

LILIANA SURMACZ, JOLANTA WIEJAK, ELŻBIETA WYROBA

Zakład Biologii Komórki,  
 Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN  
 ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa

## REGULACJA STABILNOŚCI mRNA KODUJĄCYCH RECEPTORY BŁONOWE SPRZĘŻONE Z BIAŁKAMI G

Receptory sprzężone z białkami G należące do klasy tak zwanych receptorów R7G (czyli posiadających siedem hydrofobowych domen transbłonowych) kontrolują różnorodne funkcje komórek.

Rodzina tych receptorów reguluje wewnątrzkomórkowe stężenie ważnych wtórnych przekaźników takich jak: cAMP, wapń i diacyloglicerol. Aktywacja receptora może stymulować lub inhibować rozmaite procesy komórkowe począwszy od podstawowych aktywności metabolicznych po wyspecjalizowane funkcje w tkankach zróżnicowanych. Receptory — regulując aktywność komórek — same podlegają bardzo skomplikowanej regulacji. Liczba receptorów na powierzchni błony jest regulowana na kilku poziomach. Ciągła stymulacja powoduje osłabienie odpowiedzi receptora na bodziec — czyli

nie receptora od efektora i ostatecznie stopniowy ubytek receptorów, tak zwaną down-regulacją (PEPPERL i REGAN 1994, VETULANI 1997, WYROBA i SURMACZ 1996). Nasza wiedza i większość hipotez dotyczących procesu desensytyzacji jest oparta na badaniach receptora  $\beta_2$ -adrenergicznego. Próbie klasyfikacji poszczególnych etapów procesu desensytyzacji tego receptora przedstawiono w tabeli 1 uwzględniając czas trwania każdego z nich, spadek wydajności „sygnalizacyjnej” receptora oraz zależność od stężenia agonisty — izoproterenolu (LOHSE 1993). Poza regulacją zachodzącą na poziomie białka w wyniku aktywacji receptora może być modulowana także ekspresja genu kodującego tenże receptor. Jednym z poziomów tej regulacji jest kontrola ilości mRNA kodującego dany receptor w komórce. Ilość mRNA jest kontrolowa-

Tabela 1. Proces desensytyzacji receptora  $\beta_2$ -adrenergicznego (wg LOHSE 1993)

| Mechanizm                                     | Czas trwania | Zachowana funkcja receptora (%) | Wrażliwość ( $EC_{50}$ dla izoproterenolu) | Specyficzność  |
|---|--------------|---------------------------------|--|----------------|
| Rozprzęganie                                  |              |                                 |  |                |
| $\beta$ ARK/ $\beta$ -arestyna                | 0,2-2 min    | 20-50                           | 30-1000 nM                                 | homologiczna   |
| PKA   | 2-6 min      | 20-50                           | 1-30 nM                                    | heterologiczna |
| sekwestracja                                  | 2-120 min    | 10-60                           | 30-1000 nM                                 | homologiczna   |
| Down-regulacja                                |              |                                 |  |                |
| degradacja receptora specyficzna dla agonisty | 0,5-24 godz. | 20                              | 1-100 nM                                   | homologiczna   |
| wywołana przez PKA                            | 0,5-24 godz. | 20                              | 1-100 nM                                   | heterologiczna |
| destabilizacja mRNA                           | 0,5-24 godz. | 50                              | ?  | heterologiczna |

desensytyzację, która obejmuje cały szereg procesów, takich jak: fosforylacja (przez specyficzne kinazy białkowe), sekwestracja receptora (co doprowadza do zmniejszenia ilości cząsteczek receptora na powierzchni komórki) i rozprzę-

na z kolei przez szybkość transkrypcji i/albo stabilność mRNA (PENDE i współaut. 1996). Dla receptorów sprzężonych z białkami G po raz pierwszy opisano ten ostatni typ regulacji w roku 1988 (HADCOCK i MALBON 1988) i dotyczył

on receptora beta-adrenergicznego — najczęściej badanego modelu działania R7G. Okazało się, że po przedłużonej stymulacji spada ilość mRNA kodującego receptor, co prowadzi do zmniejszenia całkowitej liczby receptorów w ko-

mórce poprzez zmniejszenie syntezy białka receptorowego. Cały ten proces jest uzależniony od określonych sekwencji mRNA i różnych białek je wiążących, co zostanie omówione w poniższym artykule.

#### STABILNOŚĆ mRNA KODUJĄCYCH RECEPTORY R7G

Kontrola ekspresji genów kodujących receptory błonowe sprzężone z białkami G poprzez regulację stabilności mRNA została opisana niedawno (tab. 2) i stanowi przedmiot intensywnych badań. Wskazują one, że ten mechanizm potranskrypcyjnej regulacji dotyczy różnych receptorów błonowych, niezależnie od typu wtórnego przekazywanego sygnału, a więc zarówno receptora  $\beta_2$ -adrenergicznego (HADCOCK i współaut. 1989) stymulującego cyklazę adenylnową (PEPPERL i REGAN 1994), jak i receptora  $\alpha_2$ -adrenergicznego — hamującego ten enzym (SAKAUE i HOFFMAN 1991), czy też receptora muskarynowego  $m_1$  aktywującego fosfolipazę C (LEE i współaut. 1994).

Tabela 2. mRNA kodujące receptory sprzężone z białkami G podlegające potranskrypcyjnej regulacji (wg PENDE i współaut. 1996).

| mRNA kodujące receptor         | Gatunek  | Data |
|--------------------------------|----------|------|
| $\beta_2$ -adrenergiczny       | chomik   | 1989 |
| $\beta_1$ -adrenergiczny       | szczur   | 1992 |
| $\beta_1$ -adrenergiczny       | człowiek | 1996 |
| $\alpha_2$ -adrenergiczny      | człowiek | 1991 |
| $\alpha_{1b}$ -adrenergiczny   | szczur   | 1994 |
| $m_1$ -muskarynowy             | szczur   | 1994 |
| 5-HT <sub>2A</sub> -serotynowy | szczur   | 1994 |
| trombinowy                     | człowiek | 1995 |
| AT1-angiotensyny II            |          | 1994 |

#### CZYNNIKI DETERMINUJĄCE STABILNOŚĆ mRNA

Głównym czynnikiem determinującym ilość mRNA w różnych organizmach od bakterii do ssaków jest szybkość rozpadu mRNA (okres półtrwania). Związek pomiędzy ilością mRNA, ich okresem półtrwania oraz ekspresją genów jest szczególnie istotny w przypadku „krótkożyjących” mRNA, ponieważ niewielkie zmiany w ich okresie półtrwania mogą wywołać 1000-krotne (lub większe) zmiany w ich ilości w krótkim okresie czasu (ROSS 1995). Przy stałym poziomie transkrypcji ilość mRNA może ulec bardzo znacznym wahaniom na skutek zmiany jego stabilności, co z kolei wpływa na to jak komórka rośnie, różnicuje się i reaguje na zmiany środowiska (ROSS 1996).

U bakterii niemal połowa wszystkich zsyntetyzowanych cząstek mRNA jest degradowana przez nukleazy w ciągu kilku minut, a u Eukaryota okres półtrwania różnych mRNA wykazuje znaczną zmienność od kilku godzin (lub mniej) do kilku dni, średnio około 10 godzin (KŁYSZEJKO-STEFANOWICZ 1995).

Okres półtrwania wielu mRNA ulega zmianie pod wpływem cytokin, hormonów, infekcji wirusowej, głodzenia lub niedotlenienia.

Czynnikami determinującymi stabilność mRNA są określone struktury i sekwencje w jego cząsteczce (czyli tak zwane determinanty *cis*) oraz różne białka wiążące się z tymi regionami (nazywane determinantami *trans*). Deter-

minanty *cis* są ulokowane głównie w niekodującym odcinku mRNA przy końcu 3' i tylko w przypadku nielicznych typów mRNA (np.  $\beta$ -tubuliny, *FOS*, *MYC*) znajdują się one w regionie kodującym (ROSS 1995, 1996).

Determinanty strukturalne w cząsteczce mRNA odpowiedzialne za zachowanie jej stabilności powstają w wyniku tak zwanego procesu „dojrzwiania” prekursorowego mRNA (tzw. heteronuclear mRNA = hnRNA)

Prekursorowy mRNA powstaje w komórce w wyniku transkrypcji i następnie ulega dalszej skomplikowanej obróbce (tzw. dojrzewaniu), która, najogólniej rzecz ujmując, obejmuje wiele różnych procesów, wśród których wyróżnić można takie jak:

1) modyfikacja 5'-końca; 2) poliadenylacja 3'-końca; 3) usunięcie intronów w procesie składania (splicing).

Etap 1 i 2 powodują zwiększenie stabilności pre-mRNA, chroniąc go przed degradacją ze strony nukleaz. Modyfikacja 5'-końca to tworzenie tak zwanej czapeczki (lub „kapturka” cap), czyli metylowanego oligonukleotydu co :

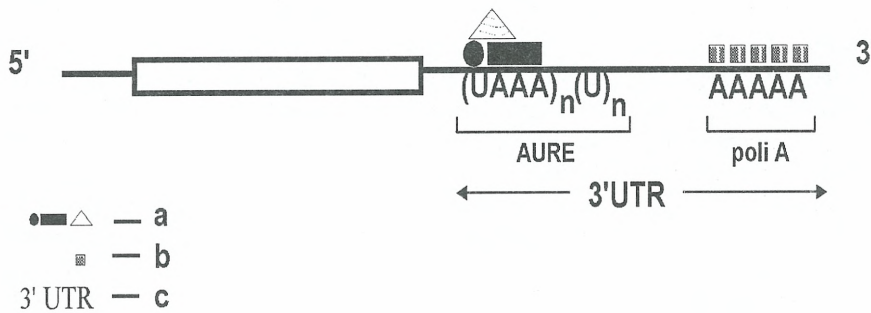
— chroni mRNA przed działaniem 5'-egzonukleaz;

— przekształca mRNA w substrat do reakcji składania;

— pomaga w rozpoznaniu mRNA przez CBP (cap binding proteins — białka „kapturkowe”)

(WAHLE 1991, WAHLE i KELLER 1996, PORT i współaut. 1992, KŁYSZEJKO-STEFANOWICZ 1995).

Najistotniejszym obszarem mRNA warunkującym jego stabilność jest nie ulegający translacji koniec 3' (tzw. 3'-UTR) bogaty w reszty urydynowe i adenylowe. Reszty adenylowe tworzą bardzo długi odcinek poli(A) na końcu 3', za którym występuje region AU (ryc. 1). Wyróżnić



Ryc. 1. Schemat wiązania białek regulujących stabilność mRNA (zmodyfikowane wg CHEN i SHYU 1995).

a — białka wiążące się do regionu bogatego w reszty AU (AURE); b — białka wiążące poli(A); c — 3'-wkońcowy odcinek mRNA nie ulegający translacji.

w nim można pentamery AUUUA oraz nonamery UUAUUUA(U/A)(U/A) rozdzielone pojedynczymi nukleotydami, przy czym zarówno ilość powtórzonych sekwencji wielokrotnych, jak i pojedynczych ma najprawdopodobniej istotne znaczenie w rozpoznawaniu i wiązaniu specyficznych białek regulujących stabilność mRNA (CHEN i SHYU 1995).

W poniższych 6 typach mRNA kodujących różne receptory sprzężone z białkami G (tab. 3) znaleziono od 1 do 5 sekwencji pentamerowych w nie ulegającym translacji 3'-końcu.

Tabela 3. Obecność pentamerów AUUUA w nie ulegającym translacji regionie 3' mRNA kodujących receptory sprzężone z białkami G (wg THOLANIKUNNEL i współaut. 1995).

| Receptor sprzężony z białkiem G | Liczba pentamerów AUUUA w regionie 3'-UTR |
|---------------------------------|---|
| Adrenergiczny $\beta_2$         | 1   |
| Adrenergiczny $\beta_1$         | 1   |
| Angiotensyny II                 | 4   |
| Dopaminowy D <sub>1</sub>       | 5   |
| Mt skarynowy M <sub>2</sub>     | 2   |
| Muskarynowy M <sub>3</sub>      | 4   |
| Serotoninowy                    | 3   |
| Trombiny                        | 5   |

Wykazano, że motyw AUUUA ułatwia degradację cząsteczki mRNA, podczas gdy domena bogata w urydynę wywołuje proces deadenyacji i wzmacnia destabilizującą rolę pentamerów (CHEN i SHYU 1995). W przypadku mRNA kodującego c-fos delekcja regionu bogatego w reszty AU powoduje przekształcenie protoonkogenu w onkogen.

Wszystkie zbadane dotąd podtypy receptorów beta-adrenergicznych posiadały 1 pentamer AUUUA, lecz ilość reszt urydyny w regionie flankującym była różna (tab. 4).

Badania nad receptorami muskarynowymi m<sub>1c1</sub> i m<sub>2c2</sub> wykazały, że ilość mRNA kodujących te receptory znacznie spadała po przedłużonym działaniu agonisty — karbacholu. Skomplikowane badania genetyczne i tworzenie

cząsteczek tych receptorów z mutacjami delecyjnymi w obrębie nie ulegającego translacji regionu 3' pozwoliły na ustalenie, że odcinek obejmujący 261 zasad warunkuje destabilizację mRNA (LEE i współaut. 1994), lecz nie jest znane białko wiążące się z tym regionem cząsteczki mRNA.

Stabilność mRNA jest uwarunkowana wiązaniem specyficznych białek do określonych sekwencji mRNA, przy czym interakcja ta może zarówno stabilizować mRNA, jak i destabilizować go, a okres półtrwania mRNA jest wypadkową działania różnych czynników (ROSS 1995, BOHJANEN i współprac. 1992, RANGANATAN i współaut. 1997). W przypadku receptorów sprzężonych z białkami G, najistotniejsze są białka wiążące się z regionem 3'UTR, jak wykazały to dotychczasowe badania nad mechanizmem regulacji ich ekspresji.

Najlepiej poznano białka oddziaływujące z odcinkiem poli(A) oraz regionem bogatym w reszty AU.

Tabela 4. Zawartość urydyny (U) w nie ulegającym translacji regionie 3' flankującym pentamer AUUUA w różnych podtypach  $\beta$ -AR mRNA (wg THOLANIKUNNEL i współaut. 1995).

| mRNA                      | Liczba AUUUA w 3' UTR | % U w 50 i 100 nukleotydach flankujących |
|---------------------------|-----------------------|--|
| $\beta_2$ -AR (chomiczy)  | 1                     | 26    28                                 |
| $\beta_2$ -AR (ludzki)    | 1                     | 18    26                                 |
| $\beta_2$ -AR (szczurzy)  | 1                     | 26    29                                 |
| $\beta_1$ -AR (szczurzy)* | 1                     | 36    31                                 |

\*Szczurzy  $\beta_1$ -AR nie posiada regionu poly(U) flankującego pentamer AUUUA

## BIAŁKA WIĄŻĄCE SIĘ Z REGIONEM POLI(A)

Region poli(A) wpływa na dojrzewanie pre-mRNA, transport RNA, translację i stabilność cytoplazmatycznego mRNA. Z różnych doświadczeń wynika, że region poli(A) chroni mRNA przed szybką degradacją (ROSS, 1995). Pierwszym krokiem w rozpadzie wielu mRNA jest jego deadenylicacja.

Kompleks, białko wiążące odcinek poli(A) — PABP, i poli(A) w 3'-końcu chroni mRNA przed szybką destrukcją *in vitro*. Poliadenylowane mRNA ulegają szybkiej degradacji, kiedy są inkubowane w ekstraktach komórkowych pozbawionych PABP, ale ulegają stabilizacji kiedy dodany zostanie egzogenny PABP. mRNA pozbawiony regionu poli(A) jest niestabilny zarówno w obecności, jak i nieobecności PABP (ROSS, 1996). PABP ( $M_r$  68–78 kDa) wykryto w aktywnych komórkach T i sklonowano. Białko to

występuje u wielu gatunków i jest konserwatywne (BLOBEL 1973, WILUSZ i SHENK 1988).

Kolejne wykryte białka z tej rodziny to PAB II (WAHLE 1991) oraz PABP (YANG i współaut. 1995). PAB II jest białkiem jądrowym o m.c. 49 kDa wyizolowanym z komórek ludzkich i jego sekwencja nie jest homologiczna do PABP (YANG i współaut. 1995).

PABP akumuluje się głównie w cytoplazmie i ulega raptownej indukcji w aktywowanych ludzkich komórkach T (YANG i współaut. 1995). Dane uzyskane ostatnio sugerują, że białko to odgrywa większą rolę w translacji niż w regulacji stabilności mRNA, przy czym w tej pierwszej jego funkcji jest istotna interakcja z regionem „czapeczki” oraz długość odcinka 3'-UTR (TANGUAY i współaut. 1996).

## BIAŁKA WIĄŻĄCE SIĘ Z REGIONEM AURE W mRNA

Nie ulegające translacji regiony 3' wielu ssacych mRNA zawierają regiony bogate w adenylinę i urydynę (ang. AURE, adenylate/uridylylate rich elements). Regiony te najczęściej składają się z dwóch domen. Domena I zawiera 40–50 nukleotydów, jest bogata w AU i zawiera kilkanaście pentamerów AUUUA. Domena II, przyległa do I, zawiera 20-nukleotydowy region bogaty w U (ROSS 1996).

Związek AURE ze stabilnością mRNA jest następujący:

— mRNA zawierający AURE wykazuje tendencję do niestabilności;

— jeśli AURE z nie ulegającego translacji 3'-końca niestabilnego mRNA jest umieszczony w obrębie 3'-końca stabilnego mRNA, to powstały chimeryczny transkrypt ulega destabilizacji.

Opisano całą rodzinę białek wiążących się do regionu AURE (tzw. AUBP = A + U binding proteins); są wśród nich zarówno białka cytoplazmatyczne, jak i jądrowe oraz białka przemieszczające się pomiędzy kompartmentami komórkowymi (ROSS 1996). Ich ciężar cząsteczkowy waha się od 32 do 45 kDa (CHEN i SHYU 1995). Następujące obserwacje sugerują wpływ AUBP na stabilność mRNA:

— ilość lub aktywność AUBP zwiększa się lub zmniejsza przy zmianie szybkości rozpadu mRNA;

— AUBP wpływa na stabilność mRNA w układach pozakomórkowych.

W 1993 roku oczyszczono białko AUF1 [A+U-rich element RNA-binding/degradation factor] (ZHANG i współaut. 1993) wykryte przez Brewera (1991), który scharakteryzował je jako dwa polipeptydy o m.c. 37 kDa i 40 kDa. Sklonowanie cDNA dla komponenty 37 kDa wykazało, że koduje on białko zawierające 2 motywy rozpoznające mRNA i domeny, które mogą uczestniczyć w interakcjach typu białko-białko (ZHANG i współaut. 1993). AUF1 wiąże się z 3'UTR kilkunastu mRNA podlegających bardzo ścisłej regulacji (*c-myc*, *c-fos*) i selektywnie przyspiesza degradację *c-myc* mRNA *in vitro*. Delecja regionu wiążącego AUF1 z niekodującego (3'UTR) odcinka mRNA genu *c-myc* stabilizuje to mRNA.

Do doświadczeń nad rolą AUF1 użyto też stabilnego mRNA kodującego  $\beta$ -globinę króliczą: jego odcinek 3'UTR nie destabilizuje mRNA i nie wiąże się z AUF1. Natomiast kiedy w obszar ten wbudowano region wiążący AUF1 z mRNA kodującego GM-CSF, nastąpił szybki rozpad tak skonstruowanego mRNA  $\beta$ -globiny *in vivo*.

W literaturze trwa spór o to, w jaki sposób AUF1 uczestniczy w degradacji mRNA.

Uważa się, że proces ten jest skutkiem interakcji zarówno z AURE, jak i innymi białkami (55.000–126.000), które mogą przyłączać się do łańcucha poli(A) lub PAB. To mogłoby powodować wzrost powinowactwa nukleazy poli(A) do łańcucha poli(A) w mRNA zawierającym AURE. Być może wiązanie AUF1 do AURE i jego inter-

akcja z innymi białkami zmienia powinowactwo PAB do poli(A), zwiększając tym samym podatność na RN-azę (-y). Sekwencja cDNA dla AUF1 zawiera polipeptyd bogaty w glutaminę (ZHANG i współaut. 1993):

KEGYQQQQQWGSRRGG

Takie regiony mogą pośredniczyć w interakcjach typu białko-białko i są one obecne w innych białkach wiążących RNA i DNA (BANDZUILIS i współaut. 1989).

AUF 1 występuje w jądrze i cytoplazmie — tam uczestniczy w obrocie RNA (turnover), albo też wiąże się z AURE w jądrze i ułatwia transport mRNP do cytoplazmy, gdzie jego degradacja również byłaby kontrolowana przez AUF1. Ostatnio wykryto, że białko AUF1 występuje w sercu człowieka: w przypadku pacjentów cierpiących na chorobę niedokrwinną serca (heart failure) jego ilość była znacznie zwiększona, a ilość receptora  $\beta_1$ -adrenergicznego, jak i kodującego go mRNA była znacznie obniżona. Co ciekawe, proces ten pogłębiał się w miarę nasilania się objawów chorobowych wynikających głównie z nadprodukcji adrenaliny — agonisty receptora  $\beta_1$  i postępującego w związku z tym procesu jego desensytyzacji (PENDE i współaut. 1996).

W 1992 roku opisano białko  $\beta$ ARB wiążące się z mRNA kodującym receptor  $\beta_2$ -adrenergiczny. Wykazano, że pojawia się ono w trakcie przedłużonej stymulacji  $\beta$ -receptora agonistami. Typową sekwencję zdarzeń, jakie zachodzą w wyniku stymulacji receptora opisał COLLINS i współautorzy (1989). Krótkotrwała (do 90 minut) stymulacja agonistą komórek DDT<sub>1</sub> MF-2 (mięśni gładkich chomika) powodowała początkowo zwiększenie szybkości transkrypcji genu dla receptora  $\beta_2$ -adrenergicznego, co wywołało 3–4-krotny wzrost poziomu mRNA. Przedłużająca się stymulacja spowodowała kolejno:

- zmniejszenie się ilości receptora;
- obniżenie aktywności cykazy adenylanowej;
- spadek ilości mRNA, aż o 50% po 24-godzinnej inkubacji komórek z agonistą.

Dalsze badania wykazały, że po 12-godzinnej stymulacji agonistą poziom białka  $\beta$ ARB wiążącego mRNA kodujący receptor  $\beta_2$ -adrenergiczny stopniowo wzrastał osiągając po 24 godz. 150%, a po 48 godz. 275% w porównaniu z kontrolą (PORT i współaut. 1992).

$\beta$ ARB wiąże się selektywnie z mRNA kodującym receptory  $\beta_1$  i  $\beta_2$ , czyli z tymi podtypami receptorów adrenergicznych, które ulegają desensytyzacji uwarunkowanej obecnością agonisty, natomiast nie stwierdzono jego wiązania ani do mRNA dla receptora  $\alpha_{1B}$  — nie ulegającego „downregulacji” ani do mRNA  $\beta$ -globiny, który służył jako dodatkowa próba kontrolna, gdyż ten ostatni typ mRNA jest bardzo stabilny (PORT i współaut. 1992).

Ciężar cząsteczkowy  $\beta$ ARB wynosi 35 kDa i jest zbliżony do innego niedawno opisanego białka AUF1, jak i innych białek wiążących RNA (PORT i współaut. 1992).

Wiązanie  $\beta$ ARB do mRNA jest znoszone stechiometrycznie i kompetycyjnie przez homopolimery poli(U), lecz nie przez homopolimery typu poli(A), poli(C), czy poli(G) RNA (PORT i współaut. 1992). Dalsze badania nad tym białkiem wykazały, że rozpoznaje ono nie tylko mRNA kodujące receptor typu beta lecz także transkrypt receptora trombinowego (THOLANIKUNNEL i współaut. 1995), czyli kolejnego receptora również sprzężonego z białkiem G (GUAN 1994). Porównanie sekwencji różnych receptorów wykazało, że białko to rozpoznaje pentamery AUUUA wraz z odcinkiem poli(U) ograniczającym (flankującym) tę sekwencję (THOLANIKUNNEL i współaut. 1995). Przeprowadzone badania mutagenetyczne ujawniły, że obie te cechy są niezbędne do interakcji mRNA-białko i pozwoliły na ustalenie następującej preferencji wiązania: chomiczy receptor  $\beta_2$  > szczurzy receptor  $\beta_1$  > ludzki receptor  $\beta_3$  > szczurzy receptor  $\beta_3$ .

Wykazano, że  $\beta$ ARB wiąże się też z *c-myc* i *c-fos* (ZHANG i współaut. 1993). Tak więc nieoczekiwanie okazało się, że  $\beta$ ARB jest najbardziej uniwersalnym z dotychczas poznanych białek wiążących się z mRNA w procesie potranskrypcyjnej regulacji ekspresji różnych genów.

#### ZAKOŃCZENIE

Badania ostatnich lat wskazują, że istotnym elementem regulacji ekspresji genów kodujących receptory sprzężone z białkami G jest kontrola stabilności informacyjnych kwasów rybonukleinowych powstałych w trakcie ich transkrypcji (PORT i współaut. 1992)

Wykrycie określonych sekwencji mRNA oraz białek wiążących się do nich pozwala na stopniowe wyjaśnienie molekularnych podstaw desensytyzacji oraz „down-regulacji” receptorów błonowych — procesów leżących u podstaw wielu reakcji fizjologicznych.

## REGULATION OF STABILITY OF THE G-PROTEIN-COUPLED RECEPTORS mRNA

## Summary

The family of G-protein-coupled receptors regulate a number of different processes within the living cells acting via the second messenger signalling pathway. On the other hand, the receptors themselves undergo a very strict regulation at different levels. A prolonged exposure to agonists evokes receptor desensitization and sequestration which leads to a gradual decrease in the receptor number - downregulation. At the same time the posttranscriptional regulation occurs at the gene expression level: one of its

elements is the regulation of mRNA stability. mRNA stability depends on defined structural and sequence determinants residing in its molecule (cis elements) and specific proteins binding to these regions (trans determinants). AUF1 and  $\beta$ ARB proteins are the best examples of the proteins binding to 3'-untranslated region of mRNA of different G-protein-coupled receptors, and their features have been discussed in detail in the article.

## LITERATURA

- BANDZUJIS R. J., SWANSON M. S., DREYFUSS G., 1989. *RNA-binding proteins as developmental regulators*. Genes Dev. 3, 431-437.
- BLOBEL G., 1973. *A protein of molecular weight 78,000 bound to the polyadenylate region of eukaryotic messenger RNAs*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 70, 924-928.
- BOHJANEN P. R., PETRYNIAK B., JUNE C. H., THOMPSON C. B., LINDSTEN T., 1992. *AU RNA-binding Factors Differ in Their Binding Specificities and Affinities*. J. Biol. Chem. 267, 6302-6309.
- BREWER G., 1991. *An A+U-rich element RNA binding factor regulates c-myc mRNA stability in vitro*. Mol. Cell. Biol. 11, 2460-2466.
- CHEN C.-YA., SHYU A.-B., 1995. *AU-rich elements: characterization and importance in mRNA degradation*. TIBS 20, 465-470.
- COLLINS S., BOUVIER M., BOLANOWSKI M. A., CARON M. G., 1989. *cAMP stimulates transcription of  $\beta$ -adrenergic receptor gene in response to short-term agonist exposure*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 4853-4857.
- GUAN X.-M., 1994. *Miscellaneous Receptors*. [W:] PEROUTKA S. J. (red.). *Handbook of receptors and channels. G-protein coupled receptors*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, 314-316.
- HADCOCK J. R., MALBON C. C., 1988. *Down-regulation of  $\beta$ -adrenergic receptors: Agonist-induced reduction in receptor mRNA levels*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85, 5021-5025.
- HADCOCK J. R., ROS M., MALBON C. C., 1989. *Agonist Regulation of  $\beta$ -Adrenergic Receptor mRNA*. J. Biol. Chem. 264, 13956-13961.
- KŁYSZEJKO-STEFANOWICZ L., 1995. *Cytobiochemia*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, str. 790.
- LEE N. H., EARLE-HUGHES J., FRASER C. M., 1994. *Agonist-mediated destabilization of m1 muscarinic acetylcholine receptor mRNA*. J. Biol. Chem. 269, 4291-4298.
- LOHSE M.-J., 1993. *Molecular mechanism of membrane receptor desensitization*. Biochim. Biophys. Acta 1179, 171-188.
- PENDE A., TREMMEL K. D., DEMARIA Ch. T., BLAXALL B. C., MINOBE W. A., SHERMAN J. A., BISOGNANO J. D., BRISTOW M. R., BREWER G., PORT J. D., 1996. *Regulation of the mRNA-binding protein AUF1 by activation of the  $\beta$ -adrenergic receptor signal transduction pathway*. J. Biol. Chem. 271, 8493-8501.
- PEPPERL D. J., REGAN J. W., 1994. *Adrenergic receptors*. [W:] PEROUTKA S. J. (red.). *Handbook of receptors and channels. G-protein coupled receptors*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, 45-78.
- PORT J. D., HUANG L.-Y., MALBON C. C., 1992.  *$\beta$ -adrenergic agonists that down-regulate receptor mRNA up-regulate a Mr 35,000 protein(s) that selectively binds to  $\beta$ -adrenergic receptor mRNAs*. J. Biol. Chem. 267, 24103-24108.
- RANGANATAN G., VU D., KERN P. A., 1997. *Translational regulation of lipoprotein lipase by epinephrine involves a trans-acting binding protein interacting with the 3' untranslated region*. J. Biol. Chem. 272, 2515-2519.
- ROSS J., 1995. *mRNA stability in mammalian cells*. Microbiol. Rev. 59, 423-450.
- ROSS J., 1996. *Control of messenger RNA stability in higher eukaryotes*. Trends in Genetics 12, 171-175.
- SAKAUE M., HOFFMAN B. B., 1991. *cAMP regulates transcription of the  $\alpha$ 2A adrenergic receptor gene in HT-29 cells*. J. Biol. Chem. 266, 5743-5749.
- TANGUAY R. L., GALLIE D. R., 1996. *Translational efficiency is regulated by the length of the 3' untranslated region*. Mol. Cell. Biol. 16, 146-156.
- THOLANIKUNNEL B. G., GRANNEMAN J. G., MALBON C. C., 1995. *The Mr 35 000  $\beta$ -adrenergic receptor mRNA-binding protein binds transcripts of G-protein-linked receptors which undergo agonist-induced destabilization*. J. Biol. Chem. 270, 12787-12793.
- VETULANI J., 1997. *Regulacja przekazywania neuronalnego*. Wszechświat 98, 84-89.
- WAHLE E., 1991. *A novel poly(A)-binding protein acts as a specificity factor in the second phase of messenger RNA polyadenylation*. Cell 66, 759-768.
- WAHLE E., KELLER W., 1996. *The biochemistry of polyadenylation*. TIBS 21, 247-250.
- WILUSZ J., SHENK T., 1988. *A 64 kd nuclear protein binds to RNA segments that include the AAUAAA polyadenylation motif*. Cell 52, 221-228.
- WYROBA E., SURMACZ L., 1996. *Receptor beta-adrenergiczny: budowa i istotne motywy sekwencyjne*. Post. Biol. Kom. 23, 601-614;
- YANG H., DUCKETT C. S., LINDSTEN T., 1995. *iPABP, an inducible poly(A)-binding protein detected in activated human T cells*. Mol. Cell. Biol. 15, 6770-6776.
- ZHANG W., WAGNER B. J., EHRENMAN K., SCHAEFER A. W., DEMARIA C. T., CRATER D., DEHAVEN K., LONG L., BREWSTER G., 1993. *Purification, characterization, and cDNA cloning of an AU-rich element RNA-binding protein, AUF1*. Mol. Cell. Biol. 13, 7652-7665.