

植物 snoRNA

史海水 廖祥儒* 崔哲 吴立峰 赵慧

河北大学生命科学学院, 保定 071002

snoRNA in Plants

SHI Hai-Shui, LIAO Xiang-Ru*, CUI Zhe, WU Li-Feng, ZHAO Hui

College of Life Science, Hebei University, Baoding 071002

提要 植物体含有小分子核仁 RNA (small nucleolar RNA, snoRNA) 是一类典型的非编码 RNA, 参与 rRNA 的加工与修饰。该文就植物 snoRNA 的结构、功能、生物合成与调控研究进展作介绍。

关键词 snoRNA; 结构与功能; 生物合成; 植物

生物体内含有种类繁多的 RNA, 小分子核仁 RNA (small nucleolar RNA, snoRNA) 是其中的一类。20 世纪 60 年代末, Weinberg 在哺乳动物体内发现了第一个 snoRNA, 它们主要参与指导发生在细胞核中的前体 rRNA 的加工成熟过程。后来, 脊椎动物、酵母和植物中也发现和鉴定了大量的 snoRNA^[1-3]。植物的 snoRNA 研究主要集中在水稻、拟南芥和玉米中。众所周知, 植物中核糖体是合成蛋白质的主要场所, rRNA 在整个蛋白质合成过程中发挥作用。由于 snoRNA 是一类新的

核酸调控分子 (RNA regulator), 阐明其结构与功能的关系可进一步增加人们对核糖体生物合成及人工合成具有新功能的重组 snoRNA 的认识。本文仅就植物中 snoRNA 的研究进展作介绍。

1 植物 snoRNA 的结构

与所有的真核生物一样, 植物游离核糖体内的 5.8S、18S 和 25/26S rRNA 是由 rRNA 前体 (pre-rRNA) 在核仁内经过剪切和 2'-O-核糖的甲基化和尿嘧啶转化为假尿嘧啶修饰而成。植物 snoRNA 在 rRNA 的加工修饰过程中发挥作用, 它主要包

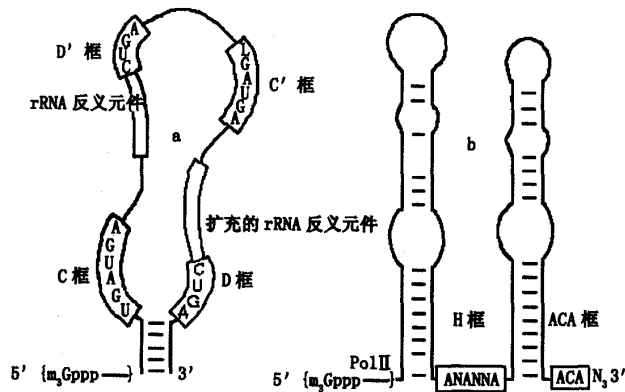


图1 植物的 snoRNA^[4]

a. C/D 框 snoRNA; b. H/ACA 框 snoRNA。

括两类: C/D 框 snoRNA (图 1-a) 和 H/ACA 框 snoRNA (图 1-b)^[4]。

C/D 框 snoRNA 包含两个较短的序列基元^[5]: C

收稿 2004-03-01 修定 2004-06-23

* 通讯作者 (E-mail: liaoxiangru@163.com, Tel: 0312-5010545)。

框(5' PuUGAUGA 3')和D框(5' CUGA 3'),它们分别定位于远离5'末端和3'末端的几个核苷上,靠一个典型的茎-框结构连在一起,茎-框的末端各含有一个与 snoRNA 生物合成和核定位相关的序列,中心位置含有相对保守的C'框和D'框及两个反义元件序列。在结构和大小上植物C/D框 snoRNA 具保守性,但具体到碱基水平,只有C框、D框及RNA互补区比较保守:约1/4的拟南芥 snoRNA 有两个 rRNA 反义元件,它们以相邻残基或由 rRNA 折叠而聚集的残基为识别目标序列。

H/ACA框 snoRNA 含有两个由铰链连接的大发卡结构域和一个短的尾巴^[6]。保守性的H框和ACA框分别定位与铰链和尾巴上,每一H/ACA框 snoRNA 包含定位在发卡域茎环上的指导性序列,两个茎环包围着尿苷,为尿苷进行异构化创造条件。H/ACA框 snoRNA 内也存在短的保守基元和反义 rRNA 元件。

2 植物 snoRNA 的功能

snoRNA 的功能主要有5种:(1)前体 rRNA 剪切形成 rRNA,因而有利于核糖体组装;(2)参与修饰,使核糖甲基化;(3)作为端粒合成的模板;(4)介导前体 rRNA 折叠;(5)催化 RNA 断裂。但两种类型的 snoRNA 的作用又有所不同。C/D框 snoRNA 主要参与前体 rRNA 的2'-O-核糖的甲基化,H/ACA框 snoRNA 则主要参与前体 rRNA 的假尿嘧啶化。但最近的研究表明,拟南芥中的4种C/D框 snoRNA(snoR6、snoR26、snoR27和snoR28)并不与 rRNA 相互作用,它们可能以其他 RNA 为作用底物^[7]。与植物的类似,古细菌中的一些C/D框 snoRNA 指导某些 tRNA 特定残基的甲基化修饰;小鼠的许多典型的C/D框和H/ACA框 snoRNA 不与 rRNA、tRNA、snRNA(小分子核RNA)发生互补,其中的一些C/D框 snoRNA 发生特异性表达后参与 mRNA 的甲基化^[8-10]。

植物 snoRNA 通过与特定的核仁蛋白结合形成功能性的小分子核仁 RNA 蛋白(small nucleolar RNA protein, snoRNP)参与指导 rRNA 前体的加工和修饰^[11]。C/D框 snoRNA 结合4种 snoRNP: fibrillarins、Nop56p、Nop58p/Nop5p、Snu13p。其中, fibrillarins 包含 SAM (S-adenosylhomocysteine)

依赖型转甲基酶的特征性氨基酸序列, Nop1p 是一些 rRNA 前体剪切、甲基化和核糖体组装过程中的必需蛋白; Snu13p 是一分子量 15.5 kD 的蛋白,通过特异性的结合C/D框中的K转角结构域参与 mRNA 的剪接和 snoRNA 的合成。H/ACA框 snoRNA 与 Nap57(酵母中为 Cbf5p)、Gar1p、Nhp2p 和 Nop10p 联结。Cbf5p/Nap57 与大肠杆菌 (*Escherichia coli*)中的 tRNA: ψ 5S rRNA 假尿嘧啶合成酶高度同源,在 snoRNA 指导的假尿嘧啶化过程中表现出假尿嘧啶合成酶活性,其他几种在假尿嘧啶化过程中也起作用,但迄今对它们的功能还了解很少。

已经在拟南芥中鉴定了两种 fibrillarins 基因,它们的序列与酵母和脊椎动物中编码 snoRNP 核心蛋白基因高度相似。另外,脊椎动物 snoRNA 在植物细胞中进行表达时, Nop58 能被精确地加工,也表明 snoRNP 是保守的。说明 snoRNA 指导 rRNA 甲基化和 pre-rRNA 剪切机制也是保守的。

除此之外,植物 snoRNA 还可能在新生 rRNA 的折叠过程中充当分子伴侣,在核糖体发生过程中起稳定 rRNA 三级结构的作用,甚至在 rRNP 底物生成、催化 RNA 分裂、碱基修饰、前体核糖体亚单位组装、rRNP 粒子输出过程中也起作用^[11,12]。

3 植物 snoRNA 的合成与调控

生物体中的 snoRNA 基因多种多样。在脊椎动物中,除少数 snoRNA(如 U3)基因单独转录外,大部分 snoRNA 是由蛋白质编码基因的内含子编码。酵母中除7个内含子基因和5个多顺反子 snoRNA 基因簇外,大部分 snoRNA 由单独基因编码。植物中的大部分 snoRNA 基因属于多顺反子基因簇,它们分别由2~5个 snoRNA 基因组成。这些多顺反子基因簇有的属于内含子,有的则不是内含子。在水稻植株中, snoRNA 基因中的大多数是多顺反子,并且多数是内含子^[6]。

植物内含子 snoRNA 基因的生物合成依赖于由蛋白质基因启动子启动的全基因转录和 mRNA 前体的加工。植物内含子基因簇的加工过程需要前体 mRNA 或已被剪切的内含子,两者也可以同时在核仁中起作用,最终使 snoRNA 脱离母体 RNA^[6]。其中, U14 就是一种可在植物细胞中被

成功地加工的一种 snoRNA, 这说明 snoRNA 加工与 mRNA 剪接非依赖型加工过程不同。因此, 当植物处于各种极端环境中时, snoRNA 能维持 rRNA 和核糖体的形成。

植物的非内含子 snoRNA 基因簇由上游启动子起始转录成为 snoRNA 前体, 并经加工成为多个独立的 snoRNA^[10]。脊椎动物、植物和酵母中都含有独立转录的 snoRNA 基因, 它们都具有典型的基因结构, 即包括 RNA 编码序列和由启动子、增强子和终止子构成的侧翼序列。真核生物的 U3 和 RNase MRP 都是以独立转录单元的形式存在的, 其中动物和酵母的 U3 基因启动子为 RNA 聚合酶 II (Pol II) 启动子, 而植物中该基因的启动子为 RNA 聚合酶 III (Pol III) 启动子^[6]。这个启动子由 TATA 框及其上游元件序列构成, 这是最早被鉴定的剪接体 snRNA 基因。迄今, 植物中开启 snoRNA 基因簇表达的启动子及其终止信号的特性还未见报道。

snoRNA 基因扩充导致的植物 rRNA 甲基化数目增加造成了核糖体活动本质上的细微差异。当植物经受剧烈的温度变化时, 核糖体的生成及其活性不会受到影响。在原核生物中, rRNA 甲基化的可调节性也与逆境下核糖体的持续活动有关。植物 rRNA 甲基化是否可受温度胁迫或 snoRNA 基因的可诱导表达调节还有待研究。

4 展望

植物基因组学研究的开展为 snoRNA 基因结构、功能及其调控研究开辟了新的途径。在体内环境下, 几乎所有的修饰都发生在新生转录产物合成的短短几分钟内, 这就意味着核仁内大量 snoRNP 的组装, 并结合于 rRNA 前体有着惊人的协调性, snoRNP 组装及其动力学是一个很有吸引力的研究领域。与动物细胞的核仁相比, 植物细胞的核仁有更多的核仁亚结构域, 这一特点为 RNA 和蛋白质的定位研究提供了条件, 因而成为

阐明调控 snoRNP 组装和修饰过程中蛋白质之间以及蛋白质和 snoRNA 之间相互作用的理想模型。弄清这些新 RNA 的表达调控规律, 阐明它们的作用机制以及它们在植物生长发育中所充当的角色, 将成为今后研究的热点。

参考文献

- 1 Filippini D, Renzi F, Bozzoni I et al. U86, a novel snoRNA with an unprecedented gene organization in yeast. *Biochem Biophys Res Comm*, 2001, 288: 16~21
- 2 孟清, 周惠, 许飞等. 拟南芥 U59 snoRNA 基因簇的结构与功能研究. *中山大学学报(自然科学版)*, 2000, 39(4): 74~79
- 3 江卿, 李伟, 金由辛等. 水稻 snoRNA47 基因簇的初步鉴定. *生物化学与生物物理学报*, 2002, 34(5): 667~670
- 4 NI J, Tien AL, Fournier MJ. Small nucleolar RNAs direct site-specific synthesis of pseudouridine in ribosomal RNA. *Cell*, 1997, 89: 565~573
- 5 Bachelierie JP, Cavalléa J, Hüttenhofer A. The expanding snoRNA world. *Biochimie*, 2002, 84: 775~790
- 6 Brown JWS, Echeverria M, Qu L-H. Plant snoRNAs: functional evolution and new modes of gene expression. *Trend Plant Sci*, 2003, 8: 42~49
- 7 Brown JWS, Clark GP, Leader DJ et al. Multiple snoRNA gene clusters from *Arabidopsis*. *RNA*, 2001, 7: 1817~1832
- 8 Clouet d'Orval B, Bortolin ML, Gaspin C et al. Box C/D RNA guides for the ribose methylation of archaeal tRNAs. *Nucleic Acids Res*, 2001, 29: 4518~4529
- 9 Hüttenhofer A, Brosius J, Bachelierie JP. Rnomic: an experimental approach that identifies 201 candidates for novel, small, non-messenger RNAs in mouse. *EMBO J*, 2001, 20: 2943~2953
- 10 Qu LH. Identification of 10 novel snoRNA gene clusters from *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res*, 2001, 29: 1623~1630
- 11 Nicoloso M, Qu LH, Michot B et al. Intron-encoded, antisense small nucleolar RNAs: the characterization of novel species points to their direct role as guides for the 2'-O-ribose methylation of rRNAs. *J Mol Biol*, 1996, 260: 178~195
- 12 Maxwell ES, Fournier MJ. The small nucleolar RNAs. *Annu Rev Biochem*, 1995, 64: 897~934