

视网膜色素变性疾病相关前体 mRNA 剪接因子研究进展

夏韦艺 综述 赵晨 审校

210029 南京医科大学第一附属医院眼科(赵晨,现在复旦大学附属眼耳鼻喉科医院眼科)

通信作者:赵晨,Email:dr_zhaochen@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.08.018

【摘要】 视网膜色素变性(RP)是临床上常见的一组遗传性视网膜变性疾病,并具有显著的遗传异质性。前体 mRNA(pre-mRNA)的剪接是指在剪接体的催化作用下,将基因初始 mRNA 中的内含子去掉并将外显子拼接的过程。在目前已发现的 80 多个 RP 致病基因中,有 8 个(*PRPF3*、*PRPF8*、*PRPF31*、*PRPF6*、*PRPF4*、*SNRNP200*、*RP9* 和 *DHX38*)在全身广泛表达并与前体 mRNA 剪接相关,然而这些基因突变只引起眼部病变的机制尚不清楚。本文介绍了 pre-mRNA 的剪接过程,总结了与 RP 相关的 pre-mRNA 的基因突变和 8 种剪接因子在剪接过程中的作用,并探讨相关基因突变仅引起眼部病变的机制。

【关键词】 视网膜色素变性;剪接体;前体 mRNA;剪接因子

基金项目: 国家自然科学基金项目(81525006)

Update on mutations of precursor mRNA splicing factor genes linked to retinitis pigmentosa Xia Weiyi, Zhao Chen
The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China (Zhao C, now Department of Ophthalmology, Eye & ENT Hospital, Shanghai Medical College, Fudan University)
Corresponding author: Zhao Chen, Email: dr_zhaochen@163.com

【Abstract】 Retinitis pigmentosa (RP), one of the common forms of hereditary retinal dystrophies (HRD), is typified by significant genetic heterogeneities. Executed by the spliceosome, precursor mRNA (pre-mRNA) splicing is a highly regulated process by which introns are removed and exons are ligated together. To date, more than 80 genes have been involved in RP etiology. Specially, 8 of these genes (*PRPF3*, *PRPF8*, *PRPF31*, *PRPF6*, *PRPF4*, *SNRNP200*, *RP9* and *DHX38*) encode proteins essential for pre-mRNA splicing and are expressed ubiquitously. However, mutations of these RP causative pre-mRNA splicing genes exclusively result in only retinal phenotypes, and the mechanism remains unknown. In this review, we recapitulate splicing process, summarize the mutations identified in pre-mRNA splicing genes related to RP and discuss conceivable hypothesis explaining for the consequent retina-specific phenotypes.

【Key words】 Retinitis pigmentosa; Spliceosome; Precursor mRNA; Splicing factor

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81525006)

视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)是临床上常见的一组遗传性视网膜变性疾病(hereditary retinal degeneration, HRD),其在全世界的发病率为 1/5 000 ~ 1/3 000^[1],并且具有显著的临床异质性和遗传异质性。HRD 以渐进性感光细胞和视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞变性为特征,以视野、视力等视功能受损为主要临床表现。RP 具有显著的遗传倾向,可以表现为常染色体显性遗传(占 30% ~ 40%)、常染色体隐性遗传(占 50% ~ 60%)和性连锁遗传(占 5% ~ 15%),此外双基因遗传也曾被报道^[2]。目前发现的与 RP 相关的致病基因已经超过 80 个,其中有 8 个基因在全身广泛表达并与前体 mRNA (precursor mRNA, pre-mRNA)剪接相关,分别为 *PRPF3*、*PRPF8*、*PRPF31*、*PRPF6*、*PRPF4*、

SNRNP200、*PAPI* 和 *HDX38*^[3-4]。除 *HDX38* 基因突变以常染色体隐性方式遗传外,其余 7 个基因突变则能够引起常染色体显性遗传 RP,据估计,因这 7 个基因突变所引起的 RP 占有常染色体显性遗传 RP 的比例大于 12%^[5]。本文就目前 pre-mRNA 剪接子在 RP 发病机制中的研究进展进行综述。

1 剪接体与 pre-mRNA

mRNA 的剪接是指将基因初始 mRNA 中的内含子去掉并将外显子拼接的过程,这一过程由剪接体催化完成。剪接体是一种具有高相对分子质量的 RNA-蛋白动态复合物。在真核生物中,剪接体主要由 5 种小核糖核蛋白(small nuclear ribonucleoproteins, snRNP) U1、U2、U4、U5 和 U6 以及 100 多种

蛋白因子组成^[6]。mRNA 的剪接过程始于 U1 和 U2, 分别与内含子的 5' 剪接端和分支点结合, 从而形成复合体 A。与此同时, U4/U6 二聚体与 U5 结合形成 U4/U6-U5 三聚体。随后复合体 A 与 U4/U6-U5 三聚体结合形成无催化活性的复合体 B, 在一系列蛋白因子的参与下, 复合体 B 发生重构活化, 释放 U1 和 U4, 形成以 U2、U5 和 U6 为核心的具有催化功能的成熟剪接体。再经过 2 次转酯反应, pre-mRNA 的内含子序列被剪除、外显子被拼接, 从而形成成熟的 mRNA^[7]。完成 1 次剪接后剪接体又解离至 snRNP 水平, 各亚单位又循环往复开始新一轮剪接。

2 PRPF3 基因与 hPrp3p

第 1 种与 pre-mRNA 剪接相关的基因 *PRPF3* 定位于 1q21.1^[8], 其编码的蛋白质 hPrp3p 相对分子质量为 77 000, 由 682 个氨基酸组成。在 mRNA 剪接过程中, hPrp3p 与 U4/U6 二聚体结合。对 *PRPF3* 酵母同源基因 *Prp3p* 的研究表明, 该基因的突变会降低 U4/U6-U5 三聚体的稳定性, 从而影响剪接过程^[9]。目前共发现 3 个引起 RP 的 *PRPF3* 基因错义突变, 所引起的 3 个突变氨基酸残基 (Pro493Ser、Thr494Met 和 Ala489Asp) 均位于 hPrp3p 的 C 端^[10]。该区域在真核生物进化过程中高度保守, 并与其他剪接因子, 如 PRPF4 蛋白、PRPF6 蛋白以及 hSnu6 存在相互作用。研究表明, Thr494Met 突变下调了 C 端的磷酸化水平, 进而影响了其本身与 U4/U6 二聚体的相互作用^[9]。对小鼠 *Prp3* 基因 Thr494Met 突变模型的研究提示, RP 发病过程中最先受累的为 RPE 细胞^[11]。

3 PRPF8 基因与 hPrp8p

PRPF8 基因位于 17p13.3, 编码相对分子质量为 220 000 的蛋白质 Hprp8p。Hprp8p 由 2 000 多个氨基酸组成, 是目前已知的进化上最为保守的核蛋白之一。作为占据 U5 核心的蛋白因子, hPrp8p 为 U4/U6-U5 三聚体的形成与催化核心的稳定所必需^[12]。此外, 还发现 hPrp8p 与 hBrr2 和 hSnu114 存在相互作用。作为解旋酶, hSnu114 可催化剪接体的成熟以及解离, 并且作为信号分子通过 hBrr2 调节错综复杂的剪接体网络^[13]。因此在整个剪接过程中, *PRPF8* 起到十分关键的作用。目前已经发现的 *PRPF8* 错义突变已有十余种, 除 38 号外显子的 Ser2118Phe 突变外, 其余突变均集中在 42 号外显子的 Jab1/MPN 区域内, 该区域参与 hBrr2 的解旋^[14]。

4 PRPF31 基因与 hPrp31p

定位于 19q13.4 的 *PRPF31* 基因编码的蛋白质为 hPrp31p, 其相对分子质量为 61 000。HPrp31p 参与构成 U4 并与 U5 特异蛋白 hPrp6p 相连接以形成 U4/U6-U5 三聚体^[15]。在已发现的与 RP 相关的 40 多个包括错义、缺失、移位、插入在内的 *PRPF31* 基因突变中, 多数突变导致的是 mRNA 的截短, 因此引起感光细胞或 RPE 细胞发生变性的机制是蛋白质的功能不全^[16]。关于 *PRPF31*, 让人最为疑惑的便是其不完全外显的问题, 即使在同一家系中, 部分 *PRPF31* 基因突变携带者在儿童期即可表现出 RP 症状, 而另一部分 *PRPF31* 基因突变携带者

则临床表型完全正常或仅有视网膜电图 (electroretinogram, ERG) 结果提示异常^[17]。之前对这一问题的研究结果提示, 这可能与单倍体剂量不足效应有关, 即 *PRPF31* 突变的外显率受野生型等位基因的影响: 如果突变基因携带者能从亲代继承高表达的野生型等位基因, 则可使其免于 RP; 反之, 如果亲代继承高表达的野生型等位基因的活性低于某一阈值, *PRPF31* 突变基因携带者则会表现出 RP 症状^[18]。近期还有 3 个与 *PRPF31* 表达相关的调控因子被发现。Rose 等^[19] 研究发现, 在 *PRPF31* 基因转录起始位点上游约 630 bp 区域的 MSR1 因子内, 有一段 36~38 bp 的重复区域, 该区域的拷贝数在无症状携带者和有症状者之间差异有统计学意义。Venturini 等^[20] 则发现, 另一个与 *PRPF31* 临近的基因 *CNOT3* 编码 CCR4-NOT 复合体的 1 个亚单位, 可在转录水平下调 *PRPF31* 基因的表达。此外, Rio 等^[21] 也通过连锁分析在 14q21-23 区域内发现 1 个与 *PRPF31* 表达水平相关的表达数量性状基因位点。简言之, *PRPF31* 的外显率可能受多种调控因素共同作用的影响。

5 PRPF6 基因与 hPrp6

PRPF6 基因位于 20q13.33, 由 21 个外显子组成, 其编码的蛋白质 hPrp6 相对分子质量约为 102 000。在 U4/U6-U5 三聚体中, PRPF6 充当桥梁的角色连接 U5 与 U4/U6 二聚体。通过电子显微镜和对蛋白质之间相互作用的结果分析提示, hPrp6 与可引起 RP 的 PRPF8、PRPF31、PRPF4、SNRNP200 的基因产物均相连, 提示其在 U4/U6-U5 三聚体内的核心位置^[22]。到目前为止, 仅在 *PRPF6* 的 16 号外显子中发现 1 个与 RP 相关的点突变 (Arg729Trp)^[23]。该突变基因的表达产物被发现堆积在高尔基体中, 提示其影响了 U4/U6-U5 三聚体的组装。

6 PRPF4 基因与 hPrp4

2013 年, Chen 等^[3] 在 9q31-q33 发现 1 个与 RP 相关的基因 *PRPF4*, 其编码的蛋白质 hPrp4 相对分子质量为 60 000, 由 522 个氨基酸组成, 参与构成 U4/U6 二聚体并可调控其稳定性。在 PRPF4 的 C 端有 7 个 WD40 拷贝序列, 可调控其与其他 U4/U6 二聚体组成成分的相互作用^[24]。目前共确定 2 个与 RP 相关的 *PRPF4* 基因错义突变: Arg192His 和 Pro315Leu, 均影响了 *PRPF4* 与 PRPF3 的连接和相互作用^[3,25]。与 *PRPF31* 类似, 在 *PRPF4* 突变携带者中也发现了不完全外显现象, 该现象可能与单倍体剂量不足或与显性负性作用有关。

7 SNRNP200 与 hBrr2

2009 年, Zhao 等^[26] 在一中国家系中确定位于 2q11.2 的 SNRNP200 为 RP 的致病基因。SNRNP200 由 45 个外显子组成, 编码相对分子质量为 200 000 的 RNA 解旋酶 hBrr2。hBrr2 属于 DEXD/H 蛋白家族, 包含 2 个 HeI308 式模块, 每个模块又包含 1 个 ATP 酶结合位点和 Sec63 结构域^[27]。作为 U5 组成蛋白, hBrr2 不仅参与剪接体的活化, 在 U4/U6 二聚体的解旋过程中也起重要作用^[28]。在目前发现的 10 个 SNRNP200 错义突变中, 9 个位于第 1 个 HeI308 式模块^[26,29-31], 均影响了解旋酶

的活性。另 1 个错义突变位于第 1 个 Hel308 式模块^[32], 该模块被证实与多个剪接体组成蛋白存在相互作用, 如 hPrp8、hPrp6 和 hSnu114^[29,31-33]。基于一些 DExD/H 蛋白在基因表达中有校正作用^[34], 推测 SNRNP200 突变可能也会引起基因表达保真度的降低。

8 PAPI 基因与 RP9

Pim-1 是编码一种丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶的原癌基因, 原本它被认为与各种实体肿瘤的发生有关^[35]。2001 年, 一种与 RP 相关的 Pim-1 相关基因 *PAP-1* 被定位于 7p14.3。*PAP-1* 基因编码的蛋白质由 221 个氨基酸组成, 被证实与 PRPF3 存在相互作用^[36]。不仅如此, 磷酸化的 *PAP-1* 与剪切因子 U2AF35 也存在相互作用, U2AF35 参与对 3' 剪切位点的识别^[37]。由此推测, *PAP-1* 蛋白的作用可能是连接 U4/U6-U5 三聚体和 U2AF35。目前已发现 Asp170Gly 和 His137Leu 2 个 *PAP-1* 基因的错义突变^[38]。然而, 由于缺少对 *PAP-1* 基因功能的研究, 该基因是否确实是 RP 的致病基因仍有待探究^[39]。

9 DHX38 基因与 hPrp16

2013 年, 第 1 个以常染色体隐性方式遗传的 pre-mRNA 剪接基因 *DXH38* 被证实与 RP 相关^[4]。*DXH38* 基因定位于 16q22.2, 由 26 个外显子组成, 编码 hPrp16。hPrp16 属于 DExD/H 蛋白家族, 能触发复合体 B 的重构^[40]。HPrp16 不仅对分支点序列有矫正作用, 还参与剪接体活化过程重点的两步酯化反应。在第 1 次酯化反应中, hPrp16 的作用是稳定剪接因子 Cwc25 与剪接复合体之间的连接。在第 2 次酯化反应中, hPrp16 不仅参与外显子的拼接, 还起到将剪接因子 Yju2 和 Cwc25 分离的作用^[41-42]。根据目前发现的唯一的 *DXH38* 错义突变 Gly332Asp, 还不能解释其致病机制, 同时也提示我们可能存在其他以常染色体隐性方式遗传的 pre-mRNA 剪接基因。

10 总结与展望

Pre-mRNA 的剪接是几乎所有基因转录的第一步, 与剪接体相关的基因均广泛表达在全身各组织中。在 pre-mRNA 剪接缺陷引发 RP 的机制研究中, 目前面临的 2 个最令人困惑问题是: (1) 这些参与 pre-mRNA 相关的基因突变是如何在剪接水平引起功能缺陷的? 目前公认的模式是这些基因的突变影响了 U4/U6-U5 三聚体的组装。这一假设在 *RPF3*、*PRPF8*、*PRPF31* 和 *PRPF6* 中得到了验证^[9,16,23,43], 然而这一假设并不能解释所有 RP 相关的 pre-mRNA 剪接基因突变。在对本实验组首先报道的基因 *SNRNP200* 和 *PRPF4* 的研究中发现, 这 2 个基因的突变不会影响 U4/U6-U5 三聚体的组装, 而仅能影响 U4/U6 二聚体的解旋^[44]。据此我们提出另一个模型: 引起 RP 的 pre-mRNA 剪接基因突变可能是从根本上造成了 U4/U6 二聚体的解旋障碍。(2) 这些在全身广泛表达的基因为何只引起视网膜的病变? 目前主要有 3 种解释: 其一, 由于视网膜外节膜盘需要通过脱落和生成进行不断更新, 对 pre-mRNA 剪接效率的要求极高, 一旦 pre-mRNA 剪接基因发生突变, 其他组织可

耐受, 但对视网膜却可能是极具危害的, 这一假设在 *PRPF3*、*PRPF8*、*PRPF31* 和 *PRPF4* 中得到了间接验证^[45-46]。其二, 某些突变可能首先影响了转录本的保真度, 进而异常的转录产物对视网膜产生了毒性作用, 但这一假设也只是在 SNRNP200 中得到了一些间接证据^[26,47]。其三, 这些 RP 相关 pre-mRNA 剪接基因可能存在一些视网膜特异性的功能域, 并在视网膜中发挥不可替代的作用, 这一假设仍有待进一步认识和验证^[48]。总之, 对 pre-mRNA 剪接过程的研究将有助于进一步解释细胞行为和疾病的发生机制。

基于眼的生理结构和解剖学特点, 眼科已成为前沿生物技术向临床转化的试验田。近期, 治疗另一种 HRD——Leber 先天黑朦的基因替代疗法产品 SPK-RPE65 已通过美国食品及药物管理局的 III 期临床试验, 并有望于 2017 年在美国上市^[49]。目前关于 RP 的临床试验也已多达 40 余项 (<https://clinicaltrials.gov/>)。随着诊断技术的不断发展, 对发病机制的不断认识, 通过加快基因治疗、干细胞治疗向临床的整合应用, 眼科有望成为战胜遗传性疾病的突破口, 让更多的患者重见光明。

参考文献

- [1] Chen X, Zhao K, Sheng X, et al. Targeted sequencing of 179 genes associated with hereditary retinal dystrophies and 10 candidate genes identifies novel and known mutations in patients with various retinal diseases [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54 (3): 2186-2197. DOI:10.1167/iovs.12-10967.
- [2] Hartong DT, Berson EL, Dryja TP. Retinitis pigmentosa [J]. Lancet, 2006, 368 (9549): 1795-1809. DOI: 10.1016/S0140-6736(06)69740-7.
- [3] Chen X, Liu Y, Sheng X, et al. PRPF4 mutations cause autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. Hum Mol Genet, 2014, 23 (11): 2926-2939. DOI:10.1093/hmg/ddu005.
- [4] Ajmal M, Khan MI, Neveling K, et al. A missense mutation in the splicing factor gene *DXH38* is associated with early-onset retinitis pigmentosa with macular coloboma [J]. J Med Genet, 2014, 51 (7): 444-448. DOI: 10.1136/jmedgenet-2014-102316.
- [5] Benaglio P, San JPF, Avila-Fernandez A, et al. Mutational screening of splicing factor genes in cases with autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. Mol Vis, 2014, 20: 843-851.
- [6] Wahl MC, Will CL, Lührmann R. The spliceosome: design principles of a dynamic RNP machine [J]. Cell, 2009, 136 (4): 701-718. DOI: 10.1016/j.cell.2009.02.009.
- [7] Bessonov S, Anokhina M, Will CL, et al. Isolation of an active step I spliceosome and composition of its RNP core [J]. Nature, 2008, 452 (7189): 846-850. DOI:10.1038/nature06842.
- [8] Chakarova CF, Hims MM, Bolz H, et al. Mutations in *HPRP3*, a third member of pre-mRNA splicing factor genes, implicated in autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. Hum Mol Genet, 2002, 11 (1): 87-92.
- [9] Gonzalez-Santos JM, Cao H, Duan RC, et al. Mutation in the splicing factor *Hprp3p* linked to retinitis pigmentosa impairs interactions within the U4/U6 snRNP complex [J]. Hum Mol Genet, 2008, 17 (2): 225-239. DOI:10.1093/hmg/ddm300.
- [10] Gamundi MJ, Hernan I, Muntanyola M, et al. Transcriptional expression of cis-acting and trans-acting splicing mutations cause autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. Hum Mutat, 2008, 29 (6): 869-878. DOI:10.1167/humu.20747.
- [11] Graziotto JJ, Farkas MH, Bujakowska K, et al. Three gene-targeted mouse models of RNA splicing factor RP show late-onset RPE and retinal degeneration [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52 (1): 190-198. DOI:10.1167/iovs.10-5194.
- [12] Zhang L, Shen J, Guarnieri MT, et al. Crystal structure of the C-terminal domain of splicing factor Prp8 carrying retinitis pigmentosa mutants [J]. Protein Sci, 2007, 16 (6): 1024-1031. DOI:10.1110/ps.072872007.
- [13] Maubaret CG, Vaclavik V, Mukhopadhyay R, et al. Autosomal dominant retinitis pigmentosa with intrafamilial variability and incomplete

- penetrance in two families carrying mutations in PRPF8 [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52 (13) : 9304-9309. DOI: 10. 1167/iov. 11-8372.
- [14] Mozaffari-Jovin S, Wandersleben T, Santos KF, et al. Novel regulatory principles of the spliceosomal Brr2 RNA helicase and links to retinal disease in humans [J]. RNA Biol, 2014, 11 (4) : 298-312. DOI: 10. 4161/rna. 28353.
- [15] Deery EC, Vithana EN, Newbold RJ, et al. Disease mechanism for retinitis pigmentosa (RP11) caused by mutations in the splicing factor gene PRPF31 [J]. Hum Mol Genet, 2002, 11 (25) : 3209-3219.
- [16] Tanackovic G, Ransijn A, Thibault P, et al. PRPF mutations are associated with generalized defects in spliceosome formation and pre-mRNA splicing in patients with retinitis pigmentosa [J]. Hum Mol Genet, 2011, 20 (11) : 2116-2130. DOI: 10. 1093/hmg/ddr094.
- [17] Rio FT, McGee TL, Wade NM, et al. A single-base substitution within an intronic repetitive element causes dominant retinitis pigmentosa with reduced penetrance [J]. Hum Mutat, 2009, 30 (9) : 1340-1347. DOI: 10. 1002/humu. 21071.
- [18] Rivolta C, McGee TL, Rio FT, et al. Variation in retinitis pigmentosa-11 (PRPF31 or RP11) gene expression between symptomatic and asymptomatic patients with dominant RP11 mutations [J]. Hum Mutat, 2006, 27 (7) : 644-653. DOI: 10. 1002/humu. 20325.
- [19] Rose AM, Shah AZ, Venturini G, et al. Transcriptional regulation of PRPF31 gene expression by MSR1 repeat elements causes incomplete penetrance in retinitis pigmentosa [J/OL]. Sci Rep, 2016, 6 : 19450 [2016-11-10]. <https://www.nature.com/articles/srep19450>. DOI: 10. 1038/srep19450.
- [20] Venturini G, Rose AM, Shah AZ, et al. CNOT3 is a modifier of PRPF31 mutations in retinitis pigmentosa with incomplete penetrance [J/OL]. PLoS Genet, 2012, 8 (11) : e1003040 [2016-11-10]. <http://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1003040>. DOI: 10. 1371/journal.pgen. 1003040.
- [21] Rio FT, Civic N, Ransijn A, et al. Two trans-acting eQTLs modulate the penetrance of PRPF31 mutations [J]. Hum Mol Genet, 2008, 17 (20) : 3154-3165. DOI: 10. 1093/hmg/ddn212.
- [22] Häcker I, Sander B, Golas MM, et al. Localization of Prp8, Brr2, Snu114 and U4/U6 proteins in the yeast tri-snRNP by electron microscopy [J]. Nat Struct Mol Biol, 2008, 15 (11) : 1206-1212. DOI: 10. 1038/nsmb. 1506.
- [23] Tanackovic G, Ransijn A, Ayuso C, et al. A missense mutation in PRPF6 causes impairment of pre-mRNA splicing and autosomal-dominant retinitis pigmentosa [J]. Am J Hum Genet, 2011, 88 (5) : 643-649. DOI: 10. 1016/j. ajhg. 2011. 04. 008.
- [24] Wang A, Forman-Kay J, Luo Y, et al. Identification and characterization of human genes encoding Hprp3p and Hprp4p, interacting components of the spliceosome [J]. Hum Mol Genet, 1997, 6 (12) : 2117-2126.
- [25] Linder B, Hirmer A, Gal A, et al. Identification of a PRPF4 loss-of-function variant that abrogates U4/U6. U5 tri-snRNP integration and is associated with retinitis pigmentosa [J/OL]. PLoS One, 2014, 9 (11) : e111754 [2016-11-03]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0111754>. DOI: 10. 1371/journal.pone. 0111754.
- [26] Zhao C, Bellur DL, Lu S, et al. Autosomal-dominant retinitis pigmentosa caused by a mutation in SNRNP200, a gene required for unwinding of U4/U6 snRNAs [J]. Am J Hum Genet, 2009, 85 (5) : 617-627. DOI: 10. 1016/j. ajhg. 2009. 09. 020.
- [27] Zhang L, Xu T, Maeder C, et al. Structural evidence for consecutive Hel308-like modules in the spliceosomal ATPase Brr2 [J]. Nat Struct Mol Biol, 2009, 16 (7) : 731-739. DOI: 10. 1038/nsmb. 1625.
- [28] Zhang L, Li X, Hill RC, et al. Brr2 plays a role in spliceosomal activation in addition to U4/U6 unwinding [J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43 (6) : 3286-3297. DOI: 10. 1093/nar/gkv062.
- [29] Liu T, Jin X, Zhang X, et al. A novel missense SNRNP200 mutation associated with autosomal dominant retinitis pigmentosa in a Chinese family [J/OL]. PLoS One, 2012, 7 (9) : e45464 [2016-11-15]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0045464>. DOI: 10. 1371/journal.pone. 0045464.
- [30] Benaglio P, McGee TL, Capelli LP, et al. Next generation sequencing of pooled samples reveals new SNRNP200 mutations associated with retinitis pigmentosa [J/OL]. Hum Mutat, 2011, 32 (6) : E2246-2258 [2016-10-23]. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/humu.21485/pdf>. DOI: 10. 1002/humu. 21485.
- [31] Bowne SJ, Sullivan LS, Avery CE, et al. Mutations in the small nuclear riboprotein 200 kDa gene (SNRNP200) cause 1. 6% of autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. Mol Vis, 2013, 19 : 2407-2417.
- [32] Zhang X, Lai TY, Chiang SW, et al. Contribution of SNRNP200 sequence variations to retinitis pigmentosa [J]. Eye (Lond), 2013, 27 (10) : 1204-1213. DOI: 10. 1038/eye. 2013. 137.
- [33] Liu S, Rauhut R, Vornlocher HP, et al. The network of protein-protein interactions within the human U4/U6. U5 tri-snRNP [J]. RNA, 2006, 12 (7) : 1418-1430.
- [34] Xu YZ, Query CC. Competition between the ATPase Prp5 and branch region-U2 snRNA pairing modulates the fidelity of spliceosome assembly [J]. Mol Cell, 2007, 28 (5) : 838-849. DOI: 10. 1016/j. molcel. 2007. 09. 022.
- [35] Xie Y, Bayakhmetov S. PIM1 kinase as a promise of targeted therapy in prostate cancer stem cells [J]. Mol Clin Oncol, 2016, 4 (1) : 13-17. DOI: 10. 3892/mco. 2015. 673.
- [36] Maita H, Kitaura H, Ariga H, et al. Association of PAP-1 and Prp3p, the products of causative genes of dominant retinitis pigmentosa, in the tri-snRNP complex [J]. Exp Cell Res, 2005, 302 (1) : 61-68. DOI: 10. 1016/j. yexcr. 2004. 08. 022.
- [37] Wu S, Romfo CM, Nilsen TW, et al. Functional recognition of the 3' splice site AG by the splicing factor U2AF35 [J]. Nature, 1999, 402 (6763) : 832-835. DOI: 10. 1038/45590.
- [38] Keen TJ, Hims MM, McKie AB, et al. Mutations in a protein target of the Pim-1 kinase associated with the RP9 form of autosomal dominant retinitis pigmentosa [J]. Eur J Hum Genet, 2002, 10 (4) : 245-249. DOI: 10. 1038/sj. ejhg. 5200797.
- [39] Sullivan LS, Bowne SJ, Birch DG, et al. Prevalence of disease-causing mutations in families with autosomal dominant retinitis pigmentosa: a screen of known genes in 200 families [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47 (7) : 3052-3064. DOI: 10. 1167/iov. 05-1443.
- [40] Hegele A, Kamburov A, Grossmann A, et al. Dynamic protein-protein interaction wiring of the human spliceosome [J]. Mol Cell, 2012, 45 (4) : 567-580. DOI: 10. 1016/j. molcel. 2011. 12. 034.
- [41] Schwer B, Guthrie C. A conformational rearrangement in the spliceosome is dependent on PRP16 and ATP hydrolysis [J]. EMBO J, 1992, 11 (13) : 5033-5039.
- [42] Tseng CK, Liu HL, Cheng SC. DEAH-box ATPase Prp16 has dual roles in remodeling of the spliceosome in catalytic steps [J]. RNA, 2011, 17 (1) : 145-154. DOI: 10. 1261/rna. 2459611.
- [43] 赵晨, 郝朋, 赵堪兴. 核前体 mRNA 的剪接与视网膜色素变性 [J]. 中华实验眼科杂志, 2011, 29 (9) : 769-773. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2011. 09. 001.
- [44] Zhao C, Hao P, Zhao KX. Pre-mRNA splicing and retinitis pigmentosa [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2011, 29 (9) : 769-773. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2011. 09. 001.
- [45] Maeder C, Kutach AK, Guthrie C. ATP-dependent unwinding of U4/U6 snRNAs by the Brr2 helicase requires the C terminus of Prp8 [J]. Nat Struct Mol Biol, 2009, 16 (1) : 42-48. DOI: 10. 1038/nsmb. 1535.
- [46] Cao H, Wu J, Lam S, et al. Temporal and tissue specific regulation of RP-associated splicing factor genes PRPF3, PRPF31 and PRPC8—implications in the pathogenesis of RP [J/OL]. PLoS One, 2011, 6 (1) : e15860 [2016-10-21]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0015860>. DOI: 10. 1371/journal.pone. 0015860.
- [47] Linder B, Dill H, Hirmer A, et al. Systemic splicing factor deficiency causes tissue-specific defects; a zebrafish model for retinitis pigmentosa [J]. Hum Mol Genet, 2011, 20 (2) : 368-377. DOI: 10. 1093/hmg/ddq473.
- [48] Raghunathan PL, Guthrie C. RNA unwinding in U4/U6 snRNPs requires ATP hydrolysis and the DEIH-box splicing factor Brr2 [J]. Curr Biol, 1998, 8 (15) : 847-855.
- [49] Faustino NA, Cooper TA. Pre-mRNA splicing and human disease [J]. Genes Dev, 2003, 17 (4) : 419-437. DOI: 10. 1101/gad. 1048803.
- [50] Schimmer J, Breazzano S. Investor outlook: focus on upcoming LCA2 gene therapy phase III results [J]. Hum Gene Ther Clin Dev, 2015, 26 (3) : 144-149. DOI: 10. 1089/humc. 2015. 29001. sch.

(收稿日期: 2017-03-06)

(本文编辑: 刘艳)