和衰老 WI-38 细胞中都高度稳定, 因此认为是蛋白质稳定性降低导致 GRSF1 水平随衰老下降。

另外, 敲低 GRSF1 的人胚胎肺成纤维细胞 (WI-38 细胞) 模型表明, GRSF1 的缺失触发了与关键衰老特征相关的线粒体应激, 包括 DNA 损伤的增加和细胞分裂减少^[25]。多种成纤维细胞模型表明, GRSF1 敲低导致 SA- β -gal 阳性细胞增加, p21 和磷酸化 p53 水平增加, HMGB1 水平降低^[48]。这些结果暗示 GRSF1 在诱导细胞衰老的过程中发挥重要作用, 但其究竟是通过转录水平还是翻译水平的调控, 仍有待进一步验证。

4.3 GRSF1与肿瘤

众多研究表明 GRSF1 与肿瘤发生相关, 并有 miRNA 参与该过程 (图 2B)。Tang 团队在 HeLa 细

胞的 GRSF1 复合体中发现 618 个已知 miRNA 和新的 miRNA (命名为 miRNA-G), 其中令人关注的是 miR-346、miR-G-1 和 miR-G-10。该团队研究发现, GRSF1 介导 miR-346 依赖的 hTERT (Human telomerase reverse transcriptase, 人类端粒酶逆转录酶) 上调^[49]。GRSF1 结合于 miR-346 中间序列基序 (CCGCAU), 当 miR-346 与 hTERT 3' UTR 结合时会形成一个凸起的环, 促进 hTERT mRNA 被招募到核糖体中, 增强 hTERT 的表达, 进而加速宫颈癌细胞的生长^[49]。类似于 hTERT mRNA, GRSF1 与 AGO2 mRNA 以 miR-346 依赖的方式相互作用, 增加 AGO2 的表达, 从而参与调节其他 miRNAs 的活性, 促进 HeLa 细胞的迁移和侵袭^[50]。miR-G-1 以 GRSF1 依赖的方式上调 TMED5 和 LMNB1, 促进宫颈癌细胞的恶性行为和核自噬^[51]。与此类似, miR-G-10 通过 GRSF1 依赖的方式结合 PIK3R3 (磷脂酰肌醇 3-激酶调节亚基 γ) mRNA 3' UTR 激活其表达, 进而激活 PI3K/AKT/NF- κ B 通路, 促进 anikis 抵抗和宫颈癌细胞转移^[52]。此外, Wang 等^[53]证实 GRSF1 在胃癌中通过 PI3K/AKT 通路促进肿瘤发生和 EMT (epithelial-mesenchymal transition) 介导的转移。

hTERT 和 AGO2 的表达受到复杂的转录和转录后机制的调控。hTERT 在胚胎发生和大约 85% 的人类癌症中被激活^[54]; 在许多肿瘤中发生 AGO2 失调, 包括肺癌、前列腺癌、肝癌和黑色素瘤^[50]。TMED5 可激活 WNT-CTNNB1/ β -catenin 信号通路, WNT 蛋白在增殖、分化、迁移和程序性细胞死亡过程中发挥关键作用^[55]; LMNB1 参与了许多细胞生理活动, 包括 DNA 复制和转录、抗氧化应激、染色体分布、核和染色质组织、细胞周期调控、细胞发育和分化、核迁移和核自噬^[56-57]。PI3K/AKT 通路也参与了结肠癌细胞增殖。由此可见, GRSF1 在多种肿瘤的发生、发展过程中具有重要调节作用。

5 结语与展望

目前研究显示, GRSF1 广泛存在于细胞核、细胞质和线粒体中: 在细胞质中, 其与富含 poly(G) 序列的 RNA 结合, 在转录和转录后水平调控基因表达; 在线粒体中, 通过参与 RNA 的加工、转运和翻译影响着线粒体的功能, 为维持线粒体稳态发挥重要作用。

随着研究的不断深入, GRSF1 的多种生理功能不断被挖掘, 在发育过程中, 影响胚胎脑发育和成肌细胞分化; 在细胞及机体的衰老过程中, GRSF1

水平不断下降, 暗示其可能是重要的衰老调控因子; 在肿瘤中, GRSF1 与相关靶基因结合可以影响癌细胞的增殖、迁移和侵袭。因此, 深入探索其作用机制对于解读其生物功能具有重要价值。但是, 目前对 GRSF1 的相关研究尚显不足, 例如在细胞核中 GRSF1 的作用机制尚不清楚, 与 RNA 的相互作用尚有许多未知调控元件等。未来随着对 GRSF1 作用机制的不断发现, 对其生理功能的不断挖掘, 定会为基础生命科学与病理学研究打开新的大门。

[参 考 文 献]

- [1] Ufer C. The biology of the RNA binding protein guanine-rich sequence binding factor 1. *Curr Protein Pept Sci*, 2012, 13: 347-57
- [2] Xu C, Xie N, Su Y, et al. HnRNP F/H associate with hTERT and telomerase holoenzyme to modulate telomerase function and promote cell proliferation. *Cell Death Differ*, 2020, 27: 1998-2013
- [3] Wang E, Aslanzadeh V, Papa F, et al. Global profiling of alternative splicing events and gene expression regulated by hnRNPH/F. *PLoS One*, 2012, 7: e51266
- [4] Qian Z, Wilusz J. GRSF-1: a poly(A)+ mRNA binding protein which interacts with a conserved G-rich element. *Nucleic Acids Res*, 1994, 22: 2334-43
- [5] Lickert H, Cox B, Wehrle C, et al. Dissecting Wnt/ β -catenin signaling during gastrulation using RNA interference in mouse embryos. *Development*, 2005, 132: 2599-609
- [6] Markovtsov V, Nikolic JM, Goldman JA, et al. Cooperative assembly of an hnRNP complex induced by a tissue-specific homolog of polypyrimidine tract binding protein. *Mol Cell Biol*, 2000, 20: 7463-79
- [7] Honoré B, Baandrup U, Vorum H. Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins F and H/H' show differential expression in normal and selected cancer tissues. *Exp Cell Res*, 2004, 294: 199-209
- [8] Bedrat A, Lacroix L, Mergny JL. Re-evaluation of G-quadruplex propensity with G4Hunter. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44: 1746-59
- [9] Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome. *Science*, 2001, 291: 1304-51
- [10] Kielkopf CL, Lücke S, Green MR. U2AF homology motifs: protein recognition in the RRM world. *Genes Dev*, 2004, 18: 1513-26
- [11] Dominguez C, Allain FH. NMR structure of the three quasi RNA recognition motifs (qRRMs) of human hnRNP F and interaction studies with Bcl-x G-tract RNA: a novel mode of RNA recognition. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34: 3634-45
- [12] Dumoulin B, Ufer C, Kuhn H, et al. Expression regulation, protein chemistry and functional biology of the guanine-rich sequence binding factor 1 (GRSF1). *J Mol Biol*, 2021, 433: 166922
- [13] Ufer C, Wang CC, Fählung M, et al. Translational regulation of glutathione peroxidase 4 expression through

- guanine-rich sequence-binding factor 1 is essential for embryonic brain development. *Genes Dev*, 2008, 22: 1838-50
- [14] Kimball SR. Regulation of translation initiation by amino acids in eukaryotic cells. *Prog Mol Subcell Biol*, 2001, 26: 155-84
- [15] Sofi S, Stehling S, Niewianda A, et al. Functional characterization of isolated RNA-binding domains of the GRSF1 protein. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2018, 1862: 946-57
- [16] Samatanga B, Dominguez C, Jelesarov I, et al. The high kinetic stability of a G-quadruplex limits hnRNP F qRRM3 binding to G-tract RNA. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41: 2505-16
- [17] Dominguez C, Fisetite JF, Chabot B, et al. Structural basis of G-tract recognition and encaging by hnRNP F quasi-RRMs. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17: 853-61
- [18] Sofi S, Fitzgerald JC, Jahn D, et al. Functional characterization of naturally occurring genetic variations of the human guanine-rich RNA sequence binding factor 1 (GRSF1). *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2018, 1862: 866-76
- [19] Wang I, Hennig J, Jagtap PK, et al. Structure, dynamics and RNA binding of the multi-domain splicing factor TIA-1. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42: 5949-66
- [20] Díaz-Moreno I, Hollingworth D, Kelly G, et al. Orientation of the central domains of KSRP and its implications for the interaction with the RNA targets. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38: 5193-205
- [21] Birney E, Kumar S, Krainer AR. Analysis of the RNA-recognition motif and RS and RGG domains: conservation in metazoan pre-mRNA splicing factors. *Nucleic Acids Res*, 1993, 21: 5803-16
- [22] Xu HD, Ning BL, Mu F, et al. Advances of functional consequences and regulation mechanisms of alternative cleavage and polyadenylation. *Hereditas (Beijing)*, 2021, 43: 4-15
- [23] Kash JC, Cunningham DM, Smit MW, et al. Selective translation of eukaryotic mRNAs: functional molecular analysis of GRSF-1, a positive regulator of influenza virus protein synthesis. *J Virol*, 2002, 76: 10417-26
- [24] Nieradka A, Ufer C, Thiadens K, et al. Grsf1-induced translation of the SNARE protein Use1 is required for expansion of the erythroid compartment. *PLoS One*, 2014, 9: e104631
- [25] Noh JH, Kim KM, Idda ML, et al. GRSF1 suppresses cell senescence. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10: 1856-66
- [26] Antonicka H, Sasarman F, Nishimura T, et al. The mitochondrial RNA-binding protein GRSF1 localizes to RNA granules and is required for posttranscriptional mitochondrial gene expression. *Cell Metab*, 2013, 17: 386-98
- [27] Bayona-Bafaluy MP, Sánchez-Cabo F, Fernández-Silva P, et al. A genome-wide shRNA screen for new OxPhos related genes. *Mitochondrion*, 2011, 11: 467-75
- [28] Jourdain AA, Koppen M, Wydro M, et al. GRSF1 regulates RNA processing in mitochondrial RNA granules. *Cell Metab*, 2013, 17: 399-410
- [29] Noh JH, Kim KM, Abdelmohsen K, et al. HuR and GRSF1 modulate the nuclear export and mitochondrial localization of the lncRNA RMRP. *Genes Dev*, 2016, 30: 1224-39
- [30] Smirnov A, Entelis N, Martin RP, et al. Biological significance of 5S rRNA import into human mitochondria: role of ribosomal protein MRP-L18. *Genes Dev*, 2011, 25: 1289-305
- [31] White R, Gonsior C, Bauer NM, et al. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein (hnRNP) F is a novel component of oligodendroglial RNA transport granules contributing to regulation of myelin basic protein (MBP) synthesis. *J Biol Chem*, 2012, 287: 1742-54
- [32] Pietras Z, Wojcik MA, Borowski LS, et al. Dedicated surveillance mechanism controls G-quadruplex forming non-coding RNAs in human mitochondria. *Nat Commun*, 2018, 9: 2558
- [33] Dumoulin B, Ufer C, Stehling S, et al. Identification of the COMM-domain containing protein 1 as specific binding partner for the guanine-rich RNA sequence binding factor 1. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2020, 1864: 129678
- [34] Matera S, Cater MA, Klomp LW, et al. Clusterin and COMMD1 independently regulate degradation of the mammalian copper ATPases ATP7A and ATP7B. *J Biol Chem*, 2012, 287: 2485-99
- [35] Chang T, Ke Y, Ly K, et al. COMMD1 regulates the delta epithelial sodium channel (δ ENaC) through trafficking and ubiquitination. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 411: 506-11
- [36] Maine GN, Mao X, Komarck CM, et al. COMMD1 promotes the ubiquitination of NF- κ B subunits through a cullin-containing ubiquitin ligase. *EMBO J*, 2007, 26: 436-47
- [37] Vonk WI, Wijmenga C, Berger R, et al. Cu,Zn superoxide dismutase maturation and activity are regulated by COMMD1. *J Biol Chem*, 2010, 285: 28991-9000
- [38] Noh JH, Kim KM, Pandey PR, et al. Loss of RNA-binding protein GRSF1 activates mTOR to elicit a proinflammatory transcriptional program. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: 2472-86
- [39] Yin W, Yang L, Kong D, et al. Guanine-rich RNA binding protein GRSF1 inhibits myoblast differentiation through repressing mitochondrial ROS production. *Exp Cell Res*, 2019, 381: 139-49
- [40] Yang WS, SriRamaratnam R, Welsch ME, et al. Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell*, 2014, 156: 317-31
- [41] Borchert A, Wang CC, Ufer C, et al. The role of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase isoforms in murine embryogenesis. *J Biol Chem*, 2006, 281: 19655-64
- [42] Lu CC, Brennan J, Robertson EJ. From fertilization to gastrulation: axis formation in the mouse embryo. *Curr Opin Genet Dev*, 2001, 11: 384-92
- [43] Xu Y, Li R, Zhang K, et al. The multifunctional RNA-binding protein hnRNPK is critical for the proliferation

- and differentiation of myoblasts. *BMB Rep*, 2018, 51: 350-5
- [44] Panda AC, Abdelmohsen K, Yoon JH, et al. RNA-binding protein AUF1 promotes myogenesis by regulating MEF2C expression levels. *Mol Cell Biol*, 2014, 34: 3106-19
- [45] Kinowaki Y, Kurata M, Ishibashi S, et al. Glutathione peroxidase 4 overexpression inhibits ROS-induced cell death in diffuse large B-cell lymphoma. *Lab Invest*, 2018, 98: 609-19
- [46] Kim JH, Choi TG, Park S, et al. Mitochondrial ROS-derived PTEN oxidation activates PI3K pathway for mTOR-induced myogenic autophagy. *Cell Death Differ*, 2018, 25: 1921-37
- [47] Chi C, Li DJ, Jiang YJ, et al. Vascular smooth muscle cell senescence and age-related diseases: state of the art. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865: 1810-21
- [48] Kim SJ, Chun M, Wan J, et al. GRSF1 is an age-related regulator of senescence. *Sci Rep*, 2019, 9: 5546
- [49] Song G, Wang R, Guo J, et al. miR-346 and miR-138 competitively regulate hTERT in GRSF1- and AGO2-dependent manners, respectively. *Sci Rep*, 2015, 5: 15793
- [50] Guo J, Lv J, Liu M, et al. miR-346 up-regulates Argonaute 2 (AGO2) protein expression to augment the activity of other microRNAs (miRNAs) and contributes to cervical cancer cell malignancy. *J Biol Chem*, 2015, 290: 30342-50
- [51] Yang Z, Sun Q, Guo J, et al. GRSF1-mediated MIR-G-1 promotes malignant behavior and nuclear autophagy by directly upregulating TMED5 and LMNB1 in cervical cancer cells. *Autophagy*, 2019, 15: 668-5
- [52] Sun Q, Yang Z, Li P, et al. A novel miRNA identified in GRSF1 complex drives the metastasis via the PI3K3R/AKT/NF- κ B and TIMP3/MMP9 pathways in cervical cancer cells. *Cell Death Dis*, 2019, 10: 636
- [53] Wang B, Wang L, Lu Y, et al. GRSF1 promotes tumorigenesis and EMT-mediated metastasis through PI3K/AKT pathway in gastric cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 555: 61-6
- [54] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, 144: 646-74
- [55] Nusse R, Clevers H. Wnt/ β -catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities. *Cell*, 2017, 169: 985-99
- [56] van Kempen PM, van Bockel L, Braunius WW, et al. HPV-positive oropharyngeal squamous cell carcinoma is associated with TIMP3 and CADM1 promoter hypermethylation. *Cancer Med*, 2014, 3: 1185-96
- [57] Hydbring P, Wang Y, Fassel A, et al. Cell-cycle-targeting microRNAs as therapeutic tools against refractory cancers. *Cancer Cell*, 2017, 31: 576-90