

12 Cao T, Borden KL, Freemont PS, Etkin LD. Involvement of the rfp tripartite motif in protein-protein interactions and subcellular distribution. *J Cell Sci* 1997;110:1563-1571

13 Borden KL. RING fingers and B-boxes: zinc-binding protein-protein interaction domains. *Biochem Cell Biol* 1998;76:351-358

14 Hasegawa N, Iwashita T, Asai N, Murakami H, Iwata Y, Isomura T, Goto H, Hayakawa T, Takahashi M. A RING finger motif regulates transforming activity of the rfp/ret fusion gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;225:627-631

15 Isomura T, Tamiya-Koizumi K, Suzuki M, Yoshida S, Taniguchi M, Matsuyama M, Ishigaki T, Sakuma S, Takahashi M. RFP is a DNA binding protein associated with the nuclear matrix. *Nucleic Acids Res* 1992;20:5305-5310

16 董菁, 成军, 王勤环, 王刚, 施双双, 夏小兵, 斯崇文. 外周血中乙型肝炎病毒截短型囊膜中蛋白基因的克隆化与分析. *中华肝病杂志* 2001;9:163-165

17 刘妍, 成军, 董菁, 夏小兵, 李克, 杨继珍. 截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活作用的初步研究. *肝脏* 2001;6:8-10

18 韩萍, 刘妍, 成军, 王刚, 陆荫英, 李克, 李莉. 截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白上调 c-myc 基因表达的研究. *世界华人消化杂志* 2002;10:141-144

19 刘妍, 成军, 张跃新, 段惠娟, 牟劲松, 韩萍, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 截短型 HBsAg 中蛋白反式激活基因的克隆. *中华传染病杂志* 2002;20:218-221

20 刘妍, 成军, 王刚, 李克, 段惠娟, 王琳, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. HCV 核心蛋白与截短型 HBV 表面抗原中蛋白协同反式激活功能的研究. *中华肝病杂志* 2002;10:354-357

21 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克. 羧基末端截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活基因 1 的克隆化研究. *世界华人消化杂志* 2003;11:000-000

22 洪源, 刘妍, 成军, 杨倩, 王建军. 应用表达谱芯片技术对截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式调节基因的研究. *世界华人消化杂志* 2003;11:000-000

23 刘妍, 成军, 牟劲松, 陆荫英, 王建军, 杨倩, 王琳, 张玲霞. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS3 与乙型肝炎病毒 X 蛋白协同反式激活作用的研究. *解放军医学杂志* 2003;28:47-49

24 刘妍, 成军, 陆荫英, 王刚, 牟劲松, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 乙型肝炎病毒 X 蛋白反式调节基因的克隆化研究. *中华肝病杂志* 2003;11:5-7

25 刘妍, 成军, 邵得志, 王琳, 钟彦伟, 董菁, 李克, 李莉. HCV 核心蛋白与 HBV X 蛋白协同反式激活作用的研究. *中华实验和临床病毒学杂志* 2003;17:39-41

26 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克. 乙型肝炎病毒 X 蛋白反式激活基因 1 的克隆化与序列分析. *世界华人消化杂志* 2003;11:000-000

27 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩. 基因表达谱芯片技术筛选乙型肝炎病毒 X 蛋白反式调节靶基因. *世界华人消化杂志* 2003;11:000-000

28 成军, 刘妍, 洪源, 王琳, 钟彦伟, 董菁, 王刚. 乙型肝炎病毒 X 蛋白反式激活基因 10 的克隆化研究. *世界华人消化杂志* 2003;11:000-000

29 刘妍, 陆荫英, 成军, 王建军, 李莉, 张玲霞. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS5A 反式激活基因的克隆化研究. *解放军医学杂志* 2003;28:40-43

30 王琳, 李克, 成军, 陆荫英, 张健, 刘妍, 王刚, 洪源, 王贺, 芮莉莉. 筛选与克隆丙型肝炎病毒 NS5A 蛋白结合蛋白基因. *解放军医学杂志* 2003;28:50-52

项目负责人: 成军, 100039, 北京市西四环中路 100 号, 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所基因治疗研究中心, 全军病毒性肝炎防治研究重点实验室. cj@genetherapy.com.cn
电话:010-66933392 传真: 010-63801283
收稿日期: 2003-06-07 接受日期: 2003-07-01

王春花, 成军, 郎振为, 刘妍, 王建军, 纪冬, 党晓燕. 人 La 自身抗原蛋白与肝炎病毒的关系. *世界华人消化杂志* 2003;11(12):1973-1976
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1973.asp>

0 引言

乙型和丙型肝炎呈全球分布, 目前全世界有 1.7 亿人感染丙型肝炎病毒(HCV), 3.5 亿人感染乙型肝炎病毒(HBV), 其中相当一部分感染者发展为慢性肝炎, 少数还发展成肝硬化甚至肝癌, 对人类健康造成极大危害, 至今缺乏有效的控制. 肝炎病毒在肝细胞中的长期存在, 复制扩散是肝炎病毒慢性感染的关键一步, 这两种病毒在体内感染的分子生物学机制一直是研究者们关注的重点, 许多的研究越来越显示 La 自身抗原蛋白与其关系密切, 本文简要介绍近年来在这方面的研究进展.

1 人 La 自身抗原蛋白的结构与功能

人类 La(SS-B)蛋白是一种能与 RNA 结合的磷蛋白, 分子量 45 kD, La 蛋白首先是从系统性红斑狼疮(SLE)和 Sjogren 综合征患者的血清中作为一种自身抗原而被鉴定的^[1]. La 蛋白在许多真核细胞生物中广泛表达, 诸如酵母、果蝇、蟾蜍等. La 抗原能通过其 RNA 结合域与许多种 RNA 结构结合^[2]. La 蛋白的病毒靶位包括细小核糖核酸病毒^[3]、流行性感冒病毒^[4]、辛德毕斯病毒^[5]和人免疫缺陷病毒(HIV) TAR 元件的 5' - 非编码区^[6]. La 蛋白上具有与核糖核蛋白氨基端同源序列而介导了 La 蛋白和 mRNA 的结合. La 蛋白也能结合一些小分子的 RNA, 例如 7S RNA 和 tRNA, 并认为参与了他们的生物合成. 体外实验已表明 La 蛋白参与了许多细胞内代谢过程, 例如, RNA 聚合酶(Pol) III 介导的转录和转录物加工, 丙型肝炎病毒和脊髓灰质炎病毒 RNA 翻译的内部启动. 与这些功能可能有关的一个作用是 La 蛋白表现出能够以 ATP 依赖方式解旋 DNA-RNA 杂交体和双链 RNA 分子, 不过最近 La 蛋白解旋双链 RNA 的活性受到质疑.

人类 La 蛋白通常定位于核质中, 尽管在核仁和胞质的定位也被证实过. 在 La 蛋白的羧基末端包含一个核定位信号(NLS), 此结构域与核内滞留有关. La 蛋白的亚细胞分布机制还不确定, 不过有人报道磷酸化似乎并不发挥作用. La 蛋白的一个重要特性是其能以不同的方式结合到并影响许多 RNAs. 在哺乳动物、昆虫和酵母细胞中均可见 La 蛋白, 并发现其定位于核内和胞质二者中. 在核内其结合到 RNA 聚合酶 III 介导新合成的转录产物末端 39 位富含尿嘧啶核苷酸区域, 有利于转录终止和转录产物从 DNA 上的释放, 甚至能促进聚合酶 III 参与的转录起始. 在胞质中 La 蛋白的功能至少从三方面得到证实: (1)通过结合到内部核糖进入位点, 促进从

人 La 自身抗原蛋白与肝炎病毒的关系

王春花, 成军, 郎振为, 刘妍, 王建军, 纪冬, 党晓燕

王春花, 成军, 刘妍, 王建军, 纪冬, 党晓燕, 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所基因治疗研究中心、全军病毒性肝炎防治研究重点实验室 北京市 100039
郎振为, 首都医科大学佑安医院病理科 北京市 100054
国家自然科学基金攻关项目, No. C03011402, No. C30070689; 军队“九、五”科技攻关项目, No. 98D063; 军队回国留学人员启动基金项目, No. 98H038; 军队“十、五”科技攻关青年基金项目, No. 01Q138; 军队“十、五”科技攻关面上项目, No. 01MB135

正确的起始密码子开始的翻译,抑制不正确的起始密码子的翻译,而有利于脊髓灰质炎病毒RNA的翻译;他能结合到人免疫缺陷病毒I型的RNA上而有利于下游开放读码框架的翻译;有研究证实,在体外La蛋白能与翻译起始位点相互作用,推测在未受到感染的细胞中La蛋白甚至会在翻译的启动过程中发挥作用。(2)La蛋白促进辛德毕斯病毒RNA的复制。(3)La蛋白能稳定组蛋白的mRNA。组氨酸mRNAs是一个罕见非寡聚腺苷化的mRNA的例子。在其3'-端包含一个茎环结构,因而能与细胞因子相互作用。组蛋白的产生过程是细胞周期S期的限速步骤,其终止于S期,部分是由于组蛋白mRNA被快速降解的原因。在体外设计的组蛋白mRNA被特异降解的实验表明此过程依赖S130提取物中的细胞因子^[7]。如果加入组蛋白结果会更明显。有趣的是加入La蛋白能明显稳定组蛋白mRNA^[7]。该结论也同样表明在体外RNA降解实验中La蛋白的存在能稳定非寡聚腺苷酸化的mRNA。

很明显La蛋白能结合到许多种RNA结构上,并根据所结合的RNA的不同而通过不同的方式改变自身的构型,因此具有高度的适应性,能与许多种RNA相互作用。目前尽管已经取得了大量证据表明La蛋白在许多细胞反应中发挥作用,但是La蛋白这些活性在体内的相互关系仍不清楚。至今对La蛋白研究最多的已被广泛证实的活性是能结合到聚合酶III介导新合成的转录产物上并起稳定作用。这些转录产物可以是tRNA、5S rRNA、7S rRNA、U6 RNA和Y RNAs的前体。例如,Rutjes et al^[8]在研究凋亡细胞时发现细胞质中含量少的Y RNAs正常情况下是与Ro和La蛋白一起存在于核糖核蛋白颗粒(RNPs)上的。在凋亡细胞中这些RNAs被特异性和快速降解。与此过程相联系的是,La蛋白从此复合物中释放出来,这表明La蛋白可保护Y RNAs不被过早降解^[8]。近来的研究又发现酵母的La蛋白参与了U小核核糖核蛋白体(snRNP)的组装,并能结合到U1、U2、U4、U5和U6 snRNP的前体物上。在这些RNAs上La蛋白的靶位点是其3'-末端的寡聚尿嘧啶序列。Pannone et al^[9]在对酵母La同源蛋白1(Lhp 1 p)及其对RNA聚合酶III介导转录的作用研究中也发现La蛋白能稳定最新合成的U6 snRNAs,并且在RNA组装成snRNAs的过程中一直伴随存在。

早在1984年Stefano^[10]就提出La蛋白是最先结合到所有聚合酶III介导新合成的转录产物上的。La蛋白能与这些不同的RNAs结合是因为其能识别聚合酶III介导新合成的转录物3'-末端的UUU序列。进一步研究发现La蛋白是RNA聚合酶III的一种转录因子,他参与了RNA聚合酶3介导的转录终止和转录机制的再循环。La蛋白可以和RNA聚合酶III的转录产物的3'-寡聚尿嘧啶核苷酸部分结合,在某些情况下,可以保护遗传信息免受3'-端加工。这些资料暗示La蛋白主要的功能是保护生物初期的转录产物被过早降解。近来La蛋白更被认为

是作为一种RNA聚合酶III转录产物的分子伴侣发挥作用,这可能与先前报道过的La蛋白所有的功能活性相一致^[9]。

2 人La蛋白与丙型肝炎病毒的关系

HCV隶属于黄病毒科,是非甲非乙型肝炎的主要病原体。大约50%的感染患者转为慢性,最常见为慢性活动型肝炎,最终可以发展为肝硬化和肝细胞癌。HCV基因组大约9.5 kb,只包含一个开放读码框架,可以编码翻译为多聚蛋白体,能被细胞和病毒的蛋白酶共同剪切为功能性产物。ORF两端为3'-和5'-非编码区,包含了参与转录和翻译起始的序列^[11,12]。绝大多数真核细胞的mRNA都包含5'-端帽子结构和3'-端多聚腺苷酸尾。这些结构具有多种功能,可以影响mRNA剪接、转运、翻译和稳定性。例如,帽子结构和多聚腺苷酸能协同作用促进细胞内mRNA的翻译,帽子结构和多聚腺苷酸能与细胞内蛋白质相互作用保护mRNAs免受核酸外切酶的降解^[13,14]。去帽和去腺苷酸化均发生于mRNA降解之前。因此,在mRNA上帽子结构和多聚腺苷酸最终免受核酶的作用保护细胞内的mRNAs被过早地降解。例如,多聚腺苷酸结合蛋白结合到多聚腺苷酸上抑制不成熟的mRNA降解。有趣的是,在缺少多聚腺苷酸的情况下,多聚腺苷酸结合蛋白也能稳定mRNA^[15]。这表明是多聚腺苷酸结合蛋白本身而非多聚腺苷酸保护mRNA免受降解。HCV RNA缺少帽子结构和多聚腺苷酸,猜测其可能易于降解,但事实并非如此,HCV RNA基因组具有不同于帽子结构和多聚腺苷酸的分子机制。研究发现HCV 5'-非编码区包含内部核糖体位点(IRES),其对于mRNA的起始翻译是必需的^[11,12]。此外,HCV 3'-UTR似乎能刺激HCV IRES介导的起始翻译^[16]。HCV 3'-非编码区具有一个富含尿嘧啶核苷酸的区域,与细胞内的蛋白相互作用可以阻止未成熟RNA的降解。许多研究证实HCV 3'-和5'-非编码区与La蛋白关系密切,La蛋白对HCV在宿主体内的生存,复制发挥重要的生物学功能,HCV与人类La蛋白的关系越来越受到重视。

HCV RNA 3'-非编码区缺少多聚腺苷酸尾,而有一个富含尿嘧啶核苷酸的区域,已有研究^[17]发现细胞内mRNAs的3'-非编码区中的不稳定元件可以受到核酸内切酶的攻击,此区域的存在使其对核酸酶非常敏感^[18],这是许多细胞内易降解mRNAs的一个共同特征。在核糖核酸酶A(RNase A)超家族中发现的许多哺乳动物的核糖核酸酶表现出明显地优先选择多聚腺苷酸作为酶底物^[19]。核糖核酸酶4(RNase 4)超家族相比其他的RNA底物更易与多聚腺苷酸作用^[20],因此,可以设想多聚腺苷酸结构由于在许多HCV序列中具有保守性,并且对核糖核酸酶特别敏感,而先前的研究^[21,22]已发现定位于哺乳动物细胞质抽提物中的p100片段的核糖核酸酶很明显并不能将HCV RNA降解,故其一定受到保

护才能避免被快速降解. 受此启发, Spangberg et al^[23]在1999年利用人肝脏活检标本的细胞质提取物经过离子交换柱分离得到的细胞因子, 与放射标记的HCV 5' - 和3' - 非编码区的RNA探针经过紫外线的交联作用发现两种主要的45 kD和46 kD的蛋白特异性地作用于HCV 5' - 和3' - 非编码区. 经过Western杂交和免疫共沉淀证实其为La蛋白并认为人肝活检细胞来源的La蛋白能特异性作用于HCV 3' - 非编码区富含尿嘧啶核苷酸的区域; 并于2001年深入进行了HCV RNAs体外降解情况的研究, 发现正链HCV RNA的3' - 末端对胞质RNases敏感, 而负链HCV RNA的3' - 末端相对稳定, 这是由于HCV 3' -(+)RNA包含富U结构, 而HCV 3' -(-)RNA没有, 而La蛋白结合到富U结构域中可能保护感染细胞中HCV RNA免受核糖核酸内切酶、外切酶过早地降解.

HCV RNA基因组翻译启动是通过5' - 非编码序列充当了一种IRES以非依赖帽子途径发生的. 细胞反式作用因子明显不同于经典的起始因子(eIF), 其作用机制为促进IRES介导调节的翻译^[24]. 在细胞蛋白中, La蛋白(p52或SS-B)被认为在调节IRES介导的翻译过程中发挥重要的功能^[25]. 有研究^[26]证实La蛋白对于HCV IRES介导的翻译是必需的: 利用一种RNA指数富集而系统进化的配基(SELEX), 由于其能在Hela癌细胞裂解液中选择性结合La蛋白并与其竞争结合到HCV 5' - 非编码区而能对抗La蛋白的作用, 研究发现由于Hela癌细胞翻译裂解液中RNA IRES的存在隔离了La蛋白而阻抑了HCV和脊髓灰质炎病毒IRES介导的体外翻译; 并通过设计附加回证实验重组人La蛋白恢复了IRES被抑制的功能. 这有力证明了La蛋白参与了起始密码子AUG的选择性识别和HCV RNA基因组内部的起始翻译. Ali et al^[27]研究发现La蛋白的一个重要功能是调节HCV RNA基因组的内部翻译起始, 其能促进HCV IRES介导的翻译. La蛋白能识别HCV完整的5' - 非编码序列; 进一步研究发现这种相互作用发生在起始密码子AUG的上游序列. 随后的研究^[26]又证实La-IRES相互作用中起始密码子AUG而非邻近的密码子是La蛋白结合的直接靶位. 蛋白缺失和替代诱导突变证明La蛋白结合到IRES的调控是依赖羧基末端效应器结构域的. Isoyama et al^[28]报道HCV IRES正常发挥功能所需的La蛋白浓度要低于脊髓灰质炎病毒; 进一步的免疫荧光试验表明HCV感染似乎并不影响La蛋白的亚细胞定位, 其主要定位于核内, 而脊髓灰质炎病毒感染后La蛋白重新分布到胞质中, 这与HCV IRES活性只需低浓度La蛋白的结论是相符的. Shimazaki et al^[29]进一步阐明 α 干扰素抑制HCV IRES介导的翻译的作用机制是通过降低La蛋白的浓度, 而2', 5' - 寡腺苷酸合成酶和双链RNA激活的蛋白激酶并不参与这种选择性抑制, 并且 α 干扰素和La蛋白呈现明显的剂量依赖性关系, 并进而通过设计La蛋白的瞬时表达发现其能完全恢复被抑制的

HCV IRES介导的翻译.

La蛋白与HCV RNA的5' - IRES和3' - 富U结构域关系密切, 其对于HCV mRNA的翻译, 复制和降解十分重要, 这些结论也提供了新的抗病毒策略, 即通过阻止La蛋白和HCV RNA的相互作用可以导致HCV RNA的降解.

3 人La蛋白与乙型肝炎病毒的关系

乙型肝炎病毒为含有一段单股区的双链环状DNA病毒, 属嗜肝DNA病毒科, 其基因组结构紧密, 可分为结构基因序列和调节基因序列两部分, 二者可具有相互重叠的特点. HBV基因的负链核苷酸序列中, 至少有4个开放读码框(ORF), 包括编码外膜蛋白的S基因区, 编码核衣壳蛋白的C基因区, 编码聚合酶的P基因区和调节病毒基因转录水平的X基因区, 4种ORF分别有各自的启动子. Heise et al^[30]报道HBV感染的转基因鼠经过细胞毒T细胞(CTL)注射后5 d的细胞提取液中具有明显升高的RNase活性, 同时HBV RNA水平降低, La蛋白分解为片段. 推测HBV RNA、La蛋白片段、HBV RNA底物的高效酶解三者发生的一致性有力支持了HBV RNA的稳定性和全长La蛋白一定存在功能相关关系. 由于酶切位点邻近La蛋白结合位点, 认为La蛋白可以在空间上阻止RNase接近酶切位点保护HBV RNA被过早降解.

近来的研究认为La蛋白可以作为一种宿主因子潜在性地参与了细胞因子诱导的HBV RNA的转录后减量调节. La蛋白结合位点认为是存在于所有的HBV RNAs的一个预测的茎环结构. 并认为其可能是一种HBV RNA稳定因子. 有资料^[31]表明La蛋白RNA识别基序-1(RRM-1, RNA recognition motif-1)对于结合不是必须的, 而RRM-1、RRM-2的RNP-1和RNP-2的共有序列对于结合分别是必须的, 这也暗示着聚合体的La蛋白是分解为单体结合到HBV RNA上的.

Heise et al^[32]报道鉴定出3种核蛋白(p45、p39、p26)均能与HBV RNA 1243-1333 nt之间的91个核苷酸序列结合, 免疫共沉淀试验表明这3种蛋白均能被特异性的抗La蛋白的抗血清识别, 暗示p45是全长的La蛋白, p39和p26可能是La蛋白裂解产物. 而且竞争试验发现这3种La蛋白均能以磷酸化依赖途径结合到同一预测的茎环结构, 此结构定位于HBV 1 275-1 291 nt之间. 这些研究结果支持La蛋白有助于增加HBV RNA的稳定性的观点. 并且干扰素- γ (IFN- γ)和肿瘤坏死因子(TNF)能协同调控这三种核蛋白和HBV RNA. 用炎症细胞因子诸如IFN- γ 和TNF治疗表达有HBV RNA细胞, 发现通过缩短HBV RNA的半衰期来抑制HBV RNA的表达. 有趣的是, 似乎借助影响La蛋白与HBV RNA上的91个核苷酸元件的结合, 细胞因子介导的信号转导途径可以调节HBV RNA的稳定性. 作者推测La蛋白可以参与组成细胞因子或作为细胞因子的反应因子而影响HBV RNA的半衰期.

尽管已发现多种 La 蛋白的生物活性与肝炎病毒密切相关, 但到目前为止还没有人系统地阐述 La 蛋白在 HBV、HCV 感染过程中的具体特性、作用过程及 La 蛋白与结合位点结合后所引起的一系列信号转导, 也没有针对嗜肝病毒 - La 蛋白结合机制设计的生物学或化学治疗方案。

4 参考文献

- 1 Tan EM. Antinuclear antibodies: diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv Immunol* 1989;44:93-159
- 2 Kenan DJ, Query CC, Keene JD. RNA recognition: towards identifying determinants of specificity. *Trends Biochem Sci* 1991;16:214-220
- 3 Meerovitch K, Pelletier J, Sonenberg N. A cellular protein that binds to the 5' noncoding region of poliovirus RNA: implications for internal translation initiation. *Genes Dev* 1989;3:1026-1034
- 4 Park YW, Katze MG. Translational control by influenza virus. Identification of cis-acting sequences and trans-acting factors which may regulate selective viral mRNA translation. *J Biol Chem* 1995;270:28433-28439
- 5 Pardigon N, Strauss JH. Mosquito homolog of the La autoantigen binds to Sindbis virus RNA. *J Virol* 1996;70:1173-1181
- 6 Chang YN, Kenan DJ, Keene JD, Gatignol A, Jeang KT. Direct interactions between autoantigen La and human immunodeficiency virus leader RNA. *J Virol* 1994;68:7008-7020
- 7 McLaren RS, Caruccio N, Ross F. Human La protein: a stabilizer of histone mRNA. *Mol Cell Biol* 1997;17:3028-3036
- 8 Rutjes SA, van der Heiden A, Utz PJ, van Venrooij W, Pruijn GJ. Rapid nucleolytic degradation of the small cytoplasmic Y RNAs during apoptosis. *J Biol Chem* 1999;274:24799-24807
- 9 Pannone BK, Xue D, Wolin SL. A role for the yeast La protein in U6 snRNP assembly: evidence that the La protein is a molecular chaperone for RNA polymerase III transcripts. *EMBO J* 1998;17:7442-7453
- 10 Stefano JE. Purified lupus antigen La recognizes an oligouridylylate stretch common to the 3' termini of RNA polymerase III transcripts. *Cell* 1984;36:145-154
- 11 Lai MM. Cellular factors in the transcription and replication of viral RNA genomes: a parallel to DNA-dependent RNA transcription. *Virology* 1998;25:244:1-12
- 12 Wang C, Siddiqui A. Structure and function of the hepatitis C virus internal ribosome entry site. *Curr Top Microbiol Immunol* 1995;203:99-115
- 13 Sachs AB, Sarnow P, Hentze MW. Starting at the beginning middle and end: translation initiation in eukaryotes. *Cell* 1997;89:831-838
- 14 Wickens M, Anderson P, Jackson RJ. Life and death in the cytoplasm: messages from the 3' end. *Curr Opin Genet Dev* 1997;7:220-232
- 15 Collier JM, Gray NK, Wickens MP. mRNA stabilization by poly(A) binding protein is independent of poly(A) and requires translation. *Genes Dev* 1998;12: 3226-3235
- 16 Ito T, Tahara SM, Lai MM. The 3' untranslated region of hepatitis C virus RNA enhances translation from an internal ribosomal entry site. *J Virol* 1998;72:8789-8796
- 17 Binder R, Horowitz JA, Basilion JP, Koeller RD, Klausner RD, Harford JB. Evidence that the pathway of transferrin receptor mRNA degradation involves an endonucleolytic cleavage within the 3' UTR and does not involve poly(A) tail shortening. *EMBO J* 1994;13:1969-1980
- 18 Yamada N, Tanihara K, Takada A, Yoriyuzi T, Tsutsumi M, Shimomura H, Tsuji T, Date M. Genetic organization and diversity of the 3' noncoding region of the hepatitis C virus genome. *Virology* 1996;223:255-261
- 19 Sorrentino S, Libonati M. Structure-function relationship in human ribonucleases: main distinctive features of the major RNase types. *FEBS Lett* 1997;404:1-5
- 20 Hofsteenge J, Vicentini A, Zelenko O. Ribonuclease 4, an evolutionarily highly conserved member of the superfamily. *Cell Mol Life Sci* 1998;54:804-810
- 21 Brewer G, Ross J. Poly(A) shortening and degradation of the 3' A+U-rich sequences of human c-myc mRNA in a cell-free system. *Mol Cell Biol* 1988;8:1697-1708
- 22 Wennborg A, Sohlberg B, Angerer D, Klein G, von Gabin A. A human RNase E-like activity that cleaves RNA sequences involved in mRNA stability control. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:7322-7326
- 23 Spangberg K, Goobar-Larsson L, Wahren-Herlenius M, Schwartz S. The La protein from human liver cells interacts specifically with the U-rich region in the hepatitis C virus 3' untranslated region. *J Hum Virol* 1999;2:296-307
- 24 Jackson RJ, Howell MT, Kaminski A. *Trends Biochem Sci* 1990;15:477-483
- 25 Belsham GJ, Sonenberg N, Svitkin YV. The role of the La autoantigen in internal initiation. *Curr Top Microbiol Immunol* 1995;203:85-98
- 26 Ali N, Pruijn GJ, Kenan DJ, Keene JD, Siddiqui A. Human La antigen is required for the hepatitis C virus internal ribosome entry site-mediated translation. *J Biol Chem* 2000;275:27531-27540
- 27 Ali N, Siddiqui A. The La antigen binds 5' noncoding region of the hepatitis C virus RNA in the context of the initiator AUG codon and stimulates internal ribosome entry site-mediated translation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:2249-2254
- 28 Itoyama T, Kamoshita N, Yasui K, Iwai A, Shiroki K, Toyoda H, Yamada A, Takasaki Y, Nomoto A. Lower concentration of La protein required for internal ribosome entry on hepatitis C virus RNA than on poliovirus RNA. *J Gen Virol* 1999;80:2319-2327
- 29 Shimazaki T, Honda M, Kaneko S, Kobayashi K. Inhibition of internal ribosomal entry site-directed translation of HCV by recombinant IFN-alpha correlates with a reduced La protein. *Hepatology* 2002;35:199-208
- 30 Heise T, Guidotti LG, Chisari FV. Characterization of nuclear RNases that cleave hepatitis B virus RNA near the La protein binding site. *J Virol* 2001;75:6874-6883
- 31 Horke S, Reumann K, Rang A, Heise T. Molecular characterization of the human La protein, hepatitis B virus RNA. Binteraction in vitro. *J Biol Chem* 2002;277:34949-34958
- 32 Heise T, Guidotti LG, Chisari FV. La autoantigen specifically recognizes a predicted stem-loop in hepatitis B virus RNA. *J Virol* 1999;73:5767-5776