

真核生物和原核生物 mRNA 5'至 3'方向的降解机制

许昶森^{1,2}, 李学贵^{1,2}, 焦德杰^{1,2}, 谢兆辉^{1,2}, 戴忠民^{1,2}

1. 德州学院生命科学学院, 德州 253023;

2. 山东省高校生物技术与生物资源利用重点实验室, 德州 253023

摘要: RNA 降解是基因表达调节的重要途径, 影响很多生命活动。近来, mRNA 降解机制有了很多新发现, 如真核生物中发现了一种 mRNA 末端尿苷化介导的脱帽机制, 和一条不依赖 exosome 的 3'→5'的 mRNA 降解途径。虽然真核生物与原核生物 mRNA 降解途径非常相似, 通常都有 3 种: 内切降解、5'→3'外切降解和 3'→5'外切降解等, 但两者 mRNA 降解途径之间也存在很多差异, 如 5'→3'方向的外切降解是真核生物 mRNA 最重要的降解途径之一, 但其在细菌中作用非常弱, 且只在革兰氏阳性菌中发现。mRNA 降解的研究不仅深化了人们对这一过程的认识, 而且有助于新型药物的研发, 以防御寄生虫、病毒或治疗人类疾病(如癌症)等。文章主要综述了真核生物和原核生物 mRNA 5'→3'方向的降解机制, 并对其应用前景进行了展望。

关键词: 5'→3' mRNA 降解; 基因表达; 真核生物 mRNA; 原核生物 mRNA; 药物

Mechanism of 5'-to-3' degradation of eukaryotic and prokaryotic mRNA

Tisen Xu^{1,2}, Xuegui Li^{1,2}, Dejie Jiao^{1,2}, Zhaohui Xie^{1,2}, Zhongmin Dai^{1,2}

1. Department of Biology, Dezhou University, Dezhou 253023, China;

2. Key University Laboratory of Biotechnology and Utilization of Bio-Resource of Shandong, Dezhou 253023, China

Abstract: RNA degradation plays an important role in modulating gene expression and it affects multiple biological processes. There are three common degradation mechanisms of eukaryotic and prokaryotic mRNA: endonucleolytic, 5'-to-3' and 3'-to-5' exonucleolytic degradation. Differences do exist between the two kingdoms. For example, although the 5'-to-3' exoribonucleolytic degradation is the primary degradation mechanism of eukaryotic mRNA, it plays a minimal role in bacteria, and only in Gram-positive bacteria. Recently, novel RNA degradation mechanisms have been revealed, such as a new eukaryotic mRNA decapping mode mediated by 3'-uridylation and a new 3'-to-5' degradation pathway independent of exosome. These accumulating discoveries not only deepen the insight of mRNA degradation mechanisms, but also may contribute to the development of novel therapeutic drugs targeting parasites, viruses or cancer. In this review, we summarize the current knowledge of 5'-to-3' exonucleolytic degradation pathway of eukaryotic and prokaryotic mRNA, and its future therapeutic perspectives.

Keywords: 5'-to-3' mRNA degradation; gene expression; eukaryotic mRNA; prokaryotic mRNA; drugs

收稿日期: 2014-10-26; 修回日期: 2014-11-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31271667)资助

作者简介: 许昶森, 副教授, 研究方向: 微生物遗传学。E-mail: jnxxx123@163.com

DOI: 10.16288/j.ycz.14-368

网络出版时间: 2015-1-19 16:51:16

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20150119.1651.001.html>

mRNA 稳定性的调控对基因表达调节具有重要意义,有时这种调控可以占到基因表达调节作用的 50%^[1]。通常真核生物与原核生物 mRNA 降解方式都包括 5'→3'方向降解、内切降解和 3'→5'方向降解等 3 种方式。其中 5'→3'方向是真核生物 mRNA 最重要的降解途径之一,相关的酶突变可以引起细胞个体增大、减数分裂阻滞、染色体端粒缩短、生长减慢等症状,严重时致死。虽然 5'→3'方向的降解途径不是原核生物 mRNA 主要的降解途径,至今也只在革兰氏阳性菌中发现,但相关的酶却是革兰氏阳性菌正常生长所必需的。近年来,人们对真核与原核两类生物 mRNA 降解方式的认识有了很大的进展。例如。原来一直认为真核生物 3'→5'方向的降解只有 exosome 介导的一条途径,最近却发现还可能存在另一条独立于 exosome 的途径^[2]。此外,随着对 mRNA 降解途径细节方面的认识, mRNA 降解途径将来很有可能会成为药物研发的新靶标,以更好地防御病原体,如细菌、病毒和线虫类害虫等;或更好地治疗人类疾病(如癌症和脊髓性肌肉萎缩症等)。本文主要综述了真核生物和细菌 mRNA 5'→3'方向的降解方式,并对其应用前景进行了展望。

1 真核生物 mRNA 5'→3'方向的降解

参与真核生物 mRNA 5'→3'方向降解的核酸酶主要为 XRN1(Exoribonucleases 1),因为其活性中心不能容纳三磷酸核苷酸或帽子结构,所以 XRN1 发挥作用前首先需要清除起稳定作用的 mRNA 5'端帽子结构—7-甲基鸟苷三磷酸(^{m7}Gppp)。

1.1 mRNA 的脱帽酶及其辅助因子

目前发现的脱帽酶主要包括广泛表达的 Nudix 家族的水解酶 Dcp2 和 Nudt16,和一些表达不太广泛的非 Nudix 家族的水解酶,如酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中的 Rai1(Rat1 interacting protein 1)和 Dxo1 等^[3]。最近的研究发现,除了 Dcp2 和 Nudt16, Nudix 家族的其他水解酶,如 Nudt2、Nudt3、Nudt12、Nudt15、Nudt17 和 Nudt19 也都有脱帽酶活性,其中 Nudt17 和 Nudt19 与 Dcp2 相似,也可以形成 ^{m7}GDP,这说明真核生物中也许还有很多未被发现的脱帽酶^[4]。目前发现的这些脱帽酶在不同生物中的表达不同,如果蝇(*Drosophila melanogaster*)中只有一种,哺乳

动物则至少可以表达两种;而且它们之间也存在靶标特异性或功能冗余,如在无义介导的 mRNA 降解(Nonsense-mediated mRNA decay, NMD)途径中, Dcp2 被优先利用,在富含 AU 序列(AU-rich element, ARE)介导的降解途径中, Dcp2 和 Nudt16 分别作用于不同的 mRNA,而在 miRNA 介导的降解途径中, Dcp2 和 Nudt16 存在功能冗余^[5]。

Dcp2 是目前研究最为清楚的脱帽酶,其发挥活性不仅需要与 Dcp1 形成 Dcp1-Dcp2 复合物,而且在不同生物中还需要不同类型的激活蛋白,如 Pat1 (protein associated with topoisomerase II)、Edc₁₋₄ (enhancer of decapping 1-4)、Dhh1(DEXH/D-box RNA helicase 1)、Lsm1-7 和 Scd6 等。这些激活蛋白根据作用机制可以分三类:第一类可以直接激活脱帽酶,如 Edc3,其包含一个 Sm-结构域,可以直接结合和激活 Dcp2;第二类可以通过抑制翻译起始,以改变翻译起始和脱帽之间的竞争关系,间接的激活脱帽活性,如 Dhh1 和 Scd6;第三类既可以直接激活脱帽酶 Dcp2,也可以抑制翻译起始,如 Pat1。Pat1 是一个多功能蛋白,可以在不同生物中与 Dcp1-Dcp2 复合物、脱帽激活因子(Dhh1、Ed3、Lsm1-7)、核酸外切酶 XRN1 和脱腺苷化复合物 Ccr4(Carbon catabolite repression 4)-Not(negative on TATA-less)等相互作用^[6]。最近,有研究报道了人类脱帽复合物组装的过程:其中脱帽激活因子 Edc4 为组装平台,其 N-末端结构域为 DCP1 三聚体提供结合位点, C-末端 α -结构域为 DCP2 和 XRN1 提供结合位点,DCP1 的 EVH1 结构域则通过与 DCP2 的 NRD 结构域相互作用激活 DCP2 的脱帽活性,这种结构非常利于已经脱帽的 mRNA 迅速转运给 XRN1 进行降解^[7]。

1.2 脱帽作用的引发

以前,通常把引发脱帽的机制分为 2 种:脱腺苷化依赖性的脱帽和不依赖于脱腺苷化的脱帽,最近发现 3'-末端尿苷化可能也是一种引发脱帽的机制。

1.2.1 脱腺苷化依赖性的脱帽

脱腺苷化依赖性的脱帽不仅是真核生物 mRNA 最主要的脱帽方式(图 1A,),也是降解途径的限速步骤,脱腺苷化过程一般分为两个阶段,分别由 Pan2(PABP-dependent poly(A)nuclease 2)-Pan3 和 CCR4-NOT 两个复合物催化(图 1, 、)。Pan2-Pan3 复合物中具有催化活性的为 Pan2,但其不能直接结

合 mRNA, 所以往往需要 Pan3 先以二聚体形式结合到 poly(A) 尾巴上, 再招募 Pan2 以催化脱腺苷化反应^[8]。Pan3 上的两个结构——PAM2(PABP interacting motif 2) 结构域和 N-端锌指结构和假激酶区/C-端结构域有利于其先被招募, 前者可以与 poly(A) 结合蛋白的 C-端结构域发生相互作用, 后者可以直接结合到 poly(A) 上^[8]。Pan3 上临近 PAM2 结构域的一些丝氨酸或苏氨酸还可以通过磷酸化修饰, 调节 Pan3 与 PABP 之间的相互作用, 及其 Pan3 的招募过程^[9]。

当 poly(A) 缩短到 20~25nt 之后, PABP 会从 poly(A) 上解离, Pan2-Pan3 脱腺苷化的活性受阻, 第二阶段开始, 由 Ccr4-Not 去除剩下的腺苷酸残基^[8]。许多蛋白可以起到招募 Ccr4-Not 的作用, 如果蝇中的 CUP9 和 Smaug 蛋白、人类生殖干细胞中 Nanos 的同源蛋白^[10]、ARE-介导的 mRNA 降解途径中的 TTP (tristetraprolin) 蛋白^[11]、NMD 途径中的 SMG7 蛋白^[12]和 miRNA 途径中的 GW182 蛋白^[13]。其中在哺乳动物和果蝇的 miRNA 途径中, GW182 蛋白不仅可以直接结合 Ccr4-Not 复合物, 而且还可以与脱帽激活因子 HPat 相互作用, 并充当 miRNA 反应中各因子结合的平台^[13]。

当 poly(A) 进一步缩短到只有约 10~15nt 时, 因为 Lsm1-7 复合体偏爱结合寡聚 poly(A), 所以 Lsm1-7

可以与 Pat1 蛋白形成 Lsm1-7/Pat1 复合物, 结合到寡聚 poly(A) 上, 并在 Dhh1 的共同作用下, 抑制 mRNA 的翻译起始。最近的研究证明, 单独的 Lsm1-7 或 Pat1 不仅结合 RNA 的能力非常弱, 而且也没有识别寡聚 poly(A) 的能力, 只有组装成 Lsm1-7-Pat1 复合物后才可以结合到寡聚 poly(A) 上^[14]。推测可能是 Pat1 的 C-末端结构域通过与 Lsm1-7 复合体中的 Lsm2 和 Lsm3 亚基的相互作用介导了上述复合物的形成^[15], Lsm1-7/Pat1 复合物结合以后便可以招募 DCP1-DCP2 进行 mRNA 脱帽反应^[16]。因为脱腺苷化有时也可以通过 Pan2-Pan3 独立完成, 所以有研究认为 Pan2-Pan3 与 Ccr4-Not 之间可能存在功能冗余^[8]。

1.2.2 不依赖于脱腺苷酸化的脱帽

酵母中有少数 mRNA 可以不经过脱腺苷化, 直接进行脱帽(图 1A,), 如酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中编码 Rps28b(Ribosomal protein S28 B)蛋白的 mRNA 和编码脱帽激活蛋白 Edc1 的 mRNA。原来曾认为 Rps28b 蛋白可以直接结合到自身 mRNA 3'-端非翻译区(Untranslated region, UTR)中的茎环结构上, 直接招募 Edc3 和脱帽酶引发脱帽^[17]。但最近却发现, Rps28b 并不能直接结合上述茎环结构, 相

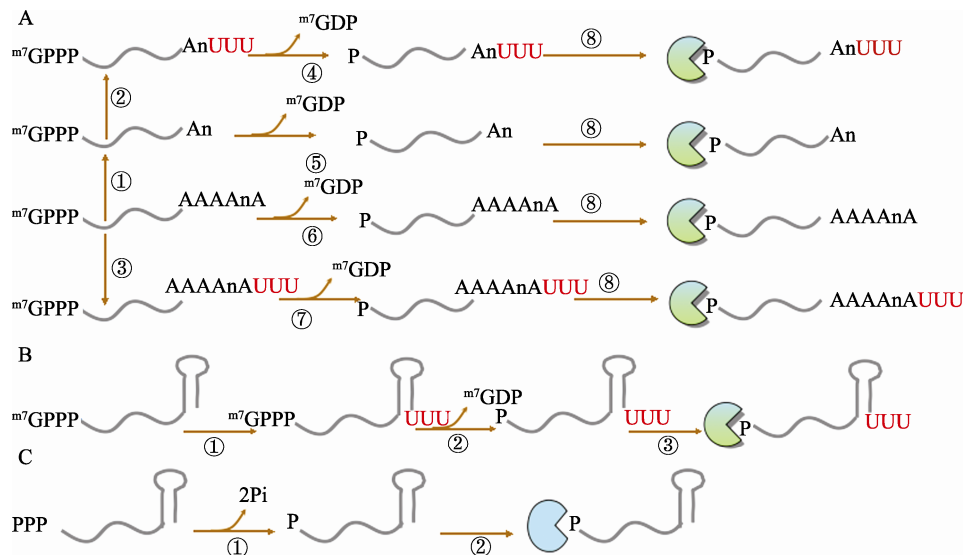


图 1 真核生物和原核生物 mRNA 5'→3'方向的降解机制

A: 真核生物 mRNA 5'→3'方向的降解。脱腺苷化; 寡聚 poly(A)末端的尿苷化; poly(A)末端的直接尿苷化; 尿苷化介导的脱帽; 脱腺苷化依赖性的脱帽; 不依赖脱腺苷化的脱帽; 尿苷化介导的脱帽; XRN1 从 5'端降解 mRNA。B: 真核生物组蛋白 mRNA 5'→3'方向的降解。末端尿苷化; 脱帽; XRN1 从 5'端降解。C: 细菌 mRNA 5'→3'方向的降解。去除焦磷酸; RNase J1/J2 从 5'端降解 mRNA。

反可能是 Edc3 先结合茎环结构, 以后 Rps28b 再结合到 Edc3 上, 以调节 Edc3 的活性^[18]。Edc1 mRNA 的 3'-UTR 中没有颈环结构, 但具有 Poly(U) 序列, 这个序列可以与 mRNA 末端 Poly(A) 尾巴形成双链结构, 从而阻断脱腺苷化过程, 引发不依赖于脱腺苷化的脱帽^[19]。NMD 降解 mRNA 的方式有多种, 在酿酒酵母中, NMD 中的一些蛋白因子就可以直接招募 DCP1-DCP2 脱帽复合物, 使 mRNA 进行不依赖于脱腺苷化的脱帽和 5'→3'方向降解^[20], 如核心蛋白 UPF1, 且这种作用还可以通过其磷酸化/脱磷酸化修饰而受到调节^[12, 20]。最近的研究还发现, 在某些情况下, miRNA 可以通过提高脱帽复合物中相关酶或蛋白的浓度, 介导靶标 mRNA 进行非脱腺苷化引发的脱帽降解^[21]。目前, mRNA 的这种不依赖于脱腺苷化的脱帽降解机制主要在酵母中发现, 在哺乳动物中是否存在还不清楚^[22]。

1.2.3 3'-末端尿苷化引发的脱帽

3'-末端尿苷化引发的脱帽是最近才发现的一种引发 mRNA 脱帽的机制, 最早在组蛋白的 mRNA(图 1B)上发现, 组蛋白 mRNA 的 3'-末端没有 poly(A) 尾巴, 但具有颈环结构。其脱帽过程首先需要在其 3'-末端进行寡聚尿苷化, 以形成一个尿苷酸残基组成的尾巴, 并以此作为平台招募 Lsm1-7 和 DCP1-DCP2 等进行脱帽反应^[23]。不具有 poly(A)尾巴的还有 mRNA 内切后的上游片段, 这些片段往往可以被 exosome 在 3'→5'方向降解, 但在人类(*Homo sapiens*)、小鼠(*Mus musculus*)和拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中, mRNA 被 miRNA 内切后产生的上游产物, 类似组蛋白 mRNA, 也发生了 3'-末端尿苷化介导的脱帽反应, 且 Lsm1-7 复合物还可以结合到尿苷酸尾巴上, 稳定该片段的 3'-末端^[24]。

上述末端尿苷化介导的脱帽过程也可以发生在具有 poly(A)尾巴的 mRNA 上, 但尿苷化过程可能直接发生在完整的 poly(A)之后, 如粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)的 *act1*、*hcn1* 和 *urg1* mRNA。这些 mRNA 首先需要尿苷酸转移酶 Cid1 在完整的 poly(A)之后先进行尿苷化, 再进行脱帽(图 1A, 、), 推测这时尿苷化与脱腺苷化在引发脱帽方面可能存在功能冗余^[25]。末端尿苷化也可能发生在 poly(A)被部分脱腺苷化之后, 如拟南芥和构巢

曲霉(*Aspergillus nidulans*)。拟南芥中这种尿苷化过程不仅可以引发脱帽和 5'→3'方向的降解(图 1A, 、), 而且还可以阻止 mRNA 从 3'方向降解, 以保证最后一轮翻译过程得到完整的产物^[26]。构巢曲霉 mRNA 的尿苷化主要发生在 poly(A)被降解到大约 15nt 左右时, 并且往往尿苷化伴随着胞苷化, 形成一个尿苷酸和胞苷酸组成的杂合尾巴, 突变上述末端修饰酶会导致脱帽速率大大降低^[27]。最近又发现, mRNA 末端尿苷化不仅可以引发脱帽和 5'→3'的降解, 也可以改变 mRNA 3'→5'方向降解的方式, 这种降解过程不需要 exosome, 但需要一种新发现的 3'→5'外切核酸酶 DIS3L2(DIS3-like exonuclease 2), 推测其可能是一种 3'→5'方向降解 mRNA 的新途径^[28]。由于很多生物具有 Cid1 同源物, 所以推测尿苷化也许是一种广泛存在且保守的引发 mRNA 降解的机制^[25]。

1.3 5'→3'方向的降解

脱帽反应完成之后, 帽子结构以 m^7GDP 形式释放, mRNA 则被核酸外切酶 XRNs 在 5'→3'方向降解。动物中的核酸外切酶往往为 XRN1, XRN1 可以与脱帽复合物直接发生相互作用。如酵母 XRN1 可以直接与 Pat1 的 C-末端结构域相互作用^[29]; 果蝇 XRN1 的 C-末端 DBM(DCP1-binding motif)基序可以与 DCP1 的 EVH1 结构域直接相互作用^[30]; 人类 XRN1 可以直接与 Edc4 的 C-末端 α -结构域相互作用^[7]等。推测 XRN1 与脱帽复合物在结构上的密切联系, 可以使脱帽的 mRNA 迅速转运给 XRN1 进行降解。最近发现, XRN1 不仅可以降解 mRNA, 而且还可以进入细胞核充当转录调节因子, 增强多种 mRNA 的表达水平, 尤其那些高效表达的基因, 所以有人称 XRN1 为“合成降解酶(Synthegradase)”^[31]。研究还发现, XRN1 的靶标基因倾向于表达不稳定的 mRNA, 推测在胞浆中非常不稳定的 mRNAs 主要被 XRN1 优先降解; 中等稳定的 mRNAs 可以被 Xrn1 降解, 也可以被 exosome 降解; 而稳定的 mRNAs 则主要被 exosome 降解^[31]。

由于释放的帽子— m^7GDP 为甲基化的核苷酸, 所以细胞需要快速清除这种修饰核苷酸, 以防止它们掺入核酸的正常合成而造成危害。原来曾认为这是由 DcpS (Decapping Scavenger)催化的, 所以 DcpS 曾被认为可以参与两个方向的 mRNA 降解: 在 3'→5'

方向将帽子 m^7GpppN 形成 m^7GMP , 在 $5' \rightarrow 3'$ 方向将帽子 m^7GDP 形成 m^7GMP ^[32]。但最近发现, 在人类、线虫(*Caenorhabditis elegans*)和酵母中, DcpS 虽然对 m^7GDP 有非常高的亲和力, 但实际上它不仅不能降解 m^7GDP , 而且 m^7GDP 还有可能会竞争性的抑制其活性, 干扰其正常的生物学功能^[33]。最近在果蝇中发现了一种 $5' \rightarrow 3'$ 方向新的核苷酸酶—CG3362 (CG3362 基因编码), 它不仅可以将 m^7GMP 水解成 7-甲基鸟苷和无机磷酸, 也可以将帽子结构 m^7GDP 水解成核苷和两个无机磷酸, 但它是否真的是体内 m^7GDP 的降解酶还需要进一步验证^[34]。

2 细菌 mRNA 的 $5' \rightarrow 3'$ 方向的降解

mRNA $5' \rightarrow 3'$ 方向的降解方式在细菌中不普遍, 目前只发现了一种参与这个方向降解的核酸酶—RNase J, 且一般也只存在于革兰氏阳性菌中。RNase J 通常具有 $5' \rightarrow 3'$ 外切和内切两种活性, 并在一个活性中心完成, 这是第一次发现同一个活性位点完成两种酶切活性。RNase J 的内切酶活性专一于单链 RNA, 没有序列或位置特异性, 因为酶结合底物主要识别 RNA 的核糖与磷酸形成的骨架链, 而不是识别碱基^[35]。不同于内切酶活性, RNase J 表现外切酶活性时, 因为其底物的结合区域只能容纳单磷酸核苷酸, 不能容纳三磷酸核苷酸, 所以其外切酶活性需要 RNA 的 $5'$ 端为单磷酸或羟基形式^[35]。因为原核生物 mRNA 的 $5'$ 端往往为三磷酸形式, 所以需要另一种酶完成单磷酸形式的转化(图 1C), 这种酶为细菌的 RNA 焦磷酸水解酶 RppH(RNA pyrophosphohydrolase), 不同细菌中转化的方式有所差异。枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)的 RppH 可以依次去除 γ 和 β 位的磷酸, 大肠杆菌的 RppH 则是将 γ 和 β 位的磷酸以焦磷酸形式去除, 尽管大肠杆菌 mRNA 没有 $5' \rightarrow 3'$ 方向的降解途径, 但是上述转化往往也是大肠杆菌内切酶必需的^[36]。在有些细菌中, RNase J 具有两种同源性形式: RNase J1 和 RNase J2, 如枯草杆菌和金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*), 且两者往往形成异二聚体或异四聚体, 推测可能 RNase J1 表现活性, 而 RNase J2 只起结构蛋白的作用^[37]。由于 RNase J 的外切酶活性是革兰氏阳性菌正常生长所必需的, 内切酶活性是次要的, 而 RNase J2 的外切酶活性比 RNases J1 低至少 2 个数量级,

有时还只表现内切酶活性, 所以 RNases J1 往往是细菌生长所必需的, 而 RNase J2 是非必需的。推测通过基因拷贝, 一些细菌之所以表达两种 RNase J, 可能与内切酶和外切酶之间的活性转变有关, 是一种功能的精细调节方式^[37]。除了方向性, RNase J1 还有一个特点不同于细菌其他 $3' \rightarrow 5'$ 核酸外切酶, 也就是它可以彻底降解 mRNA, 包括寡聚核苷酸片段^[38], 由于其中一些 2~5nt 长的寡聚核苷酸片段(nanoRNAs)可以充当转录的引物^[39], 所以 RNase J1 还可以通过改变细菌转录的起始, 影响细菌的基因的表达。

细菌中 RNase J 往往与其他的酶或蛋白形成复杂的降解体(Degradosome)结构, 且这种现象在革兰氏阳性菌中非常保守, 如金黄色葡萄球菌的降解体复合物包括 RNase J1、RNase J2、RNase Y、PNPase、烯醇化酶、磷酸果糖激酶和解链酶 RnpA 等^[40]。最近在幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)中研究发现, 这种降解体结构可以与翻译中的核糖体相互作用, 说明这种降解体不仅参与 mRNA 降解过程, 还可以影响蛋白质的翻译, 使 mRNA 降解与蛋白质翻译相互偶联^[41]。这种现象原来曾认为只存在于真核生物^[42], 这是首次发现细菌 RNA 的降解复合体也可以与翻译复合物相互作用, 说明这种现象可能在生物界广泛存在。

除了细菌, 又在古细菌、蓝细菌和叶绿体中发现 RNase J, 编码 RNase J 的核基因在植物中也普遍存在, 叶绿体中 RNase J 不仅可以缩短叶绿体 mRNA 的 $5'$ 端, 还可以参与叶绿体 mRNAs 的成熟^[43]。最近的研究也揭示, RNase J 还可以参与细菌 RNase P 的 RNA 和 16S rRNA $5'$ -端的成熟加工, 所以 RNase J 可能具有多种生物学功能, 如 RNA 的成熟、转录后调节和 RNA 降解等^[37]。

3 $5' \rightarrow 3'$ 方向 mRNA 降解机制研究与药物研发

$5' \rightarrow 3'$ 方向 mRNA 降解机制的深入研究有可能为药物研发提供新靶标, 如 A 族乙型溶血性链球菌可以引发多种疾病, 由于 RNase J 是其生长必需的, 所以有研究认为 RNase J 很有可能会成为将来治疗相关疾病的靶标, 且相关的实验也已经开始并取得了一定的进展^[44]。过去基因治疗的靶标主要集中在 DNA, 这很容易产生不可逆转的危害, 而基于翻译

水平的治疗手段则可以避免这种情况。帽子类似物原来主要用于 RNA 的代谢研究,现在这些类似物已经开始用于药物研究。如在人类的很多癌症中,翻译的起始因子 eIF4E 通常会超表达,而抑制 eIF4E 可以抑制癌细胞生长,推测通过合成的帽子类似物破坏 eIF4E-mRNA 的帽子复合物结构,可以成为治疗癌症和脊髓性肌肉萎缩症的新途径^[45,46]。在不同生物中,由于甲基化的程度或位置不同,mRNA 往往存在多种不同的帽子结构,已经发现血吸虫(*Schistosoma mansoni*)和线虫与哺乳动物 mRNA 有着不同的帽子结构,人类 eIF4E 对这种帽子亲和力比上述害虫 eIF4E 低数百倍,所以深入了解上述害虫 eIF4E 结合帽子的机制,非常有利于研发新型且广谱的抗寄生虫药物^[47]。此外,脱帽本身可能也具有一定的抗病毒功能,如崩芽病毒(*Bunyaviridae*)可以从昆虫向哺乳动物传染多种疾病,这些病毒不能形成自身 mRNA 的帽子结构,通过劫取宿主带有帽子结构的短 mRNA 片段作为自身 mRNA 合成的引物。果蝇脱帽酶 Dcp2 和两个脱帽激活因子 DDX6 和 LSM7 对多种崩芽病毒都有抗性作用^[48]。而脊髓灰质炎病毒感染可以直接导致 Dcp1a 和 Pan3 降解,在病毒感染之前表达 Dcp1 则可以抑制这种病毒的感染^[49]。最近研究发现,很多进化各异的(+)RNA 病毒,如兽棚病毒(*Flock house virus*),在其基因组复制的关键阶段都会用到脱帽激活因子 Lsm1-7、Pat1 和 Dhh1 等,所以针对这 3 种蛋白也有可能开发出广谱的抗病毒药物^[50]。

4 结语与展望

综上所述,真核与原核生物 mRNA 5'→3'方向

的降解细节虽有不同,但过程非常相似(表 1):先去除 mRNA 5' 端的保护结构,如真核生物的帽子结构或细菌中三磷酸结构,再利用 5'→3'外切酶降解。有趣的是,细菌 mRNA 虽然没有帽子结构,但其 RppH 也具有脱帽酶活性,这揭示脱帽活性可能出现在真核生物 mRNA 的帽子结构出现之前^[4],这也与高度保守真核生物的 Dcp2 与细菌 RppH 在进化上具有亲缘关系的特点一致^[51]。此外,两类生物涉及降解的酶和蛋白因子往往都形成大的复合物结构,如细菌的降解体或真核生物的 P-body。但是细菌的降解体往往成分更复杂,包含多个方向的核酸酶,甚至还有一些非 mRNA 降解相关的酶。由于参与 3'→5'方向的外切酶复合物 exosome 独立于 P-body,所以曾经认为真核生物 mRNA 两个方向的外切降解途径在空间上是分开的,P-body 从 5'→3'外切酶降解 mRNA,exosome 从 3'→5'方向的外切酶降解 mRNA^[54]。但是最近发现,真核生物 3'→5'方向降解 mRNA 的另一个核酸酶 Dis3L2 可以与 P-body 共沉降,推测可能位于 P-body 中^[2],这不仅是第一次发现 P-body 具有 3'→5'方向外切酶的活性,也进一步验证了真核生物 mRNA 在 3'→5'方向的降解至少存在 exosome 和 Dis3L2 依赖性的两条途径。虽然真核生物 Xrn1 与细菌 RNase J 具有相似的功能,但两者在三维结构、催化机制和结合口袋的氨基酸组成上存在明显差异,推测生物可能历经至少 2 次进化,才形成了上述两种类型的 5'→3'方向的核酸外切酶^[52]。其实不仅这 2 种酶,真核生物和原核生物 mRNA 降解过程中的很多核酸酶都有非常大的差异,所以细菌 mRNA 降解过程也许可以提供很多新的药物靶标,以应对越来越严重的细菌耐药性难题^[53]。

表 1 真核生物与原核生物胞浆 mRNA 5'→3'方向降解机制的比较

比较内容	真核生物	原核生物	参考文献
mRNA 5'端的稳定结构	m ⁷ GpppN 帽子结构	pppN 三磷酸结构	[4,35]
去 5'端保护结构的酶	Dcp2 和 Nudt16	RppH	[3,36]
5'端去保护酶的辅助因子	多种	未知	[6,36]
去保护后 mRNA 5'端的形式	单磷酸形式	单磷酸形式	[29,36]
引发 5'端保护结构去除的因素	多种,如脱腺苷化等	未知	[9,17,23]
5'→3'核酸外切酶	XRN1/XRN4	RNase J1/J2	[8,37]
5'→3'核酸外切酶的存在	广泛存在	革兰氏阳性菌	[14,35]
5'→3'核酸酶存在的形式	在 P-body 中	形成 degradosome	[54,40]
5'→3'方向降解的强度	强,且普遍存在	弱,不广泛	[25,35]

现在还不清楚为什么细菌中最弱的降解途径, 在很多真核生物中转化为了最强的降解过程之一, 而细菌中最强的降解途径—内切降解, 却是真核生物中最弱的。也许是由于原核生物的 mRNA 是多顺反子, 长度较长, 内切有利于迅速降解, 以适应细菌快速繁殖。而真核生物 mRNA 是单顺反子, 长度变短, 且稳定性需要提高, 所以内切降解的作用下降低了。另外, 由于真核生物蛋白质翻译起始需要识别帽子结构, 而 5'→3' 降解可以通过脱帽使 mRNA 迅速失去模板功能, 所以在一定程度上可以起到原核生物通过内切快速降低 mRNA 模板功能的特点。另外, 真核生物 5'→3' 方向优于 3'→5' 降解的另一个特点是可以防止形成长短不一的有害蛋白质, 因为一旦翻译起始, mRNA 的 3' 端影响很大。如在拟南芥中, 为保证最后一轮翻译过程得到完整的产物, 往往通过 mRNA 末端尿苷酸化阻止的 3' 方向的降解^[26]。此外, 5'→3' 方向降解复合物的组装, 往往需要 3' 端相关复合物招募, 而结合到 3' 端的 Lsm1-7 复合物也可以保护 3' 端的作用。细胞为了防止由于 mRNA 模板原因, 导致翻译过程异常终止, 而产生有害的蛋白质的情况, 已经进化出了多种质量控制机制, 如 NMD、No-go 降解(No-go decay, NGD)和 Non-stop 降解(Non-stop decay, NSD)^[55]。当然这些都是推测, 还有待进一步证实。但是鉴于 mRNA 降解在基因表达调节中的重要作用, 且目前一些降解细节还不是十分清楚, 所以对其进行深入研究将具有重要的理论意义和深远的应用价值。

参考文献

- [1] Cheadle C, Fan JS, Cho-Chung YS, Werner T, Ray J, Do L, Gorospe M, Becker KG. Control of gene expression during T cell activation: alternate regulation of mRNA transcription and mRNA stability. *BMC Genom*, 2005, 6: 75. [\[DOI\]](#)
- [2] Malecki M, Viegas SC, Carneiro T, Golik P, Dressaire C, Ferreira MG, Arraiano CM. The exoribonuclease Dis3L2 defines a novel eukaryotic RNA degradation pathway. *EMBO J*, 2013, 32(13): 1842–1854. [\[DOI\]](#)
- [3] Chang JH, Jiao XF, Chiba K, Oh C, Martin CE, Kiledjian M, Tong L. Dxo1 is a new type of eukaryotic enzyme with both decapping and 5'-3' exoribonuclease activity. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, 19(10): 1011–1017. [\[DOI\]](#)
- [4] Song MG, Bail S, Kiledjian M. Multiple Nudix family proteins possess mRNA decapping activity. *RNA*, 2013, 19(3): 390–399. [\[DOI\]](#)
- [5] Li Y, Song MG, Kiledjian M. Differential utilization of decapping enzymes in mammalian mRNA decay pathways. *RNA*, 2011, 17(3): 419–428. [\[DOI\]](#)
- [6] Haas G, Braun JE, Igreja C, Tritschler F, Nishihara T, Izaurralde E. HPat provides a link between deadenylation and decapping in metazoa. *J Cell Biol*, 2010, 189(2): 289–302. [\[DOI\]](#)
- [7] Chang CT, Bercovich N, Loh B, Jonas S, Izaurralde E. The activation of the decapping enzyme DCP2 by DCP1 occurs on the EDC4 scaffold and involves a conserved loop in DCP1. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(8): 5217–5233. [\[DOI\]](#)
- [8] Wolf J, Valkov E, Allen MD, Meineke B, Gordiyenko Y, McLaughlin SH, Olsen TM, Robinson CV, Bycroft M, Stewart M, Passmore LA. Structural basis for Pan3 binding to Pan2 and its function in mRNA recruitment and deadenylation. *EMBO J*, 2014, 33(14): 1514–1526. [\[DOI\]](#)
- [9] Huang KL, Chadee AB, Chen CY, Zhang YQ, Shyu AB. Phosphorylation at intrinsically disordered regions of PAM2 motif-containing proteins modulates their interactions with PABPC1 and influences mRNA fate. *RNA*, 2013, 19(3): 295–305. [\[DOI\]](#)
- [10] Bhandari D, Raisch T, Weichenrieder O, Jonas S, Izaurralde E. Structural basis for the Nanos-mediated recruitment of the CCR4-NOT complex and translational repression. *Genes Dev*, 2014, 28(8): 888–901. [\[DOI\]](#)
- [11] Barckmann B, Simonelig M. Control of maternal mRNA stability in germ cells and early embryos. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1829(6–7): 714–724. [\[DOI\]](#)
- [12] Loh B, Jonas S, Izaurralde E. The SMG5-SMG7 heterodimer directly recruits the CCR4-NOT deadenylase complex to mRNAs containing nonsense codons via interaction with POP2. *Genes Dev*, 2013, 27(19): 2125–2138. [\[DOI\]](#)
- [13] Barišić-Jäger E, Kręciocch I, Hosiner S, Antic S, Dorner S. HPat a decapping activator interacting with the miRNA effector complex. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71860. [\[DOI\]](#)
- [14] Chowdhury A, Kalurupalle S, Tharun S. Pat1 contributes to the RNA binding activity of the Lsm1–7-Pat1 complex. *RNA*, 2014, 20(9): 1465–1475. [\[DOI\]](#)
- [15] Wu DH, Muhrlad D, Bowler MW, Jiang SM, Liu Z, Parker R, Song HW. Lsm2 and Lsm3 bridge the interaction of the Lsm1-7 complex with Pat1 for decapping activation. *Cell Res*, 2014, 24(2): 233–246. [\[DOI\]](#)
- [16] Sharif H, Conti E. Architecture of the Lsm1–7-Pat1 complex: a conserved assembly in eukaryotic mRNA turnover. *Cell Rep*, 2013, 5(2): 283–291. [\[DOI\]](#)

- [17] Badis G, Saveanu C, Fromont-Racine M, Jacquier A. Targeted mRNA degradation by deadenylation-independent decapping. *Mol Cell*, 2004, 15(1): 5–15. [\[DOI\]](#)
- [18] He F, Li CF, Roy B, Jacobson A. Yeast Edc3 targets *RPS28B* mRNA for decapping by binding to a 3' untranslated region decay-inducing regulatory element. *Mol Cell Biol*, 2014, 34(8): 1438–1451. [\[DOI\]](#)
- [19] Muhrad D, Parker R. The yeast EDC1 mRNA undergoes deadenylation-independent decapping stimulated by Not2p, Not4p, and Not5p. *EMBO J*, 2005, 24(5): 1033–1045. [\[DOI\]](#)
- [20] Nagarajan VK, Jones CI, Newbury SF, Green PJ. XRN 5'→3' exoribonucleases: structure, mechanisms and functions. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1829(6–7): 590–603. [\[DOI\]](#)
- [21] Nishihara T, Zekri L, Braun JE, Izaurralde E. miRISC recruits decapping factors to miRNA targets to enhance their degradation. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(18): 8692–8705. [\[DOI\]](#)
- [22] Chen CYA, Shyu AB. Deadenylation and P-bodies. In: Chan EKL, Fritzler MJ, eds. *Ten Years of Progress in GW/P Body Research*. New York: Springer, 2013: 183–195. [\[DOI\]](#)
- [23] Su W, Slepnev SV, Slevin MK, Lyons SM, Ziemniak M, Kowalska J, Darzynkiewicz E, Jemielity J, Marzluff WF, Rhoads RE. mRNAs containing the histone 3' stem-loop are degraded primarily by decapping mediated by oligouridylation of the 3' end. *RNA*, 2013, 19(1): 1–16. [\[DOI\]](#)
- [24] Song MG, Kiledjian M. 3' Terminal oligo U-tract-mediated stimulation of decapping. *RNA*, 2007, 13(12): 2356–2365. [\[DOI\]](#)
- [25] Rissland OS, Norbury CJ. Decapping is preceded by 3' uridylation in a novel pathway of bulk mRNA turnover. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16(6): 616–623. [\[DOI\]](#)
- [26] Sement FM, Ferrier E, Zuber H, Merret R, Alioua M, Deragon JM, Bousquet-Antonelli C, Lange H, Gagliardi D. Uridylation prevents 3' trimming of oligoadenylated mRNAs. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(14): 7115–7127. [\[DOI\]](#)
- [27] Morozov IY, Jones MG, Razak AA, Rigden DJ, Caddick MX. CUCU modification of mRNA promotes decapping and transcript degradation in *Aspergillus nidulans*. *Mol Cell Biol*, 2010, 30(2): 460–469. [\[DOI\]](#)
- [28] Gallouzi IE, Wilusz J. A DISTINCTLY novel exoribonuclease that really likes U. *EMBO J*, 2013, 32(13): 1799–1801. [\[DOI\]](#)
- [29] Nissan T, Rajyaguru P, She MP, Song HW, Parker R. Decapping activators in *Saccharomyces cerevisiae* act by multiple mechanisms. *Mol Cell*, 2010, 39(5): 773–783. [\[DOI\]](#)
- [30] Braun JE, Truffault V, Boland A, Huntzinger E, Chang CT, Haas G, Weichenrieder O, Coles M, Izaurralde E. A direct interaction between DCP1 and XRN1 couples mRNA decapping to 5' exonucleolytic degradation. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, 19(12): 1324–1231. [\[DOI\]](#)
- [31] Medina DA, Jordán-Pla A, Millán-Zambrano G, Chávez S, Choder M, Pérez-Ortín JE. Cytoplasmic 5'-3' exonuclease Xrn1p is also a genome-wide transcription factor in yeast. *Front Genet*, 2014, 5: 1. [\[DOI\]](#)
- [32] Liu HD, Kiledjian M. Scavenger decapping activity facilitates 5' to 3' mRNA decay. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(22): 9764–9772. [\[DOI\]](#)
- [33] Wypijewska A, Bojarska E, Lukaszewicz M, Stepinski J, Jemielity J, Davis RE, Darzynkiewicz E. 7-methylguanosine diphosphate (m⁷GDP) is not hydrolyzed but strongly bound by decapping scavenger (DcpS) enzymes and potently inhibits their activity. *Biochemistry*, 2012, 51(40): 8003–8013. [\[DOI\]](#)
- [34] Buschmann J, Moritz B, Jeske M, Lilie H, Schierhorn A, Wahle E. Identification of *Drosophila* and human 7-methyl GMP-specific nucleotidases. *J Biol Chem*, 2013, 288(4): 2441–2451. [\[DOI\]](#)
- [35] Richards J, Liu QS, Pellegrini O, Celesnik H, Yao SY, Bechhofer DH, Condon C, Belasco JG. An RNA pyrophosphohydrolase triggers 5'-exonucleolytic degradation of mRNA in *Bacillus subtilis*. *Mol Cell*, 2011, 43(6): 940–949. [\[DOI\]](#)
- [36] Laalami S, Zig L, Putzer H. Initiation of mRNA decay in bacteria. *Cell Mol Life Sci*, 2014, 71(10): 1799–1828. [\[DOI\]](#)
- [37] Linder P, Lemeille S, Redder P. Transcriptome-wide analyses of 5'-ends in RNase J mutants of a gram-positive pathogen reveal a role in RNA maturation, regulation and degradation. *PLoS Genet*, 2014, 10(2): e1004207. [\[DOI\]](#)
- [38] Fang M, Zeisberg WM, Condon C, Ogryzko V, Danchin A, Mechold U. Degradation of nanoRNA is performed by multiple redundant RNases in *Bacillus subtilis*. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(15): 5114–5125. [\[DOI\]](#)
- [39] Goldman SR, Sharp JS, Vvedenskaya IO, Livny J, Dove SL, Nickels BE. NanoRNAs prime transcription initiation *in vivo*. *Mol Cell*, 2011, 42(6): 817–825. [\[DOI\]](#)
- [40] Roux CM, DeMuth JP, Dunman PM. Characterization of components of the *Staphylococcus aureus* mRNA degradosome holoenzyme-like complex. *J Bacteriol*, 2011, 193(19): 5520–5526. [\[DOI\]](#)
- [41] Redko Y, Aubert S, Stachowicz A, Lenormand P, Namane A, Darfeuille F, Thibonnier M, De Reuse H. A minimal bac-

- terial RNase J-based degradosome is associated with translating ribosomes. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(1): 288–301. [\[DOI\]](#)
- [42] Hu WQ, Sweet TJ, Chamnongpol S, Baker KE, Collier J. Co-translational mRNA decay in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature*, 2009, 461(7261): 225–229. [\[DOI\]](#)
- [43] Luro S, Germain A, Sharwood RE, Stern DB. RNase J participates in a pentatricopeptide repeat protein-mediated 5' end maturation of chloroplast mRNAs. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(19): 9141–9151. [\[DOI\]](#)
- [44] Hu HP, Mao SL, Bugrysheva JV, Pruett S, Liotta DC, Scott JR, Snyder JP. Group A streptococcus inhibitors by high-throughput virtual screening. *Eur J Med Chem*, 2014, 82: 120–126. [\[DOI\]](#)
- [45] Li S, Jia Y, Jacobson B, McCauley J, Kratzke R, Bitterman PB, Wagner CR. Treatment of breast and lung cancer cells with a N-7 benzyl guanosine monophosphate tryptamine phosphoramidate pronucleotide (4Ei-1) results in chemosensitization to gemcitabine and induced eIF4E proteasomal degradation. *Mol Pharm*, 2013, 10(2): 523–531. [\[DOI\]](#)
- [46] Ziemniak M, Strenkowska M, Kowalska J, Jemielity J. Potential therapeutic applications of RNA cap analogs. *Future Med Chem*, 2013, 5(10): 1141–1172. [\[DOI\]](#)
- [47] Yoffe Y, Léger M, Zinoviev A, Zuberek J, Darzynkiewicz E, Wagner G, Shapira M. Evolutionary changes in the Leishmania eIF4F complex involve variations in the eIF4E-eIF4G interactions. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(10): 3243–3253. [\[DOI\]](#)
- [48] Hopkins KC, McLane LM, Maqbool T, Panda D, Gordesky-Gold B, Cherry S. A genome-wide RNAi screen reveals that mRNA decapping restricts bunyaviral replication by limiting the pools of Dcp2-accessible targets for cap-snatching. *Genes Dev*, 2013, 27(13): 1511–1525. [\[DOI\]](#)
- [49] Dougherty JD, Reineke LC, Lloyd RE. mRNA decapping enzyme 1a (Dcp1a)-induced translational arrest through protein kinase R (PKR) activation requires the N-terminal enabled vasodilator-stimulated protein homology 1 (EVH1) domain. *J Biol Chem*, 2014, 289(7): 3936–3949. [\[DOI\]](#)
- [50] Giménez-Barcons M, Alves-Rodrigues I, Jungfleisch J, Van Wynsberghe PM, Ahlquist P, Díez J. The cellular decapping activators LSM1, Pat1, and Dhh1 control the ratio of subgenomic to genomic Flock House virus RNAs. *J Virol*, 2013, 87(11): 6192–6200. [\[DOI\]](#)
- [51] Deshmukh MV, Jones BN, Quang-Dang DU, Flinders J, Floor SN, Kim C, Jemielity J, Kalek M, Darzynkiewicz E, Gross JD. mRNA decapping is promoted by an RNA-binding channel in Dcp2. *Mol Cell*, 2008, 29(3): 324–336. [\[DOI\]](#)
- [52] Kulkarni M, Ozgur S, Stoecklin G. On track with P-bodies. *Biochem Soc Trans*, 2010, 38(Pt 1): 242–251. [\[DOI\]](#)
- [53] Dorléans A, Li de la Sierra-Gallay I, Piton J, Zig L, Gilet L, Putzer H, Condon C. Molecular basis for the recognition and cleavage of RNA by the bifunctional 5'-3' exo/endoribonuclease RNase J. *Structure*, 2011, 19(9): 1252–1261. [\[DOI\]](#)
- [54] Eidem TM, Roux CM, Dunman PM. RNA decay: a novel therapeutic target in bacteria. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2012, 3(3): 443–454. [\[DOI\]](#)
- [55] Shoemaker CJ, Green R. Translation drives mRNA quality control. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, 9(6): 594–601. [\[DOI\]](#)

(责任编辑: 宋旭)