



硒蛋白的抗氧化性研究与第 21 个氨基酸的发现

黄开勋¹ 刘 琼² 徐辉碧^{*1}

(¹ 华中科技大学化学与化工系, 武汉 430074)

(² 深圳大学生命科学学院, 深圳 518060)

摘要: 硒是人体必需的微量元素, 以硒代半胱氨酸(Sec)的形式存在于蛋白质中作为硒酶的活性中心发挥作用, 其生物功能主要是抗氧化。由于硒与人体健康具有十分密切的关系, 所以硒蛋白的研究有着重要的理论和实际意义。本文以第一个硒蛋白细胞谷胱甘肽过氧化物酶为例, 结合作者自己的工作, 重点对该硒酶的结构、催化机制和模拟进行了综述, 并就 TGA 编码 Sec 致第 21 个氨基酸的发现以及基于硒代半胱氨酸插入元件(SECIS)的特征寻找新硒蛋白的研究进展进行了介绍。

关键词: 硒蛋白; 硒代半胱氨酸; 抗氧化; 谷胱甘肽过氧化物酶的模拟; 第 21 个氨基酸

中图分类号: O613.52; Q517

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2008)08-1213-06

Antioxidation of Selenoproteins and Discovery of 21st Natural Amino Acid

HUANG Kai-Xun¹ LIU Qiong² XU Hui-Bi^{*1}

(¹Department of Chemistry and Chemical Engineering, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074)

(²College of Life Sciences, Shenzhen University, Shenzhen, Guangdong 518060)

Abstract: This review emphasizes the progress of the first selenoprotein-glutathione peroxidase (cGPx) as an example of selenoproteins; the main contents include the structure, catalysis mechanism and the mimics. The discovery of codon character of selenocysteine as the 21st natural amino acid and the identification of new selenoproteins based on the character of SECIS by bioinformatics are also reviewed.

Key words: selenoprotein; selenocysteine; peroxides reduction; mimics of glutathione peroxidase; selenocysteine as the 21st natural amino acid

硒是人体内必需的微量元素, 硒的生物功能主要是抗氧化且以硒蛋白、硒酶形式发挥作用。在硒酶中硒以硒代半胱氨酸(Sec)的形式存在, Sec 位于硒酶的活性中心。大量流行病学研究及动物实验研究结果表明: 缺硒与许多疾病如癌症、心血管病等的发生发展密切相关。这使人们对硒蛋白的结构与功能研究及预测新的硒蛋白产生了极大兴趣。

2003 年 Kryukov 等人采用生物信息学的手段对人类基因组进行数据处理, 并用实验验证, 确定

人类基因组含有 25 个硒蛋白, 如谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、硫氧还蛋白还原酶(TR)、甲状腺脱碘酶(5-DI)、硒蛋白 P(SelP)、硒蛋白 W(SelW)等, 目前还不断有其它物种中发现新的硒蛋白的报道。所以硒蛋白的研究有着重要的理论和实际意义。

1 硒的生物化学作用主要是抗氧化

1957 年 Mills 发现了谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione Peroxidase, GPx), 同年, Schwarz 和 Foltz

收稿日期: 2008-04-15。收修改稿日期: 2008-05-20。

*通讯联系人。E-mail: hbxu@hust.edu.cn

第一作者: 黄开勋, 男, 54 岁, 教授; 研究方向: 生物无机化学。

发现了硒的营养作用^[1]。几年后,这两件当时是不相关的发现竟走到一起来了,从而奠定了硒的生物化学的基础抗氧化性。

20 世纪中期,学术界在讨论硒、维生素 E 与含硫氨基酸三者 in 生物功能方面的关系时,Rotruck 和 Hökstra 在 1969 年首先揭示了硒在谷胱甘肽过氧化物酶中的关键作用,经过多方面深入的研究,终于阐明了硒是谷胱甘肽过氧化物酶中的重要成分,它催化过氧化物还原,从而奠定了硒的抗氧化性是其生物化学基础^[2,3]。随后人们对第一个发现的硒酶-GPx 的分子结构和催化特性进行了大量的研究^[4],进一步确定了 GPx 的生物功能主要是抗氧化,这是因为 GPx 的活性区域含有 Sec^[5,6]。后来的研究发现 GPx 家族有 4 个成员,它们分别是细胞谷胱甘肽过氧化物酶(cGPx)、磷脂氢谷胱甘肽过氧化物酶(phGPx)、血浆谷胱甘肽过氧化物酶(pGPx)和肠道谷胱甘肽过氧化物酶(giGPx)。在这里以研究最多的 cGPx 为代表作一介绍。

2 细胞谷胱甘肽过氧化物酶和它的模型化合物

2.1 cGPx 的晶体结构

Epp 等^[7]对 cGPx 的晶体结构进行了深入的研究,结果显示它由 4 个球型的亚基组成,四聚体的 cGPx 属于单斜晶 C2 空间群,表现出分子[222]对称性。其晶胞大小为 $a=9.04\text{ nm}$ 、 $b=10.95\text{ nm}$ 、 $c=5.82\text{ nm}$ 、 $\beta=99^\circ 15'$ 。在 cGPx 二级结构中,氨基酸 1~22 号代表 1 个狭环,几乎与 α_3 螺旋轴平行;肽链在形成一个 β 折叠(β_1 , 残基 25~32 号)和环后,装配成 1 个 4 个圈的 α 螺旋(α_1 , 残基 36~50),其轴基本与 C 端的 α_4 螺旋和中间的 β 折叠平行。具有催化活性的 Sec 位于 α_1 螺旋第一圈的附近,而且 cGPx 对称性相关亚单位的 30~40、140~150、63~70 和 63'~69' 号氨基酸残基在晶体的表面形成了一个扁平的低凹区,该区成为酶分子的活性部位。具有催化活性的 Sec 残基就位于这个低凹处,成为酶的催化活性中心。

2.2 cGPx 的生物化学功能

cGPx 的功能在于催化谷胱甘肽(GSH)还原体内有毒的过氧化物(ROOH),包括过氧化氢(HOOH)和一些有机过氧化物,如胆固醇和长链脂肪酸的过氧化物。

cGPx 可以保护细胞免受过氧化物引起的氧化损伤。研究表明硒是酶分子起氧化还原反应的唯一

原子,其硒氢基代表酶的还原形式。当 cGPx 发挥催化作用时,其中硒的氧化态会发生变化,即从还原态变成氧化态。然后在 GSH 的作用下,使之恢复到还原态。可见 GSH 对保持酶的活性是十分重要的,其催化机理如图 1 所示^[8]。

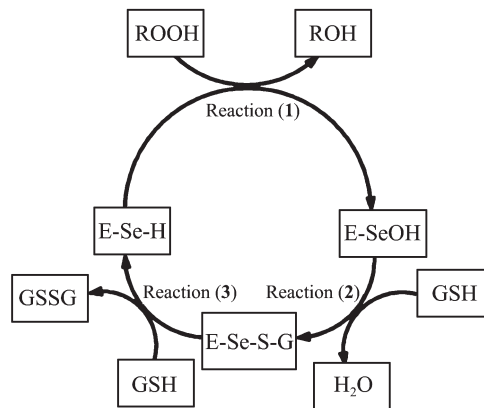
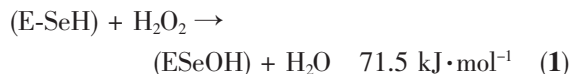


图 1 cGPx 的催化机理^[8]

Fig.1 Catalytic mechanism of cGPx

最近,Prabhakar 等^[8]采用理论计算方法进一步研究了 GPx 催化过氧化氢与 2 分子 GSH 反应的机理和相应各步的能垒,这个反应分为 3 个基元反应(如图 1):



计算结果与实验结果相当一致。但通过计算,进一步明确了其他氨基酸残基在其中的作用。如在第一个反应中,Gln83 残基作为质子受体起重要作用;第三个反应是 GPx 催化反应 $\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{GSH} \rightarrow \text{GS-SG} + 2\text{H}_2\text{O}$ 的限速步骤,Gly50 残基直接参与了反应,而且这 2 个水分子的存在起着至关重要的作用。

2.3 cGPx 的模型化合物

模拟 cGPx 的结构与功能主要包括合成小分子模型体系,以及构筑生物模型体系两大类。20 世纪 80 年代中期,在合成的小分子模拟物中以德国 Wendel 等^[9,10]研制的低分子量的硒杂环化合物 Ebselen(PZ51)最引人注目。它的稳定性好、分子量小,具有良好的抗氧化活力,且发现它具有优良的广谱抗炎活性,但它作为药物的最大缺点是水溶性很差。因此,进行高效、低毒、水溶性适度的硒酶模

拟物的研究受到人们的极大关注,至今仍然有许多工作报告。

我国生物无机化学家也在这个领域进行了研究。倪嘉缙领导的课题组在国内较早开展了硒酶的模拟研究,在有关 GPx 抗体酶和脱碘酶模拟物催化抗体方面取得了有意义的结果^[11,12]。罗贵民、刘俊秋等^[13-15]亦在该领域进行了系列研究,他们制备了具有 GPx 活力的单链抗体,在单链抗体表达载体 pTMF-2F3 上去除原 2F3 基因 N 端非必需的 18 个氨基酸,采用新的表达载体 pRose 质粒,在 2F3 的 N 端引入 13 个氨基酸的前导肽,转入 BL21(lys S) 中,使其分泌到大肠杆菌中得以表达,获得可溶性表达产物。该产物具有 GPx 活性的鼠单链抗体,其 GPx 活力为 $2530 \text{ U} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$ 。以脂质过氧化、细胞存活率和细胞膜完整性为指标的抗氧化实验研究表明,具有 GPx 活性的单链抗体对大鼠乳鼠表皮细胞有抗紫外线损伤的作用,是膜脂质过氧化反应的有效抑制剂。他们合成的小分子 GPx 模拟物 2-硒桥联环糊精(2-SeCD),活力为 $7.4 \text{ U} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$,也具有抵抗紫外线损伤细胞的能力。

2.4 硒酶小分子模拟物对活性氧自由基的清除

除硒酶的结构模拟外,硒酶小分子模拟物抗氧化性的研究也是重要的。为在体外用 ESR 直接证实硒酶小分子模拟物清除活性氧自由基(ROS, Reactive Oxygen Species)的作用,多年来,国内外在这方面已进行了不少研究。美国的 Tapple 等^[16]认为,硒可作为自由基清除剂,但清除机理没有得到实验的直接证实。

徐辉碧等为了从实验上证实硒的作用机理,进行了较系统的研究工作^[17-22]。他们运用电子自旋共振(ESR)技术,直接观察到硒化合物对生物膜磷脂之

一的卵磷脂经紫外辐照产生的脂质过氧自由基的清除作用。他们用卵磷脂的异丙醇溶液作为生物膜中部疏水区的模型体系,加入不同浓度的一系列硒化合物,在 -130°C 及有氧条件下,经紫外辐照后立即作 ESR 测试,观察到所产生的脂质过氧自由基的 ESR 信号在有硒化合物存在时明显衰减。他们确认信号衰减是硒化合物对脂质过氧自由基的清除作用所致。用上述方法,他们研究了硒化合物对多种活性氧自由基的清除作用及其作用机理,提出硒化合物是通过硒中心自由基清除脂质过氧自由基的。其可能性得到量子化学计算的支持。孙杰、徐辉碧^[23,24]对 $\text{Se}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH})_2$ 、 $\text{Se}(\text{CH}_2\text{COOH})_2$ 和 $\text{Se}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN})_2$ 等硒化合物进行了自旋非限制性(UHF)的 CNDO/2(*s-p-d*)计算。结果表明,各硒中心自由基与相应的硒化合物相比,键角 $\angle\text{SeCH}$ 较大,这表明在接近脂质过氧自由基时空间位阻较小。进一步的计算结果还表明,硒中心自由基中未成对电子主要定域于硒原子的 Px 轨道上。各原子上的净电荷分布及 Px 轨道的空间位置(图 2),都有利于捕捉亲电的脂质过氧自由基。对上述 3 种硒化合物而言,硒中心自由基中硒原子所带净电荷的大小顺序是: $\text{Se}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH})_2 > \text{Se}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN})_2 > \text{Se}(\text{CH}_2\text{COOH})_2$; 未成对电子所处轨道的能级高低顺序亦相同,而未成对电子所处轨道能级越高,就越有利于给出电子破坏亲电的脂质过氧自由基。这样,由量子化学计算所推定的硒化合物清除能力的大小顺序,与前述实验观察的结果相符,支持了硒化合物通过硒中心自由基发挥清除作用的设想。

最近 Kunwar 等^[25]报道了硒代半胱氨酸衍生物 3',3'-二硒代二丙酸(DSePA)对活性氧自由基的清除作用,他们的研究结果与我们的结果类似,发现

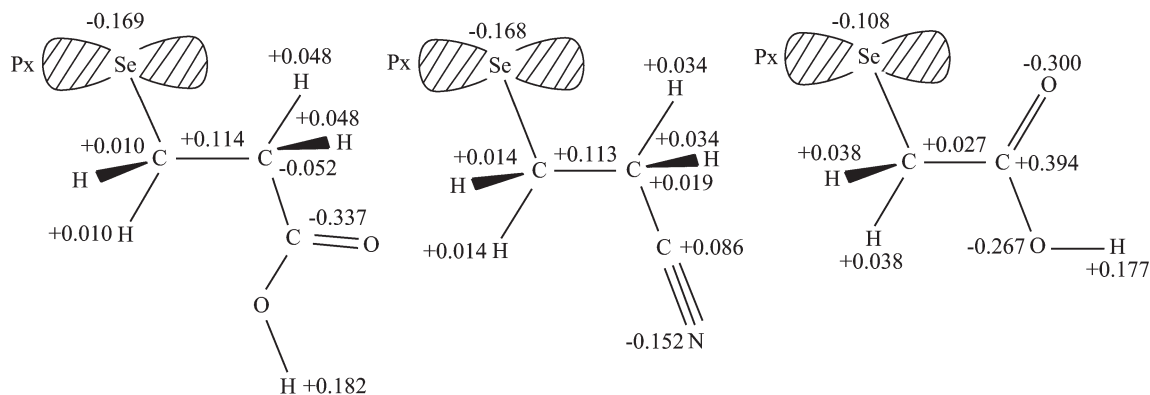


图 2 各硒中心自由基的 Px 轨道和各原子上的净电荷分布

Fig.2 Px orbitals of free radicals of individual selenium center and net charge distribution of individual atom

DSePA 是一个良好的过氧自由基清除剂,其模拟酶活性虽然小于 GPx,但它与三氯甲基过氧自由基($\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$,一种模型过氧自由基)反应的双分子速率常数达到 $2.7 \times 10^8 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$,而且 DSePA 相应于硫的化合物是 GPx 更好的反应底物,同时这个化合物的毒性非常小。

3 硒代半胱氨酸是第 21 个氨基酸及新硒蛋白的预测

3.1 硒代半胱氨酸密码子 TGA 的发现

第 1 个硒蛋白 GPx 的发现导致了第 21 个氨基酸的发现。1986 年 Chambers 和 Zinoni 分别报告了 2 种硒蛋白的基因序列,其中硒代半胱氨酸残基对应的密码子均是 TGA^[26,27]。Chambers 等采用克隆技术,得到了小鼠细胞 GPx 的 cDNA 顺序,发现与 47 号氨基酸残基(即 Sec 残基)相对应的密码子是 TGA。Zinoni 等将大肠杆菌甲酸脱氢酶的 fdhF 基因与 lacZ 基因重组在质粒 pFM54 中发现,在培养基中硒减少时,fdhF-lacZ mRNA 的产物减少,当培养基中不含硒时,翻译就终止在肽链第 140 号密码子 UGA 处。当用 UCA(丝氨酸编码)代替 UGA 时,则硒代半胱氨酸不能结合到 fdhF 产物中,而用 UGC 或 UGU(半胱氨酸编码)代替 UGA 时,则硒代半胱氨酸的结合非常少。在这些突变株中,硒的缺乏不再阻断翻译,但甲酸脱氢酶的活力下降 75%。这些研究结果说明蛋白质中的硒代半胱氨酸并非是翻译后修饰所产生的。

证明硒代半胱氨酸是在翻译中由 UGA 指导直接进入蛋白质的强有力的证据,是发现能携带硒代半胱氨酸并具有识别 UGA 码的 tRNA^{Sec} ,其反密码子为 UCA。实验结果表明带有这一基因片断的大肠杆菌甲酸脱氢酶突变株,才能合成含 Sec 的蛋白质。但 Leinfelder 等^[28,29]发现这个 tRNA^{Sec} 不能直接携带培养基中供给的游离 Sec。结合 Sunde 等人发现 Sec 残基的碳架来自丝氨酸的研究结果,他们认为蛋白质中的 Sec 残基可能是由丝氨酸上的羟基氧被硒取代而来。Mizutani^[30,31]等的研究结果也证明了这一发现。在标准条件下这个特殊的 tRNA^{Sec} 并不能与 Sec 结合。只有当 H_2Se 与一些酶共存时,微量的磷酸丝氨酰 tRNA^{Sec} 才能够转变为 $\text{Sec-tRNA}^{\text{Sec}}$ 。当酪蛋白、 H_2Se 和一些酶一起培育时,大量的磷酸丝氨酸残基能够转变为 Sec 残基。这些结果表明这个特殊的 tRNA^{Sec} 在 GPx 转录或翻译后修饰

的机理中起重要作用。而且丝氨酰 tRNA^{Sec} ($\text{Ser-tRNA}^{\text{Sec}}$)被 tRNA 激酶磷酸化,磷酸丝氨酰- tRNA 可能是 $\text{Sec-tRNA}^{\text{Sec}}$ 转变为 $\text{Sec-tRNA}^{\text{Sec}}$ 的中间产物。他们的研究结果进一步证明蛋白质中的 Sec 残基可能是由丝氨酸上的羟基氧被硒取代而来。

TGA 这个密码子原来仅视为蛋白质合成的终止码,现在看来,它也是 Sec 的密码子,故是个双功能的密码子。这样,Sec 现被认为是蛋白中天然存在的第 21 个氨基酸,这个发现是硒蛋白研究中里程碑性的进展,它揭示了硒的分子生物学基础,目前该研究还在向纵深发展。

3.2 硒代半胱氨酸的插入元件与新硒蛋白的预测

Sec 进入蛋白质受 mRNA 框内的 UGA 密码子和下游链的茎-环(stem-loop)结构所控制,这种特殊的结构称为 Sec 插入元件(SECIS)^[32-34]。UGA 密码子通常作为蛋白质合成的终止密码子,但当 mRNA 链 UGA 密码子下游链出现 SECIS 时,UGA 密码子才成为 Sec 的密码子。SECIS 都具有三段保守的碱基: AUGA-A (G)AA-GA,它们的相对位置非常稳定,如 AUGA 与 A(G)AA 相距 11~13 个碱基。SECIS 的二级结构是一种含有 2 个或 3 个环的发卡结构。SECIS 元件在真核生物和原核生物的硒蛋白 mRNA 中处于不同的位置:在原核生物中 SECIS 出现在紧邻 UGA 码下游的编码区,距 UGA 码在 3 个碱基内;而在真核生物和古细菌的基因序列中,SECIS 出现在开读框架下游的 3'-非翻译区(3'-UTR),它与 UGA 密码子之间至少要相隔 60 个碱基^[35]。

根据 SECIS 所特有的一级序列和二级结构用计算机软件在生物基因组中搜索硒蛋白已成为一个可行的手段,而且是一种重要的方法^[36-39]。1999 年 Kryukov 等^[40]就是利用这种方法对哺乳动物基因进行 SECIS 结构的检索,取得了有意义的结果。最近几年他们利用硒蛋白这一特征,先后在高等真核生物^[41]、疟原虫^[42]、大肠杆菌(*E. coli*)^[43]、线虫^[44]、马尾藻类^[45]、衣滴虫^[46]、斑马鱼^[47]等物种的基因组中发现新的硒蛋白,取得了一些重要研究进展。

我们在这个领域也进行了有益的尝试。徐辉碧等^[48]采用 RNADraw 程序对已测序的 7 类 46 个真核生物硒蛋白 mRNA 的 3'-UTR 进行二级结构研究,均找到 1 个或 2 个可能的 SECIS 结构,它们均由这种茎-环结构组成,并都具有 3 段保守碱基 AUGA-(A)AA-GA 采用该程序。对随机挑选的一些非硒蛋白基因的 3'-UTR 进行同样的处理,则均未发现类

似的 SECIS 茎-环结构, 这些结果表明 SECIS 是真核硒蛋白基因的独有特征, RNADraw 程序可通过在已测序的基因组中检索 SECIS 结构来寻找新的硒蛋白。刘琼等^[49]基于已公布的疟蚊基因组预测信息, 采用 PERL 语言编程, 对疟蚊基因组中的硒蛋白进行了计算机检索与分析, 检索到具有硒蛋白全部特点的基因 7 条。从硒蛋白的基本生物功能推测, 冈比亚疟蚊基因组中存在的新硒蛋白可能与疟蚊的氧化耐受特性及其相关蛋白的调控相关联。他们^[50]还采用同样的方法对已公布的家蚕基因组进行硒蛋白基因预测, 在家蚕数据库 18 510 个已注释基因中检索到 5 条完全具备硒蛋白特点的基因, 其中谷胱甘肽硫转移酶(GST)是一种已知微生物硒蛋白, 而其他 4 种可能是新的硒蛋白。

4 展 望

如上所述, 硒蛋白的研究虽有较大的进展, 但对已发现的有些硒蛋白, 其生物功能和结构尚不很清楚。新的硒蛋白有待发现。硒在生物医学中的应用不断在扩展, 提出了不少有关硒蛋白的问题有待研究。硒蛋白的研究是极具发展前景的方向。

参考文献:

- [1] Schwarz K, Foltz C M. *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, **79**:3292~3293
- [2] Rotruck J T, Pope A L, Ganther H E, et al. *Science*, **1973**, **179**:588~590
- [3] Flohe L, Gunzler W A, Schock H H. *FEBS Lett.*, **1973**, **32**:132~134
- [4] Ladenstein R, Wendel A. *J. Mol. Biol.*, **1976**, **104**:877~882
- [5] Cone J E, Rio R M D, Davis J M, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **1976**, **73**:2659~2663
- [6] Gunzler W A, Steffens G J, Grossmannet A, et al. *Z Physio. Chem.*, **1984**, **365**:195~199
- [7] Ladenstein R, Epp O, Huber R, et al. *Proceedings of the 2nd International Symposium on Selenium in Biology and Medicine*. Westport, Conn.: The AVI Publishing Company, **1981**.433~438
- [8] Prabhakar R, Vreven T, Morokuma K, et al. *Biochemistry*, **2005**, **44**:11864~11871
- [9] Miorelli S T, Rose R M, Moura D J, et al. *Mutagenesis*, **2008**, **23**(2):93~99
- [10] Pearson J K, Boyd R T. *J. Phys. Chem. A*, **2008**, **112** (5): 1013~1017
- [11] Fang F, Wang L, Qi X J, et al. *J. Inorg. Biol. Chem.*, **2001**, **85**:301~307
- [12] Lian G W, Ding L, Chen M, et al. *J. Biol. Chem.*, **2001**, **85** (3):28037~28041
- [13] Liu J Q, Luo G M, Ren X J, et al. *Biochem. Biophys. Acta*, **2000**, **1481**:222~228
- [14] Lü Shao-Wu(吕绍武), MU Ying(牟颖), JI Yue-Tong(籍月彤), et al. *J. Jilin University(Science Edition)(Jilin Daxue Xuebao Ziran Kexue Ban)*, **2006**, **44**(3):497~500
- [15] Liu L, Mao S Z, Liu X M et al. *J. Biomacromolecules*, **2008**, **9**(1):363~368
- [16] Zakowski J J, Tapple A L. *Anal. Biol. Chem.*, **1978**, **89**:430~436
- [17] XU Hui-Bi(徐辉碧), ZHANG Luo-Ping(张罗平), FAN Hua-Han(范华汉), et al. *Acta Chimica Sinica(Huaxue Xuebao)*, **1989**, **47**:901~906
- [18] XU Hui-Bi(徐辉碧), CHENG Yi(程驿), FENG Zhi-Ming(冯志明). *J. Huazhong University of Science and Technology (Huazhong Keji Daxue Xuebao)*, **1991**, **19**(1):1~6
- [19] CHEN Chun-Ying(陈春英), XU Hui-Bi(徐辉碧). *Acta Nutrimenta Sinica(Yingyang Xuebao)*, **1996**, **18**(1):57~60
- [20] YI Yong(易永), YANG Xiang-Liang(杨祥良), XU Hui-Bi(徐辉碧). *Acta Biochimica et Biophysica Sinica(Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Xuebao)*, **1997**, **29**(5):510~512
- [21] HU Song-Zhou(胡松洲), XU Hui-Bi(徐辉碧), LI Chong-Xi(李崇熙). *J. Inorg. Chem.(Wuji Huaxue)*, **1987**, **3**(1):100~103
- [22] ZHOU Zhi-Bin(周志彬), XIA Xiao-Ping(夏小平), XU Hui-Bi(徐辉碧). *Chinese J. Inorg. Chem.(Wuji Huaxue Xuebao)*, **1993**, **19**(4):434~437
- [23] SUN Jie(孙杰), XU Hui-Bi(徐辉碧). *J. Mol. Sci.(Fenzi Kexue Xuebao)*, **1986**, **4**(4):401~405
- [24] (a) SUN Jie(孙杰), XU Hui-Bi(徐辉碧). *J. Mol. Sci.(Fenzi Kexue Xuebao)*, **1987**, **5**(1):93~98
(b) SUN Jie(孙杰), XU Hui-Bi(徐辉碧). *J. Mol. Sci.(Fenzi Kexue Xuebao)*, **1987**, **5**(2):223~228
- [25] Kunwar A, Mishra B, Barik A, et al. *Chem. Res. Toxicol.*, **2007**, **20**:1482~1487
- [26] Chambers I, Frampton J, Goldfarb P, et al. *EMBO J.*, **1986**, **5**:1221~1227
- [27] Zinoni F, Birkmann A, Stadtman T C, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1986**, **83**:4650~4654
- [28] Leinfelder W, Zehelein E, Mandrand-Berthelot M, et al. *Nature*, **1988**, **331**:723~725
- [29] Leinfelder W, Stadtman T C, Bock A. *J. Biol. Chem.*, **1989**, **264**:9720~9723
- [30] Mizutani T, Hitaka T. *FEBS Lett.*, **1988**, **232**(1):243~248
- [31] Mizutani T, Maruyama N, Kurata H. *Nucleic Acids Symp Ser.*, **1989**, **21**:25~26

- [32]Berry M J, Lbanu, Chen Y, et al. *Nature*, **1991**,**353**:273~276
- [33]Fagegaltier D, Lescure A, Walczak R, et al. *Nucleic Acid Res.*, **2000**,**28**:2679~2687
- [34]Martin G W 3rd, Harney J W, Berry M J. *RNA*, **1998**,**4**:65~73
- [35]ZHAO Guang-Shan (赵光山), HUANG Kai-Xun (黄开勋). *Progress in Chemistry (Huaxue Jinzhan)*, **2005**,**17**(4):757~760
- [36]Yamazaki S. *J. Biol. Chem.*, **1981**,**257**:7926~7929
- [37]Halboth S, Klein A. *Molec. Gen. Genet.*, **1992**,**233**:217~224
- [38]Bult C J, White O, Olsen G J, et al. *Science*, **1996**,**273**:1058~1073
- [39]Wilting R, Schorling S, Persson B C, et al. *J. Mol. Biol.*, **1997**,**266**:637~641
- [40]Kryukov G V, Kryukov V M, Gladyshev V N. *J. Biol. Chem.*, **1999**,**274**(48):33888~33897
- [41]Mix H, Lobanov A V, Gladyshev V N. *Nucleic Acids Res.*, **2007**,**35**(2):414~423
- [42]Lobanov A V, Delgado C, Rahlfs S, et al. *Nucleic Acids Res.*, **2006**,**34**(2):496~505
- [43]Su D, Li Y, Gladyshev V N. *Nucleic Acids Res.*, **2005**,**33**(8):2486~2492
- [44]Taskov K, Chapple C, Kryukov G V, et al. *Nucleic Acids Res.*, **2005**,**33**(7):2227~2238
- [45]Zhang Y, Fomenko D E, Gladyshev V N. *Genome Biol.*, **2005**,**6**(4):R37
- [46]Novoselov S V, Rao M, Onoshko N V, et al. *EMBO J.*, **2002**,**21**(14):3681~3693
- [47]Kryukov G V, Gladyshev V N. *Genes Cells.*, **2000**,**5**(12):1049~1060
- [48]XU Hui-Bi (徐辉碧), HUANG Kai-Xun (黄开勋), QU Xiang-Hu (瞿祥虎), et al. *Chin. Science Bulletin (Kexue Tongbao)*, **2001**,**46**(7):556~558
- [49]LIU Qiong (刘琼), JIANG Liang (姜亮), CHEN Ping (陈平), et al. *Science in China C (Zhongguo Kexue C)*, **2006**,**36**(5):451~458
- [50]CHEN Ping (陈平), DUAN Jun (段军), JIANG Liang (姜亮), et al. *Chin. Science Bulletin (Kexue Tongbao)*, **2006**,**51**(21):2505~2511