

\* 学术论文 \*

## 新的 STK11 互作蛋白 LOH12CR1 的筛选及鉴定\*

沈宏伟<sup>1\*\*</sup> 王向平<sup>1\*\*</sup> 殷照初<sup>2</sup> 阎卉芳<sup>1</sup> 姚茂金<sup>1</sup> 汤建光<sup>1</sup>  
夏 昆<sup>3</sup> 潘 乾<sup>3</sup> 李陈婕<sup>1</sup> 王永俊<sup>1</sup> 施小六<sup>1\*\*\*</sup>

1. 中南大学湘雅二医院, 长沙 410011; 2. 湖南省计划生育研究所, 长沙 410005; 3. 医学遗传学国家重点实验室, 长沙 410078

**摘要** PJ 综合征 (Peutz-Jeghers syndrome, PJS) 的疾病基因 *STK11* 编码由 433 个氨基酸残基组成的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 STK11, 具有调控细胞周期, 调节细胞极性以及细胞基础能量代谢等重要功能. STK11 蛋白羧基端含有 123 个残基, 对 STK11 生物学功能的实现起着调节作用, 但机制尚未明确. 本研究利用 pGEX4T-2 原核表达系统, 构建 pGEX4T-2-STK11 羧基端重组载体, 并诱导表达了 GST-STK11 羧基端融合蛋白, 采用 GST-pull down 结合质谱分析的方法, 鉴定出 STK11 羧基端的可能互作蛋白 LOH12CR1. 通过免疫共沉淀技术证实了 STK11 激酶同 LOH12CR1 互作; 免疫荧光共定位实验亦发现 STK11 与 LOH12CR1 共定位. STK11 与 LOH12CR1 互作的发现为研究 STK11 的功能提供新的切入点.

**关键词** STK11 互作蛋白 LOH12CR1 免疫荧光 免疫共沉淀

PJ 综合征 (Peutz-Jeghers syndrome, PJS) 是一种常染色体显性遗传疾病. 其主要临床表现为皮肤以及口腔粘膜色素沉着, 胃肠道多发性良性息肉及恶性肿瘤易患性增加等<sup>[1]</sup>. PJS 的疾病基因 *STK11* 编码由 433 个氨基酸残基组成的丝/苏氨酸蛋白激酶 STK11, 其中 1—48 位残基构成含核定位信号的氨基端, 49—309 位残基构成激酶催化活性区, 310—433 位残基构成羧基端<sup>[2]</sup>.

STK11 在抑制肿瘤细胞增殖、调控 AMPK 等多种信号通路、诱导和维持细胞极性等方面起了关键作用. 在细胞和小鼠动物模型 (*STK11*<sup>+/-</sup>) 中研究发现: STK11 具有抑制肿瘤细胞增殖的作用, 抑瘤机制涉及它对 p53, Brg1, PTEN 等蛋白功能及 Wnt, JNK 等信号通路的调节<sup>[3,4]</sup>; 同时, STK11

作为 AMPK 信号通路的上游激酶可调节 AMPK 及 AMPK 相关激酶的磷酸化水平<sup>[5-8]</sup>. 在人小肠上皮细胞的研究中发现, 被假性激酶 STRAD 激活后的 STK11 可使单个小肠上皮细胞极化<sup>[9]</sup>. 目前大部分研究表明, *STK11* 基因的致病突变绝大多数位于催化活性功能域, 从而导致了 STK11 激酶功能的丧失<sup>[10]</sup>. 但 STK11 催化活性区并不是其行使正常生物学功能的唯一功能域, 在部分 PJS 病人和散发肿瘤病人中由 STK11 羧基端致病突变所导致的 STK11 功能异常和 STK11 羧基端存在多个翻译后修饰位点的事实<sup>[11]</sup> 说明: STK11 的羧基端对其生物学功能也起了非常重要的调节作用. 本研究利用谷胱甘肽巯基转移酶 (GST) 和 GST-pull down 技术结合质谱分析, 筛选到一个新的 STK11 羧基端互

2007-06-27 收稿, 2007-08-01 收修稿稿

\* 湖南省科技计划 (批准号: 2006TP3022) 和国家自然科学基金 (批准号: 30740020) 资助项目

\*\* 同等贡献作者

\*\*\* 通信作者, E-mail: shixiaoliu61766@yahoo.com.cn

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

作蛋白 LOH12CR1, 并在哺乳动物细胞中验证了 STK11 激酶和 LOH12CR1 的相互作用, 为研究 STK11 的功能提供了一个新的切入点.

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

大肠杆菌 JM109, BL21, 原核表达载体 pGEX4T-2, 真核表达载体 pCMV-tag2B, pEGFP-C2, pCDNA3.1-STK11 均为中国医学遗传学国家重点实验室保存物; L-02 细胞株购自中国典型培养物保藏中心; 内切酶和 T4 连接酶均购自 TaKaRa 公司; Lipofectamine2000 购自 Invitrogen 公司; Glutathione Sepharose 4B, ECL 试剂盒购自 Amersham Biosciences 公司; flag 和 GFP 单克隆抗体购自 Sigma 公司; cy3 偶联的山羊抗鼠 IgG, Protein A agarose 购自 KPL 公司.

### 1.2 方法

**1.2.1 pGEX4T-2-STK11C(STK11 羧基端编码序列)载体构建** 本研究所有的分子克隆操作均按文献 [11] 的方法进行. 以本课题组自行构建的 pCDNA3.1-STK11 为模板 PCR 扩增 STK11 羧基端编码序列 (上游引物: 5' TAGGATCCCG-GAAGAAACATCCTCCGG 3', 引入 *Bam* HI 酶切位点; 下游引物: 5' TAGCGCCGCGCTGCTGCT-TGCAGGCCGAC 3', 引入 *Not* I 酶切位点). PCR 产物与 pGEX4T-2 连接构建重组质粒 pGEX4T-2-STK11C. 酶切和测序鉴定重组质粒.

**1.2.2 GST-STK11C 融合蛋白在大肠杆菌中的表达和纯化** 按 GST Gene Fusion System 操作说明书将鉴定后的重组载体 pGEX4T-2-STK11C 转化到大肠杆菌 (*E. coli*) BL21 中培养至  $A_{600} = 0.6 - 0.8$  时, 加入  $0.4 \text{ mmol/L}$  异丙基- $\beta$ -D-硫代半乳糖苷 (IPTG), 同时用未经转化的 BL21 菌和 pGEX4T-2 空载体转化 BL21 菌的作为对照,  $23^\circ\text{C}$  诱导 3 h 后, 将超声裂解的菌液与 Glutathione Sepharose 4B 孵育后洗脱, 洗脱搜集的 GST-STK11C 融合蛋白样品和 GST 蛋白样品各取  $40 \mu\text{L}$  进行 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 以检测目标蛋白表达的情况. 余下的蛋白样品在  $-20^\circ\text{C}$  保存, 待用.

**1.2.3 GST-STK11C pull down** L-02 细胞按常规培养. 实验组用  $1 \text{ mL}$  裂解缓冲液<sup>[12]</sup> 将  $1 \times 10^7$  L-02 细胞在冰上裂解, 收集细胞裂解液上清, 分成两份, 每份加  $50 \mu\text{L}$  Glutathione Sepharose 4B,  $25 \mu\text{g}$  GST 蛋白预清除 2 h 后, 其中一份上清加入  $50 \mu\text{L}$  Glutathione Sepharose 4B,  $25 \mu\text{g}$  GST 蛋白, 另一份加入  $50 \mu\text{L}$  Glutathione Sepharose 4B,  $25 \mu\text{g}$  GST-STK11C 融合蛋白,  $4^\circ\text{C}$  孵育 2 h, 缓冲液洗脱 4 次<sup>[12]</sup>. 所得沉淀进行 SDS-PAGE. 从凝胶上切下差异蛋白带, 按照文献的报道<sup>[12]</sup> 蛋白带经烷基化、酶解和萃取后, 得到胰蛋白酶酶解样品液.

**1.2.4 质谱鉴定** 将得到的胰蛋白酶酶解样品液用串联质谱 (LCMS/MS, QTOF Ultima 和 CapLC, Waters) 对其进行分析, 借助 MassSeq 直接推导出肽段序列, 再结合肽序列标签查询 Mascot 数据库. 蛋白质的确定必须满足有两个或两个以上的肽段的分值超过阈值 ( $P < 0.05$ , 即: 与数据库匹配的肽段必须在 95% 的可信范围内), 如果某蛋白质只鉴定到一个肽段, 却有多个 MS/MS 图谱, 则可用手工解析分值最高的图谱. 一个蛋白质必须符合以下两点才可确定: (i) 有连续 4 个以上的 y 或 b 离子质量数的 MS/MS 图谱 (如: y4, y5, y6, y7); (ii) 质谱测定的分子量必须与蛋白质实际分子量一致.

**1.2.5 真核表达载体的构建** 按文献报道的方法<sup>[13]</sup> 提取 L-02 细胞 mRNA, RT-PCR 扩增 LOH12CR1 编码序列 (上游引物: 5' TAGAAT-TCATGASACGCCAAGGTCGTG 3', 引入 *Eco*R I 酶切位点; 下游引物: 5' TAGTCGAC ATG-GCAAAGTGTGCAAACA 3', 引入 *Sal* I 酶切位点). PCR 产物与 T 载体连接经测序鉴定后, 再与 pEGFP-C2 连接, 构建重组质粒 pEGFP-LOH12CR1.

以 pCDNA3.1-STK11 为模板用 PCR 分别扩增 STK11 全长编码序列 (上游引物: 5' TAGAAT-TCGAGGTGGTGGACCCGACG 3', 引入 *Eco*R I 酶切位点; 下游引物: 5' TAGTCGACCTGCTGCTGCTGACGCCGAC 3', 引入 *Sal* I 酶切位点) 及羧基端编码序 (上游引物: 5' TAGAATTCGG-GAAGAAACATCCTCCGG 3' 引入 *Eco*R I 酶切位点; 下游引物: 5' TAGTCGACCTGCTGCTGCTG-CAGGCCGAC 3' 引入 *Sal* I 酶切位点), PCR 产物

与 pCMV-tag2B 质粒连接后, 构成真核表达重组质粒 pCMV-tag2-STK11A (全长编码序列) 和 pCMV-tag2-STK11C (羧基端编码序)。

**1.2.6 免疫共沉淀和 western blot 质粒转染** 按照 Lipofectamine2000 操作说明书进行. L-02 细胞转染24h 后, 每个 10cm 培养皿加 1mL 4℃保存的改良 RIPA 液 (150mmol/L NaCl, 1% Triton X-100, 50mmol/L Tris-HCl (pH 7.6), 5 mmol/L EDTA, 0.1% SDS, 0.5% 脱氧胆酸钠, 20 mmol/L N-ethylmaleimide, 1:100 的蛋白酶抑制剂混合物) 于冰上裂解 30 min. 4℃ 12000g 离心 30 min 后收集上清, 取 20μL 上清用于 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 其余上清用于下一步免疫沉淀。

每 1mL 上清中加入 50μL Protein A agarose, 4℃ 孵育 1h, 4℃ 12000g 离心 20 min, 收集上清. 然后加入 4μg 相应的单克隆抗体 (沉淀 STK11 用 flag 单抗, 阴性对照组加入 4μg 正常小鼠 IgG, 沉淀 LOH12CR1 用 GFP 单抗, 阴性对照组加入 4μg 正常小鼠 IgG), 4℃ 孵育 30 min, 再加入 50μL Protein A agarose, 4℃ 孵育 2h. 离心收集沉淀, 进行 10% SDS-PAGE 并将蛋白带转至 PVDF 膜, 将 PVDF 膜先与抗 flag 单抗 (检测 STK11) 或 GFP 单抗 (检测 LOH12CR1) 室温下孵育 1h, 再与辣根过氧化物酶标记的羊抗小鼠抗体室温下孵育 45 min, 洗膜后用 ECL 试剂盒显影。

**1.2.7 LOH12CR1 与 STK11 的亚细胞定位** L-02 细胞转染 24h 后, 经固定、封闭后, 先后与 flag 单抗和 cy3 偶联的抗兔 IgG 孵育 30—40 min (避光); 再进行 DAPI 染色, 最后用 PBS 洗 4 次 (避光) 后, 用激光共聚焦显微镜观察。

## 2 结果

### 2.1 GST-STK11C 融合蛋白的表达

BL21 细菌裂解液与 Glutathione Sepharose 4B 孵育洗脱后, 转化了 pGEX4T-2-STK11C 重组载体的细菌表达的蛋白样品经 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 考马斯亮蓝染色后, 可见一条 43 ku 的蛋白带, 其大小与预测的 GST-STK11C 融合蛋白分子量大小一致, 而转化 pEGX4T-2 空载体的细菌表达的 GST 蛋白大小为 29 ku (图 1)。

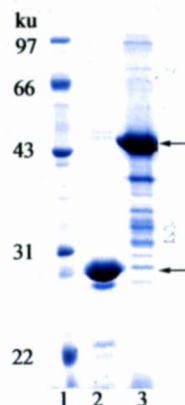


图 1 GST-STK11C 融合蛋白和 GST 蛋白的表达  
1, 分子质量标准; 2, GST; 3, GST-STK11C

### 2.2 GST-STK11C 与 L-02 细胞裂解液 pull down 结果

以 GST-STK11C 融合蛋白作为诱饵蛋白所捕获的 L-02 细胞裂解液中的蛋白质经 SDS-PAGE, 考马斯亮蓝染色后, 与对照组的蛋白带比较发现在 25 ku, 29 ku, 35 ku 左右均有明显的差异蛋白带的存在 (图 2)。

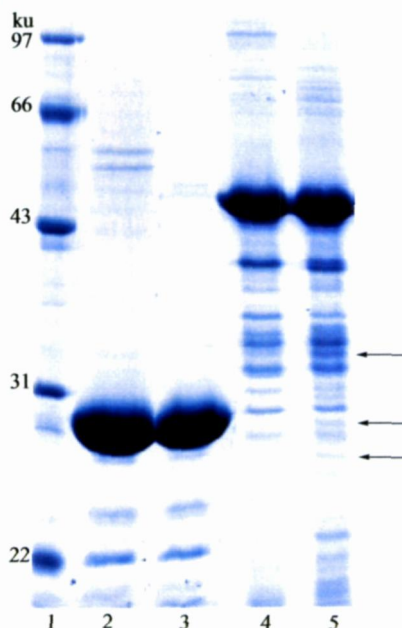


图 2 GST-STK11C pull down 蛋白电泳结果

1, 分子质量标准; 2, 对照组: GST 与裂解缓冲液 pull down; 3, 实验组: GST 与 L-02 细胞裂解液 pull down; 4, 对照组: GST-STK11C 与裂解缓冲液 pull down; 5, 实验组: GST-STK11C 与 L-02 细胞裂解液 pull down. 箭头所指为差异带。

### 2.3 GST-STK11C-pull down 质谱鉴定结果

用质谱鉴定出多个可能与 STK11 互作的蛋白质, 其中之一为 LOH12CR1 (图 3). 肽段  $m/z$  796.79 的 MS/MS 质谱图出现超过 10 个  $y$ -或  $b$ -串联离子, 且多肽序列与蛋白 LOH12CR1 的 MDDIVVVAQGSQASR 多肽序列一致.

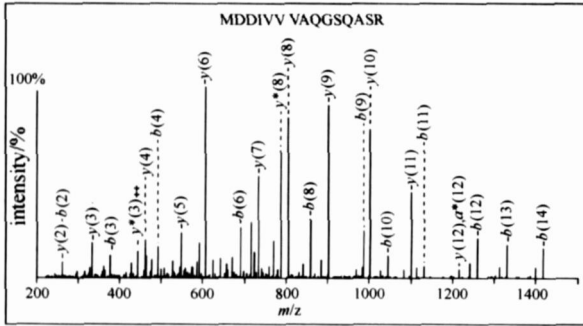


图 3 肽段  $m/z$  796.79 的 MS/MS 质谱图

### 2.4 pEGFP-LOH12CR1, pCMV-tag2-STK11A, pCMV-tag2-STK11C 重组质粒构建

按照方法中 (1.2.5) 所述, 构建了 pEGFP-LOH12CR1, pCMV-tag2-STK11A, pCMV-tag2-STK11C 重组质粒, 其鉴定见图 4.

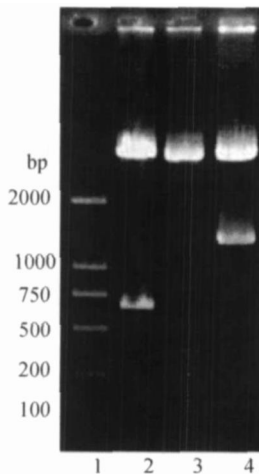


图 4 重组质粒酶切结果

1, 分子质量标准; 2, 双酶切质粒 pEGFP-LOH12CR1; 3, 双酶切质粒 pCMV-tag2-STK11C; 4, 双酶切质粒 pCMV-tag2-STK11A

### 2.5 STK11 激酶与 LOH12CR1 的免疫共沉淀 (Co-IP) 结果

在 pCMV-tag2-STK11A, pEGFP-LOH12CR1

共转组和 pCMV-tag2-STK11A, pEGFP-C2 对照组的全细胞裂解液中用 flag 抗体免疫印迹均可检测到表达强度一致的 flag-STK11A 融合蛋白 (53 ku, 图 5(a)); 同样, 在 pCMV-tag2-STK11A, pEGFP-LOH12CR1 共转组和 pCMV-tag2B, pEGFP-LOH12CR1 对照组的细胞裂解液中经抗 GFP 单抗免疫印迹可检测到表达强度一致的 GFP-LOH12CR1 融合蛋白 (49 ku, 图 5(b)).

pCMV-tag2-STK11A, pEGFP-C2 对照组的细胞裂解液用抗 GFP 单抗免疫沉淀再用 flag 单抗免疫印迹 (图 5(c)), pCMV-tag2B, pEGFP-LOH12CR1 对照组的细胞裂解液用抗 flag 单抗免疫沉淀再用抗 GFP 单抗免疫印迹 (图 5(d)), 均未检测到任何特异的蛋白带. 只有 pCMV-tag2-STK11A, pEGFP-LOH12CR1 共转组的全细胞裂

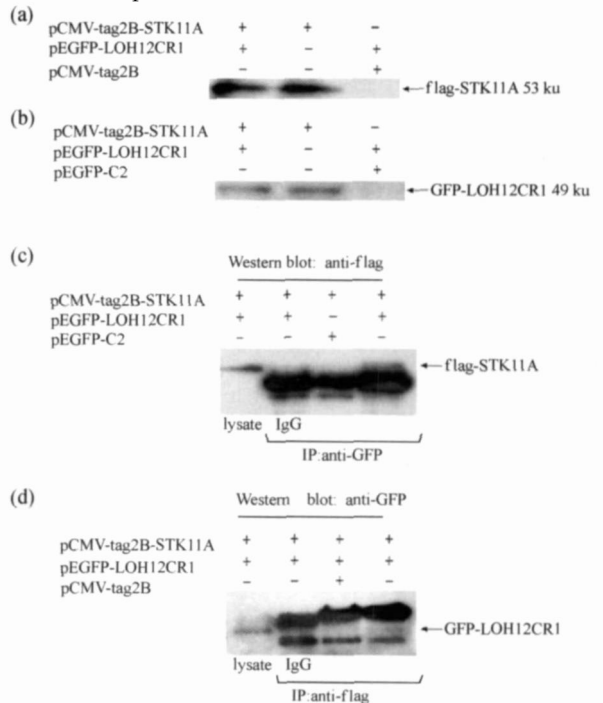


图 5 Western blot 和免疫共沉淀结果

(a) L-02 细胞转染后细胞裂解液用 anti-flag 单抗进行免疫印迹检测; (b) 转染后细胞裂解液用 anti-GFP 单抗进行免疫印迹检测; (c) STK11A 与 LOH12CR1 免疫共沉淀, 以 pCMV-tag2-STK11A 和 pEGFP-C2 共转组为对照, 用 anti-GFP 单抗进行免疫沉淀, 小鼠 IgG 作为 GFP 单抗的对照; (d) pCMV-tag2-STK11A 和 pEGFP-LOH12CR1 共转染 L-02 细胞, 以 pCMV-tag2B 和 pEGFP-LOH12CR1 共转组为对照, 用 anti-flag 单抗进行免疫沉淀, anti-GFP 单抗免疫印迹检测, 小鼠 IgG 作为 flag 单抗的对照

解液经抗 GFP 单抗免疫沉淀后, 用抗 flag 单抗免疫印迹检测到一条大小约 53 ku 的蛋白带(图5(c)); 经抗 flag 单抗免疫沉淀后, 用抗 GFP 单抗免疫印迹检测到一条大小约 49 ku 的蛋白带(图 5(d))这说明实验组 Co-IP 的阳性结果不是由抗 GFP 单抗或抗 flag 单抗在免疫沉淀过程中的非特异性反应所致; pCMV-tag2-STK11A 和 pEGFP-LOH12CR1 共转组的细胞裂解液用正常小鼠 IgG 免疫沉淀后用 flag 单抗(图 5(c))或 GFP 单抗(图 5(d))免疫印迹均未检测到任何特异的蛋白带, 说明实验组 Co-IP 的阳

性结果不是由小鼠 IgG 的非特异性反应所致. 上述结果说明 STK11 激酶与 LOH12CR1 之间存在相互作用.

### 2.6 STK11 与 LOH12CR1 在细胞中的免疫荧光共定位

用激光共聚焦显微镜可观察到 cy3 标记的 PCMV-tag2-STK11A, Flag-STK11C 主要集中于细胞核中, 胞浆中也有分布, 与 pEGFP-LOH12CR1 的亚细胞水平定位一致(图 6).

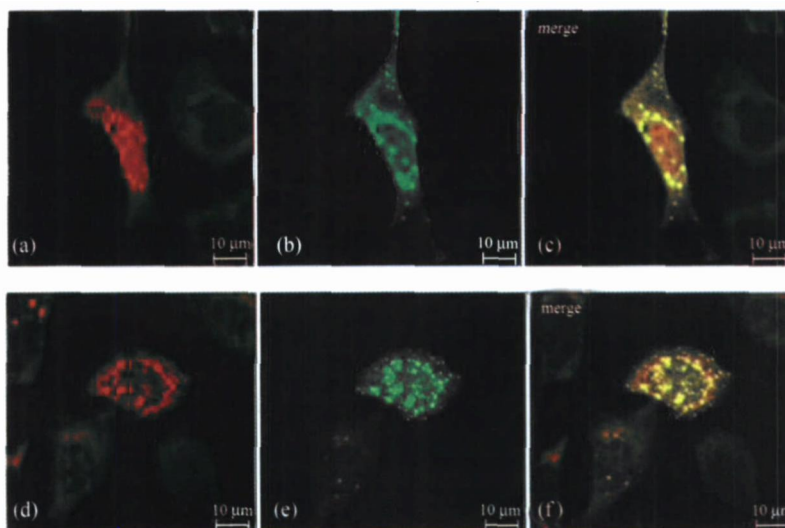


图 6 STK11A, STK11C 与 pEGFP-LOH12CR1 亚细胞共定位

上排为 pCMV-tag2-STK11A 和 pEGFP-LOH12CR1 共转染 L-02 细胞. flag-STK11A 融合蛋白与 anti-flag 单抗孵育后经 cy3 标记的二抗染色发红色荧光 (a), 绿色荧光为 GFP-LOH12CR1 融合蛋白(b), 黄色荧光为 flag-STK11A 和 GFP-LOH12CR1 细胞共定位信号 (c). 下排为 pCMV-tag2-STK11C 和 pEGFP-LOH12CR1 共转染 L-02 细胞. flag-STK11C 融合蛋白与 anti-flag 抗体孵育后经 cy3 标记的二抗染色发红色荧光 (d), 绿色荧光为 GFP-LOH12CR 融合蛋白(e), 黄色荧光为 flag-STK11C 和 GFP-LOH12CR1 细胞共定位信号(f)

### 3 讨论

人 *STK11* 基因位于 19p13.3, 总跨度约为 23kb, 包含 10 个外显子, 其编码的蛋白 STK11 参与了个体胚胎发育及细胞极化等重要生命活动的调控, 并与 P53, Wnt 及 AMPK 等多种信号系统相关. STK11 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 其催化活性区突变导致酶活性的丧失是大部分 PJS 以及部分散发肿瘤发病的根本原因<sup>[14]</sup>. 但在部分 PJS 患者和散发的肿瘤中 STK11 的致病突变位于非催化活性区的羧基端<sup>[15]</sup>, 近年研究也提示了 STK11 羧

基端具有重要生物学功能: (i) 已知的 STK11 翻译后修饰位点多数位于羧基端<sup>[14]</sup>, S431 位点的丝氨酸-丙氨酸突变将抑制海马神经元细胞轴突分化<sup>[16]</sup>. (ii) 发现 STK11 羧基端是某些重要互作蛋白的互作结构域. STK11 功能调控蛋白 STRAD 与 STK11 相互作用的区域就包含了 STK11 羧基端<sup>[17]</sup>. (iii) STK11 羧基端致病突变可使 STK11 滞留在细胞核内并损害其抑制肿瘤细胞增殖的能力<sup>[18]</sup>, 以及对下游激酶 AMPK 的激活功能和诱导细胞极化的功能<sup>[19]</sup>. 因此, STK11 的羧基端对 STK11 激酶的生物学功能起着重要的调节作用, 开

展羧基端研究对 STK11 功能的了解很必要。

GST 融合基因表达系统是融合蛋白体外表达、分离纯化的重要研究工具。在抗体制备, 蛋白功能的研究, 互作蛋白的筛选等方面均得到了广泛的利用。STK11 互作蛋白 STRAD/MO25 就是通过 GST Pull down 技术鉴定的<sup>[12]</sup>。因此, 我们构建了 GST-STK11 羧基端融合蛋白表达载体, 在 23 °C 诱导条件下获得了大量可溶性 GST-STK11C 蛋白。

对 GST-STK11C pull down 蛋白质进行了质谱鉴定, 筛选到多个可能的 STK11 羧基端互作蛋白, 其中之一被认为是肿瘤抑制基因 *LOH12CR1*<sup>[20]</sup> 的产物。*LOH12CR1* 位于 12 号染色体短臂, 其所在区域在多种肿瘤中常有杂合子缺失现象, 同时 mRNA 表达丰度也明显降低; Northern blot 结果表明其在多种组织中广泛表达; 蛋白质预测发现人、小鼠、线虫以及果蝇的 *LOH12CR1* 假想蛋白是高度同源的, 这种进化上的高度保守提示其是一个具有重要功能的蛋白质<sup>[20]</sup>, 而我们的质谱鉴定结果也确认了 *LOH12CR1* 的存在, 证实了已往研究对其阅读框推测的正确性。

为了证实 STK11 与 *LOH12CR1* 之间的相互作用, 通过免疫共沉淀实验验证了 STK11 激酶与 *LOH12CR1* 之间的互作。在 STK11 和 *LOH12CR1* 亚细胞水平共定位实验中, 我们观察到在 L-02 细胞过表达的 STK11 和 STK11 羧基端蛋白在胞浆和胞核均有表达, 但主要还是集中在胞核。与 STK11 全长蛋白在胞核内呈弥散分布, 在近核区域或核膜呈斑点状分布不同, STK11 羧基端蛋白在核膜、核内均呈致密斑块分布。而细胞内斑块状堆积体的形成可能是由于过表达蛋白无法迅速通过细胞内蛋白酶解系统降解造成的。GFP-*LOH12CR1* 在胞浆、胞核中主要呈斑点状分布, 但不管是在胞浆还是在胞核, *LOH12CR1* 蛋白均与 STK11 全长蛋白和 STK11 羧基端存在共定位, 特别是在胞核区域。

本研究证实了 *LOH12CR1* 为 STK11 的互作蛋白, 由于 *LOH12CR1* 和 STK11 互作的发现是以 STK11 羧基端为“诱饵”蛋白所发现, 提示 *LOH12CR1* 为 STK11 的互作只需要 STK11 羧基端的存在就可实现。*LOH12CR1* 被认为是一抑瘤基因, 其确切的抑瘤作用及生物学功能尚未见报道。究竟 STK11 和 *LOH12CR1* 的相互作用模式是什

么, 以及它们的相互作用对 STK11 和 *LOH12CR1* 功能的调节, 能量代谢, 对细胞极性和细胞周期等方面将产生何种影响现在并不清楚, 我们正在进行后续研究以期回答这些问题。

## 参 考 文 献

- Hemminki A, Markie D, Tomlinson I, et al. A serine/threonine kinase gene defective in Peutz-Jeghers syndrome. *Nature*, 1998, 391: 184—187
- Jenne DE, Reimann H, Nezu J, et al. Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine/threonine kinase. *Nat Genet*, 1998, 18: 38—43
- Katajisto P, Vallenius T, Vaahtomeri K, et al. The tumor suppressor kinase in human disease. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1775(1): 63—75
- Marignani PA. LKB1, the multitasking tumour suppressor kinase. *J Clin Pathol*, 2005, 58(1): 15—19
- Hawley SA, Boudeau J, Reid JL, et al. Complexes between the LKB1 tumor suppressor, STRAD alpha/beta and MO25 alpha/beta are upstream kinases in the AMP-activated protein kinase cascade. *J Biol*, 2003, 2(4): 28—30
- Woods A, Johnstone SR, Dickerson K, et al. LKB1 is the upstream kinase in the AMP-activated protein kinase cascade. *Curr Biol*, 2003, 13(22): 2004—2008
- Shaw RJ, Kosmatka M, Bardeesy N, et al. The tumor suppressor LKB1 kinase directly activates AMP-activated kinase and regulates apoptosis in response to energy stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(10): 3329—3335
- Lizcano JM, Goransson O, Toth R, et al. LKB1 is a master kinase that activates 13 kinases of the AMPK subfamily, including MARK/PAR-1. *EMBO J*, 2004, 23(4): 833—843
- Baas AF, Kuipers J, van der Wel NN, et al. Complete polarization of single intestinal epithelial cells upon activation of LKB1 by STRAD. *Cell*, 2004, 116(3): 457—466
- Tiainen M, Ylikorkala A, Makela TP. Growth suppression by STK11 is mediated by a G(1) cell cycle arrest. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(16): 9248—9251
- Sambrook J, Russell DW. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 2001
- Baas AF, Boudeau J, Sapkota GP, et al. Activation of the tumor suppressor kinase STK11 by the STE20-like pseudokinase STRAD. *EMBO J*, 2003, 22(12): 3062—3072
- 范国昌, 雷磊, 谢建君. p<sup>14ARF</sup> 基因抑制肿瘤细胞增殖的研究. *癌症*, 2000, 19(2): 104—107
- Alessi DR, Sakamoto K, Bayascas JR. STK11-dependent signaling pathways. *Annu Rev Biochem*, 2006, 75: 137—163

- 15 Resta N, Stella A, Susca FC, et al. Two novel mutations and a new STK11/ LKB1 gene isoform in Peutz-Jeghers patients. *Hum Mutat*, 2002, 20(1): 78—79
- 16 Shelly M, Cancedda L, Heilshorn S. LKB1/STRAD promotes axon initiation during neuronal polarization. *Cell*, 2007, 129(3): 565—577
- 17 Baas AF, Boudeau J, Sapkota GP, et al. Activation of the tumour suppressor kinase STK11 by the SE20-like pseudokinase STRAD. *EMBO J*, 2003, 22(12): 3062—3072
- 18 Tiainen M, Vaahtomeri K, Ylikorkala A, et al. Growth arrest by the STK11 tumor suppressor; Induction of p21 (WAF1/CIP1). *Hum Mol Genet*, 2002, 11: 1497—1504
- 19 Forcet C, Manneville ES, Gaude H, et al. Function analysis of Peutz-Jeghers mutations reveals that the STK11 C-terminal region exerts a crucial role in regulating both the AMPK pathway and the cell polarity. *Hum Mol Genet*, 2005, 14(10): 1283—1292
- 20 Montpetit A, Larose J, Boily G, et al. Mutational and expression analysis of the chromosome 12p candidate tumor suppressor genes in pre-B acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 2004, 18(9): 1499—1504

## 2007 年度国家自然科学基金项目资助情况

2007 年国家自然科学基金申请项目数量持续增长, 在集中受理期间共接收各类申请项目 70372 项, 比 2006 年同期增加 7042 项, 同比增长 11.12%, 其中青年科学基金项目增长幅度最大, 达到 26.75%。经初步审查, 共受理申请项目 67164 项, 不予受理项目 3208 项。

按照《国家自然科学基金条例》(以下简称《条例》)的规定, 根据同行专家通讯评审和专家评审组会议评审结果, 2007 年 9 月 3 日国家自然科学基金委员会(以下简称自然科学基金委)委务会议批准资助了如下各类项目:

1. 面上项目 7713 项, 资助经费 227457 万元, 资助率为 17.13%; 其中三年期项目 7275 项, 资助经费 223545 万元, 平均资助强度 30.32 万元/项; 1—2 年期小额探索项目 438 项, 资助经费 3912 万元;
2. 青年科学基金项目 3336 项, 资助经费 61737 万元, 资助率为 19.74%, 平均资助强度 18.51 万元/项;
3. 地区科学基金项目 559 项, 资助经费 10196 万元, 资助率为 19.47%, 平均资助强度 18.24 万元/项;
4. 重点项目 373 项, 资助经费 63530 万元, 平均资助强度 170.32 万元/项;
5. 联合基金项目 217 项, 资助经费 15380 万元;
6. 重大国际合作项目 30 项, 资助经费 3093 万元;
7. 科学仪器基础研究专款项目 25 项, 资助经费 3000 万元;
8. 科普项目 8 项, 资助经费 200 万元;
9. 创新研究群体 29 个, 资助经费 14200 万元。

重大研究计划项目截止 9 月 21 日, 批准资助 127 项, 资助经费 9931 万元。

9 月 20 日, 经国家杰出青年科学基金评审委员会评定, 180 人获得 2007 年度国家杰出青年科学基金(含外籍)资助, 资助经费 35280 万元; 80 人获得海外和港澳青年学者合作研究基金资助, 资助经费 3200 万元。

9 月 14 日, 国家基础科学人才培养基金管委会批准资助 60 个国家基础科学人才培养基地的 65 个项目, 资助经费 9930 万元。(下转第 44 页)