

水稻耐热生长的保护者 ——RNA 解旋酶 TOGR1

王冬, 薛勇彪



王冬博士

中国科学院遗传与发育生物学研究所, 分子发育生物学国家重点实验室, 北京 100101

近一个世纪以来的全球变暖现象已对世界范围的粮食生产造成了越来越严重的影响, 而很多植物也在长期的进化过程中形成了多重机制以应对包括高温在内的外界环境变化, 因此研究植物的耐热机制, 进而挖掘耐热基因资源对农作物分子设计与育种有着重要意义, 也越来越受到国内外研究者的关注。近期有研究表明, 含有组蛋白 H2A.Z 的核小体能够感知环境温度升高并在转录水平调控热胁迫应答基因的表达。另外转录因子 ELF3 也是调控植物热应答生长的关键因素。

分子伴侣同样在植物的耐热机制中发挥着重要作用。已有大量研究表明, 高温下大量表达的热激蛋白(HSPs)作为蛋白的分子伴侣保护胞内蛋白, 使其不会错误折叠和变性从而维持蛋白稳态平衡。与蛋白相似, RNA 的稳态平衡同样受到温度的影响, 也同样需要 RNA 分子伴侣的保护。RNA 解旋酶家族即是这些 RNA 分子伴侣中的重要成员。这一家族成员均能解旋 RNA 短双链, 从而使 RNA 形成或维持特定的构象。它们参与了包括转录、RNA 剪接、运输、降解和翻译在内的多种细胞进程, 并且已有研究证明这一家族的某些成员在细菌和酵母中参与了低温胁迫应答。另外, 研究发现包含 Rrp3 在内的至少 7 个酵母 RNA 解旋酶与核糖体小亚基加工复合体(SSU)结合, 从而确保 rRNA 前体(pre-rRNA)的高效加工。高等植物拥有比细菌与酵母等低等生物更加庞大的 RNA 解旋酶家族。以水稻为例, 其基因组编码了至少 73 个 RNA 解旋酶。这暗示着植物 RNA 解旋酶发挥着更加重要的作用。已有研究表明, DEAD-box RNA 解旋酶 LOS4 和 AtRH25 均介导了植物低温耐受, 另有其他成员则使植物更加适应盐胁迫。尽管如此, RNA 解旋酶在高温耐受方面所发

挥的作用还有待系统性的研究。

水稻作为最主要的粮食作物之一最初驯化于亚热带, 必须适应炎热的气候。随后的人工选择提高了水稻的耐冷性, 从而将其栽培区域扩展到了温带。最近的研究表明, 一个蛋白酶体 $\alpha 2$ 亚基组成蛋白和类受体蛋白激酶 ERECTA 均赋予水稻耐热性。另一个基因 *COLD1* 则通过调控 G 蛋白信号通路在粳稻耐冷机制中发挥着重要作用。然而, 水稻复杂的温度耐受机制还有待于进一步的研究。

为了深入研究水稻的耐高温机制, 本研究团队充分利用中国广袤的水稻种植区和多样的气候条件从一系列水稻品系中筛选出一个热敏矮秆隐性自发突变体(*togr1-1*)。该突变体在凉爽环境下与野生型差异并不明显, 而当温度升高时, 它的生长开始明显受到抑制。进一步的研究显示, 高温下的突变体与野生型在细胞大小上并没有明显差异, 而在细胞数目上差异显著, 从而表明 *TOGR1* 是高温下正常细胞分裂所必需的基因。

我们用图位克隆的方法分离得到了 *togr1-1* 中的突变基因 *TOGR1*。GUS 报告基因显示 *TOGR1* 的表达并无组织特异性。qRT-PCR 表明其表达受到高温诱导和生物钟控制, 并与温度的日常变化节奏一致。体外酶活实验显示, 在有 ATP 存在的前提下, *TOGR1* 和 *togr1-1* 蛋白都能把人工合成的双链 RNA 底物解旋成单链, 并且其 RNA 解旋酶活性随着温度提升而显著增强。该结果结合氨基酸序列分析表明该基因编码了一个温度依赖的 DEAD-box RNA 解旋酶, 并且 *togr1-1* 并未丧失解旋酶活性。

TOGR1 与酵母蛋白 Rrp3 的高度序列相似性促使我们进一步研究了它在 pre-rRNA 加工中发挥的作用。我们先后用 Northern blot 与环状 RT-PCR 检

测了 pre-rRNA 中间体在 25 和 38 °C 生长的野生型和突变体中的积累情况。结果表明中间体在高温生长的 *togr1-1* 中大量积累,从而揭示了 TOGR1 是高温下 pre-rRNA 正常加工所必需的蛋白。实验进一步表明,TOGR1 与核仁中 SSU 复合体结合并且在高温下发挥着与 Rrp3 相似的功能,而 *togr1-1* 不仅不能与 SSU 复合体结合,还不能挽救 *rrp3* 酵母突变体的表型。与其生物学功能相一致,亚细胞定位实验显示 TOGR1-GFP 主要分布于核仁中,而 *togr1*-GFP 则失去了进入细胞核的能力。

为了检测增强 *TOGR1* 的表达量对植物生长的效果,我们在水稻中过表达了 *TOGR1*。过表达植株表现出耐热性的增强,以及高温下株高、千粒重以及单穗结实率等方面的显著提高。对 38 个水稻品种的 qRT-PCR 分析也表明,高温下的株高和 *TOGR1* 的表达水平呈显著正相关。这些结果有力地支持了在水稻中提高 *TOGR1* 的表达水平能够促进植物耐热生长的假设。转录组分析也表明 TOGR1 协调着植物的初级代谢以适应高温变化。

综上,我们的研究表明,TOGR1 在 pre-rRNA

剪切加工中发挥着关键作用,进而介导了水稻的耐热生长。在凉爽环境下,pre-rRNA 的加工并不需要 TOGR1 的协助。相反,高温下的 pre-rRNA 开始错误折叠,使其与其加工蛋白不能恰当的互动,造成 pre-rRNA 加工效率的降低。作为被募集到核仁 SSU 并且其表达和活性都随温度升高而提高的 RNA 解旋酶,TOGR1 将 pre-rRNA 解旋成正确构象,从而确保了其与加工复合体之间的有效互动(图 1)。这一作用保证了在高温下能够高效生成协调初级代谢所必需的成熟 rRNA,进而促进植物生长。相反,*togr1-1* 的功能缺失使其不能被运输进入细胞核并被募集到核仁区 SSU,使高温下 rRNA 的生成失去了保护,从而导致 pre-rRNA 加工延迟和初级代谢的紊乱并抑制了植物的生长。本研究团队的实验结果证明了 TOGR1 作为一个核仁中的热敏 RNA 分子伴侣介导了植物在高温下的正常生长,从而为研究植物内在耐热机制提供了一个全新视角,也为培育耐高温作物提供了借鉴。该项研究成果于 2016 年 2 月 5 日在线发表于 *PLoS Genetics* (DOI:10.1371/journal.pgen.1005844)。

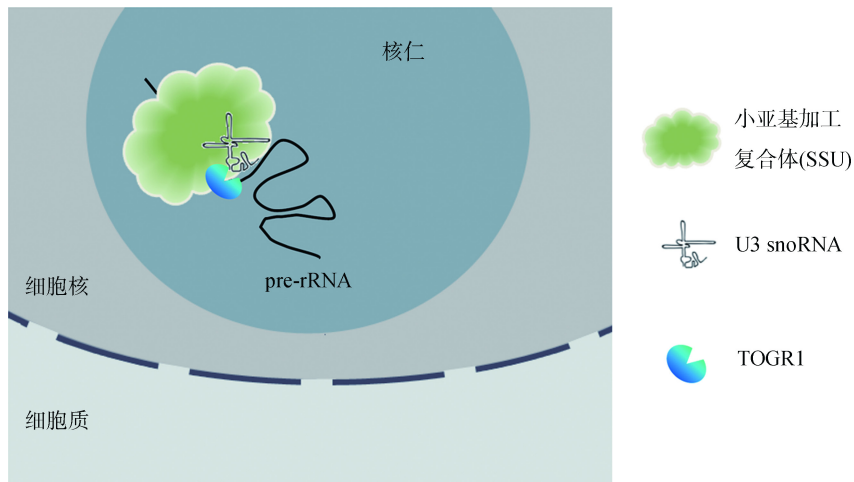


图 1 核仁定位的 TOGR1 与 SSU 结合,通过辅助 pre-rRNA 加工控制着水稻的耐热生长

Fig. 1 Located in the nucleolus and associated with the SSU pre-rRNA processome, TOGR1 facilitates pre-rRNA processing and thus rice growth at high temperature.

SSU 与 TOGR1 被 U3 snoRNA 募集到核仁中的 pre-rRNA 上,将其加工成成熟 rRNA。