

tRNA 同功受体的多样性及功能适应性

张伊平 祁国荣

(中国科学院上海生物化学研究所)

tRNA(转移核糖核酸)是一类含 74—93 个核苷酸的小分子核酸,分子量 25,000—30,000 道尔顿,沉降常数为 4S。tRNA 能与多种核酸(例如 mRNA, 5SRNA), 蛋白质和酶(例如 tRNA 加工酶,氨酰 tRNA 合成酶,蛋白质合成起始因子,延长因子等)相互结合和作用,在生物体内行使多种功能,其中主要的是参与蛋白质的生物合成,并对基因的表达进行调节控制。除此功能之外,氨酰 tRNA 能调节相应氨基酸的生物合成,有些氨酰 tRNA 参与细菌细胞壁的合成,在某些病毒中,一些 tRNA 作为引物参与反转录。随着对 tRNA 结构与功能的深入研究,人们发现,tRNA 对基因的调节控制作用,有时是通过一种或几种 tRNA 同功受体(isoacceptor)实现的。

蛋白质一般由二十种氨基酸组成,而 tRNA 则一般有三十一五十种,因此,对于每一种氨基酸来说,平均就有二到三种 tRNA。存在于同一种生物体内或生物的同一种器官里,在结构上以至在功能上有所不同,但都能接受同一种氨基酸的几个 tRNA 就叫做 tRNA 同功受体。tRNA 同功受体的多样性在调节蛋白质的生物合成中可能非常重要。Ames 和 Hartman 较早提出的调节假说认为,某些 tRNA 可能以少量或者变更的形式(例如甲基化)存在,在阅读 mRNA 上的信息时,成为速度限制因素。这一假说显然不能解释为什么能识别同一种密码子的 tRNA 同功受体不能互相代替。预选择假说对此作了解答。这个假说认为,能识别相同密码子的几个 tRNA 同功受体可能属于不同的构象组,在某种情况下,一种同功受体具有的构象是唯一能用于正在进行翻译的 mRNA 中的某

个密码子。这种解释意味着 tRNA 的选择和蛋白质的生物合成调节,涉及到 mRNA 和某些蛋白质,这些蛋白质可能控制 tRNA 构象的变化。有些实验提供了有利于这些推测的证据。例如,肝癌腹水细胞 tRNA 和兔肝细胞 tRNA 能有效地参与珠蛋白 mRNA、输卵管 mRNA 和 EMC(encephalomyocarditis)病毒 RNA 的翻译,而网织细胞 tRNA 只能参与珠蛋白 mRNA 的翻译,可能在这些 tRNA 群体中缺少合成卵白蛋白和 EMC 病毒蛋白所需要的某些 tRNA 同功受体^[1]。用干扰素处理过的鼠细胞需要添加某些 tRNA 以翻译外源 mRNA。对于翻译珠蛋白 mRNA 和 Mengo 病毒 RNA,需要加不同种类的 tRNA^{Leu} 同功受体,它们也不能被含量较多的另一种 tRNA^{Leu} 所取代,即使这些同功受体识别相同的密码子^[2]。可能这些同功受体属于不同的构象组。

一、tRNA 同功受体的数目

不同种类生物,生物发育与分化各个时期,同种生物的不同器官以及同一组织正常与病变时(例如肿瘤的形成),tRNA 同功受体的数目都会有差异。在细菌中,有二十种氨酰 tRNA 合成酶,每一种都专一性地催化某种氨酰 tRNA 的合成,而 tRNA 则有三十一五十多种。在真核生物的细胞里,情况则较为复杂,因为线粒体与细胞浆里的 tRNA 和氨酰 tRNA 合成酶不同。在植物的细胞里,情况更为复杂,因为叶绿体与线粒体和细胞浆里的 tRNA 和氨酰 tRNA 合成酶都不同。用双向聚丙烯酰胺凝胶电泳分离总的 tRNA,大肠杆菌为三十种,酵母为四十种,家蚕则为五十三种^[3]。有人曾经认为

表 1 部分动物,动物器官和微生物中 tRNA 同功受体的数目

tRNA 种类	来 源	同功受体数目
丙氨酸	人类脾脏	6
	家兔	4
	家蚕后部腺体	6
	大肠杆菌 B	2—3
精氨酸	兔网织细胞	3
	兔网织细胞	5
	大肠杆菌	5
门冬酰胺	兔网织细胞	2
门冬氨酸	兔网织细胞	2
甘氨酸	家蚕后部腺体	3
	兔网织细胞	3
	<i>S. epidermidis</i>	4
	<i>S. aureus</i> H.	3
谷氨酸	鸡胚腱细胞	4
	兔网织细胞	3
谷氨酰胺	兔网织细胞	2
组氨酸	兔网织细胞	2
	大肠杆菌 B	2
异亮氨酸	兔网织细胞	2
	<i>S. typhimurium</i>	3
亮氨酸	兔网织细胞	4
	<i>S. typhimurium</i>	7
	大肠杆菌	6
	兔网织细胞	2
赖氨酸	枯草杆菌	3
	兔网织细胞	2
甲硫氨酸	兔网织细胞	2
	大肠杆菌	1(2)
甲酰甲硫氨酸	大肠杆菌	3
苯丙氨酸	鼠肝	2
	兔网织细胞	4
	兔网织细胞	2
	家蚕后腺体	5
脯氨酸	兔网织细胞	5
	<i>S. epidermidis</i>	4
	鼠脑	6
	鼠肝	3
苏氨酸	兔网织细胞	2
	<i>Micrococcus rosens</i>	2
色氨酸	兔网织细胞	4
酪氨酸	兔网织细胞	2
	大肠杆菌	1(2)
缬氨酸	兔网织细胞	2
	大肠杆菌	2
	<i>S. typhimurium</i>	2

tRNA^{Ala} 同功受体的数目随着生物由低到高级进化而增加,例如,人脾脏 tRNA^{Ala} 含六个同功受体,家蚕含四个,而大肠杆菌只含二一三个,

但后来在家蚕中发现六个 tRNA^{Ala} 同功受体,对此提出了异议。

Weil^[4] 列出了不同植物和植物不同器官中各种 tRNA 同功受体的数目,表 1 列出了部分动物,动物不同器官和微生物中一些 tRNA 同功受体的数目。但因分离纯化的方法不同,各实验报道的 tRNA 同功受体的数目不同,此表一般取分级较多的结果。

二、tRNA 同功受体之间的差别

目前,有关 tRNA 同功受体之间的差异研究得较多的是一级结构。有些同功受体仅为一到二个碱基的不同,有些差别较大。有时具有相同反密码子的 tRNA 同功受体差别仅是缺少某些核苷的修饰。在许多情况下,不完全的修饰是 tRNA 前体加工不完全的结果。反密码子不同的同功受体能识别同一种氨基酸的不同密码子。结构上的差别有时伴随功能的不同,然而,对于功能的差异目前了解得还不多。

用反相柱层析法可将 *S. epidermidis* 的 tRNA^{Gly} 分为三个同功受体,其中 tRNA_I^{Gly} 不能参与蛋白质的生物合成,而只能参与细胞壁肽聚多糖的合成,从 *S. aureus* 中得到的 tRNA_I^{Gly} 的作用也是如此。结构分析表明,*S. epidermidis* 的 tRNA_I^{Gly} 中最显著的特点是一般 tRNA 中共有的 GTΨC 顺序被 GUGC 取代,而这个区域与核糖体的结合有关,因此,这种 tRNA^{Gly} 不能参与蛋白质的生物合成,除了其他因素之外,很可能与此变化有关。*S. epidermidis* 的 tRNA^{Gly} 还可分为 tRNA_{Ia}^{Gly} 和 tRNA_{Ib}^{Gly},二者的一级结构有六处不同,另外,在二氢尿嘧啶环上,tRNA_{Ib}^{Gly} 比 tRNA_{Ia}^{Gly} 多一个碱基^[5]。类似的现象还发现于 *S. epidermidis* 的 tRNA^{Ser} 中,在其四个同功受体中,有一种不能参与蛋白质的生物合成,而只能参与肽聚多糖的合成。

在兔网织细胞蛋白质合成系统中,枯草杆菌 (*Bacillus subtilis* 168) 两个主要的 tRNA^{Lys} 同功受体参与兔珠蛋白翻译的活性不同,tRNA₃^{Lys} 的活性是 tRNA₁^{Lys} 的两倍左右。结构分析表明,tRNA₃^{Lys} 与 tRNA₁^{Lys} 的核苷酸排列

顺序基本一样,两者的区别只是转录后修饰程度的不同, $\text{tRNA}_{\text{Lys}}^{\text{Lys}}$ 高度修饰, $\text{tRNA}_{\text{Lys}}^{\text{Lys}}$ 则修饰不完全。通常,高度修饰的同功受体存在于生长缓慢的细胞中,而快速分裂的细胞(例如肿瘤细胞)中则为修饰不完全的同功受体。与此情况相反, $\text{tRNA}_{\text{Lys}}^{\text{Lys}}$ 主要存在于快速分裂的细胞中, $\text{tRNA}_{\text{Lys}}^{\text{Lys}}$ 则主要存在于静止细胞及孢子中^[6,7]。

家蚕的后部腺体在五龄后期主要合成丝心蛋白,而丝胶蛋白主要在中部腺体合成。Hentzen 等^[8]发现,后部丝腺体主要使用 $\text{tRNA}_{\text{Ser}}^{\text{Ser}}$,中部腺体主要使用 $\text{tRNA}_{\text{I}}^{\text{Ser}}$ 同功受体。结构分析表明, $\text{tRNA}_{\text{I}}^{\text{Ser}}$ 含两个结构几乎一样的同功受体,其中 $\text{tRNA}_{\text{I}}^{\text{Ser}}$ 占65%,它与 $\text{tRNA}_{\text{I}}^{\text{Ser}}$ 仅是反密码子不同,前者为 IGA,后者为 CGA。反密码子 IGA 能识别密码子 UCA,这是丝心蛋白 mRNA 上丝氨酸的主要密码子。Meza 等^[9]比较分析了家蚕五种 $\text{tRNA}_{\text{Ala}}^{\text{Ala}}$ 同功受体,其中 $\text{tRNA}_{\text{I}}^{\text{Ala}}$ 为后部丝腺体所特有,它与 $\text{tRNA}_{\text{I}}^{\text{Ala}}$ 在结构上非常相似,具有相同的反密码子,两者仅有一个核苷酸的差别,即 $\text{tRNA}_{\text{I}}^{\text{Ala}}$ 中第40位(自5'端起)的U或 ψ 在 $\text{tRNA}_{\text{I}}^{\text{Ala}}$ 中被C取代。由于体内尚未发现在转录后发生C转变为U的情况,因此,这两种同功受体可能是不同基因的表达产物,而不是因修饰不同引起的。家蚕后部腺体的 $\text{tRNA}_{\text{Gly}}^{\text{Gly}}$ 与 $\text{tRNA}_{\text{I}}^{\text{Gly}}$ 比较,除了反密码子外,有20个核苷酸残基不同,这表明在这些部位上近30%的差异并不影响其接受甘氨酸的功能。

在同一种生物的不同器官里, tRNA 同功受体有时也存在差别。Rogg 等^[10]发现,鼠脑组织含六种 $\text{tRNA}_{\text{Ser}}^{\text{Ser}}$ 同功受体,其中三种与鼠肝组织的相同,另外三种与此三种的区别在于D环上G的核糖没有甲基化。类似的现象早些时候还发现于兔与小牛的肝和脑组织之间。

在正常细胞与肿瘤细胞之间, tRNA 的层析图谱大多数是一致的,但有时也有变化,比如,柱层析洗脱峰之间的比例,相对移动位置,以及出现新的同功受体。许多肿瘤组织中所出现的 $\text{tRNA}_{\text{Tyr}}^{\text{Tyr}}$, $\text{tRNA}_{\text{His}}^{\text{His}}$ 和 $\text{tRNA}_{\text{Asp}}^{\text{Asp}}$ 同功受体在

其反密码子的摇摆位置上都缺乏这类 tRNA 所共有的修饰核苷 Q。例如,有一种鼠肝腹水肿瘤的 $\text{tRNA}_{\text{Asp}}^{\text{Asp}}$ 与正常组织的 $\text{tRNA}_{\text{Asp}}^{\text{Asp}}$ 的核苷酸排列顺序,除了摇摆位置上正常的是带有甘露糖的 Q,肿瘤组织中它被 G 所取代外,其他都是一样的。因此,可以认为肿瘤组织中新出现的 $\text{tRNA}_{\text{Asp}}^{\text{Asp}}$ 同功受体是转录后修饰不完全造成的^[11]。这种现象给某些肿瘤的治疗带来了希望,例如,有人报道, Ehrlich 腹水肿瘤的 tRNA 缺乏修饰碱基 Q,连续给生此肿瘤的老鼠灌注 Q,能够逆转 Q 的缺乏,并能抑制肿瘤的生长^[12]。

三、功能适应性

在一些大量合成专一性蛋白质的细胞里,其 tRNA 的水平往往正比例于正被合成的蛋白质的氨基酸组成成分。这种现象发现于牛眼的晶状体和鼠淋巴细胞,牛正在泌乳的乳腺,兔和牛的网织细胞,家蚕的丝腺体,蓖麻蚕后部腺体以及鼠和小鸡的胶元等组织。这种适应性还在植物中发现。这种变化有时伴随着 tRNA 同功受体水平的变化。例如,与鸡的肝、脑和心脏的 $\text{tRNA}_{\text{Gly}}^{\text{Gly}}$ 平均接受活性相比,鸡胚腱细胞中 $\text{tRNA}_{\text{Gly}}^{\text{Gly}}$ 接受活性增高33%,在其四个同功受体中,有一个含量增加明显,很可能与胶元蛋白的合成有关^[13]。当玉米胚乳活跃地合成玉米醇溶蛋白(一种富含甘氨酸,亮氨酸和丙氨酸的蛋白质)时,与其籽胚的 tRNA 相比,接受以上三种氨基酸的 tRNA 活性增加,用反相柱层析法分析,这三种 tRNA 的各个同功受体的含量变化是不同的^[14]。这种连续的选择性的调节在原核生物,真核生物,未分化的以及高度分化的组织中均存在,在分子水平,这种适应性关系表现在 mRNA 上同义密码子的频率与相应的 tRNA 同功受体的分布中,例如,五龄期家蚕后部丝腺体的 tRNA 同功受体的分布与丝心蛋白 mRNA 中密码子的频率之间就密切相关(相关系数 $r = 0.99$,见表2)。这种相关性还存在于兔网织细胞中。

动物和病毒的 mRNA 结构差别很大。动

表2 五龄第八天家蚕后部丝腺体三种 tRNA 的分布,相应的密码子以及氨酰 tRNA 合成酶活性^[19]

丝心蛋白氨基酸组成 (%)	丙氨酸			甘氨酸			丝氨酸		
	29			46			12		
氨酰 tRNA 合成酶(%)	31			42			13		
tRNA (%)	26			42			16		
tRNA 同功受体 (%)	3	6	17	20	7	15	5	9	2
反密码子(3'-5')*	(CGU) (CGG) (CGI)			CCG (CCN) CCU			(UCG) AGI AGC		
丝心蛋白 mRNA 的密码子 (5'-3')	GCU			GGU	GGA		UCA		
丝心蛋白 mRNA 的密码子 (%)	29			27	19		12		

* 括号里为可能的反密码子

物组织的 mRNA 具有某些共性,其密码子频率与各种动物组织中 tRNA 同功受体的分布有相关性,但动物组织的 tRNA 同功受体的分布与病毒 mRNA 中密码子频率没有这种关系。这种现象表明,在进化过程中,密码子与反密码子同时被选择,以保证翻译的准确性^[46]。tRNA 同功受体的适应性说明,与密码子的频率相比,不存在某种过多或过少的同功受体,两者的水平是密切相关的。因此,有人提出^[47],细胞中蛋白质生物合成的速度并非由某种低浓度的起调节作用的 tRNA 所控制,而是由整个 tRNA 群体作为蛋白质合成速度的调节者。这意味着 mRNA 的生物合成和翻译这种 mRNA 所需要的 tRNA 种类是相关的,这种协调的搭配依赖一个共同的信号,同样受遗传控制。蛋白质合成的速度和数量同时依赖相应的 mRNA 的水平和 tRNA 群体的组成成分,扰乱 tRNA 群体,就将影响同功受体的分布,从而使其与相应 mRNA 密码子频率的相关性失调,合成蛋白质的速度因此减慢,并发生错误的翻译。由此看来,一种蛋白质合成的量与相应的 mRNA 的量有平行关系,其延长速度在适应的 tRNA 群体(通常为同源 tRNA)存在时是最大的,同时翻译的准确性也依赖处于平衡状态的 tRNA 群体。

总之, tRNA 在同功受体水平调节蛋白质的生物合成对了解 tRNA 的结构与功能、蛋白

质的生物合成的调节等是很重要的,并具有实际意义,因此,这方面有待于更深入细致的研究。

参 考 文 献

[1] Sharma, O. K. et al.: *Biochemistry*, **15**, 4313, 1976.
 [2] Zilberstein, A. et al.: *J. Mol. Biol.*, **108**, 43, 1976.
 [3] Garel, J. P. et al.: *Biochemistry*, **16**, 3618, 1977.
 [4] Weil, J. H.: *Nucleic acids in plants* (ed. by Hall, T. C. and Davies, J. W.), Vol. 1, 143, 1979.
 [5] Roberts, R. J.: *Nature New Biol.*, **237**, 44, 1972.
 [6] Smith, D. W. E. et al.: *Nucleic acids Res.*, **10**, 3117, 1982.
 [7] Vold, B. S. et al.: *Nucleic acids Res.*, **10**, 3125, 1982.
 [8] Hentzen, D. et al.: *Nature*, **290**, 267, 1981.
 [9] Meza, L. et al.: *FEBS Lett.*, **77**, 255, 1977.
 [10] Rogg, H. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **74**, 4243, 1977.
 [11] Kuchino, Y. et al.: *J. Biol. Chem.*, **256**, 9059, 1981.
 [12] Katze, J. R. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **96**, 313, 1980.
 [13] Christner, P. J. et al.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **172**, 399, 1976.
 [14] Viotti, A. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **517**, 125, 1978.
 [15] Garel, J. P.: *Nature*, **260**, 805, 1976.
 [16] Chavaney, G. et al.: *Biochimie*, **61**, 71, 1979.
 [17] Chavaney, G. et al.: *Biochimie*, **63**, 187, 1981.

[本文于 1982 年 10 月 6 日收到]