

· 综述 ·

核定位信号结构特点及工作原理

王殿丽

核内的功能蛋白包括转录因子、剪接因子和其他的核蛋白,它们在胞浆中合成,通过本身的核定位信号与人核转运受体结合形成复合物,然后通过细胞核膜上的核孔复合体进入核内发挥它们的生物学功能。而要研究这些核蛋白的入核机制,可能会有许多问题萦绕脑中,例如:什么是核定位信号?它的结构特点是什么?它的工作原理是什么?通过什么样的方式才能预测核定位信号?入核转运的结构基础是什么?入核转运的影响因素有哪些?本篇综述通过核定位信号的结构和特点、影响核定位信号依赖的蛋白质入核转运的因素、入核转运的工作原理、入核转运的结构基础等几方面内容,目的是使那些准备研究蛋白质入核机制,但是对核定位信号及其相关研究都不熟悉的研究者对核定位信号及其工作原理有个初步的认识,为将来的实验设计打下一个良好的基础。

一、核定位信号的结构和特点

在真核动物细胞中,细胞的核膜是由外膜和内膜组成的磷脂双分子结构,核膜将细胞核的基因材料和转录与胞浆的翻译和代谢系统分开,它不是一个虚设的,没有功能的障碍物,它对进入细胞核的分子有严格的要求。核内的功能蛋白包括转录因子、剪接因子和其他的核蛋白,它们在胞浆中合成,然后通过细胞核膜上的核小孔复合体(nuclear pore complex, NPC)进入核内。

核定位信号(nuclear localization signals, NLS)是核内功能蛋白进入细胞核的结构基础,NLS是一段含碱性氨基酸的短肽,是介导某些蛋白入核的一段充分而必要的信息片段^[1]。转录因子等核输入受体蛋白通过结合和识别货物蛋白的核定位信号才能以货物-转运受体蛋白复合体的形式通过核膜的NPC进入核内,1982年Laskey等^[2]发现核内含量丰富的核质蛋白(nucleoplasmin)C-端有一个信号序列,可引导蛋白质进入细胞核,称作NLS。第一个被确定的NLS是病毒SV40的T抗原,它在胞质中合成后很快积累在核中。主要氨基酸序列为126Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val13,其NLS为:Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val,主要氨基酸残基为中间5个连续带正电的氨基酸残基(碱性氨基酸)(Lys-Lys-Lys-Arg-Lys),其反向序列就丧失了核输入的功能^[3]。而且此NLS的第3个氨基酸,即Lys突变为Thr,其核输入功能也丧失^[4]。在多种其他蛋白质中也发现SV40的T抗原的NLS的同源序列,其基本结构为Lys-Arg/Lys-X-Arg/Lys。

经典的核定位信号由核心NLS及其旁侧的调控顺序构成^[5]。其氨基酸残基的组成决定了信号的强弱,通常碱性氨基酸形成强的入核信号,而中性或酸性氨

作者单位:116027 大连市,大连市第二人民医院

通讯作者:王殿丽,Email: sunnysky1996@126.com

基酸的存在会减弱其信息的强度以致成为不完全的 NLS。核心的 NLS 旁侧为调控顺序,以多个丝氨酸或苏氨酸残基为特征。这些羟基氨基酸残基是胞内多种激酶-磷酸酶系统的靶点,通过其磷酸化和去磷酸化作用调节 NLS 信号的强度。经典的 NLS 的结构标准为(1)核心 NLS 由含 4 个赖氨酸或者精氨酸的六肽构成;(2)不含酸性氨基酸和大分子的氨基酸;(3)核心 NLS 的旁侧为脯氨酸或甘氨酸;(4)旁侧顺序中部存在疏水氨基酸以保证 NLS 位于蛋白质的分子表面^[6]。

核定位信号通常由 4~8 个碱性氨基酸残基(Pro、Lys 和 Arg)组成,并且完成核输入后不被切除。按照碱性氨基酸残基的分布情况,核定位信号通常分 2 类,第一类是经典的核定位信号,包括两种;第 1 种由 5~10 个富含碱性氨基酸残基的基序构成,即单簇碱性氨基酸残基组成,称做 monopartite NLS,如 SV40 的 T 抗原^[7]。第 2 种由两簇碱性氨基酸残基组成的核定位信号(bipartite NLSs)又称双向核靶序列(bipartite nuclear target sequence),其中间包含一段 5~20 个氨基酸残基组成的间隔序列,如 nucleoplasmin 和 BRD7^[8]等;在由两簇碱性氨基酸残基组成的核定位信号序列中,这两簇氨基酸相互依存、缺一不可,共同决定蛋白的胞核定位;通常上游簇碱性氨基酸残基较短,仅含 2 个赖氨酸或精氨酸残基,而下游簇碱性氨基酸残基则类似于完整的单簇碱性氨基酸残基组成的核定位信号。在构成上由于上游簇碱性氨基酸残基的存在使要求相对宽松。第 2 类是非经典的核定位信号在序列构成上没有明显的特征,其碱性氨基酸残基不单独成簇,没有明显的富集现象,如 PTHrP, ribosomal protein S2^[9, 10]等。经典的核定位信号通常由核转运受体 importin α/β 1 识别,非经典的核定位信号在构成上没有明显规律,由 importin β 同系物识别。最近在研究 ARNT(arylhydrocarbon 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^[11]。

NLSs 一级结构不同,但均存在多个碱性氨基酸,提示它们可通过 NLSs 的正电荷与细胞表面的负电荷相互作用进入细胞^[12]。最近的工作显示增加肝素的浓度可竞争 TAT-NLS 的入核转运。细胞表面带有负电荷的硫酸乙酰肝素(heparin-sulfate, HS),与肝素在结构上非常相似,推测 HS 是体内 NLSs 的入核转运的中介物。与这种推断一致的是,不能合成完整 HS 蛋白多糖的细胞,或多或少地降低 NLS-融合蛋白的入核转运。HS 介导入核的更直接的证据是用主要作用于 HS 的肝素酶 III(heparinase III)或抗 HS 抗体处理细胞后,入核转运的减弱程度与酶或抗体的量成正比。另外,使用糖胺聚糖裂合酶选择性地降解 HS 侧链可竞争性抑制 TAT-NLS 的跨膜转运^[13]。

核定位信号的调节还表现出一种弱信号的加合作用。Roberts 等^[14]将 SV40T 抗原的一种微弱激活的 NLSK128R 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。

目前核定位信号常见的在线预测手段包括 <http://www.expasy.org/tools/scanprosite/>、<http://cubic.bioc.columbia.edu/predictNLS/>和 <http://psort.nibb.ac.jp/form.html> 等。核定位信号预测的结果均必须通过实验手段来进行证实。目前常见的证实方法包括:(1)是否具有介导异源胞浆蛋白或胞浆核泛表达蛋白(如 GFP 等)胞核定位的功能^[15];(2)缺失突变或关键碱性氨基酸残基点突变后的蛋白突变体是否改变原有野生型蛋白的定位模式,如胞核定位转变为胞浆定位或胞浆核分布转变为单纯的胞浆分布等^[16]。

二、入核转运的结构基础

1. 核孔复合体(NPC):细胞核膜是由外膜和内膜组成的磷脂双分子层结构,同时镶嵌一些核孔复合体(NPC)。每个 NPC 由对称的 8 分子辐蛋白(spoke)将内、外两层核膜黏在一起且 8 分子辐蛋白相互围成一疏水孔道;孔中心有一中央孔栓(central plug transporter),中央孔栓控制着生物大分子出入 NPC 的速率或启闭;辐蛋白与内层核膜融合为一胞质环(cytoplasmic ring),胞质环引出八根长 30 ~ 50 nm 游离于胞质的胞质纤丝(cytoplasmic filament);同样,辐蛋白与外层核膜融合成一核质环(nuclear ring),核质环上引出八根长 100 nm 提篮纤丝(basket filament),然后由一根终末环(terminal ring)将提篮纤丝的另一端连在一起形成提篮样网筐(nuclear basket)结构。核质环直接与核内核纤层蛋白(nuclear lamina)相连,终末环与核内纤丝样核网格(nuclear lattice)骨架蛋白相连,形成核内复杂的高级网格骨架基础^[17]。NPC 的孔径为 25 nm,中心通道的直径约为 9 nm。NPC 是一种具有分子筛功能的孔状结构,可以允许分子量少于 40 ~ 50 kD 的小分子物质(如离子、代谢底物和小分子蛋白等)以弥散方式自由通过;而分子量超过此范围或直径大于 6 nm 的生物大分子(如 RNA 与蛋白质等)则必须在胞浆内可溶性转运受体蛋白的介导下,以能量依赖的方式进行主动转运^[18]。NPC 是蛋白出入细胞核的生理屏障,其数目、分布和密度与细胞代谢活性有关。哺乳动物核孔复合体含有约 30 多种核孔蛋白(nucleoporin),其中有些蛋白质具有多个拷贝形成 100 多个蛋白组成的大分子复合体,分子量约 125 mDa^[19, 20]。在脊椎动物中,已知的只有两个核孔蛋白 Pom121 和 gp210 是跨膜蛋白,具有将核孔锚定在核膜上的作用^[21]。其他核孔蛋白均为可溶性蛋白,且多数在胞质和核质中对称分布^[20]。这些核孔蛋白在进化上高度保守,其中许多均包含一簇由苯丙氨酸(phe, F)和甘氨酸(Gly, G)组成的 FG 重复序列^[22, 23]。这个 FG 重复区能够与核转运受体 importin β 或 importin β 的同系物发生交互作用,并提供核转运受体与货物蛋白复合体的结合位点,从而使之通过核孔复合体进入细胞核内^[24, 25]。近年来新的研究结果表明,非对称分布的 FG 重复区在蛋白的核浆转运过程中作用不明显,但对称分布的 FG 重复区在蛋白的核浆转运和细胞生存过程中发挥十分关键的作用。大

量研究发现, RanBP2、CAN 及其他不对称分布的核孔蛋白在核输入前后“核转运受体-货物蛋白复合体”的组装和解离中充当“platforms”。

2. 核转运受体:核转运受体在货物蛋白的运载过程中发挥了决定性的作用。Karyopherin 是一类与核孔选择性运输有关的蛋白家族,相当于受体蛋白。大多数核转运受体属于结构上比较保守的 RanGTP 结合蛋白家族的成员^[26]。核转运受体包括 importin α (karyopherin α) 和 importin β (karyopherin β) 两个家族。importin α 家族为 NLS 的受体,是分子量 60 kD 的蛋白。Importin α 在核定位的过程中相当于连接器的作用。Importin α 被分成 3 个结构单元:中部为 10 个 Armadillo (ARM) 重复的 NLS 结合域、未知功能的亲水 C-端和带正电的既能结合 ARM 域又能结合 importin β 1 的自抑制 N-端域、游离的 importin α , 其 N-末端的 NLS 样片段能分子内结合自身的 ARM 域,显著地降低 importin α 对外源 NLS 的亲性和性^[27]; importin α/β 1 异源二聚体对 NLS 的亲性和性比 importin α 单独对 NLS 的亲性和性高得多^[28]。因为 importin α 与 importin β 结合破坏了分子内作用,增强了 importin α 对 NLS 亲和力。不同的 NLS 具有不同的 importin α 受体,且存在亲和力的差异,通过亲和力的差异可对 NLS 依赖的蛋白入核过程进行调节。在哺乳细胞中,importin α 蛋白家族包含 6 个成员,即 importin α 1/Rch1、importin α 3/Qip1、importin α 4/hSRP1 γ 、importin α 5/hSRP1、importin α 6 和 importin α 7^[29]。Importin α 1 主要识别具有经典核定位信号的货物蛋白。Importin β 能识别和结合 NPC 的核孔蛋白,在蛋白的核转运过程中发挥重要作用,该蛋白家族成员众多,与 importin β 均具有高度的同源性。按照它们运载蛋白的方向,主要分为核输入受体和核输出受体。

3. RanGTP 蛋白:Ran 蛋白是 GTPases 蛋白超家族的一个成员。Ran 蛋白可以在 GDP 结合与 GTP 结合两种形态之间转变。Importin β 与 RanGTP 和 RanGDP 的状态密切关联。一般情况下,importin β 的入核需要 RanGDP,而出核需要 RanGTP。RanGDP 和 RanGTP 之间的转换主要依赖于核孔复合体周围的微环境;在核质中,高浓度的 Ran-GTP 结合与之有高亲和力的 importin β ,而排斥 importin α 和货物,通过解离输入复合物而将货物卸载。Ran 自身的 GTPase 活性很低,其活性可以被下述调节物所调节:(1) RanGAP1,是目前所知唯一的一种 Ran-GTP 活化蛋白,与 RanBP1 结合后,使 Ran 的 GTPase 活性增强;(2) 鸟苷酸交换因子 (guanosine exchange factor, GEF) RCC1 是 Ran 最重要的核苷酸交换因子,与染色质结合在一起,可以在细胞核内刺激 Ran-GDP 转化为 Ran-GTP。上述两种 Ran 调节物的体内分布具有明显的隔室化特征,RanGAP1 主要存在于胞质,而 RCC1 主要分布于细胞核内,因而可以解释为什么细胞核内 Ran-GTP 浓度很高,而胞质内 Ran-GDP 呈高浓度状态。但这种隔室化分布可以受制于其和某些 Ran 结合蛋白 (RanBPs) 的选择性相互作用。在胞质中,对 Ran-GTP 有高亲和力的 RanBP1 促进 Ran-GTP 从转运受体和输出货物解离,并协同 RanGAP1 激活 Ran-GTP 水解成 Ran-GDP; Ran-GDP 则依赖 NTF2 被摄入核内,由 RCC1 介导核苷酸转换再生

Ran-GTP,如此循环反复。在这里要说明的是 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^[30]。

4. 入核转运的工作原理:NLS信号依赖的蛋白质入核是能量依赖的,低温或者植物的凝集素可抑制的过程。NLS位信号依赖的蛋白入核分为两步^[31]。第一步,蛋白的NLS为受体识别形成核孔定位复合物(nuclear pore targeting complex, PTAC)^[32],定位到NPC的胞质侧。在这一步里有几个重要的成分:核转运受体 importin α 和 importin β , RanGTP 蛋白,货物蛋白的NLS,其中RBP2(一种NUP)在这个过程中起到了装配和解离PTAC的作用。

其基本过程主要包括^[33](1)Importin β -RanGTP复合体在NPC的胞质面与RanBP2结合;(2)货物蛋白通过importin α 结合在importin β 和RanBP2上;(3)在RanGTP酶活化因子、RanBP1和RanGAP1等作用下,形成RanGDP/importin α /importin β /货物蛋白的转运复合体;importin α 在核转运蛋白复合体中主要起连接器作用,它一方面连接被运载的货物蛋白,另一方面连接核输入过程中起关键作用的核转运因子importin β 或importin β 同系物。在“货物蛋白-importin α/β 复合体”的入核过程中,通过importin β 或其同系物识别和结合在核孔蛋白上的FG重复区,从而将货物通过核孔复合体屏障转运到细胞核内。非经典入核方式的和经典的不同之处在于它不需要importin α ,其他的过程与经典的入核过程相似。

这两种途径交汇于NUP153^[34],importin β 与NUP153的FG重复序列结合,使PTAC通过NPC,进入核内。进入核内以后PTAC在RCC1(鸟苷酸交换因子)的作用下,GDP转变为GTP,importin α 和货物蛋白从PTAC中解离出来。importin β 通过与GTP结合通过核孔复合体从核质回到胞质。酵母MatA2DNLS正电含量少,但通过经典的途径入核。M9NLS来源于hnRNPA1,为一段富含甘氨酸的氨基酸顺序,可于核质间进行穿梭。其入核机制与经典NLS不同,受体为karyopherin $\beta 2$ (importin β 的类似物)而无需importin α 。

NLS信号依赖的蛋白质入核,一旦核定位信号区发生关键碱性氨基酸残基的突变^[35]或源于蛋白构象的改变而导致核定位信号不能有效暴露以及胞浆内其他抑制蛋白的锚定作用而导致核定位信号区被掩盖^[36]等,必将影响蛋白入核而发生胞浆到胞核的移位障碍,从而影响该蛋白在核内功能的正常发挥。

4. 影响核定位信号依赖的蛋白质入核转运的因素:核定位信号依赖的蛋白质入核的过程中,其上的NLS的掩盖与暴露在调节蛋白质核转运的过程中具有重要作用。如NF- κ B中的p50/p105蛋白质的核转运即呈现这种调节,由于p50的NLS暴露在外而可以被转运入核,但p105则因其NLS被遮盖(masking)而不能转位于核。转位入核的NF- κ B本身又诱导I κ B产生,这种新合成的抑制物再转位入核,从DNA上取代NF- κ B,因而在终止NF- κ B信号中发挥负反馈调节作

用。这种 NLSs 的遮盖往往是通过与其他蛋白质的相互作用或自身构象的变化而实现的。蛋白磷酸化可以使 NLSs 遮盖,但亦有些含 NLSs 的蛋白质磷酸化后可暴露其 NLSs 而加速入核的速率。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^[37],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-controkinase, CDK) p34cdc2 作用位点,该位点的磷酸化降低入核运送的程度^[38]。另外, NLSs 依赖的蛋白质的核转位需要多种因素从不同水平发挥作用,包括 nucleoperins, 特异性停靠蛋白(specific docking proteins)、分子伴侣(molecular chaperones)、GTP 结合蛋白复合物和其他有关调节蛋白,如胞质滞留因子(cytoplasmic retention factors)和激酶/磷酸化等因素,在上述诸因子的共同作用下,使细胞核转运功能系统具有高度的特异性。

三、展望

NLS 介导的蛋白入核是细胞内信号传递网络中核质物质信息交流的重要一环,对细胞的增殖、分化和调节及转化起关键性的作用,因而对 NLS 的研究已经成为生命科学研究的热点。NLS 作为顺式元件,使外界干预胞内信息的一个靶点,近来在遗传病、自身免疫性疾病、退行性疾病、特别是病毒感染中得到了深入的研究,另外,利用 NLS 片段作为载体用于基因的高效转化和疾病的导向治疗也初见端倪。NLS 作为一新发展起来的载体,能转运蛋白质、DNA、ON 和化学治疗药物等,说明 NLS 在运载外源物质上具有通用性。但不同的载体对不同物质的运载效率可能不同。NLS 作为载体的优势为分子小,通透性强,毒性较低,不影响运载物质的作用,并且 NLS 与运载物质的连接方法也比较简单,如与外源蛋白的连接可通过构建表达载体;与 DNA 和 ON 的连接通过双硫键或直接混合温育即可有效结合。但 NLS 作为载体对组织细胞的选择性低。对现有的 NLS 进行修饰提高其选择性和发现其他具有转运功能的 NLS 将是未来研究的内容。

参 考 文 献

- 1 Kalderon D, Richardson WD, Markham AF, et al. Sequence requirements for nuclear location of simian virus 40 large-T antigen. *Nature*, 1984, 311:33-38.
- 2 Dingwall C, Sharnick SV, Laskey RA. A poly peptide domain that specifies migration of nucleoplasmin into the nucleus. *Cell*, 1982, 30:449-458.
- 3 Adam SA, Lobl TJ, Mitchell MA, et al. Identification of specific binding proteins for a nuclear location sequence. *Nature*, 1989, 337:276-279.
- 4 Kalderon D, Roberts BL, Richardson WD, et al. A short amino acid sequence able to specify nuclear location. *Cell*, 1984, 39: 499-509.
- 5 Bouliskas T. Putative nuclear localization signals (NLS) in protein transcription factors. *J Cell Biochem*, 1994, 55:32-58.
- 6 Hall MN, Craik C, Hiraoka Y. Homeodomain of yeast repressor alpha 2 contains a nuclear localization signal. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87:6954-6958.
- 7 Kalderon D, Roberts BL, Richardson WD, et al. A short amino acid sequence able to specify nuclear location. *Cell*, 1984, 39(3 Pt 2):499-509.

- 8 Zhou M, Liu H, Xu X, et al. Identification of nuclear localization signal that governs nuclear import of BRD7 and its essential roles in inhibiting cell cycle progression. *J Cell Biochem*, 2006, 98:920-930.
- 9 Antoine M, Reimers K, Wirz W, et al. Identification of an unconventional nuclear localization signal in human ribosomal protein S2. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 335:146-153.
- 10 Chan CK, Jans DA. Using nuclear targeting signals to enhance non-viral gene transfer. *Immunol Cell Biol*, 2002, 80:119-130.
- 11 Eguchi H, Ikuta T, Tachibana T, et al. A nuclear localization signal of human aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator/hypoxia-inducible factor 1beta is a novel bipartite type recognized by the two components of nuclear pore-targeting complex. *J Biol Chem*, 1997, 272:17640-17647.
- 12 Silhol M, Tyagi M, Giacca M, et al. Different mechanisms for cellular internalization of the HIV-1 Tat-derived cell penetrating peptide and recombinant proteins fused to Tat. *Eur J Biochem*, 2002, 269:494-501.
- 13 付爱玲, 孙曼雯. 核定位信号介导的细胞转运及其机制. *中国药理学通报* 2003, 19:1081-1083.
- 14 Roberts BL, Richardson WD, Smith AE. The effect of protein context on nuclear location signal function. *Cell*, 1987, 50:465-475.
- 15 Jain AK, Bloom DA, Jaiswal AK. Nuclear import and export signals in control of Nrf2. *J Biol Chem*, 2005, 280:29158-29168.
- 16 Zhang X, Wang KS, Wang ZQ, et al. Nuclear localization signal of ING4 plays a key role in its binding to p53. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 331:1032-1038.
- 17 李载权, 唐朝枢, 周爱儒. 生物大分子的细胞核质转运. *生理科学进展*, 2000, 31:65-68.
- 18 Kurz M, Doenecke D, Albigh W. Nuclear transport of H1 histone Meets the criteria of a nuclear localization signal-mediated process. *J Cell Biochem*, 1997, 64:573-578.
- 19 Cronshaw JM, Krutchinsky AN, Zhang W, et al. Proteomic analysis of the mammalian nuclear pore complex. *J Cell Biol*, 2002, 158:915-927.
- 20 Rout MP, Aitchison JD, Suprpto A, et al. The yeast nuclear pore complex: composition, architecture, and transport mechanism. *J Cell Biol*, 2000, 148:635-651.
- 21 Suntharalingam M, Wentz SR. Peering through the pore: nuclear pore complex structure, assembly, and function. *Dev Cell*, 2003, 4:775-789.
- 22 Ryan KJ, Wentz SR. The nuclear pore complex: a protein machine bridging the nucleus and cytoplasm. *Curr Opin Cell Biol*, 2000, 12:361-371.
- 23 Vasu SK, Forbes DJ. Nuclear pores and nuclear assembly. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, 13:363-375.
- 24 Rout MP, Aitchison JD, Suprpto A, et al. The yeast nuclear pore complex: composition, architecture, and transport mechanism. *J Cell Biol*, 2000, 148:635-651.
- 25 Ribbeck K, Gorlich D. Kinetic analysis of translocation through nuclear pore complexes. *EMBO J*, 2001, 20:1320-1330.
- 26 Conti E, Izaurralde E. Nucleocytoplasmic transport enters the atomic age. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, 13:310-319.
- 27 Moroianu J, Biobel G, Radu A. The binding site of karyopherin alpha for karyopherin beta overlaps with a nuclear localization sequence. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93:6572-6576.
- 28 Fanara P, Hodel MR, Corbett AH, et al. Quantitative analysis of nuclear localization signal(NLS)-importin alpha interaction through fluorescence depolarization evidence for auto-inhibitory regulation of NLS binding. *J Biol Chem*, 2000, 275:21218-21223.
- 29 K? hler M, Fiebler A, Hartwig M, et al. Differential expression of classical nuclear transport factors during cellular proliferation and differentiation. *Cell Physiol Biochem*, 2002, 12:335-344.
- 30 Paschal BM, Gerace L. Identification of NTF2, a cytosolic factor for nuclear import that interacts with nuclear pore complex protein p62. *J Cell Biol*, 1995, 129:925-937.
- 31 Newmeyer DD, Forbes DJ. Nuclear import can be separated into distinct steps in vitro: nuclear pore binding and translocation. *Cell*, 1988, 52:641-653.
- 32 Yoneda Y. Nuclear pore-targeting complex and its role on nuclear protein transport. *Arch Histol Cytol*, 1996, 59:97-107.
- 33 Gasiorowski JZ, Dean DA. Mechanisms of nuclear transport and interventions. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003, 55:703-716.
- 34 Shah S, Forbes DJ. Separate nuclear import pathways converge on the nucleoporin Nup153 and can be dissected with dominant-negative inhibitors. *Curr Biol*, 1998, 8:1376-1386.
- 35 Sabherwal N, Schneider KU, Blaschke RJ, et al. Impairment of SHOX nuclear localization as a cause for Leri-Weill syndrome. *J Cell Sci*, 2004, 117(Pt14):3041-3048.
- 36 孙大业, 郭艳林, 马力耕. 细胞信号转导. 第2版. 北京:科学出版, 1999. 154-157.
- 37 Rihs HP, Jans DA, 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, 10:633-639.

- 38 Jans DA, Ackermann MJ, Bischoff JR, et al. p34cdc2-mediated phosphorylation at T124 inhibits nuclear import of SV-40 T antigen proteins. J Cell Biol, 1991, 115:1203-1212.

(收稿日期:2007-07-20)

(本文编辑:王丹静)

王殿丽. 核定位信号结构特点及工作原理[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2009, 3(2): 207-214.