

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.06.008

· 基础研究 ·

## TRAIL 通过降低 EGFR 的表达水平抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的侵袭

李秀萍<sup>1</sup>, 徐志伟<sup>1</sup>, 刘葆金<sup>1</sup>, 吴崇学<sup>1</sup>, 朱坤潮<sup>1</sup>, 谢亮<sup>1</sup>, 朱小峰<sup>1</sup>, 苏微微<sup>1</sup>, 李海甲<sup>1</sup>, 孟旭莉<sup>2</sup>(1. 桐乡市第一人民医院普外科, 浙江 桐乡 314500; 2. 浙江省立同德医院 乳腺外科, 浙江 杭州 311122)

**[摘要]** **目的:**探讨肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞侵袭能力的可能机制。**方法:**Western blotting、Real-time PCR 分别检测 rsTRAIL 处理对 MDA-MB-231 细胞内 EGFR、磷酸化转录因子 I $\kappa$ B $\alpha$ (p-I $\kappa$ B $\alpha$ )和 miR-146a 表达的影响。向 MDA-MB-231 细胞转染 miR-146a mimics、miR-146a inhibitor, Western blotting 检测 miR-146a 对 MDA-MB-231 细胞中 EGFR 表达水平的影响。Transwell 实验检测 rsTRAIL、miR-146a 和 EGFR 对 MDA-MB-231 细胞侵袭能力的影响。**结果:**20 ng/ml rsTRAIL 显著抑制 MDA-MB-231 细胞中 EGFR 的表达(6 h,  $t=4.35$ ,  $P<0.05$ ; 12 h,  $t=8.609$ ,  $P<0.01$ ; 24 h,  $t=10.84$ ,  $P<0.01$ ), 提高 p-I $\kappa$ B $\alpha$ (6 h,  $t=-4.201$ ,  $P<0.05$ ; 12 h,  $t=-15.805$ ,  $P<0.01$ ; 24 h,  $t=-35.921$ ,  $P<0.01$ )和 miR-146a 的表达水平(6 h,  $t=-4.67$ ,  $P<0.05$ ; 12 h,  $t=-11.635$ ,  $P<0.01$ ; 24 h,  $t=-15.8$ ,  $P<0.01$ ), 并且呈时间依赖性。在 MDA-MB-231 细胞中转染 miR-146a mimics 显著抑制 EGFR 的表达( $t=6.25$ ,  $P<0.01$ ); 反之, 转染 miR-146a inhibitor 则促进细胞内 EGFR 的表达( $t=-3.674$ ,  $P<0.05$ )。rsTRAIL 处理( $t=7.108$ ,  $P<0.01$ )、转染 miR-146a mimics 或 siEGFR( $t=6.051$ ,  $P<0.01$ ;  $t=5.245$ ,  $P<0.01$ )均导致细胞的侵袭能力显著下降。**结论:**rsTRAIL 通过特异性增加 miR-146a 的表达水平靶向降低 EGFR 的表达从而抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的侵袭能力。

**[关键词]** 乳腺癌; 肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体; miR-146a; 表皮生长因子受体

**[中图分类号]** R737.9; R730.54

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2015)06-0724-05

## TRAIL suppresses the invasion capability of human breast cancer MDA-MB-231 cells through reducing EGFR expression

Li Xiuping<sup>1</sup>, Xu Zhiwei<sup>1</sup>, Liu Baojin<sup>1</sup>, Wu Chongxue<sup>1</sup>, Zhu Kunchao<sup>1</sup>, Xie Liang<sup>1</sup>, Zhu Xiaofeng<sup>1</sup>, Su Weiwei<sup>1</sup>, Li Haijia<sup>1</sup>, Meng Xuli<sup>2</sup>(1. Department of General Surgery, the First People's Hospital, Tongxiang 314500, Zhejiang, China; 2. Department of Breast Surgery, Tongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 311122, Zhejiang, China)

**[Abstract]** **Objective:**To investigate the potential mechanism by which tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) inhibits the invasion capability of breast cancer MDA-MB-231 cells. **Methods:**After treating MDA-MB-231 cells with rsTRAIL, the expression of EGFR and p-I $\kappa$ B $\alpha$  were examined by immunoblotting, and the level of miR-146 was measured by real-time quantitative PCR. Immunoblotting was also used to detect the effect of miR-146a on EGFR expression. Transwell assay was carried out to assess the effects of rsTRAIL, miR-146a and EGFR on the invasion ability of MDA-MB-231 cells. **Results:** In MDA-MB-231 cells treated for 6, 12, and 24 hours, rsTRAIL (20 ng/ml) significantly suppressed the expression of EGFR (6 h,  $t=4.35$ ,  $P<0.05$ ; 12 h,  $t=8.609$ ,  $P<0.01$ ; 24 h,  $t=10.84$ ,  $P<0.01$ ), increased the level of the phosphorylated I $\kappa$ B $\alpha$  (6 h,  $t=-4.201$ ,  $P<0.05$ ; 12 h,  $t=-15.805$ ,  $P<0.01$ ; 24 h,  $t=-35.921$ ,  $P<0.01$ ), and upregulated the expression of miR-146a (6 h,  $t=-4.67$ ,  $P<0.05$ ; 12 h,  $t=-11.635$ ,  $P<0.01$ ; 24 h,  $t=-15.8$ ,  $P<0.01$ ), and on time dependent. Compared with that in control cells, the level of EGFR ( $t=6.25$ ,  $P<0.01$ ) was significantly decreased in MDA-MB-231 cells transfected with miR-146a mimics, whereas in the same cells transfected with miR-146 inhibitor the expression of EGFR promoted ( $t=-3.674$ ,  $P<0.05$ ). Furthermore, transfection with rsTRAIL, as well as transfection with miR-146a mimics or siEGFR all dramatically decreased the invasion ability of MDA-MB-231 cells ( $t=7.108$ ,  $P<0.01$ ;  $t=6.051$ ,  $P<0.01$ ;  $t=5.245$ ,  $P<0.01$ )

**[作者简介]** 李秀萍(1977-),女,黑龙江省密云市人,主要从事乳腺肿瘤方面的研究,E-mail:xiuxiutx@163.com

**[通信作者]** 孟旭莉(Meng Xuli, corresponding author),E-mail:13516835772@163.com

respectively). **Conclusion:** rsTRAIL specifically suppresses EGFR-dependent invasion capability of human breast cancer through inducing increased expression of miR-146a.

[ **Key words** ] breast cancer; tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand( TRAIL ); miR-146a; EGFR

[ Chin J Cancer Biother, 2015, 22( 6 ): 724-628 ]

肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体( tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL/Apo2 L )是肿瘤坏死因子( tumor necrosis factor, TNF )家族成员之一<sup>[1]</sup>, 通过结合 TRAIL-R1 或 TRAIL-R2( 又称 DR4 或 DR5 )影响多种肿瘤细胞如结肠癌和乳腺癌细胞的生物学行为, 包括诱导凋亡<sup>[2-4]</sup>和抑制转移和侵袭能力。目前对 TRAIL 抑制肿瘤细胞侵袭能力的分子机制研究还不十分深入。表皮生长因子受体( epithelial growth factor receptor, EGFR )是肿瘤血管生长的促进因子, 与肿瘤的发生和转移密切相关<sup>[5]</sup>。EGFR 在多种肿瘤细胞中表达增加, 而 miR-146a 能够靶向下调 EGFR 的表达<sup>[6-7]</sup>, 并抑制肿瘤细胞转移侵袭能力。TRAIL 能否通过影响 miR-146a 的表达水平而调控 EGFR 的表达目前还没有报道, 本研究以乳腺癌 MDA-MB-231 细胞为研究对象, 从 miRNA 的角度探讨 TRAIL 对 EGFR 表达的调控机制, 为 TRAIL 在临床抗肿瘤治疗中的应用提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

乳腺癌 MDA-MB-231 细胞由本实验室保存, 在含有 10% 小牛血清的 DMEM 培养基及 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养。EGFR 的 siRNA( siEGFR )、过表达 miR-146a 的 miR-146a mimics 和抑制表达的 miR-146a inhibitor 以及对照小 RNA 分子( negative control, NC )和 Ctrl( control ) inhibitor 均由 Life Technologies 公司合成。干粉 siRNA 用 DEPC 水稀释成 20 μmol/L 浓度, -20 °C 保存。转染试剂 INTERFERin<sup>®</sup> 购自 Polyplus-transfection SA 公司, 抗 EGFR 和抗 p-IκBα 抗体购自 CST 公司, TRIzol 购自 Ambion 公司, 重组人可溶性 TRAIL( recombinant soluble TRAIL, rsTRAIL )购自美国 PeproTech 公司。实时荧光定量 PCR 使用 ABI 公司 Taqman miRNA 分析系统。Transwell 小室购自美国 Corning Costar 公司。

### 1.2 Western blotting 检测 rsTRAIL 对 MDA-MB-231 细胞内 EGFR、p-IκBα 表达的影响

取对数生长期的 MDA-MB-231 细胞, 按 5 × 10<sup>5</sup>/ml 接种于 12 孔板, 加入浓度为 20 ng/ml 的 rsTRAIL, 培养 6、12、24 h 后, 提取细胞总蛋白, BCA

方法检测蛋白质浓度。每种样品取等量蛋白质经 10% SDS-PAGE, 转膜, 封闭, 分别与一抗和二抗孵育。使用 ECL 显影成像。运用 ImageJ 软件进行条带灰度值分析, 计算各蛋白质条带吸光度与相应内参吸光度的比值, 代表目的蛋白的相对表达量。实验重复 3 次。

### 1.3 Real-time PCR 检测 rsTRAIL 对 MDA-MB-231 细胞内 miR-146a 表达的影响

取对数生长期的 MDA-MB-231 细胞, 按 5 × 10<sup>5</sup>/ml 接种于 12 孔板, 加入浓度为 20 ng/ml 的 rsTRAIL, 分别培养 6 h, 12 h 和 24 h 后, TRIzol 法抽提细胞总 RNA, 利用 Taqman miRNA 分析系统检测 miRNA 表达水平, 以 U6 作为参照。miR-146a 和 U6 的 PCR 探针合成于美国 ABI 公司。每组均设 3 个重复孔, PCR 反应条件参照 Taqman miRNA 试剂盒说明书, 应用 Roche Lightcycler 2.0 仪器检测。以 2<sup>-ΔΔCt</sup> 表示 miRNA 的相对表达水平。

### 1.4 Western blotting 检测 miR-146a 对 MDA-MB-231 细胞内 EGFR 表达的影响

取对数生长期的 MDA-MB-231 细胞, 按 1 × 10<sup>5</sup>/ml 接种于 12 孔板。贴壁过夜后, 按照 INTERFERin<sup>®</sup> 使用手册转染 miR-146a mimics 和 miR-146a inhibitor, 分别以 NC 或 Ctrl inhibitor 为对照。取转染 48 h 后的 MDA-MB-231 细胞, Western blotting 检测各组细胞内 EGFR 的表达, 方法同 1.2。

### 1.5 Transwell 迁移实验检测转染小 RNA 对 MDA-MB-231 细胞的侵袭能力的影响

MDA-MB-231 细胞分为 4 组: 两组转染 NC、一组转染 siEGFR、一组转染 miR-146a mimics。转染 48 h 后, 各组细胞胰酶消化, 制成 2.5 × 10<sup>5</sup>/ml 细胞悬液, 取 100 μl 加入到 8 nm 滤膜的 Transwell 小室上层, 其中一组转染 NC 的细胞培养基中加入 rsTRAIL。Transwell 小室下层加入 1 ml 含 10% FBS 的高糖 DMEM 培养基。37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养 18 h 后取出小室, PBS 漂洗 2 次, 4% 多聚甲醛溶液固定 15 min, 苏木精染色 15 min, 置于显微镜下拍照, 计数每张滤膜 10 处视野下的细胞数量, 取其平均值表示肿瘤细胞的侵袭能力。

### 1.6 统计学处理

采用 SPSS15.0 软件进行数据统计, 结果以  $\bar{x} \pm s$

表示,组间数据资料对比采用 *t* 值检验,以  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 rsTRAIL 抑制 MDA-MB-231 细胞中 EGFR 表达、提高 IκBα 磷酸化水平

Western blotting 检测结果显示,20 ng/ml 的 rsTRAIL 刺激 6 h 后,EGFR 的表达量显著下降( $t =$

4.35,  $P < 0.05$ ),12 h 和 24 h 的表达量下降更明显(12 h,  $t = 8.609$ ,  $P < 0.01$ ; 24 h,  $t = 10.84$ ,  $P < 0.01$ ) (图 1 A、B)。而转录因子 IκBα 的磷酸化(p-IκBα)水平随 rsTRAIL 处理时间的延长而显著增加(6 h,  $t = -4.201$ ,  $P < 0.05$ ; 12 h,  $t = -15.805$ ,  $P < 0.01$ ; 24 h,  $t = -35.921$ ,  $P < 0.01$ ) (图 1 A、C)。

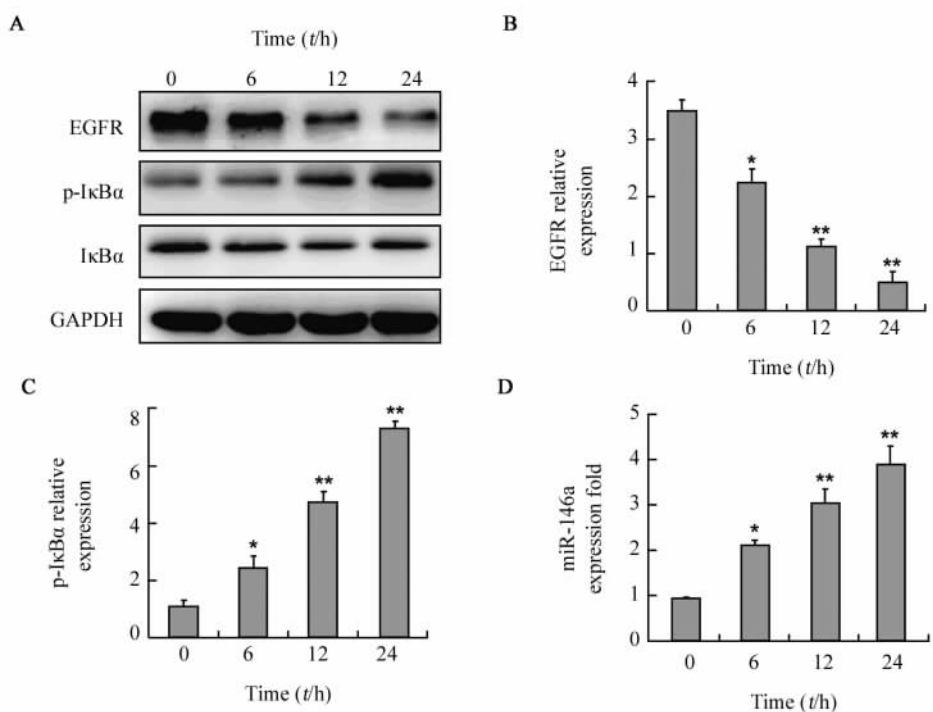


图 1 TRAIL 对 MDA-MB-231 细胞中 EGFR、NF-κB 和 miR-146a 表达水平的影响

Fig. 1 Effects of TRAIL on expression of EGFR, NF-κB and miR-146a in MDA-MB-231 cells

A: Western blotting; B, C: Relative expression level; D: Q-PCR assay;

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs untreated cells (0 h group)

### 2.2 rsTRAIL 提高 MDA-MB-231 细胞中 miR-146a 的表达水平

Real-time PCR 检测结果(图 1D)显示,rsTRAIL 处理 MDA-MB-231 细胞后,miR-146a 的水平显著增加(6 h,  $t = -4.67$ ,  $P < 0.05$ ; 12 h,  $t = -11.635$ ,  $P < 0.01$ ; 24 h,  $t = -15.8$ ,  $P < 0.01$ ),呈时间依赖性变化。

### 2.3 miR-146a 降低 MDA-MB-231 细胞中 EGFR 的表达水平

与对照 RNA 相比,miR-146a mimics 在乳腺癌细胞中能够降低 EGFR 水平,相对表达值从  $1.0 \pm 0.2$  下降到  $0.2 \pm 0.2$  ( $t = 6.25$ ,  $P < 0.01$ ),而 miR-146a inhibitor 的结果与之相反,相对表达值从  $0.4 \pm$

$0.1$  增加到  $0.7 \pm 0.1$  ( $t = -3.674$ ,  $P < 0.05$ ) (图 2)。该结果表明,miR-146a 能够在 MDA-MB-231 细胞中抑制 EGFR 的表达。

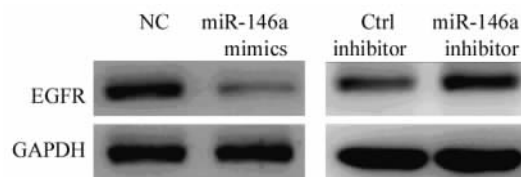


图 2 miR-146a 调控 MDA-MB-231 细胞中 EGFR 的表达水平

Fig. 2 Expression of EGFR in MDA-MB-231 cells regulated by miR-146a

## 2.4 rsTRAIL 处理及 miR-146a、EGFR 的表达变化均影响 MDA-MB-231 细胞的侵袭能力

Transwell 实验结果(图3)显示,与对照组相比,经 rsTRAIL 处理后 MDA-MB-231 细胞穿过滤膜的数量显著减少( $t = 7.108, P < 0.01$ ),而转染 miR-146a mimics( $t = 6.051, P < 0.01$ )或 siEGFR( $t = 5.245, P < 0.01$ )组的细胞侵袭能力均显著下降。

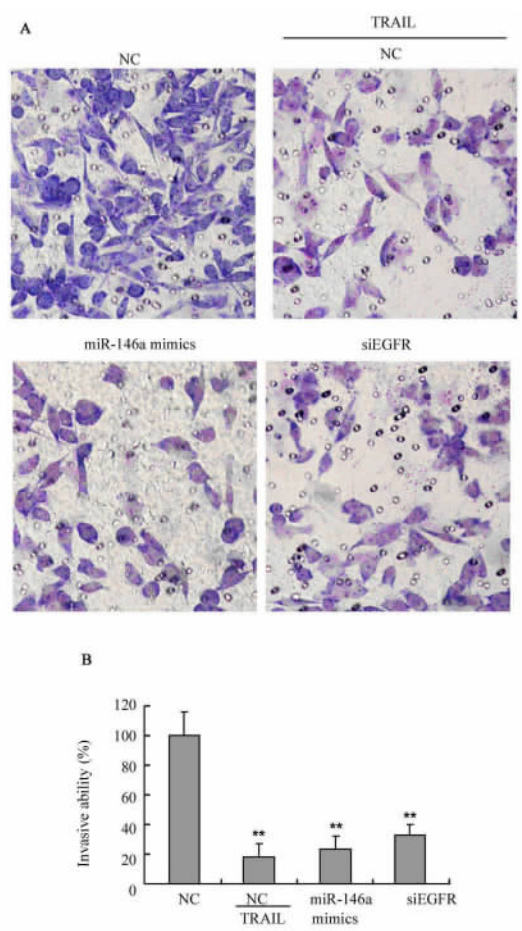


图3 rsTRAIL 处理,或转染 miR-146a mimics 或 siEGFR 对 MDA-MB-231 细胞侵袭能力的影响(×200)

Fig. 3 Effects of the treatment with rsTRAIL, or transfection of miR-146a mimics or siEGFR on invasive ability of MDA-MB-231(×200)

A:Transwell assay;B:The quantified migration of cells

\*\*  $P < 0.01$  vs NC group

## 3 讨论

EGFR 对乳腺癌的发生、发展和转移均起着重要的促进作用,其表达水平高低可作为临床预后评估和治疗效果评价的客观指标。TRAIL 对肿瘤细胞具有选择性的细胞毒作用,具有良好的临床应用前

景<sup>[8]</sup>。最近的研究<sup>[9-10]</sup>发现,TRAIL 除能够诱导肿瘤细胞凋亡外,还能够显著抑制乳腺癌细胞的迁移和侵袭。本研究在 TRAIL 敏感的乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中发现,TRAIL 能够显著抑制 EGFR 的蛋白质表达水平,同时也能够增加 NF- $\kappa$ B 依赖的 miR-146a 的表达水平。有研究<sup>[6, 11]</sup>发现 miR-146a 能够靶向调控肿瘤细胞中 EGFR 的表达。本研究证实,TRAIL 通过诱导 miR-146a 的表达而特异性地降低 EGFR 的表达水平,从而抑制了乳腺癌细胞的侵袭。

尽管 MDA-MB-231 细胞是 TRAIL 敏感细胞,但较高浓度的 TRAIL 处理细胞后仍然有 20% 的细胞存活,而这些存活的肿瘤细胞的迁移能力明显受到抑制<sup>[9]</sup>。最近有报道<sup>[12-13]</sup>发现,TRAIL 能够通过增加 miR-146a 水平而抑制肿瘤细胞的关键转移分子-CXCR4 的表达。该 TRAIL-miR-146a-CXCR4 分子轴可能是 TRAIL 具有抑制肿瘤细胞侵袭能力的主要机制。NF- $\kappa$ B 是 miR-146a 启动子区的关键转录因子<sup>[14]</sup>,TRAIL 能够通过激活 NF- $\kappa$ B 活性而增强 miR-146a 的表达<sup>[9]</sup>。有报道证实,miR-146a 抑制肿瘤细胞侵袭除靶向调控 CXCR4 外,还能够特异性靶向 EGFR 的 3' UTR 区而调控 EGFR 的表达水平<sup>[6-7, 11]</sup>。但 TRAIL 是否能够通过增强 miR-146a 的表达而抑制 EGFR 的表达还没有报道。在本研究中,TRAIL 能够显著抑制 MDA-MB-231 细胞中 EGFR 的表达,而 miR-146a 也能够显著抑制 EGFR 的表达。该 TRAIL-miR-146a-EGFR 分子轴提示,TRAIL 影响肿瘤细胞生物学活性的机制较为复杂,既能够直接参与基因表达的调控<sup>[15-16]</sup>,还能够通过特异性调节 miRNA 的表达而间接调控某些基因的表达。

本研究证实,TRAIL 通过降低 EGFR 的表达而抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的迁移能力。乳腺癌 MDA-MB-231 细胞是 TRAIL 敏感的细胞株,TRAIL 处理后少量残存的肿瘤细胞迁移能力也明显受到了抑制,为临床上 TRAIL 的抗肿瘤治疗提供了依据,拓宽了视野。

## [参考文献]

- [1] Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, et al. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis [J]. Immunity, 1995, 3(6): 673-682.
- [2] Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan AM, et al. The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL [J]. Science, 1997, 276(5309): 111-113.
- [3] Sheridan JP, Marsters SA, Pitti RM, et al. Control of TRAIL-induced apoptosis by a family of signaling and decoy receptors [J].

- Science, 1997, 277( 5327 ): 818-821.
- [ 4 ] Suliman A, Lam A, Datta R, et al. Intracellular mechanisms of TRAIL: apoptosis through mitochondrial-dependent and -independent pathways [ J ]. *Oncogene*, 2001, 20( 17 ): 2122-2133.
- [ 5 ] He K, Gao JL. Protopine inhibits heterotypic cell adhesion in MDA-MB-231 cells through down-regulation of multi-adhesive factors [ J ]. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2014, 11( 2 ): 415-424.
- [ 6 ] Li Y, Vandenboom TG, Wang Z, et al. Up-regulation of miR-146a contributes to the inhibition of invasion of pancreatic cancer cells [ J ]. *Cancer Res*, 2010, 70( Suppl 8 ): 5703.
- [ 7 ] Li Y, Vandenboom TG, Wang Z, et al. miR-146a suppresses invasion of pancreatic cancer cells [ J ]. *Cancer Res*, 2010, 70( 4 ): 1486-1495.
- [ 8 ] Smyth MJ, Takeda K, Hayakawa Y, et al. Nature's TRAIL-on a path to cancer immunotherapy [ J ]. *Immunity*, 2003, 18( 1 ): 1-6.
- [ 9 ] Wang D, Liu D, Gao J, et al. TRAIL-induced miR-146a expression suppresses CXCR4-mediated human breast cancer migration [ J ]. *FEBS J*, 2013, 280( 14 ): 3340-3353.
- [ 10 ] Azijli K, Yuvaraj S, Peppelenbosch MP, et al. Kinome profiling of non-canonical TRAIL signaling reveals RIP1-Src-STAT3-dependent invasion in resistant non-small cell lung cancer cells [ J ]. *J Cell Sci*, 2012, 125( Pt 19 ): 4651-4661.
- [ 11 ] Hurst DR, Edmonds MD, Scott GK, et al. Breast cancer metastasis suppressor 1 up-regulates miR-146, which suppresses breast cancer metastasis [ J ]. *Cancer Res*, 2009, 69( 4 ): 1279-1283.
- [ 12 ] Burger JA, Kipps TJ. CXCR4: a key receptor in the crosstalk between tumor cells and their microenvironment [ J ]. *Blood*, 2006, 107( 5 ): 1761-1767.
- [ 13 ] Ehtesham M, Winston JA, Kabos P, et al. CXCR4 expression mediates glioma cell invasiveness [ J ]. *Oncogene*, 2006, 25( 19 ): 2801-2806.
- [ 14 ] Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, et al. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses [ J ]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103( 33 ): 12481-12486.
- [ 15 ] Liu N, Chen T, Wang X, et al. Msi1 confers resistance to TRAIL by activating ERK in liver cancer cells [ J ]. *FEBS Lett*, 2015, 589( 8 ): 897-903.
- [ 16 ] Matte I, Lane D, Boivin M, et al. MUC16 mucin ( CA125 ) attenuates TRAIL-induced apoptosis by decreasing TRAIL receptor R2 expression and increasing c-FLIP expression [ J ]. *BMC Cancer*, 2014, 14:234.
- [ 收稿日期 ] 2015 - 07 - 30 [ 修回日期 ] 2015 - 11 - 12  
[ 本文编辑 ] 党瑞山

· 科技动态 ·

## 拟南芥细胞核中 RNA-蛋白相互作用与 RNA 二级结构呈负相关关系

真核细胞中,转录后调控需要顺式作用元件和反式作用因子共同发挥作用,而其中 RNA 的二级结构以及 RNA-蛋白相互作用直接影响了 RNA 在转录后的被调控以及 RNA 行使功能。因此,研究任何物种中 RNA 的二级结构以及 RNA-蛋白相互作用,并探究这两者之间的联系具有重要的科学意义,但目前尚无相关文献报道这两者之间的关系。

该文作者利用了可以分别特异性识别并降解单链 RNA、双链 RNA 的 RNA 酶,对拟南芥的胞核 RNA 进行蛋白结合 RNA 图谱分析( protein interaction profile sequencing, PIP-seq )。首先分析了 RNA 上的蛋白结合位点( protein-protected sites, PPS )的保守性,发现在外显子/内含子区 PPS 保守性显著高于其两翼未结合蛋白的序列,暗示了 PPS 生物学功能上的重要性。然后分析了 PPS 在基因上的分布,绝大部分 PPS 分布在核内的 mRNA 上,其中,编码序列( coding sequence, CDS )分布最多,内含子次之。

研究重点揭示了 RNA 二级结构与 RNA 结合蛋白( RNA-binding protein, RBP )结合呈负相关关系。无论是 RNA 的起始密码子、终止密码子、内含子区以及上游开放读码框区,蛋白结合与二级结构均呈负相关关系,即 RNA 二级结构越显著的序列片段与 RBP 结合越少。另外,作者还发现可以利用 PIP-seq 预测核内 mRNA 的加工剪接方式以及多聚腺苷酸化的方式。最后,作者根据 PPS 预测了一系列蛋白结合基序,并利用其进行 RNA 亲和色谱-质谱检测发现,主要定位于叶绿体的 RBP CP29A 也可以于胞核内与 RNA 相互作用。

总之,该研究首次对真核细胞核中 RNA-蛋白相互作用与 RNA 二级结构的关系进行了分析,并揭示了真核细胞中 RNA 二级结构与 RBP 结合的负相关关系,该成果对真核细胞中 RNA 的作用机制研究具有重要指导意义。

[ 徐俊芳 摘译,王品 审阅. Gosai SJ, Foley SW, Wang D, et al. *Mol Cell*, 2015, 57( 2 ): 376-388. ]