

Disparity Detect: Simple Cell, Complex Cell and Energy Model. ZHANG Zhi-Lei, GE Ji-Guang, GUO Xiao-Hui (*Department of Bioscience and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China*).

Abstract The action of binocular cells in visual cortex is the foundation of information process of stereopsis. The disparity encode mechanism of simple cells are divided into two groups, one is position shift, the other is phase shift, but simple cells are not

suited to act as disparity detector. On physiological study of some complex cells, people find some complex cells are ideally suited as disparity detector. A complex cell energy model based on these simple cells was provided. Mathematical analysis and computer simulation indicate that this model can explain many physiological data.

Key words stereopsis, position shift, phase shift, energy model

蛋白质的入核运送和它在基因表达中的调节作用

陈 曦

中国协和医科大学 心血管病研究所, 阜外心血管病医院, 北京 100037
(中国医学科学院)

摘要 蛋白质进入细胞核是由蛋白质分子内部的核定位信号 (nuclear localization signal, NLS) 引导的. NLS 蛋白首先与 NLS 受体结合, 然后在多种胞浆因子及核孔复合物蛋白的作用下穿过核孔、转位入核. 蛋白质上存在 NLS 并不一定总能够引导蛋白质入核. 当 NLS 被修饰或遮掩时, 它们便不能被核转运装置所识别. 因而, NLS 的遮掩被解除之前, 蛋白质一直被扣留在胞浆中. 以调节转录因子的入核运送来控制转录因子的活性是基因表达调节的一个新概念, 也是细胞生长和分化的另一水平的调节.

关键词 蛋白质入核运送, 核定位信号, 基因表达调节

学科分类号 Q51

1 蛋白质的入核运送和核定位信号

真核细胞核膜的形成导致了细胞核和细胞浆的分隔, 因而也产生了物质在胞浆与核之间的运输过程. 核-胞浆间物质转运特点研究最清楚的是蛋白质进入细胞核的过程, 即蛋白质的入核运送过程. 入核运送是温度和能量依赖的过程, 它需要胞浆运输因子的活性, 也需要核孔复合物 (nuclear pore complex, NPC) 蛋白的活性. 然而蛋白质入核运送研究的一个里程碑是核定位信号 (nuclear localization signal, NLS) 的发现, 即待输入蛋白质内部存在一段具有特殊组成和排列的氨基酸序列, 它引导蛋白质进入细胞核.

Nucleoplasmin 是爪蟾卵细胞中的一种核蛋白, 也是发现蛋白质结构内部存在入核运送引导区域的第一个蛋白质^[1]. 随后, 通过对酵母 MAT α 2 蛋白的研究, 首次表明一个核蛋白可以将一个融合的非核蛋白引入核内, 并且第一次提供了确实的 NLS 序列^[2], 即 MAT α 2 的 N 端 13 个氨基酸负责完成

这种引导作用. 在这个短序列中, KIPK 结构在入核运送中起重要作用. 对 SV40 大 T 抗原 (large T antigen) 的研究发现这个蛋白质的 NLS 最小单位是 PKKKRKV. 在多种其他蛋白质中也发现 SV40 大 T NLS 的同源序列, 其基本结构为 Lys-Arg/Lys-X-Arg/Lys.

越来越多的研究还证明, 蛋白质中可能存在两个分离的核定位信号. 如多瘤病毒大 T 抗原和核糖体蛋白 L29 均有两个碱性序列 (VSRKRPRPA 与 PKKARED 和 KHRKHPG 与 KTRKHRG), 它们协同介导蛋白质的入核运送^[3]. 最近在研究 ARNT (aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator) 的亚细胞定位时发现, ARNT 中负责有效核转位的 NLS 也是由分离的两个区域构成的, 但两个碱性序列之间的一段酸性氨基酸序列是必不可少的, 它起着一种空间占位作用. 这种结构与经典的两部分构成的 NLS 序列有显著不同, 是一类新

的 NLS^[4].

核定位信号的调节还表现出一种弱信号的加合作用. Roberts^[5]将 SV40 T 抗原的一种微弱激活的 NLS K128R 融合到丙酮酸激酶分子上, 融合方式分为一倍、二倍和三倍. 一倍者丙酮酸激酶在核内和胞浆中的量相等, 二倍者在核内的定位多于在胞浆的, 三倍者全部在核内. 另外一些实验也证实, 一些蛋白质的结构内部没有典型的 NLS, 但它可能含有几个弱匹配的 (poor matches) 信号, 这些信号可以加合性地驱动入核运送.

综上所述, NLS 具有以下特征: 典型的短序列, 通常不超过 8~10 个氨基酸; 正电氨基酸 (Lys 或 Arg) 的比例高; 在蛋白质中没有特定位点; 在蛋白质中可能出现多次.

2 NLS 介导的入核运送过程

NLS 介导的入核运送过程并非一个简单的过程, 它具有多步性、单一方向性、温度和能量依赖性以及竞争饱和性.

Richardson 等^[6]通过显微注射将 nucleoplasmin 引入猴细胞胞浆, 数分钟之内蛋白质产生一种 nucleoplasmin 所特有的核外周积累 (perinuclear accumulation). 将 nucleoplasmin 的核心片段 (不含 NLS 的片段) 显微注射进胞浆, 则不产生这种核外周积累.

体内实验中, 显微注射有 nucleoplasmin 的细胞在冰上骤冷^[1]或事先在细胞中注入腺苷三磷酸双磷酸酶 (apyrase) 或己糖激酶加葡萄糖 (强烈降低细胞内 ATP 池)^[7], nucleoplasmin 则不能在爪蟾卵细胞核中积累, 但不影响核外周积累. 体外实验也表明, 低温或胞内能量库减少均阻断蛋白质的入核运送. 以上研究说明, NLS 介导的蛋白质入核运送过程至少可分为两步: 第一步是由 NLS 介导的信号识别过程, NLS 蛋白通过 NLS 的引导聚集在核孔周围. 第二步是温度、能量依赖的核转位过程, NLS 蛋白穿过核孔进入细胞核.

蛋白质跨过核膜的方向性研究中发现, 在体实验中, nucleoplasmin 的核心片段被直接引入细胞核后就滞留在那里. 体外实验结果也表明, nucleoplasmin 和 SV40 大 T 抗原这两种蛋白质的入核运送是单一方向性的, 都是从胞浆到细胞核. 推测一旦核蛋白进入核浆后, 核信号就无效了. 也可能核孔是不对称的. 免疫学研究结果表明核孔可能确实是不对称的, 负责识别核定位信号的胞浆因子

位于核孔胞浆一侧^[8].

在核蛋白上存在 NLS, 因而很可能存在与 NLS 识别有关的受体. 如果这个受体的数目是有限的, 那么过量的转运蛋白质可以使入核运送过程出现饱和. 同样地, 与 NLS 结构类似的肽段应当是入核运送的有效竞争抑制剂. 实验研究表明, BSA 连接到 SV40 大 T 抗原类似的合成肽上, 它在爪蟾卵细胞中的核摄入表现出饱和性, 也能够竞争性抑制与 SV40 大 T 抗原结合的 BSA 的核摄入^[8].

3 影响蛋白质入核运送的因子

3.1 影响入核运送的可溶性因子

最近在蛋白质入核运送机制研究方面, 尤其在入核运送涉及的可溶性胞浆因子方面取得显著进展. 许多研究小组通过不同的研究方法, 鉴定出多种胞浆因子并研究了它们在转运过程中的作用^[9, 10].

3.1.1 NLS 受体和 p97: Srp1p 是酵母细胞的 NLS 受体, 也是核转运装置中研究最清楚的一个成分, 它结合胞浆中的 NLS-cargo, 并伴随其进入细胞核. 哺乳动物细胞中, 细胞通透性实验发现, 胞浆中存在的一种异源二聚体 (karyopherin α 和 β 或 importin α 和 β) 是 NLS 蛋白有效结合于 NPC 所必需的. NLS 蛋白与 α 亚基直接结合, 这是蛋白质入核运送的起始步骤, 然后在 β 亚基作用下聚集在核孔周围. Karyopherin α 的作用是 NLS 受体, 识别 NLS; karyopherin β 即 p97, 不与 NLS 蛋白直接结合, 其作用是连接 NLS 受体, 促进 NLS 蛋白结合于 NPC^[10].

3.1.2 Ran 和 NTF2: Ran 是一种小分子 GTPase, 参与广泛的细胞过程. 但迄今为止, 唯一证明 Ran 的直接作用是介导蛋白质的入核运送. 聚集在 NPC 的 NLS 蛋白的转位入核过程是需能的, 并且至少需要两种蛋白质, Ran 和 NTF2 (p10). 在一些 Ran-GDP 或 Ran-GTP 结合蛋白的协同作用下, NLS 蛋白跨过 NPC. Ran 通过与 karyopherin β 结合使异源二聚体 α 和 β 解离, 并且促进 α 和 β 亚基从 NPC 的结合部位释放出来^[10, 11].

NTF2 (nuclear transport factor 2), 是 1 种小分子质量蛋白质, 以双体形式存在. NTF2 可以结合于一种糖蛋白 p62, 这个蛋白以 O—键连接于 NPC 的中心区, 推测 NTF2 在转运中的作用可能是引导受体复合物到达中心通道^[12].

3.1.3 hsp70/hsc70: hsp70/hsc70 在入核运送中

的作用所知甚少,但在某些受体蛋白质的入核运送中显然需要它.酵母细胞的在体实验发现,编码胞浆 Hsp70 的基因 SSA1 的表达升高可以刺激 NLS 引导的核转运动力学过程.在 NLS 蛋白聚集于核孔和核转位过程中, Hsp70 可能起着一种分子伴侣的作用,促进 Srp1p-NLS-cargo 复合物的形成并维持其稳定^[13].

除了上述胞浆因子,可能还有其他因子直接参与或作为 NPC 成员间接地调节蛋白质的入核运送过程.例如一些可与 Ran 作用的蛋白质,鸟苷酸交换因子 RCC1、GTPase 激活蛋白 Ran1p、Ranr 结合蛋白 RanBP1 和 RanBP2.它们可能通过影响 Ran 的活性而影响转运^[9].

3.2 影响入核运送的 NPC 蛋白

核孔复合物 (NPC) 是一个分子质量很大的复合体,约 125 Mu. NPC 可能含 100 多个不同的蛋

白质成分 (nucleoporins),但迄今为止,几乎还没有被鉴定出来.目前发现有一组 nucleoporins 对转运显然有重要作用^[9].哺乳动物细胞中, nucleoporins 是一类糖蛋白,以 O—键与 N-乙酰葡萄糖胺相连,蛋白质序列中含有多重 Phe-Gly 重复. Blot-overlay 试验中发现爪蟾卵胞浆抽提物“组分 A”,含 NLS 受体和 p97,能够介导 NLS 蛋白至少结合于 3 个 O—连接的糖蛋白^[14].推测 NLS 蛋白质跨越 NPC 发生转位时,受体复合物与多种糖蛋白相互作用.用遗传学和生物化学两种方法研究均表明酵母 NLS 受体 Srp1p 与 nucleoporin Nup1p 和 Nup2p 相互作用.另一种 nucleoporin RanBP2 定位于 NPC 的胞浆外侧,可特异结合于 Ranr-GTP,但它是否与受体复合物结合还不清楚.图 1 示蛋白质入核运送的模式 (Schlenstedt, 1996).

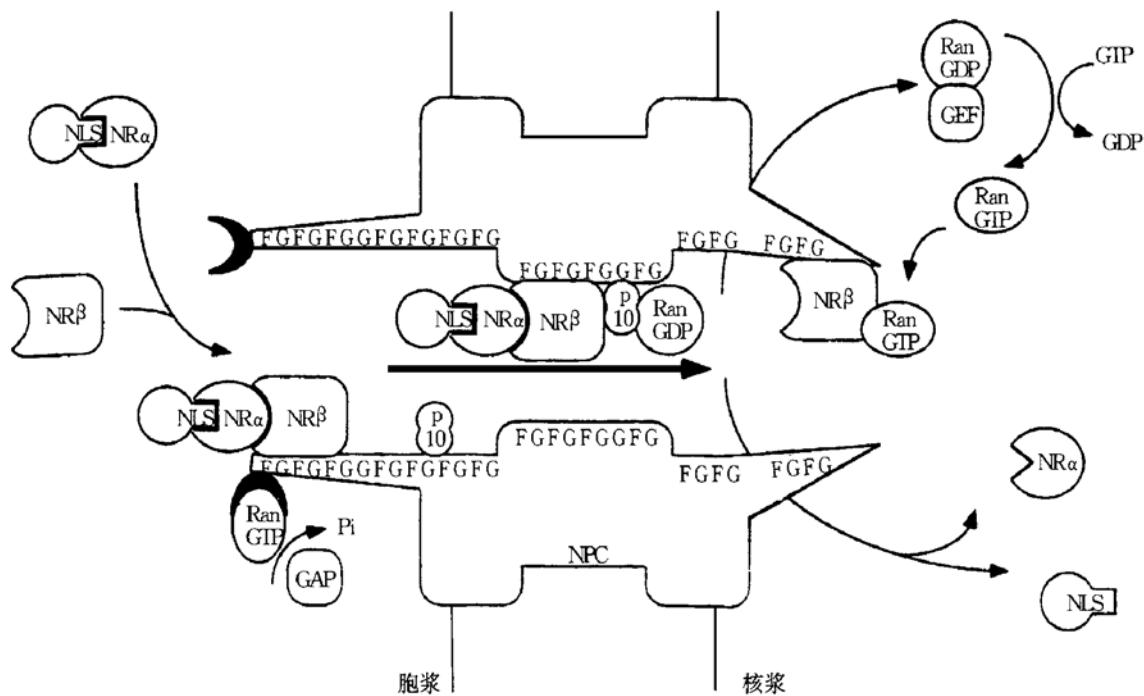


图 1 蛋白质入核运送的模式

NLS 受体的 α 亚基 (NR α) 先与 NLS 蛋白的 NLS 结合,再结合于 NR β . NR 异源二聚体通过 NR β 与 nucleoporin 的 FG 重复区结合.核转位是需能过程,需要 Ran 和 p10. Ranr-GTP 结合于 NPC 胞浆面的 Ran 结合域 (黑色),该结合域含 nucleoporin.转位可能起始于 GTPase 激活蛋白 (GAP) 介导的 GTP 水解.实际的转运机制尚不清楚, NLS 蛋白/NR/p10/Ran-GDP 复合物是一个可能的中间物. NLS 蛋白和 NLS 受体的复合物在 NPC 的核浆一侧解离,这可能是由 Ran-GTP 结合于 NR β 介导的.然后 NR α 释放 NLS 蛋白. Ran-GDP 通过 GDP/GTP 交换因子 (GEF) 转回为 Ranr-GTP.

4 蛋白质的入核运送在基因表达中的调节作用

由于转录因子的 DNA 结合性质,在过去一段时间里,一直认为转录因子固定地存在于细胞核

内,细胞外信号对它们活性的调节是通过调节它们的激酶从胞浆进入细胞核而实现的.然而现在已经清楚,激酶和/或磷酸酶的区域化调节确实是细胞膜上信号传导的一个重要机制,但不是调节转录因

子活性的唯一机制。最近几年来,大量的研究表明转录因子自己可以被选择性地从胞浆重新定位于细胞核。由此产生细胞转录调节的新概念:与DNA复制和/或基因转录相关的蛋白质的入核运送构成细胞生长和分化的另一层次的调节^[15]。

一些实验发现,蛋白质上存在NLS并不一定总能够引导蛋白质入核,当NLS被修饰或遮掩时,它们便不能被核转运装置所识别。NLS蛋白还可能由于同另1个蛋白质的结合而被固定在胞浆中;也可能由于结合于另1个蛋白质而增加蛋白质的核摄入。目前发现以入核运送方式调节转录因子活性的作用机制有以下几种:

4.1 对NLS蛋白直接进行磷酸化

SV40大T抗原NLS的体内实验中观察到,NLS两侧的序列可以影响入核运送的速率和效率。进一步的研究发现这种效应是磷酸化介导的。NLS

的N端一侧的一段序列可以被casein kinase II (CK II)作用^[16],结果大大增加SV40-NLS驱动的入核运送;NLS附近的另一个特异性磷酸化作用位点是细胞分裂控制激酶(cell division control kinase, CDK) p34^{cdc2}作用位点,该位点的磷酸化降低入核运送的程度^[17]。酵母转录因子SW15的核定位作用也受到上述类似的磷酸化作用的调节。

最近,还报道nucleoplasmin的核-胞浆运输也因CK II的磷酸化而得到加强,其NLS侧翼也存在p34^{cdc2}的作用位点。另外,人p53、小鼠cAbl和c-Myc及多瘤病毒T抗原等蛋白的NLS侧翼都含有CK II或p34^{cdc2}的磷酸化位点。在迄今为止发现的所有蛋白质中,CK II磷酸化对蛋白质入核运送均为增强作用,而p34^{cdc2}或CDKs的磷酸化均为负作用(图2a、2b)^[15]。

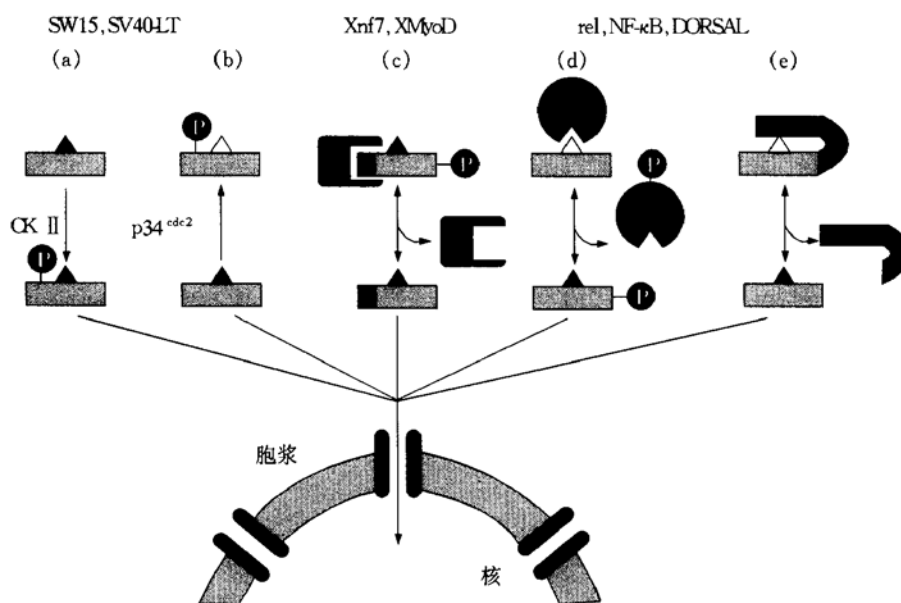


图2 转录因子核定位调节机制的模式

NLS驱动的入核运送的效率受到NLS邻近因子的磷酸化的调节,包括CK II的正调节(a)或cdc2激酶的负调节(b)。胞浆锚蛋白与转录因子的胞浆滞留区作用,使转录因子滞留在胞浆里(c)。由于与抑制剂的分子间相互作用(d)和分子内部C端的一段可被蛋白水解掉的序列的分子内相互作用(e)转录因子上的NLS被暂时遮蔽。大多数情形下,磷酸化-脱磷酸化的作用(标为P)引发蛋白质构象变化,使转录因子得以入核。

■: 转录因子; ▲: 高效NLS; △: 低效NLS; ●: 磷酸化; □: 胞浆锚蛋白; |: 胞浆滞留区; ●: 入核运送抑制剂; —: 蛋白前体区。

除了CK II和p34^{cdc2},其他一些激酶尤其是蛋白激酶A (protein kinase A, PKA),也参与了蛋白质的入核运送。例如,PC12细胞中,转录因子NFIL-6正常定位于细胞浆中,但forskolin处理后(胞内cAMP水平升高),它主要位于核内,同时NFIL-6的磷酸化程度增加^[18]。鸡c-Rel蛋白(胞

浆型)和其原癌基因形式v-Rel(核型)的转运的研究表明,PKA的直接磷酸化作用可以影响蛋白质入核运送。在Rel家族的几种成员(c-Rel、v-Rel、NF-κB和DORSAL)中的NLS附近都存在PKA的作用位点,该位点的磷酸化具有核定位作用。

转录因子上NLS附近某位点的直接磷酸化在

蛋白质的入核运送过程中起着关键作用, 它对入核运送效率的影响机制可能是干扰了静电环境或修饰 NLS 的可接近性, 从而改变了 NLS 与核定位信号结合蛋白 (NLS binding protein, NBP) 的相互作用.

4.2 与抑制剂相互作用的调节

一些转录因子与抑制剂结合时, 其 NLS 被遮蔽, 因而转录因子滞留在胞浆中, 如 NF- κ B 转录活性的调控. 许多细胞中, NF- κ B 与抑制蛋白 I- κ B 结合时位于胞浆中, 经适当的信号或丝裂原 (佛波脂、植物凝集素) 或细胞因子 (白细胞介素、肿瘤坏死因子) 刺激后, 诱导磷酸化, 激活 NF- κ B, 释放 I- κ B, 随后发生迅速的核内转运^[19]. 在核内 NF- κ B 刺激或抑制其靶基因的转录. 果蝇 DORSAL 蛋白的入核运送机制与 NF- κ B 的十分类似. NLS 区域被其他分子遮蔽很可能是产生一种空间位阻, 妨碍了 NBP 与 NLS 的相互作用. c-Rel C 端序列和它的胞浆锚定蛋白质的作用, 可能就是遮蔽了 c-Rel 的 NLS (图 2d).

造成 NLS 序列的空间位阻的另一种相关机制是含 NLS 蛋白的 C 端自身折叠. 蛋白水解去掉折叠的 C 端将解除对 NLS 序列的遮蔽 (图 2e).

与抑制剂的作用相反, 许多转录因子与其他蛋白质形成复合物时处于激活状态, 被转运到细胞核内. 这种通过蛋白质的聚合作用增加入核运送的方式是另一种调节转录的作用方式.

4.3 不依赖于 NLS 的胞浆锚定机制

有些转录因子的核定位与 NLS 的状态无关, 而是受特异胞浆锚定机制 (cytoplasmic anchoring mechanism) 的调节 (图 2c). 最好的例子是爪蟾卵细胞 xnf7 的调节. xnf7 有一顺式胞浆滞留区 (cytoplasmic retention domain, CRD). 缺失分析研究表明, CRD 具有很强的锚定蛋白的功能, 即使第 2 个 NLS 序列加到 C 端, xnf7 仍然滞留在胞浆中. CRD 上的 p34^{cdc2} 位点脱磷酸化后引起 CRD 失活, CRD 的锚功能丢失, xnf7 方可入核^[20]. 在爪蟾肌原因子 XMyoD 上也表现出类似的 CRD 调节方式.

4.4 蛋白激酶和细胞因子的入核运送

蛋白激酶除通过修饰转录因子或相关因子来影响蛋白质的入核运送外, 其自身的磷酸化和胞内分布状况也影响基因的转录. 如 PKA 催化亚基在核中的聚集降低, 将减少 cAMP 依赖的基因 (包括 R II β 、THS 受体、甲状腺球蛋白等) 的表达^[21]. 一些通过 cGMP 依赖的蛋白激酶而进行的基因表

达也需要该激酶的核转位^[22].

蛋白激酶的入核与转录因子的入核不尽相同. 许多非膜连的蛋白激酶穿梭于胞浆和细胞核之间, 这类激酶的 NLS 序列最小单位中往往含有一个 His 残基或在 NLS 附近含有疏水或芳香氨基酸, 其作用可能是使 NLS 信号变弱, 只有一部分激酶进入细胞核, 一部分仍在胞浆中, 而且进入核的激酶在核内的滞留能力也不强^[23]. 几种细胞因子的结构分析表明, 它们不含亲核信号. 推测细胞因子通过与相应的 CDK 结合或与特异的转录因子结合进入细胞核. 如 cyclin B 与 CDC2 结合转运入核^[23].

4.5 入核运送装置的调节

入核运送调节除了只涉及待输入蛋白质或者是与之相作用的因子, 现在越来越清楚的是蛋白质入核运送的控制更通常的是通过调节入核运送装置成员的活性来实现的.

不同大小的 nucleoplasmin 覆盖金粒 (coated gold particles) 实验研究表明^[24], 生长抑制期的细胞核孔通道有效直径 (核孔中心区) 明显低于细胞增殖期的有效直径. Nucleoplasmin 覆盖金粒的核摄入在增殖细胞的核中显著增加, 可能核孔通透性或数目发生了改变. 与此相一致的是与基因表达 (c-Fos, c-Myc) 或复制 (DNA 聚合酶 α 和细胞核增殖抗原 (proliferating-cell nuclear antigen, PCNA)) 有关的四种蛋白质的核/浆分布明显地随着细胞周期的进程而改变. 血清饥饿的 NIH3T3 细胞里, 蛋白质都聚集在胞浆中, 血清刺激后首先启动 c-Fos 和 c-Myc 的核转位, 随后是 PCNA 和 DNA 聚合酶 α 的转位. 可见, 核摄入动力学是随着每一种蛋白质在细胞周期中所需要的精确时间而进行的, 即通过控制转录所需蛋白质的入核时间来控制基因的转录^[25].

最近, 已经发现 MyoD、SRF 两种转录因子的入核运送需要 PKA 活性, 但它们都不是直接被 PKA 磷酸化. 然而在几种 NBP 和核孔蛋白上发现一些激酶 (包括 PKA 和 PKC) 的磷酸化位点. 说明 PKA 对入核运送的调节除了对转录因子直接磷酸化, 还可能对入核运送下游过程有影响的一些因子进行磷酸化, 间接影响转录因子的活化. 如对 NBP 或核孔蛋白等的磷酸化, 使转录因子不能与 NBP 相互作用或不能接近核孔, 降低它的入核运送速率.

核-浆传输机制的阐释进一步丰富了胞浆转录因子控制基因转录的模式. 以上描述的不同机制

中, 一个明显的共同特征是, 可逆的磷酸化是启动核转位的一种直接的和导向的手段. 它通过打开 NLS 的遮蔽、释放结合的抑制子、遮蔽锚区或激活入核转运装置来启动核转位. 与此相关的激酶 CK II、CDK、PKA 等对蛋白质的核运送的控制预示着将打开一连串潜在的调节通路. 与激酶作用相反的磷酸酶的性质、功能和调节还有待研究, 入核运送过程中 PKA 的靶物质和 PKA 的活性等问题也还有待确定.

参 考 文 献

- Dingwall C, Sharnick S V, Laskey R A. A poly peptide domain that specifies migration of nucleoplasmin into the nucleus. *Cell*, 1982, **30** (2): 449~ 458
- Hall M N, Hereford L, Herskowitz I. Targeting of *E. coli* β -galactosidase to the nucleus in yeast. *Cell*, 1984, **36** (4): 1057~ 1065
- Garcia-Bustos J, Heitman J, Hall M N. Nuclear protein localization. *Biochim Biophys Acta*, 1991, **1071** (1): 83~ 101
- Eguchi H, Ikuta T, Tachibana T, *et al.* A nuclear localization signal of human aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator/hypoxia-inducible factor 1 β is a novel bipartite type recognized by the two components of nuclear pore-targeting complex. *J Biol Chem*, 1997, **272** (28): 17640~ 17647
- Roberts B L, Richardson W D, Smith A E. The effect of protein cortex on nuclear location signal function. *Cell*, 1987, **50** (3): 465~ 475
- Richardson W D, Mills A D, Dilworth S M, *et al.* Nuclear protein migration involves two steps: rapid binding at the nuclear envelope followed by slower translocation through nuclear pore. *Cell*, 1988, **52** (5): 655~ 664
- Newmeyer D D, Lucocq J M, Burglin T R, *et al.* Assembly *in vitro* of nuclei active in nuclear protein transport: ATP is required for nucleoplasmin accumulation. *EMBO J*, 1986, **5** (3): 501~ 510
- Roberts B. Nuclear location signal-mediated protein transport. *Biochim Biophys Acta*, 1989, **1008** (3): 263~ 280
- Sweet D J, Gerace L. Taking from the cytoplasm and giving to the pore: soluble transport factors in nuclear protein import. *Trends Cell Biol*, 1995, **5**: 444~ 447
- Moroianu J. Molecular mechanisms of nuclear protein transport. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 1997, **7** (1~ 2): 61~ 72
- Schlenstedt G. Protein import into the nucleus. *FEBS Lett*, 1996, **389** (1): 75~ 79
- Paschal B M, Gerace L. Identification of NTF2, a cytosolic factor for nuclear import that interacts with nuclear pore complex protein p62. *J Cell Biol*, 1995, **129** (4): 925~ 937
- Shulga N, Roberts P, Gu Z, *et al.* *In vivo* nuclear transport kinetics in *Saccharomyces cerevisiae*: a role for heat shock protein 70 during targeting and translocation. *J Cell Biol*, 1996, **135** (2): 329~ 339
- Radu A, Blobel G, Moore M S. Identification of a protein complex that is required for nuclear protein import and mediates docking of import substrate to distinct nucleoporins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92** (5): 1769~ 1773
- Vandromme M, Gauthier-Rouviere C, Lamb N, *et al.* Regulation of transcription factor localization: fine-tuning of gene expression. *Trends Biochem Sci*, 1996, **21** (2): 59~ 64
- Rihs H P, Jans D A, Fan H, *et al.* The rate of nuclear cytoplasmic protein transport is determined by the casein kinase II site flanking the nuclear localization sequence of the SV40 T-antigen. *EMBO J*, 1991, **10** (3): 633~ 639
- Jans D A, Ackermann M J, Bischoff J R, *et al.* p34cdc2-mediated phosphorylation at T124 inhibits nuclear import of SV-40 T antigen proteins. *J Cell Biol*, 1991, **115** (5): 1203~ 1212
- Metz R, Ziff E. cAMP stimulates the C/EBP-related transcription factor rNFIL-6 to translocate to the nucleus and induce c-fos transcription. *Genes Dev*, 1991, **5** (10): 1754~ 1766
- Shirakawa F, Mizel S B. *In vitro* activation and translocation of NF- κ B catalyzed by cyclic AMP-dependent protein kinase and protein kinase C. *Mol Cell Biol*, 1989, **9** (6): 2424~ 2430
- Li X, Shou W, Kloc M, *et al.* Cytoplasmic retention of *Xenopus* nuclear factor 7 before the mid blastula transition uses a unique anchoring mechanism involving a retention domain and several phosphorylation sites. *J Cell Biol*, 1994, **124** (1~ 2): 7~ 17
- Amabile G, Cassano S, Li Y, *et al.* The v-Ki-Ras oncogene alters cAMP nuclear signaling by regulating the location and the expression of cAMP-dependent protein kinase II β . *J Biol Chem*, 1996, **271** (28): 25350~ 25359
- Gudi T, Lohmann S M, Pilz R B. Regulation of gene expression by cyclic GMP-cation of a nuclear localization signal. *Mol Cell Biol*, 1997, **17** (9): 5244~ 5254
- Boulukas T. Nuclear import of protein kinases and cyclins. *J Cell Biochem*, 1996, **60** (1): 61~ 82
- Feldherr CM, Akin D. The permeability of nuclear envelope in diving and non-diving cell cultures. *J Cell Biol*, 1990, **111** (1): 1~ 8
- Vriz S, Lemaitre J-M, Leibovici M, *et al.* Comparative analysis of intracellular localization of c-Myc, c-Fos and replicative proteins during cell cycle progression. *Mol Cell Biol*, 1992, **12** (8): 3548~ 3555

Nuclear Import of Proteins and Its Role in Regulation of Gene Expression. CHEN Xi (Cardiovascular Institute and Fuwai Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100037, China).

Abstract The import of proteins into nucleus is targeted by nuclear localization signal (NLS) in the protein molecule. The proteins containing NLS bind the specific NLS-receptors, then cross nuclear pores and translocate into nucleus. The process of nuclear import requires the activation of cytosolic transport factors, nuclear pore complexes and the components of import machinery. When NLS is modified or masked it can not be recognized by components of the machinery, so the NLS-proteins are retained in the cytoplasm before the masks are released. Controlling the activities of transcription factors through modulating nuclear import of the proteins leads a new concept of regulation of gene expression and constitutes a regulatory level in cellular growth and differentiation.

Key words nuclear import of proteins, nuclear localization signal, gene expression regulation