

部分模式真菌中 Prp5 蛋白生物信息学分析

赵东磊 李金玉 方淑梅 韦江司 王伟 梁喜龙*

(黑龙江八一农垦大学 黑龙江 大庆 163319)

摘要:【目的】利用生物信息学方法对 7 种模式真菌中 Prp5 蛋白进行分析,为进一步研究 Prp5 蛋白在 RNA 剪接中的作用及其他独特的生物学功能提供基础。【方法】利用多种在线网站与软件分析和预测了稻瘟菌、裂殖酵母、酿酒酵母、粗糙脉胞菌、构巢曲霉、新生隐球菌、白色念珠菌 Prp5 蛋白的基本特性、二级结构、结构域及三级结构,同时对 7 种 Prp5 蛋白进行同源比对,并构建了系统进化树。【结果】所有研究蛋白均为不稳定的亲水性蛋白,稻瘟菌、粗糙脉胞菌、构巢曲霉的 Prp5 蛋白及裂殖酵母 Prp11 蛋白均呈碱性,而新生隐球菌与白色念珠菌的 Prp5 蛋白显酸性;进化分析显示稻瘟菌和粗糙脉胞菌亲缘关系最近,且 7 种模式生物被分为两个类群;二级结构以 α 螺旋为主;所有蛋白均含有 DEAD 和 Helicase_C 功能结构域;三级结构分析显示 DEAD 结构域较稳定,而 Helicase_C 结构域在空间结构上存在一定的变化。【结论】Prp5 蛋白在不同真菌中具有保守性,因此可能发挥相似的生物学功能。然而酿酒酵母 Prp5 蛋白结构上略有变化,表明其在功能上可能具有一定独特性。研究结果对指导 Prp5 蛋白的进一步研究具有一定的参考价值。

关键词: 模式真菌, Prp5 蛋白, 生物信息学, RNA 剪接

The bioinformatics analysis of Prp5 proteins in some model fungi

ZHAO Dong-Lei LI Jin-Yu FANG Shu-Mei WEI Jiang-Si WANG Wei
LIANG Xi-Long*

(Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China)

Abstract: [Objective] Prp5 proteins were analyzed by bioinformatics in seven model fungi. The purpose is to lay a foundation for further experimental study of Prp5 in RNA splicing and other unique biological function. [Methods] Some basic characteristics, secondary structure, domain and tertiary structure were analyzed and predicted using online webs and softwares in *Magnaporthe oryzae*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Neurospora crassa*, *Aspergillus nidulans*, *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans*. Meanwhile, the homologies of Prp5 proteins of seven species were compared, based on which a phylogenetic tree was plotted. [Results] The results showed that all studied proteins are unstable hydrophilic protein. Prp5 in *Magnaporthe oryzae*, *Neurospora*

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目(No. 201310223001)

*通讯作者: Tel: 86-459-6819185; 信箱: xilongliang@126.com

收稿日期: 2014-08-02; 接受日期: 2015-03-25; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-05-26

crassa, *Aspergillus nidulans* and Prp11 in *Schizosaccharomyces pombe* were alkaline proteins whereas Prp5 proteins in *Cryptococcus neoformans* and *Candida albicans* were acidic. Evolution analysis showed that the seven model fungi are divided into two groups and *Magnaporthe oryzae* and *Neurospora crassa* have the closest genetic relationship. Alpha helix is based structure. All proteins contain DEAD and Helicase_C domain. Tertiary structure analysis showed that DEAD domain is stable, while domain Helicase_C showed some changes on the spatial structure. **[Conclusion]** Prp5 protein may play similar role on account of their conservative structure in different fungi. However, Prp5 protein in *Saccharomyces cerevisiae* is a little different on spatial structure, suggesting that it may have some unique functions. These results will provide guidance for further study about Prp5 in the experiments.

Keywords: Model fungi, Prp5 protein, Bioinformatics, RNA splicing

在真核生物基因表达的过程中, 基因首先转录形成含有外显子与内含子的前体 mRNA (Pre-mRNA), 然后 Pre-mRNA 再通过剪接复合体 (Spliceosome) 催化的两步转酯反应切除内含子并将相邻的两个外显子连接, 此过程即为 Pre-mRNA 剪接 (Pre-mRNA splicing)^[1]。Pre-mRNA 剪接包括组成性剪接和选择性剪接两种方式, 是所有真核生物基因表达通路中的重要一步, 更是真核生物生长发育与进化的调控点^[2-4]。特别是在选择性剪接过程中, 依靠剪接复合体和剪接因子, 非编码的内含子可根据需要被准确高效地去除而形成多种成熟的 mRNA, 进而翻译出多种具有正常功能的蛋白质^[5-6]。这样同一个基因就可以通过选择性剪接产生多种功能有差异的蛋白质。所以, Pre-mRNA 的选择性剪接增加了高等生物基因表达的复杂性, 其对于高等生物的细胞分化与器官发育等复杂的生物学过程具有重要作用。

为此, 前人已对 Pre-mRNA 的剪接过程进行了深入研究^[7]。通常情况下, 内含子中保守的 5'剪接位点, 富含嘧啶区的分支点和 3'剪接位点对于高效准确的剪接是非常重要的^[8]。mRNA 前体的 5'剪接位点由 U1 snRNA 以碱基互补的方式进行识别, 3'剪接位点由结合在该位点上游富含嘧啶区的 U2AF 识别, 而且 U2AF 剪接因子还会引导 U2 snRNP 与分支点相结合形成剪接前体, 并进一步与 U4、U5、U6 snRNP 三聚体相结合, 形成 60S 的剪接体, 此时内含子弯曲成套索状, 上下游的外显子相互靠近, 结构调整, 并发生转酯反应, 进行 Pre-mRNA

分子的剪接^[9-10]。

Prp5 蛋白属于 DEAD/H 蛋白超家族中的一员, 是一类 RNA 依赖的 ATP 水解酶, 同时又是 RNA 解螺旋酶, 其在 Pre-mRNA 分子剪接过程中对 5'和 3'剪接位点的选择发挥重要作用^[11]。前人通过对酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 与裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*) 等研究表明, Prp5 蛋白具有与 U1 和 U2 snRNPs 相互作用的结构域, 能参与前剪接体 (Pre-spliceosome) 的组装, 并对 RNA 剪接的保守性和灵活性产生重要的调控作用, 若体系中缺少 Prp5 蛋白, 剪接体则不能形成^[10-14]。目前, 虽然对 Prp5 蛋白的功能研究相对较多, 但对于其在不同生物中结构及理化性质的差异性和保守性研究鲜见报道。例如, Dalbadie-Mcfarland 等^[15]仅通过生物信息学手段预测出了酿酒酵母 Prp5 蛋白的分子量为 96 kD。为此, 本文采用生物信息学方法对部分模式真菌中的 Prp5 蛋白进行了研究, 旨在深入分析模式真菌中 Prp5 蛋白的基本特征及其差异性, 从而为进一步试验研究非模式真菌中的 Prp5 蛋白在 RNA 剪接中的作用及其他独特的生物学功能提供基础。

1 材料与方法

1.1 模式真菌基本信息的获取与理化特性分析

研究对象为 7 种模式真菌, 具体包括稻瘟菌 (*Magnaporthe oryzae*)、裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*)、酿酒酵母

(*Saccharomyces cerevisiae*)、粗糙脉胞菌(*Neurospora crassa*)、构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)、新生隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)。在稻瘟菌数据库(http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/magnaporthe_grisea)中先搜索到 Prp5 蛋白质序列,然后通过 NCBI 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)与白色念珠菌基因组数据库(<http://www.candidagenome.org/>)利用同源比对确定酿酒酵母、粗糙脉胞菌、构巢曲霉、新生隐球菌和白色念珠菌的 Prp5 蛋白质序列,同源比对参数为默认。由于稻瘟菌中的 Prp5 与裂殖酵母中的 Prp5 (NP_595604)一致性非常低,仅为 4.91%,但与 Prp11 一致性较高,达到 63%,因此本文选用裂殖酵母的 Prp11 蛋白质序列代替其他生物的 Prp5 蛋白进行相关分析。各种模式真菌中 Prp5/Prp11 蛋白的同源比对情况如表 1 所示。蛋白质的分子量、等电点、亲水性及稳定性分析均采用 ExPASy (<http://web.expasy.org/protparam/>)在线软件进行。

1.2 二级结构及结构域分析

下载模式真菌 Prp5 (裂殖酵母为 Prp11)蛋白质

序列,利用在线网站 NPS@SOMPA (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)预测各种蛋白质二级结构。利用 NCBI 网站和 Sanger (<http://pfam.sanger.ac.uk/>)在线软件分析蛋白质序列中可能形成结构域的区域,然后利用 DomainDraw (<http://domaindraw.imb.uq.edu.au/>)在线软件按比例绘制结构域模式图。

1.3 进化树的构建

利用 ClustalX 2.0 软件进行多序列比对,通过 MEGA 5.22 软件中的 Neighbor-Joining 法绘制系统进化树,其中参数设置为 Test of Phylogeny: Bootstrap; Replications: 1 000; Model/Method: pPoisson model。

1.4 蛋白质三级结构分析

蛋白质三级结构预测分析主要采用 SWISS MODEL (<http://swissmodel.expasy.org/>)在线软件进行,参数为默认,建模所用同源性模板为 4lly.1.A。预测的蛋白质三级结构获取后下载其 PDB 文件,然后利用蛋白质三级结构显示与加工软件 PyMOL 1.7 进行处理与显示^[16]。

表 1 部分模式真菌中 Prp5/Prp11 蛋白的一致性比较
Table 1 Homology comparison of Prp5/Prp11 protein from some model fungi

生物名称 Species	蛋白名称 Protein	登录号 GenBank accession number	一致性 Homology (%)	覆盖度 Query coverage (%)	E 值 E value
稻瘟菌 <i>Magnaporthe oryzae</i>	MOPrp5	ELQ33225	100	100	0
裂殖酵母 <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	SPPrp5	NP_595604	4.91	100	10
裂殖酵母 <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	SPPrp11	NP_587856	63	67	0
酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	SCPPrp5	YBR237W	63	67	0
粗糙脉胞菌 <i>Neurospora crassa</i>	NCPPrp5	XP_965469	70	83	0
构巢曲霉 <i>Aspergillus nidulans</i>	ANPrp5	XP_658870	57	83	0
白色念珠菌 <i>Candida albicans</i>	CAPrp5	ORF19.6831	48	78	4e-165
新生隐球菌 <i>Cryptococcus neoformans</i>	CNPrp5	AFR93204	54	64	0

注:命名规则为属名与种名的首字母加 Prp 蛋白。下同。

Note: Proteins are named by initials of genus name and specific name plus Prp protein. The same below.

2 结果与分析

2.1 Prp5 蛋白和基因基本信息的获取及理化特性分析

通过同源比对(一致性均高于 45%), 利用相关数据库或网站获取稻瘟菌、酿酒酵母、粗糙脉胞菌、构巢曲霉、新生隐球菌及白色念珠菌的 Prp5 蛋白序列, 裂殖酵母的 Prp11 蛋白序列, 然后利用 ExPASy 在线软件分析它们的理化特性, 具体结果如表 2 所示。由表 2 可知, 稻瘟菌 Prp5 的分子量最大, 酿酒酵母 Prp5 的分子量最小。稻瘟菌、粗糙脉胞菌、构巢曲霉的 Prp5 蛋白及裂殖酵母 Prp11 蛋白均呈碱性, 其中粗糙脉胞菌的等电点最高(pI=8.69); 而人类致病菌, 新生隐球菌与白色念珠菌的 Prp5 蛋白显酸性, 其中新生隐球菌的等电点最低(pI=6.00); 所有蛋白均为不稳定的亲水性蛋白。这些研究结果初步表明真菌中的 Prp5 为不稳定的亲水性蛋白, 其理化特性存在一定的差异。

2.2 Prp5 蛋白的分子进化分析

为明确 7 种模式真菌中 Prp5 蛋白的进化关系与保守性, 本文利用 MEGA 5.22 软件进行了系统进化

树的构建, 结果如图 1 所示。从图 1 中可以看出, 稻瘟菌和粗糙脉胞菌位于相同结点, 遗传距离相同, 表明二者的同源性最高, 亲缘关系也最近。而二者与构巢曲霉、裂殖酵母、新生隐球菌、白色念珠菌和酿酒酵母的亲缘关系依次渐远。同时, 以 HSPrp5 (*Homo sapiens*-人) 和 RNPrp5 (*Rattus norvegicus*) 为外群, 根据 Prp5 蛋白的进化关系与保守性, 7 种模式真菌被分为 2 个类群。

2.3 Prp5 蛋白二级结构预测及结构域分析

蛋白质二级结构是进一步形成高级构象的基础, 其中 α 螺旋和 β 折叠是蛋白质最常见的二级结构形式。本研究各模式真菌 Prp5 蛋白的二级结构信息如表 3 所示, β 转角在各模式真菌中所占比例相似, 而 α 螺旋、 β 折叠和无规卷曲所占比例差异较大, 其中 α 螺旋结构在白色念珠菌中所占比例最高, 为 44.23%, β 折叠所占比例以酿酒酵母最高, 比含量最低的稻瘟菌高 7.35%。

为了进一步确定 Prp5 蛋白的结构及可能的功能, 利用 Sanger 及 DomainDraw 在线软件对 7 种模式真菌中的 Prp5 蛋白结构域进行了预测, 其结果

表 2 部分模式真菌中 Prp5/Prp11 蛋白的基本信息

Table 2 The basic information of Prp5/Prp11 protein from some model fungi

生物名称 Species	蛋白名称 Protein	登录号 Accession number	蛋白长度 Length of proteins (aa)	分子量 Molecular (kD)	等电点 Isoelectric point	一致性 Homology (%)	覆盖度 Query coverage (%)	E 值 E value
稻瘟菌 <i>Magnaporthe oryzae</i>	MOPrp5	ELQ33225	1 200	131.69	8.52	100	100	0
裂殖酵母 <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	SPPrp11	NP_587856	1 014	114.21	7.89	63	67	0
酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	SCPrp5	YBR237W	849	96.359	8.22	63	67	0
粗糙脉胞菌 <i>Neurospora crassa</i>	NCPrp5	XP_965469	1 194	131.30	8.69	70	83	0
构巢曲霉 <i>Aspergillus nidulans</i>	ANPrp5	XP_658870	1 173	129.99	8.43	57	83	0
白色念珠菌 <i>Candida albicans</i>	CAPrp5	ORF19.6831	884	100.40	6.09	48	78	4e-165
新生隐球菌 <i>Cryptococcus neoformans</i>	CNPrp5	AFR93204	1 071	119.77	6.00	54	64	0

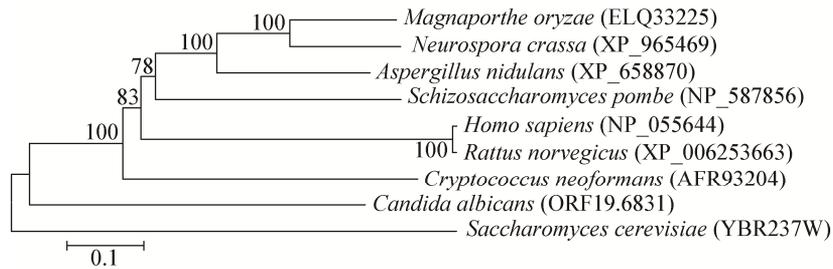


图1 7种模式真菌 Prp5/Prp11 蛋白的进化分析

Figure 1 Phylogenetic analysis of Prp5/Prp11 protein from seven model fungi

表3 部分模式真菌中 Prp5/Prp11 蛋白二级结构所占百分比

Table 3 The percentage of predicted secondary structure of Prp5/Prp11 protein from some model fungi

蛋白 Protein	α 螺旋 α -Helix (%)	β 折叠 β -Strand (%)	β 转角 β -Turn (%)	无规卷曲 Coil (%)
MOPrp5	36.33	12.08	8.33	43.25
SPPrp11	39.45	15.29	8.38	36.88
SCPrp5	40.05	19.43	8.24	32.27
NCPrp5	36.26	12.90	8.71	42.13
ANPrp5	38.87	13.04	8.78	39.30
CAPrp5	44.23	14.48	7.58	33.71
CNPrp5	38.19	14.57	7.75	39.50

见图2。7种模式真菌的 Prp5 蛋白均具有 DEAD 和 Helicase_C 结构域。对这两个功能结构域的氨基酸进行分析发现, DEAD 结构域中氨基酸残基数在 175–177 之间, 其中碱性氨基酸所占比例在 12.6%–14.6% 之间, 酸性氨基酸所占比例在 8.6%–10.3% 之间, Helicase_C 结构域中氨基酸残基数在 78–79 之间, 碱性氨基酸所占比例在 16.5%–20.5% 之间, 酸性氨基酸所占比例除酿酒酵母 (6.4%) 外其他都在 10.1%–14.1% 之间, 表明 DEAD 和 Helicase_C 结构域在除酿酒酵母外的 6 种生物中基本相同, 因此这 6 种模式真菌中的 Prp5 蛋白可能会形成相同的三级结构, 并具有相似的生物学功能。而酿酒酵母 Prp5 蛋白在高级结构形成及

功能上可能会与其他蛋白有差异, 这一分析结果在后面三级结构的预测中获得支持。另外, 发现 MOPrp5、NCPrp5 和 ANPrp5 的序列长度及结构域位置基本一致, 表明 Prp5 在这 3 种生物中是高度保守的。而且, 从图 1 中也可以看出, 它们的亲缘关系也是最近的。

2.4 Prp5 蛋白的三级结构预测

为了进一步明确 7 种模式真菌中 Prp5 蛋白的三级结构, 利用 SWISS MODEL 在线软件, 以 4lly.1.A 为模板对 7 种模式真菌中的 Prp5 蛋白的三级结构进

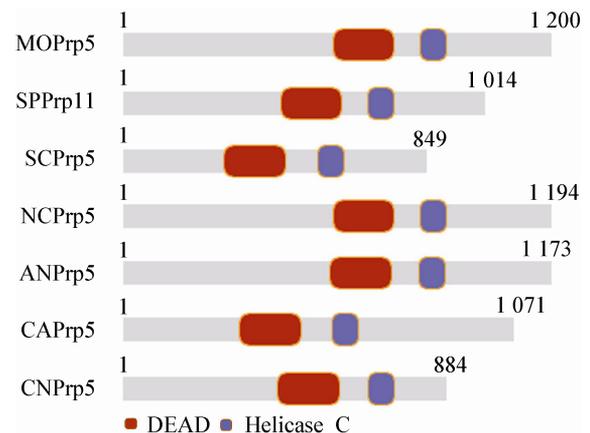


图2 部分模式真菌中 Prp5/Prp11 蛋白结构域模式图

Figure 2 The model graph for domains of Prp5/Prp11 proteins from some model fungi

Note: MOPrp5: Prp5 in *Magnaporthe oryzae*; SPPrp11: Prp11 in *Schizosaccharomyces pombe*; SCPrp5: Prp5 in *Saccharomyces cerevisiae*; NCPrp5: Prp5 in *Neurospora crassa*; ANPrp5: Prp5 in *Aspergillus nidulans*; CAPrp5: Prp5 in *Candida albicans*; CNPrp5: Prp5 in *Cryptococcus neoformans*.

行了预测。结果表明, Prp5 蛋白的三级结构主要由 2 个结构域组成, 其中 DEAD 结构域较稳定, 而 Helicase_C 结构域在空间结构上存在一定的变化。从各模式真菌来看, 稻瘟菌、粗糙脉胞菌和构巢曲霉菌的 Prp5 蛋白三级结构同源程度高, 裂殖酵母的 Prp11、白色念珠菌和新生隐球菌的 Prp5 蛋白三级结构同源程度高, 这些研究结果显示出其在生物体内功能的相

似性, 具体结果如图 3 和表 4 所示。对酿酒酵母而言, 其在三级结构上多出一个 α 螺旋, 因此其 Prp5 蛋白在结构与功能上可能具有一定的独特性。

对几种蛋白质结合位点的氨基酸分析(表 5)显示, 结合底物的氨基酸主要以 Gly、Thr、Gln、Ser、Trp 和 Lys 为主, 其中 Gly 存在于所有蛋白质结合位点, 表明其对底物结合具有重要作用。

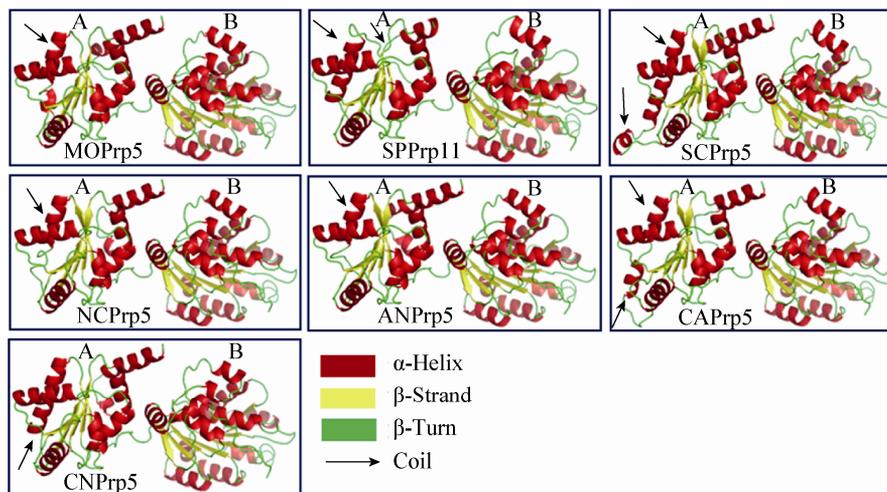


图 3 部分模式真菌中 Prp5/Prp11 蛋白三级结构预测模式图

Figure 3 The model graph on tertiary structure of Prp5/Prp11 from some model fungi

Note: A: Helicase_C domain; B: DEAD domain. MOPrp5: Prp5 in *Magnaporthe oryzae*; SPPrp11: Prp11 in *Schizosaccharomyces pombe*; SCPrp5: Prp5 in *Saccharomyces cerevisiae*; NCPrp5: Prp5 in *Neurospora crassa*; ANPrp5: Prp5 in *Aspergillus nidulans*; CAPrp5: Prp5 in *Candida albicans*; CNPrp5: Prp5 in *Cryptococcus neoformans*.

表 4 部分模式真菌中 Prp5/Prp11 蛋白三级结构比对分析与质量评价

Table 4 Comparison analysis and quality evaluation on the spatial structure of Prp5/Prp11 from some model fungi

蛋白 Protein	模板蛋白 Template protein	一致性 Identity (%)	建模质量评价 GMQE
MOPrp5	4ljy.1.A	44.35	0.24
SPPrp11	4ljy.1.A	44.39	0.29
SCPrp5	4ljy.1.A	100.00	0.55
NCPrp5	4ljy.1.A	44.02	0.24
ANPrp5	4ljy.1.A	44.02	0.25
CAPrp5	4ljy.1.A	44.12	0.37
CNPrp5	c2lehB	44.10	0.28

表5 各种模式真菌中 Prp5/Prp11 蛋白底物结合位点氨基酸残基

Table 5 The predicted amino acid residues of binding sites of Prp5/Prp11 protein from model fungi

蛋白 Protein	结合位点氨基酸残基 Amino acid residues of binding sites
MOPrp5	3Gly, 2Thr, Gln, 2Arg, Asp, Phe, Pro, Val
SPPrp11	2Gly, 3Thr, Gln, Ser, Trp, 2Lys, Tyr
SCPrp5	Gly, 3Thr, 2Gln, Ser, Lys
NCPrp5	2Gly, 3Thr, Gln, Ser, Trp, 2Lys, Phe
ANPrp5	Gly, Ser, Leu, Ile
CAPrp5	2Gly, 2Thr, Gln, 2Ser, Trp, Lys,
CNPrp5	3Gly, 4Thr, Gln, Ser, 2Trp, Lys, Leu, Glu, 2Ala, 2Arg, 2Asp, Met

3 讨论

前人研究表明 Prp5 蛋白在前剪接体形成及剪接的精确控制方面起重要作用, 缺少 Prp5 因子, 前剪接体不能形成, 剪接无法继续^[17]。为此本文对 7 种模式真菌中 Prp5 蛋白的基本信息、理化性质、分子进化关系、二级结构、结构域及蛋白质三级结构进行了分析, 通过分析了解到这 7 种模式真菌中的 Prp5 蛋白在等电点和分子量上存在一定的差异, 而在其他理化性质方面相似, 这可能与不同生物在进化过程中蛋白质分子的功能进化有关。如图 1 所示, 等电点较小的新生隐球菌($pI=6.00$)、白色念珠菌($pI=6.09$)和裂殖酵母($pI=7.89$)及分子量较小的酿酒酵母的 Prp5 蛋白与其他真菌的亲缘关系均较远。本研究结果对指导 Prp5 蛋白的分离提纯具有重要意义, 同时对研究其他非模式真菌的 Prp5 蛋白也有一定的参考价值。

虽然这 7 种模式真菌中的 Prp5 蛋白在等电点和分子量上存在一定的差异, 但这些差异并未构成影响蛋白质功能的主要因素, 因为蛋白质的功能主要取决于其所具有的功能结构域和三级结构。前人对酿酒酵母 Prp5 蛋白研究表明其具有保守的 DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 结构域^[18]。拥有 DEAD 结构域的蛋白可参与细胞内多种生物学事件, 如核糖体形

成、Pre-mRNA 剪接、mRNA 转运、翻译起始、细胞器基因表达、RNA 降解等^[19]。本研究中发现 7 种模式真菌中的 Prp5 蛋白均具有 DEAD 和 Helicase_C 结构域, 表明其在模式真菌中具有一定的保守性, 因此该蛋白在各生物体中主要发挥相似的生物学功能。进一步对蛋白质的三级结构进行分析显示, 各模式真菌中的 Prp5 蛋白具有相似但并不完全相同的三级结构, 且这种不同主要位于 Prp5 蛋白的 Helicase_C 结构域中, 结合二级结构和结构域中氨基酸组成情况的分析结果, 笔者认为 Prp5 蛋白三级结构的这种差异源于其二级结构各类型所占百分比的差异及 Helicase_C 结构域中酸性氨基酸的不同。同时三级结构的差异性也表明 Prp5 蛋白在各模式真菌中可能还具有其独特的功能, 尤其是 SCPrp5 蛋白, 值得今后进行进一步深入的研究。

参考文献

- [1] House AE, Kristen WL. Regulation of alternative splicing: more than just the ABCs[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(3): 1217-1221
- [2] Black DL. Mechanisms of alternative pre-messenger RNA splicing[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2003, 72(1): 291-336
- [3] Wang ET, Sandberg R, Luo S, et al. Alternative isoform regulation in human tissue transcriptomes[J]. *Nature*, 2008, 456(7221): 470-476
- [4] Pan Q, Shai O, Lee LJ, et al. Deep surveying of alternative splicing complexity in the human transcriptome by highthroughput sequencing[J]. *Nature Genetics*, 2008, 40(12): 1413-1415
- [5] Schmucker D, Clemens JC, Shu H, et al. *Drosophila* dscam is an axon guidance receptor exhibiting extraordinary molecular diversity[J]. *Cell*, 2000, 101(6): 671-684
- [6] Wojtowicz WM, Flanagan JJ, Millard SS, et al. Alternative splicing of *Drosophila* dscam generates axon guidance receptors that exhibit isoform-specific homophilic binding[J]. *Cell*, 2004, 118(5): 619-633
- [7] Moore MJ, Proudfoot NJ. Pre-mRNA processing reaches back to transcription and ahead to translation[J]. *Cell*, 2009, 136(4): 688-700
- [8] Valadkhan S. SnRNAs as the catalysts of pre-mRNA splicing[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2005, 9(6): 603-608
- [9] Hastings ML, Krainer AR. Pre-mRNA splicing in the new millennium[J]. *Current Opinion in Cell Biology*, 2001, 13(3): 302-309
- [10] Wahl MC, Will CL, Luhrmann R. The spliceosome: design principles of a dynamic RNP machine[J]. *Cell*, 2009, 136(4): 701-718
- [11] Xu YZ, Newnham CM, Kameoka S, et al. Prp5 bridges U1 and U2 snRNPs and enables stable U2 snRNP association with intron RNA[J]. *The EMBO Journal*, 2004, 23(2): 376-385

- [12] Xu YZ, Query CC. Competition between the ATPase Prp5 and branch region-U2 snRNA pairing modulates the fidelity of spliceosome assembly[J]. *Molecular Cell*, 2007, 28(5): 838-849
- [13] Chathoth KT, Barrass JD, Webb S, et al. A splicing-dependent transcriptional checkpoint associated with prespliceosome formation[J]. *Molecular Cell*, 2014, 53(5): 779-790
- [14] Shao W, Kim HS, Cao Y, et al. A U1-U2 snRNP interaction network during intron definition[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2012, 32(2): 470-478
- [15] Dalbadie-Mcfarland G, Abelson J. PRP5: a helicase-like protein required for mRNA splicing in yeast[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1990, 87(11): 4236-4240
- [16] Biasini M, Bienert S, Waterhouse A, et al. SWISS-MODEL: modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information[J]. *Nucleic Acids Research*, 2014(42): 252-258
- [17] Liang WW, Cheng SC. A novel mechanism for Prp5 function in prespliceosome formation and proofreading the branch site sequence[J]. *Genes & Development*, 2015, 29(1): 81-93
- [18] Barham K, Abu AD, Tiffani KQ, et al. Probing interactions between the U2 small nuclear ribonucleoprotein and the DEAD-box protein, Prp5[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(23): 20221-20233
- [19] Rocak S, Linder P. DEAD-box proteins: the driving forces behind RNA metabolism[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2004, 5(3): 232-241

(上接 p.1457)

征 稿 简 则

3.3 摘要写作注意事项

3.3.1 英文摘要: 1) 建议使用第一人称, 以此可区分研究结果是引用文献还是作者得出的; 2) 建议用主动语态, 被动语态表达拖拉模糊, 尽量不用, 这样可以避免长句, 以求简单清晰; 3) 建议使用过去时态, 要求语法正确, 句子通顺; 4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致, 但可比中文摘要更详尽, 写完后务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再返回编辑部。5) 摘要中不要使用缩写语, 除非是人人皆知的, 如: DNA, ATP 等; 6) 在英文摘要中, 不要使用中文字体标点符号。

3.3.2 关键词: 应明确、具体, 一些模糊、笼统的词语最好不用, 如基因、表达……

4 特别说明

4.1 关于测序类论文

凡涉及测定 DNA、RNA 或蛋白质序列的论文, 请先通过国际基因库 EMBL (欧洲)或 GenBank (美国)或 DDBJ (日本), 申请得到国际基因库登录号 (Accession No.)后再投来。

4.2 关于版权

4.2.1 本刊只接受未公开发表的文章, 请勿一稿两投。

4.2.2 凡在本刊通过审稿、同意刊出的文章, 所有形式的 (即各种文字、各种介质的)版权均属本刊编辑部所有。作者如有异议, 敬请事先声明。

4.2.3 对录用的稿件编辑部有权进行文字加工, 但如涉及内容的大量改动, 将请作者过目同意。

4.2.4 文责自负。作者必须保证论文的真实性, 因抄袭剽窃、弄虚作假等行为引发的一切后果, 由作者自负。

4.3 审稿程序及提前发表

4.3.1 来稿刊登与否由编委会最后审定。对不录用的稿件, 一般在收稿 2 个月之内通过 E-mail 说明原因, 作者登陆我刊系统也可查看。稿件经过初审、终审通过后, 作者根据编辑部返回的退修意见进行修改补充, 然后以投稿时的用户名和密码登陆我刊系统上传修改稿, 待编辑部复审后将给作者发稿件录用通知单, 稿件按照投稿先后排队发表。

4.3.2 对投稿的个人和单位一视同仁。坚持文稿质量为唯一标准, 对稿件采取择优先登的原则。如作者要求提前发表, 请在投稿的同时提出书面报告, 说明该研究成果的重要性、创新性、竞争性和提前发表的必要性, 经过我刊的严格审查并通过后, 可予提前刊出。

5 发表费及稿费

论文一经录用, 将在发表前根据版面收取一定的发表费并酌付稿酬、赠送样刊。

6 联系方式

地址: 北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所《微生物学通报》编辑部(100101)

Tel: 010-64807511

E-mail: tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>