

• 综 述 •

脆性 X 智力低下基因: 分子遗传学和生物化学研究

沈 岩

(中国医学科学院-中国协和医科大学基础医学研究所生化及分子生物学研究室,
医学分子生物学国家重点实验室, 北京 100005)

FMR1 in Fragile X Syndrome: Molecular Genetics and Biochemistry

SHEN Yan

(National Laboratory of Medical Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences,
Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100005)

脆性 X 综合征是最常见的遗传性智力低下疾病。该病是由于脆性 X 智力低下基因 (*FMR1*) 功能丧失所致。*FMR1* 基因位于 X 染色体长臂末端, 由 17 个外显子组成, 覆盖约 38 kb, 转录方向从着丝粒到端粒 (GenBank L29074)。分子遗传学研究和突变分析显示, 脆性 X 综合征最主要的致病突变为 *FMR1* 基因 5' 非翻译区中一段不稳定的三核苷酸重复序列 (CGG)_n 扩增。正常人群中该三核苷酸重复序列的拷贝数在 6~50 之间, 最常见的是 29~30 拷贝; 携带者群体中该 (CGG)_n 拷贝数在 60~200 之间; 脆性 X 综合征患者 *FMR1* 基因中该 (CGG)_n 扩增的拷贝数大于 200~230, 同时伴随其周围 DNA 序列的异常甲基化, 并抑制 *FMR1* 基因表达^(1,2)。

FMR1 基因在脊椎动物的进化过程中高度保守, 其小鼠⁽³⁾、大鼠⁽⁴⁾、鸡⁽⁵⁾ 和非洲爪蟾⁽⁶⁾ 同源基因的保守性甚至高于 G6PD 或 α 珠蛋白等具有重要生化功能的蛋白质。*FMR1* 及其后发现的脆性 X 相关基因 1 (*FXR1*) 与脆性 X 相关基因 2 (*FXR2*) 共同构成一个新的、独立的基因家族⁽⁷⁾。*FMR1* 基因的第 12 和 14 外显子可被选择剪接, 其第 15 和 17 外显子分别存在多个选择剪接受位信号^(3,8,9)。由于选择剪接的存在, 使 *FMR1* 基因编码一组不同长度的蛋白质异构体。最长的肽链由 623 个氨基酸残基组成。单克隆抗体可检测到一组分子量在 70~80 kDa 范围的 *FMR1* 蛋白 (FMRP)^(10,11)。

FMRP 在胚胎和成人的多种组织表达, 但在神经元, 特别是海马、小脑的颗粒层, 以及精原细胞特异性高表达^(10,12~16)。FMRP 主要定位于细胞浆, 也偶见于细胞核中^(10,15)。FMRP 含有 RNA 结合蛋白结构域 (2 个 KH 结构域和 1 个 RGG 盒)。体外实验显示 FMRP 可与 RNA 多聚物及部分 mRNA 结合^(17,18), 并发现 FMRP 与核糖体结合⁽⁹⁾。

免疫荧光分析显示, 缺少 14 外显子编码肽段的 FMRP 异构体转化 COS 细胞后定位于细胞核⁽²⁰⁾。提示 *FMR1* 基因 14 外显子编码区含有蛋白质出核信号 (NES)。进一步的氨基酸定点突变证实 FMRP14 外显子中 3 个亮氨酸残基对于 FMRP 的胞浆定位至关重要。研究还显示 FMRP115 至 150 残基富含碱性氨基酸, 并具有核定位信号 (NLS)⁽²¹⁾。提示 FMRP 的细胞生物学功能与穿梭细胞核有关。可能参与 mRNA 从细胞核到胞浆的转运及翻译的调控。

酵母双杂交体系研究发现 FMRP 与 FXR1 和 FXR2 相互作用。这 3 种蛋白质可形成同源或异源蛋白质二聚体⁽⁷⁾。用 *FMR1* 基因第 12、14 和 15 外显子选择剪接产生的 6 种 FMRP 天然异构体与 FXR1 相互作用, 发现相互作用强度与各异构体羧基末端亲水区的长度负相关。C 端亲水区长度越短的 FMRP 异构体与 FXR1 相互作用越强⁽²²⁾。酵母双杂交系统还发现 FMRP 与泛素转运酶 (UBC9) 和 T/G 碱基错配 DNA 糖苷酶 (TDG)

同源基因的表达产物相互作用^[23]。

FMRP 氨基端 1~114 残基在进化过程中非常保守, 与 FXR1 和 FXR2 也高度同源。仅含 FMRP 氨基端这 114 个氨基酸残基的突变体高度集中于细胞核内。提示该肽段与细胞核内的某些成分相互作用。采用酵母双杂交系统筛选, 并经 GST-pull down 实验证实, 该区域与一个具有 C2H2 锌指结构, 并在海马浦肯野细胞核内表达的未知功能新基因的蛋白质产物相互作用。FMRP 相互作用蛋白及其相互作用意义的深入研究, 将有助于进一步揭示 *FMR1* 基因功能及脆性 X 综合症的发病机制。

参 考 文 献

- 1 Fu Y H *et al.* Variation of the CGG repeat at the fragile X site results in genetic instability: resolution of the Sherman paradox. *Cell*, 1991, 67: 1047~1058
- 2 傅四东等. 脆性 X 综合征中不稳定的 DNA 序列和异常甲基化的研究. *中华医学杂志*, 1994, 74: 611~614
- 3 Ashley C *et al.* Human and murine *FMR1*: alternative splicing and translational initiation downstream of the CGG-repeats. *Nature Genetics*, 1993, 4: 244~251
- 4 季 红等. 大鼠 *FMR1* 同源基因 cDNA 的克隆、测序与选择剪接的初步分析. *生物化学杂志*, 1997, 13: 631~636
- 5 Price D K *et al.* The chicken *FMR1* gene is highly conserved with a CCT 5' untranslated repeat and encodes an RNA-binding protein. *Genomics*, 1996, 31: 3~12
- 6 Siomi M C *et al.* FXR1, an autosomal homolog of the fragile X mental retardation gene. *EMBO J*, 1995, 14: 2401~2408
- 7 Zhang Y *et al.* The fragile X mental retardation syndrome protein interacts with novel homologs FXR1 and FXR2. *EMBO J*, 1995, 14: 5358~5366
- 8 Verkerk A *et al.* Alternative splicing in the fragile X gene *FMR1*. *Hum Mol Genet*, 1993, 2: 399~404
- 9 黄 涛等. *FMR1* 基因选择剪接表达的研究. 中国医学科学院中国协和医科大学科研处主编. 中国医学科学院中国协和医科大学科学年会学术论文集. 北京: 中国医学科学院中国协和医科大学联合出版社, 1996. 147~150
- 10 Devys D *et al.* The *FMR-1* protein is cytoplasmic, most abundant involved in antigen processing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, 89(9): 3932~3936
- 11 Verheij C *et al.* Characterization and localization of the *FMR1* gene product associated with fragile X syndrome. *Nature*, 1993, 363: 722~724
- 12 Hinds HL *et al.* Tissue specific expression of *FMR-1* provides evidence for a functional role in fragile X syndrome. *Nature Genetics*, 1993, 3: 36~43
- 13 Abitbol M *et al.* Nucleus basalis magnocellularis and hippocampus are the major sites of *FMR-1* expression in the human fetal brain. *Nature Genetics*, 1993, 4: 147~153
- 14 Bachner D *et al.* Enhanced *Fmr-1* expression in testis. *Nature Genetics*, 1993, 4: 115~116
- 15 Verheij C *et al.* Characterization of the *FMR1* proteins isolated from different tissues. *Hum. Mol. Genetics*, 1995, 4: 895~901
- 16 丁剑涛等. *FMR1* 基因在人胚胎组织中的选择剪接表达. *中国医学科学院学报*, 1997, 19: 241~246
- 17 Ashley C *et al.* *FMR1* protein: Conserved RNP family domains and selective RNA binding. *Sciences*, 1993, 262: 563~566
- 18 Siomi H *et al.* The protein products of the fragile X gene, *FMR1*, has characteristics of an RNA-binding protein. *Cell*, 1993, 74: 291~298
- 19 Khandjian E *et al.* The fragile X mental retardation protein is associated with ribosomes. *Nature Genetics*, 1996, 12: 91~93
- 20 Sittler A *et al.* Alternative splicing of exon 14 determines nuclear or cytoplasmic localization of *fmrl* protein isoforms. *Hum. Mol. Genet.*, 1996, 5: 95~102
- 21 Bardoni B *et al.* Analysis of domains affection intracellular localization of the FMRP protein. *Neurobiology of Disease*, 1997, 4: 329~336
- 22 陈雨亭等. FMRP 蛋白 6 种异构体与 *FMR1* 蛋白的相互作用. *中国生物化学与分子生物学报*, 1998, 14: 396~401
- 23 陈雨亭等. 用酵母双杂交体系筛选与 *FMR-1* 相互作用蛋白的 cDNA. *中国医学科学院学报*, 1998, 20: 173~178

1998-08-26 收稿, 1998-09-28 修回.