

综述 ·

一种新发现的基因表达调控机制——核糖开关

赵 谨¹⁾, 杨克恭²⁾, 张 学¹⁾*

(中国医学科学院基础医学研究所 中国协和医科大学基础医学院¹⁾医学遗传学系,²⁾生物化学与分子生物学系,北京 100005)

摘要 最近发现,某些依赖代谢物调节的基因转录产物的 5' UTR 存在特征性结构——核糖开关(riboswitch)。核糖开关可以特异性结合代谢物,通过构象变化,在转录或翻译水平上调节基因表达。核糖开关广泛存在于 G⁺ 及 G⁻ 细菌的代谢相关基因中,在真菌、植物中也有发现。核糖开关调节维生素、氨基酸、核苷酸等基础代谢过程,其调节基因表达不需要任何蛋白因子作为中介,在进化上可能是 RNA 世界遗留的分子化石。核糖开关可用于研究基因功能,开发新型药物及基因治疗。

关键词 代谢物结合 mRNA, 适体, 核糖开关, 基因表达调控

中图分类号 Q74, Q78

A Newly Found Mechanism of Gene Expression Regulation——Riboswitch

ZHAO Jin¹⁾, YANG Ke-Gong²⁾, ZHANG Xue¹⁾*

(¹⁾ Department of Medical Genetics, ²⁾ Department of Biochemistry and Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, School of Basic Medicine, Peiking Union Medical College, Beijing 100005, China)

Abstract Recently, it was found that special RNA motifs were imbedded within the 5' UTR of certain metabolic gene transcripts, called as "riboswitch". The riboswitches could bind the corresponding metabolite small ligands directly and specially, inducing conformation change of riboswitch, and then regulating cognate gene expression at both transcriptional and translational levels. Riboswitches were widely distributed in G⁺ positive and negative bacterium metabolite genes, and also found in fungi and plants. Riboswitch regulate the basic metabolism of vitamins, amino acids, nucleic acids, etc. It can regulate gene expression without any protein factor serving as mediator. Riboswitch might have originated very early in evolution, and it is supposed to be the molecular fossil remains of the ancient RNA world. Riboswitches can be used to gene function research, new drugs development and gene therapy.

Key words metabolite-binding mRNA, aptamer, riboswitch, gene expression regulation

人们早在 1991 年就发现, *E. coli* 的 *btuB* 基因(编码维生素 B₁₂ 的胞外转运蛋白)转录产物的 5'-UTR 存在高度保守序列,称为“B₁₂ box”,并且发现腺苷基钴胺素(Ado-cbl)和 B₁₂ 可以使 *btuB* 基因表达下调^[1-3]。由于蛋白因子在基因转录、翻译调控中的重要作用,人们力图寻找能够感受 Ado-cbl 的 RNA 结合蛋白,认为 Ado-cbl 可能结合于某种蛋白因子,后者再结合 mRNA,调节基因表达。但是,这种蛋白因子始终未被发现,类似的情况也出现于细菌维生素 B₁ 和 B₂ 操纵子^[4,5]。虽然也有人提出过 mRNA 可能直接结合小分子代谢物调节基因表达的模式^[6],但一直没有被证实。

1990 年, Andrew 等合成了大量随机序列 RNA 分子,从中筛选出能够特异结合有机染料配体的

RNA,并将这些 RNA 分子命名为“aptamer”(适体)^[7]。aptamer 一词来源于拉丁文“aptus”,指人工合成的可以特异结合小分子配体的单链 RNA、单链或双链 DNA^[8],在体外可以折叠形成稳定的三维结构,是一种人造的生物传感器。

2002 年,耶鲁大学的 Breaker 受到适体的启发,认为一定存在天然的 RNA 适体,并用一系列实验证明了这种天然适体的存在,于 2002 年命名为“核糖

收稿日期:2004-06-14,接收日期:2004-09-08

美国中华医学基金会资助

*联系人 Tel:(010)65296925,E-mail:xuezhang@pumc.edu.cn

Received: June 14, 2004; Accepted: September 8, 2004

Supported by China Medical Board, New York, USA

*Corresponding author Tel:(010)65296925,E-mail:xuezhang@pumc.edu.cn

开关”(riboswitch)。“ribo”指的就是 mRNA,switch 意为能控制基因表达的“分子开关”。mRNA 本身作为传感器,直接感受环境中相应代谢物的变化,结合代谢物后发生构象变化,在转录和翻译水平调节基因的表达。从 2002 年到 2003 年,在枯草杆菌(*B. subtilis*)及其它细菌中共发现 7 种核糖开关,其中包括 *E. coli* 的“B₁₂ box”等。它们调控至少 68 个基因的表达,调节 *B. subtilis* 2% 基因的化学途径^[9]。在某些真菌和植物中也发现类似的调控元件。

2004 年,Breaker 实验室又发现了一种特殊的核糖开关——依赖代谢物调节的核酶^[10],并且通过生物信息学的方法,在 *B. subtilis* 基因组中鉴定出至少 6 个新的具有核糖开关特性的基因表达调控元件^[11]。

1 核糖开关的一般特性及作用机制

1.1 结构特点及高度选择性和高度敏感性

已发现的细菌核糖开关均位于代谢相关基因 mRNA 的 5' UTR,由 2 个结构域组成:适体结构域(aptamer domain, AD)和表达结构域(expression domain, EPD)^[9]。AD 直接结合小分子代谢物,是 RNA 传感器。序列分析表明,在不同细菌的同类核糖开关中,AD 序列保守,形成高度相似的二级结构。与配体结合后,AD 发生构象变化,信息传递至 EPD,后者通过形成选择性茎环结构,直接调节基因的表达。不同核糖开关的 EPD 可能利用不同的机制调节基因表达。

目前发现的真核生物的核糖开关位于 3' UTR 或内含子,也具有相似的 AD 和 EPD,可能在多个环节调节真核生物基因表达。

AD 对小分子代谢物的分子识别机制尚不清楚,但通过对 TPP 核糖开关和 FMN 核糖开关的研究发现,与配体 TPP 和 FMN 相比相差一个磷酸基团的配体与核糖开关的亲合力下降 1 000 倍^[12,13],由此推测磷酸基团可能带有某种“RNA 识别信息”。有趣的是,RNA 本身也带许多负电荷,但却能与带负电荷的磷酸基团相互作用^[7],其结合方式可能是 RNA 形成一个“口袋”,借助于配体二价金属阳离子与 RNA 和配体中的磷酸基团产生相互作用^[12]。

核糖开关对相应代谢物有高度敏感性,极微量的代谢物便可影响基因表达。如鸟嘌呤核糖开关,仅 5 nmol/L 的鸟嘌呤就可以抑制基因表达^[9]。

1.2 核糖开关调控基因表达的机制

核糖开关可以在转录和翻译两个水平上调节基

因表达,且均有抑制和激活两种方式。

1.2.1 转录水平的调控 核糖开关的 EPD 结构域中存在选择性茎环结构,可形成终止子结构。在抑制性核糖开关中,当不存在相应代谢物时形成抗终止子(antiterminator)结构,基因转录不受影响;当环境中出现代谢物时,AD 结合代谢物后发生构象变化,形成抗-抗终止子(anti-antiterminator),EPD 形成终止子(terminator),基因转录停止在前导序列(Fig. 1-a)。相反,在激活性核糖开关中,当不存在代谢物时,EPD 形成终止子,基因转录受阻;当代谢物出现时,AD 结合代谢物后发生构象变化,形成抗终止子,而 EPD 原来形成的终止子结构消失,基因继续转录(Fig. 1-c)。

1.2.2 翻译水平的调控 在抑制性核糖开关中,当不存在代谢物时,EPD 结构域形成抗隔离子(antisequestor)结构,不阻碍核糖体结合核糖体结合序列(RBS),翻译正常进行;当存在相应代谢物时,AD 结构域结合代谢物后构象发生变化,EPD 的抗隔离子结构消失,导致隔离子(sequestor)茎环结构的形成,使 SD 序列和翻译起始密码子 AUG 参与配对,妨碍核糖体的结合,抑制 mRNA 的翻译(Fig. 1-b)。相反,在激活性核糖开关,当不存在代谢物时,EPD 形成隔离子,阻碍核糖体结合;当代谢物出现时结合 AD 结构域,使其发生构象变化,导致抗隔离子的形成,EPD 的隔离子结构消失,核糖体结合于 RBS,起始翻译(Fig. 1-d)。有的核糖开关兼用两种机制,因为终止子形成的茎环结构在翻译时起隔离子的作用。G⁺ 菌的核糖开关倾向于利用转录终止机制,原因可能是 G⁺ 菌的某些代谢相关基因聚集在一个大操纵子中,其核糖开关利用形成的终止子使转录都无法进行。而 G⁻ 细菌核糖开关倾向于利用抑制翻译起始机制,原因可能是 G⁻ 细菌的代谢相关基因分散在染色体中,利用这一机制有利于调控特异基因的表达^[9,14]。

2 已发现的几种核糖开关

在细菌中,已发现的 7 种核糖开关分别调控维生素、氨基酸、核苷酸相关合成及转运的代谢基因的表达(Table 1)。其中,6 种核糖开关为抑制性,当存在相应代谢物时基因关闭;只发现 1 种激活性核糖开关,存在相应代谢物时,基因开始表达。

2.1 调控维生素代谢的核糖开关

2.1.1 Adb-cbl 核糖开关 维生素 B₁₂ (cyanocobalamin)

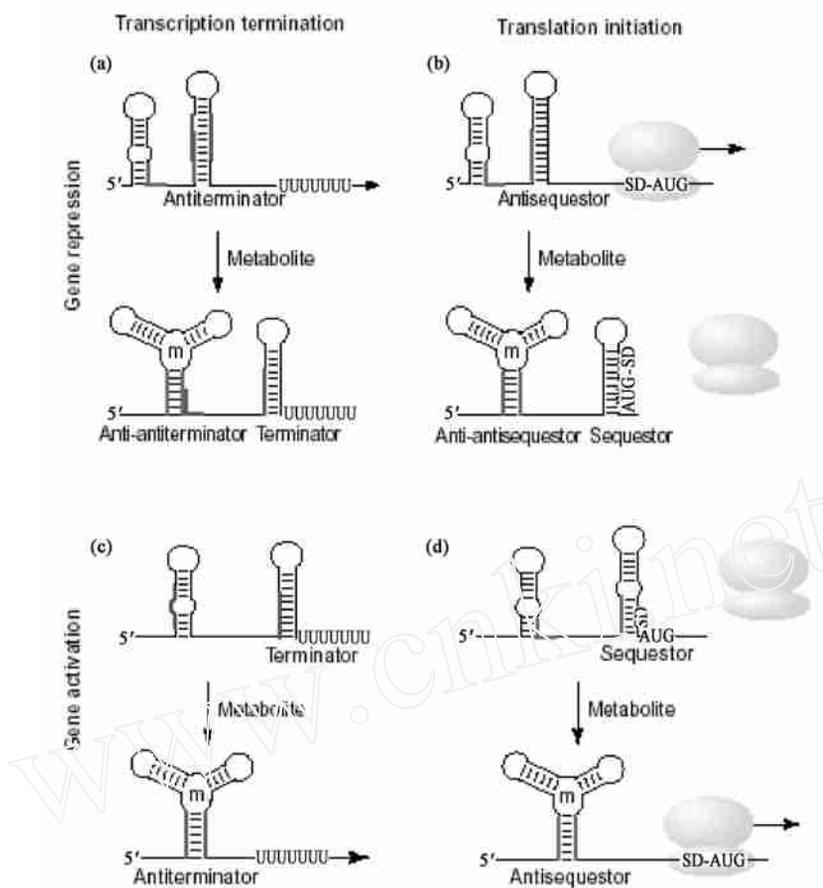


Fig. 1 Riboswitch-mediated control of gene expression

Bacterial riboswitches repress or activate their genes depending on the configuration of the corresponding leader RNA sequence (shown by the line growing from the 5' end). In response to the change of the metabolite concentration, they control transcription termination (a, c) or translation initiation (b, d), or both if the stem-loop structure of the terminator also serves as a sequester of the ribosome-binding site (RBS). In each case, the binding of a specific metabolite (m) to the conserved RNA-sensor domain stabilizes the riboswitch structure (shown as a hypothetical three-stem structure) thus preventing the formation of an alternative RNA structure that could be an antiterminator (a), antisequestor (b), terminator (c) or sequestor of RBS (d). The ribosome is shown in pale grey. The complementary RNA regions are indicated in bold line.

Table 1 Riboswitches and their role in regulation of bacterial metabolism

Metabolite (ligand)	Precursor	RNA sensor	Target process	Target genes	Where found
FMN	B ₂	<i>ifr</i> -box	Transcription termination or translation initiation	B ₂ synthesis and transport	Gram(+) and Gram(-) bacteria
TPP	B ₁	<i>thi</i> -box	Transcription termination or translation initiation	B ₁ synthesis and transport	Gram(+) and Gram(-) bacteria, some archaea, fungi and plants
Ado-Cbl	B ₁₂	B ₁₂ -box	Transcription termination and/or translation initiation	B ₁₂ synthesis and transport	Gram(+) and Gram(-) bacteria
SAM	Met	S-box	Transcription termination	Sulfur metabolism	Gram(-) bacteria
Lysine	N/A	L-box	Transcription termination	<i>lysC</i>	Gram(+) and Gram(-) bacteria
Guanine, HX	N/A	G-box	Transcription termination and antitermination	Purine metabolism and transport	Gram(+) bacteria

Ado-Cbl: adenosylcobalamin; B₂: riboflavin; B₁: thiamine; B₁₂-box, G-box, L-box, *ifr*-box and *thi*-box: evolutionarily conserved RNA structures that bind Ado-Cbl, guanine, lysine, FMN and TPP, respectively; FMN: flavin mononucleotide; Gram(+): Gram positive; Gram(-): Gram negative; HX: hypoxanthine; Met: methionine; N/A: not applicable; SAM: S-adenosyl-L-methionine; TPP: thiamine pyrophosphate

是腺苷基钴胺素(Ado-cbl)的前体,在细菌中,维生素 B₁₂生物合成及转运基因转录产物的 5' UTR 存在依赖 Ado-cbl 的抑制性核糖开关,通过感受 Ado-cbl 的变化调节基因表达^[12,14,15]. *E. coli* 和沙门氏菌的 *btuB* 基因编码维生素 B₁₂ 的胞外转运蛋白, *cob* 操纵子编码维生素 B₁₂ 生物合成相关的酶,其转录产物的 5' UTR 都有高度保守的 B₁₂ box^[11]. 线内 RNA 探测分析(in line RNA probing analysis)是 Breaker 实验室用来研究核糖开关的一种实验方法,它的原理是 RNA 在一定条件下会发生自发性裂解,与未形成任何结构的核酸相比,参与形成二级、三级结构的核酸更能耐受自发裂解^[16]. 利用线内 RNA 探测分析研究 B₁₂ box 表明,在不存在任何蛋白质的情况下,Ado-cbl 可以直接结合 B₁₂ box,引起前导 RNA 的构象变化. B₁₂ 核糖开关可以通过 2 种机制抑制基因表达,在杆菌(Bacilli)和某些 G⁺ 菌主要通过形成 SD 隔离子来抑制翻译起始,大多数 G⁺ 菌主要通过形成终止子使转录提前终止^[17].

2.1.2 TPP 核糖开关

维生素 B₁ 是辅酶 TPP 的前体,在多种细菌 *thi* 操纵子(编码维生素 B₁ 生物合成及转运酶类)的 5' UTR 存在依赖 TPP 的抑制性核糖开关,通过感受 TPP 变化调节基因表达^[13]. *thi* 操纵子 5' UTR 存在一个高度保守的 39 个核苷酸序列,称为 *thi*-box^[18],体外实验证明^[13],TPP 可以直接与 *thi* box 结合,引起前导 RNA 发生构象变化. 利用线内 RNA 探测分析和平衡透析(equilibrium dialysis)比较各种 TPP 类似物引起前导 RNA 发生构象变化的情况及结合能力^[13],发现前导 RNA 对 TPP 有高度敏感性和选择性,其分子识别机制似乎与磷酸基团有关^[13]. TPP 核糖开关抑制基因表达的机制也是在转录或翻译起始水平,G⁺ 菌大多利用转录终止,G⁻ 菌大多抑制翻译起始.

2.1.3 FMN 核糖开关

维生素 B₂ (Riboflavin) 是重要辅酶 FMN、FAD 的前体. 很多细菌的 *riboflavin* 操纵子 5' UTR 都有一个进化上保守的调节元件,称为 *ftr*-box^[19]. 研究发现,它是 FMN 核糖开关的 AD 结构域,可以在无任何蛋白质的体外转录系统中直接结合 FMN、FAD,抑制维生素 B₂ 生物合成及转运基因的表达^[12]. *ftr*-box 的突变将消除 FMN、FAD 对操纵子的抑制作用,导致维生素 B₂ 的过量表达. *ftr*-box 对 FMN 有高度选择性和敏感性,其分子识别机制似乎与磷酸基团有

关^[12]. 抑制基因表达的机制同于 B₁₂ 和 TPP 核糖开关.

2.2 调控氨基酸代谢的核糖开关

2.2.1 SAM 核糖开关

SAM(腺苷蛋氨酸)作为甲基供体在多种生化途径中起重要作用. 在 G⁺ 细菌中,参与半胱氨酸、蛋氨酸、SAM 生物合成和硫代谢的基因转录产物的 5' UTR 都存在序列高度保守的 S-box^[20]. 研究发现,S-box 是 SAM 核糖开关的 AD 结构域,可直接结合 SAM,并对其有高度的敏感性和特异性^[21,22]. 在 *B. subtilis* 中,SAM 核糖开关调节 11 个转录单位的表达,有 26 个基因受其调控^[16]. SAM 可以抑制这些基因的表达,其调节机制是通过形成终止子使转录提前终止于前导序列^[21,22].

2.2.2 赖氨酸核糖开关

最近研究发现,*B. subtilis* 的 *lysC* 基因(编码赖氨酸合成酶)表达受到依赖赖氨酸的核糖开关的调控^[6]. 以往研究发现,*lysC* 基因表达受其产物赖氨酸的负调节,Northern 印迹分析表明,只有当细胞处于赖氨酸饥饿状态时才会产生全长的 *lysC* mRNA,在环境中存在赖氨酸时将产生 270 个核苷酸的短转录产物^[23],序列分析表明这一转录产物与 *lysC* 前导 RNA 一致,未发现任何作为中介的蛋白质参与上述过程. 在多种细菌的 *lysC* 基因转录产物 5' UTR 存在保守的 L-box,作为赖氨酸核糖开关的 AD 结构域可能直接结合赖氨酸,通过形成内在终止子抑制 *lysC* 基因表达.

2.3 调控嘌呤代谢的核糖开关

在 *B. subtilis* 以及很多细菌中,发现嘌呤代谢及转运相关基因转录产物的 5' UTR 都存在保守的 G-box^[9]. 实验证明,*B. subtilis* 的 *xpt-pbuX* 操纵子(编码黄嘌呤磷酸核糖转移酶和黄嘌呤转运蛋白) 5' UTR 保守的 G-box 可以直接结合鸟嘌呤,使前导 RNA 发生构象变化,形成终止子,导致转录提前终止^[9]. 有 7 对氢键参与 RNA-鸟嘌呤复合物的形成,其中 C74 与鸟嘌呤形成 3 对氢键. 通过比较各种嘌呤类似物发现,G-box 对鸟嘌呤有很高的特异性和亲和力^[9].

最近发现的腺嘌呤核糖开关(adenine-sensing riboswitch)是迄今唯一具有激活作用的核糖开关^[24]. *B. subtilis* 的 *ydhL* 基因以及 *C. peffringens* 和 *V. vulnificus* 的 *add* 基因转录产物的 5' UTR 都有 G-box,这些基因的表达受腺嘌呤的正调节^[24]. 比较 *xpt* 和 *ydhL* 的 G-box (AD 结构域)的核苷酸序列和二级结

构,发现两者有 23 个核苷酸不同,但形成的二级结构非常相似,实验证明其中第 74 位的碱基对核糖开关的识别起决定性作用^[24], *xpt* 在此处为 C(胞苷酸),能特异识别鸟嘌呤; *ydH* 在此处为 U(尿苷酸),特异识别腺嘌呤^[24]. 在有腺嘌呤存在时,终止子结构被破坏,基因继续转录(Fig. 1-c). *ydH* 基因编码嘌呤泵(purine efflux pump),在环境中出现腺嘌呤时将多余的腺嘌呤泵出^[24]. *C. perfringens* 和 *V. vulnificus* 的 *add* 基因编码腺嘌呤脱氨酶,在低浓度腺嘌呤存在时,不需要表达腺嘌呤脱氨酶,因此推测 *add* 基因转录产物可能也含有一个激活性核糖开关^[24].

2.4 真核生物的核糖开关

最近研究发现,在某些真核生物中也存在代谢物结合结构域(metabolite-binding domain),提示在真核生物中可能也存在核糖开关调控机制^[25,26]. 100 多种细菌及古细菌的 TPP 核糖开关中的 TPP 结合结构域存在共有序列,其中 90% 以上碱基保守,二级结构相似^[25]. 序列分析发现,某些真核生物的 TPP 代谢相关基因转录产物也有类似的结构域. 例如,拟南芥(*Arabidopsis*)的维生素 B₁ 生物合成基因的 3'-UTR 具有类似的 TPP 结合结构域;水稻(*oriza sativa*)和 bluegrass (*Poa secunda*) 以及一些真菌(如 *Neurospora crassa*) 中也存在类似结构^[25]. 线内 RNA 探测分析^[9,12,13] 分析表明,真核 TPP 结合结构域对 TPP 同样具有高度亲和力^[25]. 植物的 TPP 结合结构域大多位于 polyA 尾部的上游,提示 TPP 的结合可能与 mRNA 加工和稳定性有关. 真菌 *N. crassa* 的 TPP 结合结构域位于内含子中,提示 TPP 结合可能影响 RNA 前体的剪接^[25].

原核生物的核糖开关在结合相应配体后,通过改变碱基配对,形成选择性茎环结构来调节基因表达,如形成终止子或 RBS 隔离子. 而在真核生物,核糖开关可能调节 RNA 的加工、转运及稳定性,涉及基因表达的多个环节.

2.5 依赖代谢物调节的核酶(metabolite-responsive ribozyme)

2004 年,Breaker 实验室又发现了一种特殊的核糖开关,它存在于 *B. subtilis* 及至少 17 种 *glmS* 基因 mRNA 的 5' UTR,是一种核酶,具有切割活性,其活性受到 GcN6P (glucosamine-6-phosphate 葡糖胺-6-磷酸盐)的调节^[10]. *glmS* 基因编码谷氨酰胺-果糖磷酸转氨酶,可利用 Fru6P(fructose-6-phosphate,果糖-6-磷酸)和谷氨酰胺合成 GcN6P,参与糖代谢和细胞壁

的生物合成. 在 *B. subtilis* 及至少 17 种 G⁺ 细菌的其 5' UTR 都存在高度保守的序列,可以形成相似的二级结构. 线内 RNA 探测分析研究 *glmS* 基因 mRNA 5' UTR 246 个核苷酸(246-*glmS*),结果表明,其自发切割的速度是一般未形成任何二级、三级结构 RNA 的 1 000 倍,提示 246-*glmS* 是一种核酶,具有自身切割催化活性. 研究还发现, GcN6P 可以特异性结合 246-*glmS*,并使之发生构象变化. 在一定范围内,核酶活性随 GcN6P 浓度的升高而增强,两者成线性相关. 当核酶结合 GcN6P 达饱和状态时,*glmS* 基因转录产物前体 RNA 的半寿期由 4 h 减少至 15 s. 核酶活性依赖 Mg²⁺ 和 pH 值,生理条件下的 Mg²⁺ 和 pH 值使之折叠成有催化活性的结构. *glmS* 核酶催化 RNA 自身切割的机制是内部磷酸键的转移. *glmS* 核酶的功能是,当 GcN6P 浓度上升时活性增高,切断前导 mRNA,减少 *glmS* 基因的表达^[10].

2.6 最新发现的核糖开关候选基因

2004 年,Breaker 实验室利用生物信息学的方法在 *B. subtilis* 基因组中鉴定了至少 6 种具有核糖开关功能的调控元件 *glmS*, *gcvT*, *ydaO/yuaA*, *ykkC/yxkD*, *ykoK*, *yybP/ykoY*^[11]. 在多种细菌的相关基因中其序列及二级结构高度保守. 除 *glmS* 核酶外,其它的 RNA 调控元件在有相应代谢物存在时均形成终止子,调节基因表达^[11]. 这些基因编码的蛋白质的功能尚不十分清楚.

3 核糖开关的生物学意义

细菌可以感受环境中营养物质、代谢必需物质(如辅酶)的浓度变化,在有这些物质存在的环境中,及时调节生物合成及转运相关基因的表达,从而节约能源,这种反馈调节机制在细菌中是十分常见的. 如 *E. coli* 的 *lac* 操纵子的表达受环境中乳糖的正调节. 阻遏蛋白结合操纵基因,抑制 *lac* 操纵子的转录. 乳糖与阻遏蛋白结合,将解除这一抑制. *B. subtilis* 的 *trp* 操纵子受环境中色氨酸的负调节,色氨酸结合 TRAP (trp-RNA binding attenuation protein), TRAP 是一种 RNA 结合蛋白,它结合于正在转录的 mRNA,导致转录提前终止并抑制翻译起始^[27]. *E. coli* *trp* 操纵子转录水平的衰减机制则是由核糖体来执行的,核糖体代替 TRAP 感受环境中色氨酸的变化,使 mRNA 形成选择性茎环结构,从而调节基因表达^[28].

核糖开关也是一种反馈调节机制,与以往发现的调节机制不同之处在于,它不需要任何蛋白质或

核糖体作为中介,由 RNA 直接感受环境中代谢物的变化,通过形成选择性茎环结构,在转录延伸和翻译起始水平调节基因表达.由于这种调节方式完全不需要蛋白质,因此在进化上可能出现在 RNA 世界.已发现的核糖开关的配体有的是重要辅酶,有的是基本生命必不可少的代谢物,这些核糖开关可能是 RNA 世界遗留下来的分子化石,是原始生命中普遍存在的调节方式.维生素 B₁₂、FMN、TPP 是重要的辅酶,在 RNA 世界,可能也是核酶的重要辅酶,调节其活性.在 DNA 世界中,DNA 可以看作是传感器,能感受环境因素通过蛋白质因子传递的调节信息,例如 *lac* 操纵子通过阻遏蛋白感受环境乳糖水平并作出应答;而在 RNA 世界中,RNA 是传感器,直接感受环境中代谢物水平的变化,调节其翻译水平.而 *E. coli* *trp* 操纵子的衰减机制可以看作是两者之间的过渡,因为结合 RNA 并起调节作用的核糖体是蛋白质-RNA 复合物.

在真菌和植物中发现的核糖开关也调节类似代谢物基因的表达,序列分析发现,真核生物的核糖开关可位于 3' UTR 及内含子,推测其功能可能不限于在转录和翻译起始水平调节基因表达,而且涉及整个转录后加工过程,包括剪接、RNA 稳定性、RNA 转运及降解.如果这一调节机制能在真核生物中得到证实,那么长期以来被人们视为垃圾的非编码序列的功能可能需要重新评价.

依赖代谢物调节的核酶的发现使人们对核糖开关的调控机制有了更深刻的认识.与无催化活性单纯依靠 RNA 构象变化来调节基因表达的核糖开关相比,依赖代谢物调节的核酶需要形成更复杂的结构来结合代谢物以及发挥催化功能.在漫长的进化过程中,核酶的催化活性可能被简单的构象变化取代,以典型的核糖开关的形式调节基因表达. *glmS* 核酶之所以能保留至今,可能是因为 GcN6P 结合结构域与催化结构域密切相关,破坏催化活性的突变将导致 GcN6P 结合结构域丧失功能^[10].

现在,对核糖开关起源有两种看法^[6,29],多数人认为核糖开关就是原始 RNA 世界遗留下来的分子化石,在进化过程中高度保守.由于 RNA 的结构赋予它无限折叠的能力,可以和很多小分子结合,因此在理论上应该有很多种核糖开关存在.但有人则认为,核糖开关虽然在早期生命中起重要作用,但有些核糖开关也可能出现在进化晚期^[6],如果这种假设成立的话,那么单纯通过序列分析发现这些出现较晚的核糖开关会很困难,因为它们序列并不高度保

守,分布也可能不广泛.

由于核糖开关高度保守,它们可以作为代谢物基因重组的工具,研究基因功能,特别是对于一些知之甚少的基因组,可以用核糖开关来发现一些与代谢物相关的未知酶及转运蛋白.核糖开关还可以作为新的药物作用靶点,开发新型药物,也可用于基因治疗,患者可以通过服药来控制导入基因的表达.

利用生物信息学的方法将发现很多种核糖开关,这种古老的基因调控方式将逐渐被人们认识和利用.

参考文献 (References)

- 1 Lundrigan M D, Köster W, Kadner R J. Transcribed sequences of the *Escherichia coli* *btuB* gene control its expression and regulation by vitamin B₁₂. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88**(4): 1479 ~ 1483
- 2 Ravnun S, Andersson D I. Vitamin B₁₂ repression of the *btuB* gene in *Salmonella typhimurium* is mediated via a translational control which requires leader and coding sequences. *Mol Microbiol*, 1997, **23**(1): 35 ~ 42
- 3 Nou X, Kadner R J. Adenosylcobalamin inhibits ribosome binding to *btuB* RNA. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**(13): 7190 ~ 7195
- 4 Vitreschak A G, Rodionov D A, Mironov A A, Gelfand M S. Regulation of riboflavin biosynthesis and transport genes in bacteria by transcriptional and translational attenuation. *Nucleic Acids Res*, 2002, **30**(14): 3141 ~ 3151
- 5 Rodionov D A, Vitreschak A G, Mironov A A, Gelfand M S. Comparative genomics of thiamin biosynthesis in prokaryotes. New genes and regulatory mechanisms. *J Biol Chem*, 2002, **277**(50): 48949 ~ 48959.
- 6 Stormo G D, Ji Y. Do mRNA act as direct sensors of small molecules to control their expression? *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(17): 9465 ~ 9467
- 7 Ellington A D, Szostak J W. *In vitro* selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature*, 1990, **346**: 818 ~ 822
- 8 Bock L C, Griffin L C, Latham J A, Vermaas E H, Toole J J. Selection of single-stranded DNA molecules that bind and inhibit human thrombin. *Nature*, 1992, **355**(6360): 564 ~ 566
- 9 Mandal M, Boese B, Barrick J E, Winkler W C, Breaker R R. Riboswitches control fundamental biochemical pathways in *Bacillus subtilis* and other bacteria. *Cell*, 2003, **113**(5): 577 ~ 586
- 10 Winkler W W, Nahvi A, Roth A, Collins J A, Breaker R R. Control of gene expression by a natural metabolite-responsive ribozyme. *Nature*, 2004, **428**: 281 ~ 286
- 11 Barrick J E, Corbino K A, Winkler W C, Nahvi A, Mandal M, Collins J, Lee M, Roth A, Sudarsan N, Jona I, Kenneth Wickiser J, Breaker R R. New RNA motifs suggest an expanded scope for riboswitches in bacterial genetic control. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(17): 6424 ~ 6426
- 12 Winkler W C, Coheer-Chalamish S, Breaker R R. An mRNA structure that controls gene expression by binding FMN. *Proc Natl Acad Sci USA*,

- 2002, **99**(25):15908 ~ 15913
- 13 Winkler W, Nahvi A, Breaker R R. Thiamine derivatives bind messenger RNAs directly to regulate bacterial gene expression. *Nature*, 2002, **419**(6910):952 ~ 956
- 14 Nudler E, Mironov A S. The riboswitch control of bacterial metabolism. *Trends Biochem Sci*, 2004, **29**(1):11 ~ 17
- 15 Mironov A S, Gusarov I, Rafikov R, Lopez L E, Shatalin K, Kreneva R A, Perumov D A, Nudler E. Sensing small molecules by nascent RNA: a mechanism to control transcription in bacteria. *Cell*, 2002, **111**(5):747 ~ 756
- 16 Nahvi A, Sudarsan N, Ebert M S, Zou X, Brown K L, Breaker R R. Genetic control by a metabolite binding mRNA. *Chem Biol*, 2002, **9**(9):1043 ~ 1049
- 17 Vitreschak A G, Rodionov D A, Mironov A A, Gelfand M S. Regulation of the vitamin B12 metabolism and transport in bacteria by a conserved RNA structural element. *RNA*, 2003, **9**(9):1084 ~ 1097
- 18 Miranda-Rios J, Navarro M, Soberon M. A conserved RNA structure (thi box) is involved in regulation of thiamin biosynthetic gene expression in bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(17):9736 ~ 9741
- 19 Gelfand M S, Mironov A A, Jomantas J, Kozlov Y I, Perumov D A. A conserved RNA structure element involved in the regulation of bacterial riboflavin synthesis genes. *Trends Genet*, 1999, **15**(11):439 ~ 442
- 20 Grundy F J, Henkin T M. The S box regulon: a new global transcription termination control system for methionine and cysteine biosynthesis genes in gram-positive bacteria. *Mol Microbiol*, 1998, **30**(4):737 ~ 749
- 21 Winkler W C, Nahvi A, Sudarsan N, Barrick J E, Breaker R R. An mRNA structure that controls gene expression by binding S-adenosylmethionine. *Nat Struct Biol*, 2003, **10**(9):701 ~ 707
- 22 Epshtein V, Mironov A S, Nudler E. The riboswitch-mediated control of sulfur metabolism in bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**(9):5052 ~ 5056
- 23 Kochhar S, Paulus H. Lysine-induced premature transcription termination of *LysC* operon of *Bacillus subtilis*. *Microbiology*, 1996, **142**(Pt 7):1635 ~ 1639
- 24 Mandal M, Breaker R R. Adenine riboswitches and gene activation by disruption of a transcription terminator. *Nat Struct Mol Biol*, 2004, **11**(1):29 ~ 35
- 25 Sudarsan N, Barrick J E, Breaker R R. Metabolite-binding RNA domains are present in the genes of eukaryotes. *RNA*, 2003, **9**(6):644 ~ 647
- 26 Stormo G D. New tricks for an old dogma: riboswitches as cis-only regulatory systems. *Mol Cell*, 2003, **11**(6):1419 ~ 1423
- 27 Yanofsky C, Konan K V, Sarsero J P. Some novel transcription attenuation mechanisms used by bacteria. *Biochimie*, 1996, **78**(11-12):1017 ~ 1024
- 28 Yanofsky C. Attenuation in the control of expression of bacterial operons. *Nature*, 1981, **289**(5800):751 ~ 758
- 29 Knight J. Gene regulation: switched on to RNA. *Nature*, 2003, **425**(6955):232 ~ 233