

核体 paraspeckle 结构及形成研究进展

刘晨 (武汉大学医学研究院, 湖北武汉 430071)

摘要 细胞核内存在复杂的亚核结构, 它们在结构和空间分布上有所区别, 以参与特定的生物学进程。paraspeckle 是建立在长非编码 RNA(lncRNA) NEAT1 上的不规则核体, NEAT1 和 paraspeckle 蛋白在空间上排列形成核壳状。paraspeckle 及其成分通过将特定的蛋白质和/或转录本保留在其核内, 在许多细胞过程中控制基因表达, 进而影响细胞进程, 包括分化和一些应激反应。通过对近年来关于 paraspeckle 研究成果的归纳总结, 综述了 paraspeckle 的结构及形成过程等方面的研究进展, 为进一步探究 paraspeckle 调控生物学过程的机制提供一定的理论基础。

关键词 核体; paraspeckle; 结构; 形成

中图分类号 Q26 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)19-0004-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.19.002



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Research Progress on the Structure and Formation of Paraspeckle of Nuclear Bodies

LIU Chen (Medical Research Institute, Wuhan University, Wuhan, Hubei 430071)

Abstract There are complex subnuclear structures within the nucleus that differ in structure and spatial distribution to participate in specific biological processes. Paraspeckle is an irregular nucleosome built on NEAT1, a long non-coding RNA. NEAT1 and paraspeckle proteins are arranged in space to form nucleosomes. Paraspeckle and its components control gene expression in many cellular processes, including differentiation and some stress responses, by retaining specific proteins and/or transcripts in nucleus. By summarizing the research results of paraspeckle in recent years, this paper reviewed the research progress in the structure and formation process of paraspeckle, providing a theoretical basis for further exploring the mechanism of paraspeckle regulating physiological processes.

Key words Nuclear bodies; Paraspeckle; Structure; Formation

细胞核是一个大而复杂的细胞器, 它是高度结构化的、具有复杂的内部结构, 但其特征尚未完全阐明。细胞核的一个特征是: 存在不同的亚核体, 这些核体包含了一些特定的离散的蛋白质和核酸, 它们参与了特定的细胞核进程^[1]。大多数亚核小体存在于染色质之间的区域, 包括 Cajal 小体、PML 小体和 nuclear speckles, 直径 0.2~2.0 μm, 包含多个核调节因子, 如 DNA 结合蛋白质和/或 RNA 结合蛋白质, 参与基因表达的不同阶段, 包括转录、RNA 加工、输出和存储这些因子等过程^[2-3]。

paraspeckle 是由 Visa、Puvion-dutilleul、Bachelierie 和 Puvion (1993) 首次发现的非膜质核体, 电子显微镜检测到, 它们是处于染色质颗粒相关带的电子致密结构。2002 年, 一项研究用质谱法对纯化的人核仁进行蛋白质组学分析, 共鉴定出 271 种蛋白, 其中约 30% 为新蛋白^[4]。后续分析发现了其中一种新蛋白并不富集于核仁, 而是弥散分布在核浆内, 并集中于一些亚核斑点^[5]。因为它们被发现定位于染色质间接近但不同于 nuclear speckles, 因此这些斑点被命名为 paraspeckle。定位于这些结构的新蛋白随后被命名为 paraspeckle protein 1 (PSPC1)。2009 年, 4 个研究组各自独立地发现了 NEAT1 lncRNA (或称为 MENε/β), 最初叫 nuclear enriched abundant transcript 1, 随后改称为 nuclear paraspeckle assembly transcript 1, 是 paraspeckle 一个重要的结构性组分^[6-9]。

paraspeckle 最初被描述为富含 DBHS (drosophila behavior human splicing) 家族 RNA 结合蛋白的核体^[1]。DBHS 蛋白家族的成员已经被证明可以结合双链和单链 DNA 和

RNA, 并与许多不同的复合物发生交联^[10]。DBHS 家族蛋白参与 RNA 产生和加工的许多方面, 包括转录起始、转录终止和剪接^[11-16]。在分子水平上, paraspeckle 被认为可以将蛋白质或转录本隔离到核内, 充当调节核质中活性分子水平的分子海绵^[17-18], 从而调节多种细胞进程及生理过程。

paraspeckle 是由其结构性 RNA NEAT1 和多个 RNA 结合蛋白组成的大型核糖核蛋白复合物。NEAT1 和 paraspeckle 蛋白在空间上排列以形成有序结构^[19]。大多数核物质表现出液滴状特征, 与周围的核质相分离, 并能融合形成较大的液滴^[20-21]。液滴通过液-液相分离 (LLPS) 进行组装, 这是通过形成多个分子间多价相互作用来完成的^[22-24]。核体包含多个具有内在无序区域的 RNA 结合蛋白, 这些区域使 RNA 结合和诱导 LLPS, 因此是非膜性核体形成的驱动力^[20-21]。从 paraspeckle 蛋白的相互作用网络图中发现, RBM14 (RNA 结合蛋白 14) 是一种重要的 paraspeckle 组件, 它通过其朊样结构域 (PLD) 介导了一种关键的相互作用, 将其他几种重要蛋白连接到网络中, 对 paraspeckle 的形成至关重要^[25]。笔者通过查阅核体 paraspeckle 结构及形成方面的文献, 对 paraspeckle 的结构、组分及装备等方面进行了综述, 为进一步研究 paraspeckle 生物发生过程及其生物学功能提供了一定的理论依据。

1 paraspeckle 的结构特征及功能

paraspeckle 是一种体积小、大小不规则、分布不均匀的亚核体。在哺乳动物组织和细胞中, paraspeckle 广泛分布, 大多数鼠源和人源细胞系和组织被证明含有 paraspeckle, 包括转化和原代细胞系, 胚胎成纤维细胞和致瘤活组织^[5,7-9,26]。根据细胞类型的不同, paraspeckle 的数量在每个核 5~20 个斑点 (例如, HeLa 包括 13~17 个斑点/核, NIH3T3

作者简介 刘晨 (1995—), 女, 山西大同人, 硕士研究生, 研究方向: 细胞生物学。

收稿日期 2020-02-27; **修回日期** 2020-03-18

细胞包括 5~10 个斑点/核)^[7]。paraspeckle 被发现存在于染色质间区域,夹在 nuclear speckles 和染色质间。电镜研究和荧光图像显示,paraspeckle 大小范围为 0.5~1.0 μm 直径,并呈现不规则的肠样形状^[27]。

DBHS RNA 结合蛋白家族成员在 paraspeckle 中特别丰富,包括含非 POU 域八聚体结合蛋白(NONO)、脯氨酸和谷氨酸富集剪接因子(SFPQ)和 PSC1,在 paraspeckle 中特别丰富^[28-29]。paraspeckle 是依赖于 RNAPII 转录的 RNase 敏感结构,这表明它们的维持需要 RNAs^[30]。Neat1 是一种哺乳动物特异性的 lncRNA,是 paraspeckle 的结构组成部分。Neat1 的缺失会导致该核体的解体^[6-9]。Neat1 的 2 种亚型由一个共同的启动子诱导形成的,长(小鼠为 20 kb)的 Neat1_2 亚型是 paraspeckle 形成所需,而短(小鼠为 3.2 kb)的 Neat1_1 亚型对其结构功能的维持是非必需的^[31-32]。Neat1_2 在 paraspeckle 里的排列是有序的,5' 和 3' 的末端位于边缘,Neat1_2 的中部位于 paraspeckle 中央区^[33]。观察结果表明,Neat1_2 呈放射状排列在香肠状 paraspeckle 的横平面上,为 paraspeckle 蛋白的组装提供了一个结构支架。使用结构光照明显微镜对这些核物质进行精细的结构分析,发现呈现良好的核壳类球状结构,蛋白和 RNA 转录本沿径向取向的 Neat1_2 转录本有序分布^[34]。对 paraspeckle 结构维持至关重要的蛋白定位于核心或斑块,而不是 paraspeckle 的外壳^[31],说明前一种成分起着结构上的作用,而外壳成分与核质成分结合,发挥其功能。

paraspeckle 已知的主要功能与其 RNA 成分有关。Paraspeckle 被认为可以调节多种细胞过程,包括高 A-to-I 编辑水平的 mRNAs 的核保留^[6,26],通过 SFPQ 的隔离来控制转录^[17],以及对特定细胞中聚肌苷-聚胞苷酸双链核苷酸的免疫反应^[18]。此外,paraspeckle 是由病毒感染、蛋白酶体抑制和分化引起的应激反应性结构^[9,17-18]。从生理学上讲,NEAT1 是参与小鼠雌性生殖的特定组织的发育和各种癌症进程所必需的^[35-38]。特别是,据报道,一部分 Neat1 基因敲除的雌性小鼠卵巢黄体的形成受损,这种 Neat1 显著表达的结构参与了妊娠期孕酮的生成。在怀孕期间缺乏黄体的形成会导致不育和/或雌性可育怀孕更少^[37]。一些含有 PLD 的 paraspeckle 蛋白(FUS、TDP-43 等)^[31,39] 已知会导致肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)的突变^[40-44]。在 ALS 运动神经元中也可见到 paraspeckle,在额颞叶变性相关情况下 NEAT1 表达上调^[39,45]。

2 paraspeckle 的组成成分

2.1 NEAT1/Men ϵ/β RNA

现在已经知道,特别是对哺乳动物来说,基因组的大部分是转录的,以产生蛋白质编码和非蛋白编码 RNA^[46]。近年来,对非编码 RNA 的定义及功能的研究大量呈现。在 2007 年的一项针对核非编码 RNA 种类定义的研究中,描述了 2 种丰富广泛表达的核富集常染色体非编码转录本,称为 NEAT1(也称为 Men ϵ/β)和 NEAT2(也称为 MALAT-1)^[47]。RNA-FISH 显示 MALAT-1 定位于核斑点,而 NEAT1 则在临近核斑点的亚核斑点(显示为 pa-

raspeckle)处被发现,NEAT1 和 MALAT-1 非编码 RNAs 由 RNA Pol II 产生,独立于蛋白编码基因。NEAT1 有 2 个亚型:NEAT1_1 和 NEAT1_2(之前称为 Men ϵ 和 Men β),它们共享 5' 端 3~4 kb 的序列,即 NEAT1_1,更长的亚型 NEAT1_2 含有额外的约 20 kb 的 RNA^[48]。NEAT1_2 RNA 的 3' 末端经剪切产生一个特别的 tRNA 样分子^[9,49]。NEAT1_1 在其 3' 端具有典型的聚腺苷酸信号(PAS)。而 NEAT1_2 的 tRNA 样结构会被 RNase P 识别、剪切,暴露出一个基因组编码的 oligo(a) 序列和一个独特的 3' 端三重螺旋结构(3'TH)。剪切得到的 tRNA 样小分子不稳定,迅速降解^[50]。3'TH 是体内外稳定 NEAT1_2 的关键^[49,51-52],但 3'TH 质粒对 paraspeckle 的组装不是必需的^[31]。

利用 CRISPR-Cas9 介导的敲除试验对人的 NEAT1_2 进行研究,可以将其划分为 3 个功能不同的结构域,分别负责 NEAT1 的稳定、亚型选择和 paraspeckle 装配,都是形成 paraspeckle 所必需的。位于 5'(0~1 kb)和 3' 末端(3'TH)的结构域是 NEAT1 稳定所必需的,值得注意的是,5' 端 1 kb 区域被确定为 NEAT1 稳定和 paraspeckle 形成所需的其他功能区域^[52]。NEAT1_1 的多聚腺苷酸化位点(PAS)上游(2.1~2.8 kb)和下游(4.0~5.1 kb)2 个区域促进了 NEAT1_2 的表达,抑制了 NEAT1_1 的表达。当 PAS 完好时,该结构域发挥作用,这表明该结构域抑制了 PAS 依赖的聚腺苷酸的合成,从而促进了 NEAT1_2 的合成。此外还有报道,NEAT1_1 聚腺苷酸的调节是通过一种独特的机制发生的,即 CPSF6/Nudt21 与靠近 PAS 的 CUGA 序列簇结合,从而促进 NEAT1_1 的聚腺苷酸化。HNRNPK 通过与位于 CUGA 簇和 PAS 之间的嘧啶延伸结合,干扰聚腺苷酸化。PAS 附近域的作用与依赖于 HNRNPK 的机制之间的关系尚不清楚,NEAT1 的亚型转换可能至少受 2 种不同的机制控制,每种机制都依赖于特定的细胞类型^[19]。BLAST 算法分析比较 NEAT1_2 序列显示,在 3 种哺乳动物中出现了一些不同长度和相似性的重复序列,一些重复序列与已知的 LINE 和 SINE 元件有重叠,即 NEAT1_2 的一个相对较大的中间区域(8.0~16.6 kb),缺失分析显示其对 paraspeckle 组装来说是必需的,该结构域与 5' 及 3' 末端结构域组成的 NEAT1_2 突变体(mini-NEAT1)能够形成一个结构有序的 paraspeckle^[52]。进一步的缺失分析表明,中间结构域至少包含 3 个功能子域(9.8~12.0、12.0~13.0、15.4~16.6 kb)。中间结构域和外部区域以及中间结构域本身之间似乎存在复杂的多重功能冗余^[52]。一些 lncRNAs(如 XIST)据报道含有重复序列延伸,这些重复序列具有重要的功能作用^[53-54],这可能提示了 NEAT1_2 含有重复遗传元件的中间区域为何对 paraspeckle 的组装发挥关键作用。

Mao 等^[51]使用基因组整合报告系统表明,RNAPII 从其基因组位点转录 NEAT1 可以在转录位点诱导 paraspeckle 的从头形成。另一方面,人工聚集的 NEAT1 不能诱导 paraspeckle 形成,表明 paraspeckle 是在其基因组位点与新生的 NEAT1 共同转录形成的^[55]。NEAT1 转录受各种内外部条件、病原体和化学物质的调节^[9,17,28,35,38,56]。最近,对 NEAT1

调控子的基因组大范围筛选发现了 paraspeckle 和线粒体之间的交叉调控,该交叉调控受 ATF2 转录调控下游因子对 NEAT1 的调控^[57]。

2.2 paraspeckle 蛋白 迄今为止,已知超过 40 种蛋白在 paraspeckle 中积累,大部分是富集 RNA 识别基序(RRMs)、锌指结构域和 K 同源域的丰富的核 RNA 结合蛋白^[31,58]。根据每种蛋白缺失时引起的 paraspeckle 破坏的程度,可以将这些蛋白分为 3 类^[31]:第 1 类蛋白质对 paraspeckle 的结构维持至关重要,它们被进一步细分为 Ia 类蛋白和 Ib 类蛋白,Ia 类蛋白是生成或稳定 Neat1_2 (如 SFPQ、NONO 和 RBM14)所必需的,Ib 类蛋白不影响 Neat1_2 的量(如 FUS/TLS 和 BRG1)^[8,25,31];第 2 类蛋白(如 TARDBP)的缺失导致具有 paraspeckle 的细胞数量大幅减少;第 3 类蛋白(如 PSPC1)对 paraspeckle 的形成没有明显的影响^[31]。所有的 paraspeckle 蛋白都具有 RNA 结合能力,但不一定参与共同的生物学过程^[34]。

PLD 正逐渐成为基因调控的重要模块,一个新兴的概念是 PLD 允许蛋白质“功能聚集”,形成高阶组装体和显微镜下可见的核糖核蛋白颗粒^[59]。将蛋白质和 RNA 浓缩在一个有限的空间中被认为可以产生更有效的基因调控过程。Hennig 等^[25]对已知的以及一些推定的 paraspeckle 蛋白进行了酵母双杂交筛选,得到了一个根据 paraspeckle 蛋白之间相互作用绘制的网络图,在相互作用网络中,PLD 蛋白过度表达:网络中 66%的蛋白具有 PLD(19/29),而 55%的起始蛋白具有 PLD(26/47)。其中,RBM14 PLD 介导了一种关键的相互作用,将其他几种重要蛋白连接到网络中。酵母双杂交和免疫共沉淀试验证实,RBM14 PLD 与 NONO 的强烈相互作用是必需的,而且这种相互作用不依赖于 RNA^[25]。此外,在对 RNA 结合蛋白 FUS 的研究中发现,其 PLD 包含许多重复的[G/S]Y[G/S]^[60-61],负责将 FUS 定位于 paraspeckle^[62]。PLD 在体外以水凝胶的形式表达,形成网状网络^[63-64],而 FUS 重复序列中的中心酪氨酸对水凝胶的形成和胞质中应激颗粒的靶向作用至关重要^[63]。RBM14 与 FUS 相似,均对 paraspeckle 的形成至关重要。

3 paraspeckle 的装配形成

paraspeckle 是由 lncRNA NEAT1 及一些蛋白质通过蛋白-RNA 相互作用、蛋白-蛋白相互作用构建而成的巨大核糖核蛋白复合物。

NONO 和 SFPQ 与 NEAT1_2 的功能交互启动了 paraspeckle 组装^[19,52]。NONO 和 SFPQ 在细胞中形成一种主要的异质二聚体,NONO 中特有的 NOPS 结构域负责其与 DBHS 家族蛋白的二聚^[65]。主要缔合的 NONO/SFPQ 二聚体随后可通过卷曲螺旋(CC)域引发聚合,最终可能覆盖整个 NEAT1_2 结构性 RNA。PAR-CLIP 数据显示,PSP 结合位点广泛覆盖整个 NEAT1_2 区域,3 个子域包含多个 NONO 和 SFPQ 的突出结合峰^[52]。此外,先前的透射电镜研究表明,SFPQ 可以通过 CC 域聚合形成高阶复合物^[66]。即 NEAT1_2 的子域作为 NONO/SFPQ 二聚体的主要结合位点,使后续聚合成为可能,并形成 NEAT1_2 核糖核蛋白复合物

的基础^[20]。

LLPS 是由具有低复杂性结构域(LCDs)的蛋白质完成的^[20]。LCDs 缺乏明确的三维结构,为多价弱粘着分子间相互作用,如静电、 π 堆积和疏水相互作用提供了基础^[22,24,67]。在一个阈值浓度以上,形成多价相互作用的蛋白质可以自组装并经历 LLPS,从而形成大量的无膜体,如 Cajal 小体^[52]。最近有报道表明 NEAT1 RNA 片段可以促进 FUS 液滴在非特异性 RNAs 缓冲液中体外成核^[68]。大多数 paraspeckle 蛋白包含被归类为含有 PLD 的 LCDs,这可以有效地诱导 LLPS^[25,28,52]。paraspeckle 蛋白能快速地进出 paraspeckle,因此 paraspeckle 具有相分离体的特征之一——高度的动态性。结构性 RNA NEAT1 极有可能为含 LCDs 的蛋白(如 FUS 和 RBM14)提供多个结合位点以促进其局部浓度,并最终在其自身的转录位点附近诱导 LLPS,以形成 paraspeckle^[20]。

此外,最近的证据表明,分子间 RNA-RNA 相互作用在核糖核蛋白颗粒的形成中起作用,重复的 RNAs 会形成独特的核体样斑点^[69-71]。且药物导致 NONO 与 paraspeckle 解离后,仍可检测到较弱的 NEAT1 斑点^[52]。最近的 RNA 结构 mappings 已经确定了 NEAT1_2 分子内的大量 RNA-RNA 相互作用,这些相互作用可能发生在转录位点或 NEAT1 高度集中的 paraspeckle 内^[72]。这些结果都表明独立于蛋白的 NEAT1 RNA-RNA 相互作用也参与了 paraspeckle 的形成。

4 展望

目前,包括 paraspeckle 中的 NEAT1_2 lncRNA 在内的 8 个参与构建核体 lncRNAs 可被分类为结构性 RNAs^[73-79],均可以通过局部隔离特定的 PLD 蛋白来集中和触发 LLPS。最近 Hirose 等^[19]根据结构性 RNA 候选基因的半提取特征开发了一种转录组范围的筛选方法。通过对 HeLa 细胞进行转录组水平的分析,发现了 45 个具有半可提取特征的 RNAs,其中前 10 个最丰富的 RNAs 在核斑点中均表现出明显的定位^[20,67]。这些发现表明在人类转录组中存在不明的结构性 RNAs,进一步探索位于功能域的结构性 RNA 元件将为结构性 RNA 功能机制提供更多的见解。

NEAT1_1 亚型对于 paraspeckle 的形成是必不可少的,其作用至今仍知之甚少。NEAT1_1 和 NEAT1_2 共有的 5'端基因结构使得这 2 种亚型之间的功能关系难以详细分析。最近的研究发现,HeLa 细胞中 NEAT1_1 的实际含量比 NEAT1_2 低 10 倍,说明 NEAT1_1 并不是 paraspeckle 的主要成分^[67]。基因组编辑介导的每个 NEAT1 亚型缺失进一步发现,NEAT1_1 定位于许多被称为“microspeckles”的 non-paraspeckle 斑点,它们可能具有独立于 paraspeckle 的功能^[80],有待进一步探索。

调节核糖核蛋白颗粒的形成正在成为癌症和神经退行性疾病的潜在治疗应用。特别相关的是肌萎缩性侧索硬化症,它与很多核内含 PLD 蛋白的细胞质聚集体有关,在许多情况下是由含 PLD 蛋白的突变引起的^[25,81-82]。现在已知有 6 种 paraspeckle 蛋白(FUS、TDP-43、SS18L1、HNRNPA1、TAF15 和 EWSR1)在发生突变时会导致 ALS,其他的 pa-

raspeckle 蛋白可能是新的 ALS 基因的候选对象。PLD 介导的功能性聚集在 ALS RNA 结合蛋白中的重要性越来越受到重视,这为进一步研究如何在疾病中干扰这些过程打开了大门。不同 PLD 中的重复基序,以及这些重复基序中的差异如何与核糖核蛋白复合物和其他装配物的功能聚合相关仍然是一个需要探索的问题。

参考文献

- [1] PLATANI M, LAMOND A I. Nuclear organisation and subnuclear bodies [J]. *Progress in molecular and subcellular biology*, 2004, 35: 1–22.
- [2] MAO Y S, ZHANG B, SPECTOR D L. Biogenesis and function of nuclear bodies [J]. *Trends in genetics*, 2011, 27(8): 295–306.
- [3] STANĚK D, FOX A H. Nuclear bodies: News insights into structure and function [J]. *Current opinion in cell biology*, 2017, 46: 94–101.
- [4] ANDERSEN J S, LYON C E, FOX A H, et al. Directed proteomic analysis of the human nucleolus [J]. *Current biology*, 2002, 12(1): 1–11.
- [5] FOX A H, LAM Y W, LEUNG A K L, et al. Paraspeckles: A novel nuclear domain [J]. *Current biology*, 2002, 12(1): 13–25.
- [6] CHEN L L, CARMICHAEL G C. Altered nuclear retention of mRNAs containing inverted repeats in human embryonic stem cells: Functional role of a nuclear noncoding RNA [J]. *Molecular cell*, 2009, 35(4): 467–478.
- [7] CLEMONS C M, HUTCHINSON J N, SARA S A, et al. An architectural role for a nuclear noncoding RNA: NEAT1 RNA is essential for the structure of paraspeckles [J]. *Molecular cell*, 2009, 33(6): 717–726.
- [8] SASAKI Y T F, IDEUE T, SANO M, et al. MEN ϵ/β noncoding RNAs are essential for structural integrity of nuclear paraspeckles [J]. *Proceedings of the national academy of sciences*, 2009, 106(8): 2525–2530.
- [9] SUNWOO H, DINGER M E, WILUSZ J E, et al. MEN ϵ/β nuclear-retained non-coding RNAs are up-regulated upon muscle differentiation and are essential components of paraspeckles [J]. *Genome research*, 2009, 19(3): 347–359.
- [10] SHAH-TAL Y, ZIPORI D. PSF and p54^{nonO}/NonO-multi-functional nuclear proteins [J]. *FEBS Letters*, 2002, 531(2): 109–114.
- [11] PATTON J G, PORRO E B, GALCERAN J, et al. Cloning and characterization of PSF, a novel pre-mRNA splicing factor [J]. *Genes & development*, 1993, 7(3): 393–406.
- [12] YANG Y S, HANKE J H, CARAYANNOPOULOS L, et al. NonO, a non-POU-domain-containing, octamer-binding protein, is the mammalian homolog of *Drosophila nonA*^{dis} [J]. *Molecular & cellular biology*, 1993, 13(9): 5593–5603.
- [13] PENG R, DYE B T, PÉREZ I, et al. PSF and p54^{nonO} bind a conserved stem in U5 snRNA [J]. *RNA*, 2002, 8(10): 1334–1347.
- [14] KAMEOKA S, DUQUE P, KONARSKA M M. p54^{nonO} associates with the 5' splice site within large transcription/splicing complexes [J]. *The EMBO Journal*, 2004, 23(8): 1782–1791.
- [15] ITO T, WATANABE H, YAMAMICHI N, et al. Brm transactivates the telomerase reverse transcriptase (*TERT*) gene and modulates the splicing patterns of its transcripts in concert with p54^{nonO} [J]. *Biochemical journal*, 2008, 411(1): 201–209.
- [16] KANEKO S, ROZENBLATT-ROSEN O, MEYERSON M, et al. The multi-functional protein p54^{nonO}/PSF recruits the exonuclease XRN2 to facilitate pre-mRNA 3' processing and transcription termination [J]. *Genes & development*, 2007, 21(14): 1779–1789.
- [17] HIROSE T, VIRNICCHI G, TANIGAWA A, et al. NEAT1 long noncoding RNA regulates transcription via protein sequestration within subnuclear bodies [J]. *Molecular biology of the cell*, 2014, 25(1): 169–183.
- [18] IMAMURA K, IMAMACHI N, AKIZUKI G, et al. Long noncoding RNA NEAT1-dependent SFPQ relocation from promoter region to paraspeckle mediates IL8 expression upon immune stimuli [J]. *Molecular cell*, 2014, 53(3): 393–406.
- [19] HIROSE T, YAMAZAKI T, NAKAGAWA S. Molecular anatomy of the architectural NEAT1 noncoding RNA: The domains, interactors, and biogenesis pathway required to build phase-separated nuclear paraspeckles [J/OL]. *Wiley interdisciplinary reviews: RNA*, 2019, 10(6) [2020-01-05]. <https://doi.org/10.1002/wrna.1545>.
- [20] SAWYER I A, STURGILL D, DUNDR M. Membraneless nuclear organelles and the search for phases within phases [J/OL]. *Wiley interdisciplinary reviews: RNA*, 2019, 10(2) [2020-01-05]. <https://doi.org/10.1002/wrna.1514>.
- [21] COURCHAINÉ E M, LU A, NEUGEBAUER K M. Droplet organelles? [J]. *EMBO Journal*, 2016, 35(15): 1603–1612.
- [22] ALBERTI S, GLADFELTER A, MITTAG T. Considerations and challenges in studying liquid-liquid phase separation and biomolecular condensates [J]. *Cell*, 2019, 176(3): 419–334.
- [23] BANANI S F, LEE H O, HYMAN A A, et al. Biomolecular condensates: Organizers of cellular biochemistry [J]. *Nature reviews molecular cell biology*, 2017, 18(5): 285–298.
- [24] SHIN Y, BRANGWYNNE C P. Liquid phase condensation in cell physiology and disease [J]. *Science*, 2017, 357(6357): 1–11.
- [25] HENNIG S, KONG G, MANNEN T, et al. Prion-like domains in RNA binding proteins are essential for building subnuclear paraspeckles [J]. *The journal of cell biology*, 2015, 210(4): 529–539.
- [26] PRASANTH K V, PRASANTH S G, XUAN Z Y, et al. Regulating gene expression through RNA nuclear retention [J]. *Cell*, 2005, 123(2): 249–263.
- [27] CARDINALE S, CISTERNA B, BONETTI P, et al. Subnuclear localization and dynamics of the pre-mRNA 3' end processing factor mammalian cleavage factor I 68-kDa subunit [J]. *Molecular biology of the cell*, 2007, 18(4): 1282–1292.
- [28] FOX A H, NAKAGAWA S, HIROSE T, et al. Paraspeckles: Where long noncoding RNA meets phase separation [J]. *Trends in biochemical sciences*, 2017, 43(2): 124–135.
- [29] NAKAGAWA S, YAMAZAKI T, HIROSE T. Molecular dissection of nuclear paraspeckles: Towards understanding the emerging world of the RNP milieu [J]. *Open biology*, 2018, 8(10): 2046–2441.
- [30] FOX A H, BOND C S, LAMOND A I. P54^{nonO} forms a heterodimer with PSP1 that localizes to paraspeckles in an RNA-dependent manner [J]. *Molecular biology of the cell*, 2005, 16(11): 5304–5315.
- [31] NAGANUMA T, NAKAGAWA S, TANIGAWA A, et al. Alternative 3'-end processing of long noncoding RNA initiates construction of nuclear paraspeckles [J]. *The EMBO Journal*, 2012, 31(20): 4020–4034.
- [32] NAKAGAWA S, NAGANUMA T, SHIOI G, et al. Paraspeckles are subpopulation-specific nuclear bodies that are not essential in mice [J]. *Journal of cell biology*, 2011, 193(1): 31–39.
- [33] SOUQUERE S, BEAUCLAIR G, HARPER F, et al. Highly ordered spatial organization of the structural long noncoding NEAT1 RNAs within paraspeckle nuclear bodies [J]. *Molecular biology of the cell*, 2010, 21(22): 4020–4027.
- [34] WEST J A, MITO M, KUROSAKA S, et al. Structural, super-resolution microscopy analysis of paraspeckle nuclear body organization [J]. *Journal of cell biology*, 2016, 214(7): 817–830.
- [35] MELLO S S, SINOW C, RAJ N, et al. *Neat1* is a p53-inducible lincRNA essential for transformation suppression [J]. *Genes & development*, 2017, 31(11): 1095–1108.
- [36] STANDAERT L, ADRIAENS C, RADAELLI E, et al. The long noncoding RNA *Neat1* is required for mammary gland development and lactation [J]. *RNA*, 2014, 20(12): 1844–1849.
- [37] NAKAGAWA S, SHIMADA M, YANAKA K, et al. The lincRNA *Neat1* is required for corpus luteum formation and the establishment of pregnancy in a subpopulation of mice [J]. *Development*, 2014, 141(23): 4618–4627.
- [38] ADRIAENS C, STANDAERT L, BARRA J, et al. p53 induces formation of NEAT1 lincRNA-containing paraspeckles that modulate replication stress response and chemosensitivity [J]. *Nature medicine*, 2016, 22(8): 861–868.
- [39] NISHIMOTO Y, NAKAGAWA S, HIROSE T, et al. The long non-coding RNA nuclear-enriched abundant transcript 1_2 induces paraspeckle formation in the motor neuron during the early phase of amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Molecular brain*, 2013, 6(1): 1–18.
- [40] VANCE C, ROGELJ B, HORTOBÁGYI T, et al. Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6 [J]. *Science*, 2009, 323(5918): 1208–1211.
- [41] COUTHOUIS J, HART M P, JAME S, et al. A yeast functional screen predicts new candidate ALS disease genes [J]. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 2011, 108(52): 20881–20890.
- [42] COUTHOUIS J, HART M P, ERION R, et al. Evaluating the role of the FUS/TLS-related gene EWSR1 in amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Human molecular genetics*, 2012, 21(13): 2899–2911.
- [43] CHESI A, STAAHL B T, JOVIČIĆ A, et al. Exome sequencing to identify *de novo* mutations in sporadic ALS trios [J]. *Nature neuroscience*, 2013, 16

- (7):851–855.
- [44] KIM H J, KIM N C, WANG Y D, et al. Mutations in prion-like domains in hnRNP A2B1 and hnRNP A1 cause multisystem proteinopathy and ALS [J]. *Nature*, 2013, 495: 467–473.
 - [45] TOLLERVEY J R, CURK T, ROGELJ B, et al. Characterizing the RNA targets and position-dependent splicing regulation by TDP-43 [J]. *Nature neuroscience*, 2011, 14(4): 452–458.
 - [46] CARNINCI P, KASUKAWA T, KATAYAMA S, et al. The transcriptional landscape of the mammalian genome [J]. *Science*, 2005, 309(5740): 1559–1563.
 - [47] HUTCHINSON J N, ENSMINGER A W, CLEMONS C M, et al. A screen for nuclear transcripts identifies two linked noncoding RNAs associated with SC35 splicing domains [J]. *BMC Genomics*, 2007, 8(1): 1–16.
 - [48] FOX A H, LAMOND A I. Paraspeckles [J]. *Cold spring harbor perspectives in biology*, 2010, 2(7): 1–14.
 - [49] WILUSZ J E, FREIER S M, SPECTOR D L. 3' end processing of a long nuclear-retained noncoding RNA yields a tRNA-like cytoplasmic RNA [J]. *Cell*, 2008, 135(5): 919–932.
 - [50] YAMAZAKI T, HIROSE T. The building process of the functional paraspeckle with long non-coding RNAs [J]. *Frontiers in bioscience*, 2015, 7(1): 1–41.
 - [51] MAO Y S, SUNWOO H, ZHANG B, et al. Direct visualization of the co-transcriptional assembly of a nuclear body by noncoding RNAs [J]. *Nature cell biology*, 2011, 13(1): 95–101.
 - [52] YAMAZAKI T, SOUQUERE S, CHUJO T, et al. Functional domains of NEAT1 architectural lncRNA induce paraspeckle assembly through phase separation [J]. *Molecular cell*, 2018, 70(6): 1038–1053.
 - [53] CHU C, ZHANG Q C, DA ROCHA S T, et al. Systematic discovery of Xist RNA binding proteins [J]. *Cell*, 2015, 161(2): 404–416.
 - [54] WUTZ A, RASMUSSEN T P, JAENISCH R. Chromosomal silencing and localization are mediated by different domains of Xist RNA [J]. *Nature genetics*, 2002, 30(2): 167–174.
 - [55] SHEVTSOV S P, DUNDR M. Nucleation of nuclear bodies by RNA [J]. *Nature cell biology*, 2011, 13(2): 167–173.
 - [56] CHAKRAVARTY D, SBONER A, NAIR S S, et al. The oestrogen receptor alpha-regulated lncRNA NEAT1 is a critical modulator of prostate cancer [J]. *Nature communications*, 2014, 5: 1–16.
 - [57] WANG Y, HU S B, WANG M R, et al. Genome-wide screening of NEAT1 regulators reveals cross-regulation between paraspeckles and mitochondria [J]. *Nature cell biology*, 2018, 20(10): 1145–1158.
 - [58] FONG KW, LI Y J, WANG W, et al. Whole-genome screening identifies proteins localized to distinct nuclear bodies [J]. *The journal of cell biology*, 2013, 203(1): 149–164.
 - [59] TORETSKY J A, WRIGHT P E. Assemblages: Functional units formed by cellular phase separation [J]. *Journal of cell biology*, 2014, 206(5): 579–588.
 - [60] KWON I, KATO M, XIANG S H, et al. Phosphorylation-regulated binding of RNA polymerase II to fibrous polymers of low-complexity domains [J]. *Cell*, 2013, 155(5): 1049–1060.
 - [61] SCHWARTZ J C, WANG X Y, PODELL E R, et al. RNA seeds higher-order assembly of FUS protein [J]. *Cell reports*, 2013, 5(4): 918–925.
 - [62] SHELKOVNIKOVA T A, ROBINSON H K, SOUTHCOMBE J A, et al. Multistep process of FUS aggregation in the cell cytoplasm involves RNA-dependent and RNA-independent mechanisms [J]. *Human molecular genetics*, 2014, 23(19): 5211–5226.
 - [63] KATO M, HAN T W, XIE S H, et al. Cell-free formation of RNA granules: Low complexity sequence domains form dynamic fibers within hydrogels [J]. *Cell*, 2012, 149(4): 753–767.
 - [64] HAN T W, KATO M, XIE S H, et al. Cell-free formation of RNA granules: Bound RNAs identify features and components of cellular assemblies [J]. *Cell*, 2012, 149(4): 768–779.
 - [65] KNOTT G J, BOND C S, FOX A H. The DBHS proteins SFPQ, NONO and PSPC1: A multipurpose molecular scaffold [J]. *Nucleic acids research*, 2016, 44(9): 3989–4004.
 - [66] LEE M, SADOWSKA A, BEKERE I, et al. The structure of human SFPQ reveals a coiled-coil mediated polymer essential for functional aggregation in gene regulation [J]. *Nucleic acids research*, 2015, 43(7): 3826–3840.
 - [67] CHUJO T, YAMAZAKI T, KAWAGUCHI T, et al. Unusual semi-extractability as a hallmark of nuclear body-associated architectural noncoding RNAs [J]. *The EMBO Journal*, 2017, 36(10): 1447–1462.
 - [68] MAHARANA S, WANG J, PAPADOPOULOS D K, et al. RNA buffers the phase separation behavior of prion-like RNA binding proteins [J]. *Science*, 2018, 360(6391): 918–921.
 - [69] JAIN A, VALE R D. RNA phase transitions in repeat expansion disorders [J]. *Nature*, 2017, 546(7657): 243–247.
 - [70] VAN TREECK B, PARKER R. Emerging roles for intermolecular RNA-RNA interactions in RNP assemblies [J]. *Cell*, 2018, 174(4): 791–802.
 - [71] VAN TREECK B, PROTTER D S W, MATHENY T, et al. RNA self-assembly contributes to stress granule formation and defining the stress granule transcriptome [J]. *Proceedings of the national academy of sciences*, 2018, 115(11): 2734–2739.
 - [72] LIN Y Z, SCHMIDT B F, BRUCHEZ M P, et al. Structural analyses of NEAT1 lncRNAs suggest long-range RNA interactions that may contribute to paraspeckle architecture [J]. *Nucleic acids research*, 2018, 46(7): 3742–3752.
 - [73] AUDAS T E, AUDAS D E, JACOB M D, et al. Adaptation to stressors by systemic protein amyloidogenesis [J]. *Developmental cell*, 2016, 39(2): 155–168.
 - [74] HALL L L, BYRON M, CARONE D M, et al. Demethylated HSATII DNA and HSATII RNA foci sequester PRC1 and MeCP2 into cancer-specific nuclear bodies [J]. *Cell reports*, 2017, 18(12): 2943–2956.
 - [75] BIAMONTI G, VOURC'H C. Nuclear stress bodies [J]. *Cell biology*, 2010, 2(6): 1–12.
 - [76] YAP K, MUKHINA S, ZHANG G, et al. A short tandem repeat-enriched RNA assembles a nuclear compartment to control alternative splicing and promote cell survival [J]. *Molecular cell*, 2018, 72(3): 525–540.
 - [77] DUMBOVIĆ G, BIAJNA J, BANÚS J, et al. A novel long non-coding RNA from NBL2 pericentromeric macrosatellite forms a perinucleolar aggregate structure in colon cancer [J]. *Nucleic acids research*, 2018, 46(11): 5504–5524.
 - [78] PRASANTH K V, RAJENDRA T K, LAL A K, et al. Omega speckles-A novel class of nuclear speckles containing hnRNPs associated with non-coding hsr-omega RNA in Drosophila [J]. *Journal of cell science*, 2000, 113(Pt19): 3485–3497.
 - [79] YAMASHITA A, WATANABE Y, NUKINA N, et al. RNA-assisted nuclear transport of the meiotic regulator Mei2p in fission yeast [J]. *Cell*, 1998, 95(1): 115–123.
 - [80] LI R H, HARVEY A R, HODGETTS S I, et al. Functional dissection of NEAT1 using genome editing reveals substantial localisation of the NEAT1_1 isoform outside paraspeckles [J]. *RNA*, 2017, 23(6): 872–881.
 - [81] DONNELLY C J, ZHANG P W, PHAM J T, et al. RNA toxicity from the ALS/FTD C9orf72 expansion is mitigated by antisense intervention [J]. *Neuron*, 2013, 80(2): 415–428.
 - [82] KWON I, XIANG S H, KATO M, et al. Poly-dipeptides encoded by the C9orf72 repeats bind nucleoli, impede RNA biogenesis, and kill cells [J]. *Science*, 2014, 345(6201): 1139–1145.

(上接第3页)

- [48] 王春玲, 张全斌. 褐藻多糖硫酸酯抗凝血活性的研究 [J]. *中国海洋药物*, 2005, 24(5): 36–38.
- [49] 王雪迎. 一种海洋硫酸多糖降解酶降解岩藻聚糖硫酸酯和糖胺聚糖的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
- [50] NISHINO T, FUKUDA A, NAGUMO T, et al. Inhibition of the generation of thrombin and factor Xa by a fucoidan from the brown seaweed *Ecklonia kurome* [J]. *Thromb Res*, 1999, 96(1): 37–49.
- [51] KWAK J Y. Fucoidan as a marine anticancer agent in preclinical development [J]. *Mar Drugs*, 2014, 12(2): 851–870.
- [52] ERMAKOVA S, KUSAYKIN M, TRINCONE A, et al. Are multifunctional marine polysaccharides a myth or reality? [J]. *Front Chem*, 2015, 3: 1–3.
- [53] WANG J, ZHANG Q B, JIN W H, et al. Effects and mechanism of low molecular weight fucoidan in mitigating the peroxidative and renal damage induced by adenine [J]. *Carbohydr Polym*, 2011, 84(1): 417–423.
- [54] WU Y N, YE M, DU Z Z, et al. Carboxymethylation of an exopolysaccharide from *Lachnum* and effect of its derivatives on experimental chronic renal failure [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 114: 190–195.
- [55] 赵义红, 王菲, 姜静. 消积散结丸联合血栓通注射液治疗脾切除术后门静脉血栓 19 例 [J]. *中医研究*, 2014, 27(5): 36–37.
- [56] 彭雍博, 汪秋宽, 宋悦凡, 等. 褐藻中岩藻聚糖硫酸酯构效关系研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(5): 203–212.