

Rrp44 和 SMG6 在 mRNA 降解中的研究进展

董强, 王敏, 毕岩君, 汪瑾* (南京农业大学生命科学实验中心, 江苏南京 210095)

摘要 介绍了有关 Rrp44 和 SMG6 核酸内切酶活性在 mRNA 中的最新研究进展, 包括 Rrp44 与 SMG6 的内切酶活性在 mRNA 降解中的作用, 以及它们的 PIN 结构域与核酸内切酶活性。

关键词 mRNA 降解; Rrp44; SMG6; 核酸外切酶活性; 核酸内切酶活性

中图分类号 S188 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)23-10885-01

生物体的生长和发育均受基因时空特异性表达所调控, 主要表现在对转录和翻译等过程的调控^[1]。其中, 很重要的一个方面表现在对细胞内 mRNA 含量的动态变化的调节^[2]。对 mRNA 降解的研究已成为基因转录后调控研究的一个热点。细胞内 mRNA 的降解一般包括去多聚腺嘌呤化、脱帽、外切体消化 3 个过程, 目前发现的主要有 3 个途径^[3-5]。一般认为在 mRNA 降解过程中, 具有核酸外切酶活性的因子扮演了相当重要的角色。如外切体复合物, 能从 3' 到 5' 端外切水解去多聚腺嘌呤的 mRNA, 也可 5' 到 3' 端外切水解脱帽后的 mRNA。最新研究发现, 许多具有核酸内切酶活性的因子在 mRNA 降解中起着重要作用。笔者以 Rrp44 和 SMG6 为例, 介绍了核酸内切酶在 mRNA 降解中的最新研究进展。

1 Rrp44 与 SMG6 具有核酸内切酶活性

Rrp44 是酵母外切体成分中唯一具有核酸外切酶活性的因子。SMG6 是多细胞动物无义介导 mRNA 降解 (NMD) 途径中的一个重要因子。最近研究表明, Rrp44 和 SMG6 均具有由一个保守的 PIN 结构域介导的核酸内切酶活性^[6-9]。这两者具有的核酸内切酶活性可能在转录后的调节过程中起重要作用。

2 Rrp44 与 SMG6 的内切酶活性在 mRNA 降解中的作用

真核生物外切体的亚基中存在多种典型的核酸外切酶结构域, 因此可以认为它具有多种 3' 到 5' 的核酸外切酶活性。而 Huntzinger 等研究表明, 酵母中外切体的核酸外切酶活性主要存在于 Rrp44 (Dis3) 因子, 而其他亚基可能起着调节作用^[10]。最新研究表明, Rrp44 因子在其 N 端有一个 PIN 结构域, 因此, 具有核酸内切酶的活性。Rrp44 因子的核酸内切酶活性在序列上是独立的, 其活性的发挥需要二价阳离子的存在, 当底物 5' 端存在磷酸基团时, 其活性明显提高。Rrp44 的核酸内切酶活性和核酸外切酶活性共同构成了外切体的核酸水解酶活性。值得注意的是, 生物体 Rrp44 的核酸外切酶结构域发生突变后并不致死, 而当 Rrp44 的核酸外切酶活性和核酸内切酶活性被同时敲除后, 会影响到细胞的生长。如核糖体 RNA (rRNA) 的 EST (external transcribed spacer), 5.8S rRNA 等转录物的加工会受其影响。这对外切体介导的 RNA 加工和降解模型提出了疑问。

Eberle 等^[8]、Huntzinger 等^[9]研究发现, 在哺乳动物中存在着另一种具有 PIN 结构域具有核酸内切酶活性的因子 SMG6, 并且这种因子也参与了 mRNA 降解。SMG6 参与了

NMD 中带有 PTC^[11] 的 mRNAs 的快速降解, 但具体机制尚不清楚。他们采用具有催化活性的已失活蛋白, 并且鉴定了 NMD 降解途径中的中间产物, 发现 SMG6C 端的 PIN 结构域能在含有 PTC 的 mRNAs 的无意义密码子处或附近进行切割。这表明, 在哺乳动物细胞内 NMD 途径中, 核酸内切应发生在 mRNA 去多聚腺嘌呤和脱帽前, 以及 mRNA 降解的初始阶段。传统认为的无义介导的 mRNA 降解 (NMD) 模型涉及 eRF1 和 eRF2 对 UPF1 和 SMG1 因子的募集, 这种募集作用可在核糖体遇到已含有 UPF2 和 UPF3 的 mRNP 上的 PTC 而停止时被加强。然后 SMG1 将 UPF1 磷酸化, 磷酸化后的 UPF1 可以募集 SMG5、SMG6 和 SMG7。SMG5 和 SMG7 可以继续募集相关的因子, 以参与 mRNA 的降解 (包括去多聚腺嘌呤和脱帽过程中的相关酶)。而被募集的 SMG6 在该过程中主要表现核酸内切酶活性。但目前尚无相关文献表明核酸内切酶切割作用在哺乳动物的 NMD 途径中是否起主要作用。

3 PIN 结构域与核酸内切酶活性

SMG6 和 Rrp44 中所共有的约 100 个氨基酸的 PIN 结构域, 最初是在与 IV 型鞭毛^[12] 的生物发生有关的一个蛋白中被发现的, 其核酸酶活性的发现源于它与 FLAP 家族蛋白^[13-14] 的高度相似性。后续研究也进一步表明, 含有 PIN 结构域的很多蛋白与 RNA 的加工过程有密切关系。如 Nob1 (Pre-rRNA-processing endonuclease NOB1) 是 rRNA 加工过程中的一种 D 位点核酸内切酶^[15]; 另一种含有 PIN 结构域的蛋白 UTP24, 研究表明它在 18S rRNA 加工成熟早期起着重要作用^[16]。最新研究表明, 一种与 Swt1 的 PIN 结构域有关的核酸内切酶与核孔复合物相联系, 可能与核糖核蛋白 (mRNPs) 形成的监督机制有关。

4 结语

尽管目前已发现了多种参与 mRNA 降解和特定转录物加工的核酸内切酶, 但值得注意的是, 在 mRNA 加工和降解过程中, 发现很多因子具有核酸内切酶活性。在已知的大部分 rRNA 生物合成中, 核酸内切酶参与的 RNA 5' ETS 加工是细胞内 RNA 加工和 mRNA 降解的一个重要方面。而较有趣的是, Rrp44 的核酸内切活性和核酸外切活性的协调可能取决于不同活性位点分别作用于特定的底物或结构域, 也可能是在 Rrp44 中, 核酸外切活性居于主导地位, 而核酸内切酶活性作为一种补充机制而存在, 或是只在 3' 到 5' 方向降解时, 遇到 RNA 高级结构而停止的过程中才发挥活性。

参考文献

- [1] JACOBSON A, PELTZ S W. Interrelationships of the pathways of mRNA decay and translation in eukaryotic cells [J]. Annual Review of Biochemistry, 1996, 65 (1): 693-739.

作者简介 董强 (1987-), 男, 江苏南京人, 本科生, 专业: 生物科学。
* 通讯作者。

收稿日期 2009-04-20

(下转第 10916 页)

密切,而非特异性标记遗传距离与 F_1 各性状优势之间的相关更明显,这可能与非特异性标记的数目较多有关,但所有的相关系数均较小,说明在该试验中,难以用分子标记遗传距离预测杂种优势,这与其他的试验结果类似^[6-7,14]。

对特异性 SSR 标记遗传距离与产量对照优势关系的进一步研究表明,遗传距离与杂种优势之间有一定的相关性。当遗传距离在一定的范围时,杂种优势与遗传距离的相关性能达显著水平,但当遗传距离过大时,杂种优势与遗传距离的相关性反而会减小,这可能是由于遗传差异过大容易使亲本间产生不亲和性而降低了杂种优势的缘故。分析 2 种标记的多态性和遗传距离的结果表明,特异性标记检测的平均多态信息含量比非特异性标记的要高 0.12,由特异性标记所得的平均遗传距离比非特异性标记的大 0.06,说明利用特异性标记能更好地揭示亲本间的遗传差异,有利于检测亲缘关系较近的材料间的遗传差异。聚类分析结果表明,2 种标记方法都能将所选材料准确地划分为 2 个类群,说明 SSR 标记能很好地应用于杂种优势群的划分。

SSR 分子标记具有广泛、随机、均匀的分布于水稻基因组,且不受季节和环境条件影响的特点,但分子标记遗传距离与杂种优势之间的相关与否,与所选材料、所用标记的性质和数目等多种因素有关。该试验虽然选用了一部分特异性标记来进行研究,但其数目并不太多,且用来衡量杂种优势的产量易受环境的影响,因而该试验所得遗传距离与杂种优势的相关程度并不高。此外,杂种优势的遗传机理非常复杂,涉及大量相关基因间的互作和遗传背景等多种因素的影响。因此,遗传距离与杂种优势关系的明确将有依赖于对杂种优势机理的阐明,用遗传距离来预测水稻杂种优势的可能性仍有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 朱国英,张为国. 杂交水稻苗期同工酶与杂种优势关系的研究[J]. 作物学报,1987,13(2):89-96.
- [2] MELCHINGER A E, LEE M, LAMKEY K R, et al. Genetic diversity for restriction fragment length polymorphisms and its relationship to genetic effects estimated from generation means in four sets of maize inbreds [J]. Crop Sci, 1990, 30: 1033-1040.
- [3] LEE M, GODSHALK K, LAMKEY K R, et al. Association of restriction fragment length polymorphisms among maize inbreds with agronomic performance of their crosses [J]. Crop Sci, 1989, 29: 1067-1071.
- [4] SMITH O S, SMITH L S C, BOWEN S L. Similarities among a group of elite, inbreds as measured by pedigree, F_1 grain yield, grain yield heterosis, and RFLPs [J]. Theor Appl Genet, 1990, 80: 833-840.
- [5] 蔡健, 兰伟. AFLP 标记与水稻杂种产量及产量杂种优势的预测[J]. 中国农学通报, 2005, 21(4): 39-43.
- [6] PERENZIN M, CORBELLINI M, ACCERBI M, et al. Bread wheat: F_1 hybrid performance and parental diversity estimates using molecular marker [J]. Euphytica, 1998, 100: 273-279.
- [7] 张涛, 韩磊, 徐建第, 等. 杂交水稻亲本遗传距离与产量杂种优势的相关性研究[J]. 中国农业科学, 2006, 39(4): 831-835.
- [8] MELCHINGER A E, BOPPENMAIER J, DHILLON B S, et al. Genetic diversity for RFLPs in European maize in breed relation to performance of hybrids with in versus between heterosis groups for forage trait [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1992, 84: 672-681.
- [9] 吴晓林, 肖兵南, 柳小春, 等. 搜寻和定位影响杂种优势表现的染色体区域(QTL) [J]. Animal Biotechnology Bulletin, 2000, 7(1): 116-122.
- [10] MCCOUCH S R, TEYTELMAN L, XU Y B. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Kazusa DNA Research Institute, 2002, 9(6): 199-207.
- [11] 张涛. 水稻糙米蛋白质含量的 QTL 定位及香稻的资源研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2007.
- [12] 孙炜振, 崔心刚. 糯玉米自交系配合力分析及 RAPD 技术预测杂种优势[J]. 北京农学院学报, 2001, 16(3): 1-12.
- [13] 张培江, 才宏伟, 李焕朝, 等. RAPD 分子标记水稻遗传距离及其与杂种优势的关系[J]. 安徽农业科学, 2000, 28(6): 697-700, 704.
- [14] BARBOSA-NETO J F, SORRELLS M E, CISAR G. Prediction of heterosis in wheat using coefficient of parentage and RFLP-based estimates of genetic relationship [J]. Genome, 1996, 39: 1142-1149.

(上接第 10885 页)

- [2] BELOSTOTSKY DA, SIEBURTH L E. Kill the messenger: mRNA decay and plant development [J]. Curr Opin Plant Biol, 2009, 12(1): 96-102.
- [3] PARKER R, SONG H. The enzymes and control of eukaryotic mRNA turnover [J]. Nat Struct Mol Biol, 2004, 11(2): 121-127.
- [4] COLLIER J, PARKER R. Eukaryotic mRNA decapping [J]. Annu Rev Biochem, 2004, 73: 861-890.
- [5] GARNEAU N L, WILUSZ J, WILUSZ C J. The highways and byways of mRNA decay [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(2): 113-126.
- [6] LEBRETON A, TOMECKI R, DZIEMBOWSKI A, et al. Endonucleolytic RNA cleavage by a eukaryotic exosome [J]. Nature, 2008, 456(7224): 993-996.
- [7] SCHAEFFER D, TSANOVA B, BARBAS A, et al. The exosome contains domains with specific endoribonuclease, exoribonuclease and cytoplasmic mRNA decay activities [J]. Nat Struct Mol Biol, 2009, 16(1): 56-62.
- [8] EBERLE A B, LYKKE-ANDERSEN S, MUHLEMANN O, et al. SMC6 promotes endonucleolytic cleavage of nonsense mRNA in human cells [J]. Nat Struct Mol Biol, 2009, 16(1): 49-55.
- [9] HUNTZINGER E, KASHIMA I, FAUSER M, et al. SMC6 is the catalytic endonuclease that cleaves mRNAs containing nonsense codons in metazoan [J]. RNA, 2008, 14(12): 2609-2617.

- [10] DZIEMBOWSKI A, LORENTZEN E, CONTI E, et al. A single subunit, Dis3, is essentially responsible for yeast exosome core activity [J]. Nat Struct Mol Biol, 2007, 14(1): 15-22.
- [11] MUHLEMANN O, EBERLE A B, STALDER L, et al. Recognition and elimination of nonsense mRNA [J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1779(9): 538-549.
- [12] WALL D, KAISER D. Type IV pili and cell motility [J]. Mol Microbiol, 1999, 32(1): 1-10.
- [13] CLISSOLD P M, PONTING C P. PIN domains in nonsense-mediated mRNA decay and RNAi [J]. Curr Biol, 2000, 10(24): 888-890.
- [14] GLAVAN F, BEHM-ANSMANT I, IZARRALDE E, et al. Structures of the PIN domains of SMC6 and SMC5 reveal a nuclease within the mRNA surveillance complex [J]. EMBO J, 2006, 25(2): 5117-5125.
- [15] FATICA A, TOLLERVEY D, DLAKIC M. PIN domain of Nob1p is required for D-site cleavage in 20S pre-rRNA [J]. RNA, 2004, 10(11): 1698-1701.
- [16] BLEICHERT F, GRANNEMAN S, OSHEIM Y N, et al. The PINc domain protein Utp24, a putative nuclease, is required for the early cleavage steps in 18S rRNA maturation [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(25): 9464-9469.