

RNA 的尿苷化 *

谢兆辉^{1, 2, 3)**}

(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;

³ 山东功能大分子生物物理重点实验室, 德州 253023)

摘要 很多 RNA 分子可以进行转录后修饰。最近的研究发现, 末端无需模板的尿苷酸添加(尿苷化)可能就是一种广泛存在且保守, 但以前了解甚少的 RNA 转录后修饰方式。这种修饰可以发生在从藻类到人类的很多 RNA 上, 如多聚腺苷化的 mRNA、siRNAs 或 miRNAs 内切 mRNA 得到的上游片段、组蛋白 mRNA、目前发现的大多数小调节 RNAs、U6 小核 RNA (snRNA)、转录起点相关的小 RNA 和剪切的内含子等。这种修饰不仅具有重要的功能, 如增强 RNA 的降解、促进或抑制 RNA 的加工形成、改变 RNA 的活性或作为 mRNA 的一种质量控制机制, 而且还与人类的一些致病机制有关, 如癌症。本文主要综述了小 RNA、mRNA 及其内切片段、组蛋白 mRNA 和 U6 snRNA 等 RNA 尿苷化的研究进展, 并对相关研究的应用前景做了展望。

关键词 尿苷化, 小 RNA, mRNA, 组蛋白 mRNA, U6 小核 RNA, 疾病

学科分类号 Q753, Q291

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00235

很多 RNA 转录后可以在其 3' 端进行无需模板的核苷酸添加, 如 tRNA 添加 CCA、真核生物 mRNA 添加 Poly(A) 等。近来越来越多的研究发现, 真核生物 RNA 的 3' 端尿苷酸(U)添加(尿苷化)可能也是一种非常普遍且保守的现象, 因为很多 RNA 都可以进行这样的修饰, 如 mRNA、包括 miRNA、siRNA 和 piRNA 在内的许多小调节 RNA、mRNA 被 siRNA 或 miRNA 内切之后产生的上游片段、U6 snRNA、转录起点相关的小 RNA 以及剪切的内含子等^[1-2]。这种修饰具有多种功能: 如增强 RNA 的降解, 促进或抑制 RNA 的加工、改变 RNA 的作用途径或者活性、使同一个 miRNA 基因位点产生不同的 miRNA 异构体、提高 miRNA 的作用多样性、使靶标反向调节小 RNA 以及对缺陷 mRNA 进行质量控制等^[3-5]。目前已经发现很多的人类疾病与 RNA 尿苷化有关, 如癌症^[6]或心脏肌强直性营养不良等^[7], 推测随着研究的深入, 可能会有更多的致病机制与此有关, 相关的酶也很有希望成为理想的药物靶标^[8]。如尿苷酸转移酶 Zcch11 (TUTase4 或 TUT4) 有希望成为癌症化疗的靶标^[9]。

本文综述了几种主要 RNA 的尿苷化机制及其功能, 并对其应用前景进行了展望。

1 小 RNA 的尿苷化

近 20 多年来, 生物界最重要的发现之一可能就是众多具有调节作用的小 RNA, 但这些小 RNA 自身的调节一直不很清楚, 也许尿苷化修饰就是其一种非常重要的调节机制。

1.1 成熟小 RNA 的尿苷化

成熟小 RNAs 的 3' 端尿苷化最早在植物中发现: 拟南芥 miRNAs 或 siRNAs 的 3' 端通常被 HEN1 甲基化, *hen1* 突变时两者都会通过尿苷化添加一个 2~5nt 长的尿苷酸尾巴, 导致它们丰度下降^[10]。以后这种现象又在其他生物的小 RNA 发现, 如病毒^[11]、衣藻^[12]和果蝇^[13]的 miRNAs 或 siRNAs, 以及斑马鱼的 piRNAs^[14]等。尿苷化对小

* 国家自然科学基金资助项目(30901023)。

** 通讯联系人。

Tel: 13969214206, E-mail: xiezh0523@163.com

收稿日期: 2013-07-25, 接受日期: 2013-10-16

RNA 最主要的影响是促进后者的降解, 但尿苷化往往导致小 RNA 的降解方式不同于通常的降解过程. 如拟南芥 miRNAs 或 siRNAs 往往被核酸酶 SDN 通过 3'→5' 方式降解, 但是两者被尿苷酸转移酶 HESO1 尿苷化后会抑制 SDN 的降解^[15], 所以有人甚至认为 miRNAs 或 siRNAs 末端的尿苷化可以起保护作用. 此外, 尿苷化还可以不引发小 RNA 降解, 但是降低其沉默靶标的效果, 如 miR-26 的尿苷化^[16], miRNAs 末端腺苷化的研究揭示其原因可能是尿苷化干扰了 miRNAs 与 AGO 蛋白的结合^[13]. 而在线虫中, 尿苷酸转移酶 CDE-1 还可以通过 22G RNAs 的尿苷化降解, 以控制后者的丰度及其与不同 AGO 蛋白的结合能力, 从而影响染色体的分离^[17].

最近令人吃惊的发现是小 RNA 在调节靶标的同时, 自身也会受到靶标的调节, 即靶标可以通过自身与小 RNAs 之间的互补程度及丰度引发小 RNAs 尿苷化或腺苷化降解, 形成了一种靶标指导的小 RNA 降解机制^[4, 18](图 1①), 这揭示了小 RNAs 调节途径可能是一条“双行道”, 这也与生物界普遍存在的反馈调节模式一致. 目前, 这种机制几乎涉及已经发现的所有小 RNAs, 如 siRNAs 和 miRNAs^[4]、piRNAs^[14]、扫描 RNA (scan RNA, scnRNA)^[19]、22G RNA^[20]以及 26G RNA^[21]等, 而且从藻类到人类均存在^[4, 12], 甚至病毒也可以利用这

种方式调控宿主 miRNA 的表达^[22]. 如 miR-15a/miR-16-1 为人类两种具有抑癌作用的 miRNAs, 乙肝病毒可以利用自身转录的非编码 RNA, 引发 miR-15a/miR-16-1 的尿苷化降解, 造成乙肝病毒感染的肝细胞发生癌变^[23]. 现在还不十分清楚为什么高度互补的靶标可以导致小 RNAs 尿苷化降解, 推测可能是: 在没有靶标或与靶标错配比较多时, 小 RNAs 的 3' 端往往结合在 AGO 的 PAZ 结构域上, 所以尿苷化酶无法靠近, 然而当小 RNAs 与靶标完美互补时, 其 3' 端可能会从 PAZ 结构域释放, 导致 3' 端被尿苷化并引发小 RNAs 降解^[4].

靶标引发的小 RNA 降解现象不仅深化了我们对小 RNA 调控机制的认识, 解释了以前一些关于小 RNAs 所不能解释的问题, 而且对于反义核酸技术和 RNA 干扰技术等也都有重要的指导意义: 如为什么植物 miRNA 末端往往甲基化, 而动物 miRNA 没有? 原因可能就是因为动物 miRNA 与靶标互补程度低, 而植物 miRNA 与靶标高度互补, 所以后者末端的甲基化可以防止靶标引发的降解. 对于反义核酸技术, 这种现象说明了导入细胞的核酸序列如果与小 RNA 高度互补, 不仅可以束缚小 RNA, 而且还可能导致小 RNA 的降解, 所以反义核酸技术不仅可能会成为研究小 RNA 功能的一个重要手段, 也可能具有重要的临床应用潜力. 对于目前正在农学和医学上广泛应用的 RNA 干扰技术, 这提示了设计引入与靶标高度互补的小 RNA, 如果末端不进行保护, 可以导致小 RNA 的尿苷化或腺苷化降解, 其作用效果未必高于互补程度低的小 RNA. 另外, 小 RNA 末端最后一个核苷酸是尿苷酸可能也不利于小 RNA 的稳定.

1.2 小 RNA 前体的尿苷化

目前小 RNA 前体的尿苷化只在 miRNAs 的前体(pre-miRNAs)中发现, 并且成熟 miRNA 末端尿苷酸的添加有一些可能是 pre-miRNA 尿苷化的遗迹^[13]. 另外, 由于尿苷化会造成一些 pre-miRNA 降解而难以发现, pre-miRNA 水平的尿苷化可能比想象的更高^[24]. pre-miRNA 尿苷化的结果有两种: 引发 pre-miRNA 降解及促进其加工成活性 miRNA.

1.2.1 尿苷化引发 pre-miRNA 降解

具有抑癌作用的 let-7 miRNA 的前体 pre-let-7 miRNA 最早发现可以被尿苷化. 在干细胞或癌细胞中, Lin-28 蛋白可以识别并结合到 pre-let-7 颈环部的 GGAG 基序上, 招募尿苷转移酶 Zcchh11 或 Zcchc67 (TUTase)对 pre-let-7 进行 3' 端尿苷化, 结果阻断

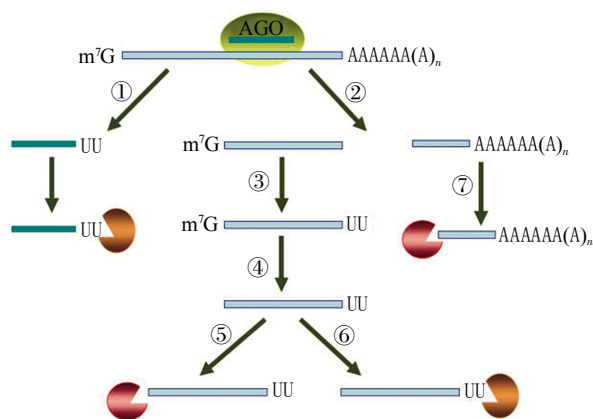


Fig. 1 Targets directed miRNA uridylation and the uridylation of 5' fragments of mRNA cleaved by miRNAs

图 1 靶标指导的 miRNA 尿苷化和 mRNA 被 miRNAs 内切后 5' 端上游片段的尿苷化

①靶标指导的 miRNA 尿苷化及降解, ②mRNA 被 miRNAs 内切, ③ 5' 片段的末端尿苷化, ④ 5' 片段的脱帽, ⑤ 5'→3' 方向的降解, ⑥尿苷酸特异性酶 Dis3L2 进行 3'→5' 方向的降解, ⑦ 3' 片段的 5'→3' 方向降解.

了 pre-let-7 的加工, 并导致其降解不能形成 miRNA. 而在分化的细胞中, 因为 Lin-28 不能表达, 成熟的 let-7 miRNA 得以产生^[25-26]. Lin28 与 pre-let-7 miRNA 就像一个调节细胞分化的开关, 从线虫到哺乳动物都非常保守, 基于其在干细胞和癌生物学中的作用, 其中的尿苷酸转移酶可能将会成为理想的抗癌药物靶标^[8]. 以后 pre-miRNA 的尿苷化现象又在 pre-miR-1 发现: 在正常的心肌组织中, MBNL1 (muscleblind-like splicing regulatory protein 1) 蛋白可以结合到 pre-miR-1 的颈环部阻止 Lin-28 的结合, 当 MBNL1 的结合序列突变时, Lin-28 结合到 pre-miR-1 上, 使后者尿苷化降解而不能形成活性 miRNA, 导致心脏肌强直性营养不良发生^[7]. 除了这两种 pre-miRNA 之外, 其他具有 Lin-28 结合位点的 pre-miRNA, 如 pre-miR-107、pre-miR-143 和 pre-miR-200c 推测也可以发生尿苷化降解^[25]. 最近的研究发现, Lin28 通过影响 let-7 miRNAs 的表达, 不仅可以提高癌细胞对化疗药物的耐药性, 还可以促进癌症的复发, 所以 Lin28 有望成为克服癌细胞化疗耐药性的重要靶标, 如乳腺癌^[27]. 目前 Lin28 是否还涉及其他的 pre-miRNA 或是否还存在其他类似 Lin28 的蛋白因子还不清楚.

1.2.2 尿苷化促进 pre-miRNA 的加工. 这些 pre-miRNA 的结构往往不同于典型的 pre-miRNA, 所以形成了特殊的加工方式. 例如: 因为 miR-451 前体的颈环结构比典型的 pre-miRNA 较短, 结果 pre-miR-451 形成以后, 加工过程不是通常的 Dicer 剪切, 而是先进行末端尿苷化, 再进行 3' 端外切缩短, 直到形成成熟 miRNAs^[28]. let-7 亚家族的部分 pre-miRNAs 在 3' 端只有 1 nt 单链突出, 而不是典型的 2 nt 突出, 所以这些 pre-miRNAs 往往先在 3' 端进行单尿苷化延长 1nt, 形成典型的 pre-miRNA 结构再进一步加工^[29]. Mirtron 也是 miRNA 一个重要的来源, 其加工过程中也会形成类似 pre-miRNAs 的结构, 这些 pre-miRNAs 很多也需要先进行尿苷化再加工成活性 miRNAs^[30].

2 mRNA 被 miRNA 或 siRNA 内切后上游片段的尿苷化

miRNA 的作用方式主要有两种: 内切 mRNA 或抑制翻译, 这很大程度上决定于其与靶标之间的互补程度, 当错配较多时往往引发翻译抑制, 如大多数动物 miRNAs, 当完美或近完美互补时可以导致靶标内切(图 1②), 如大多数植物 miRNAs^[31].

mRNA 被内切后产生的下游片段一般在 5' → 3' 方向被彻底降解(图 1⑦), 而上游片段的降解过程较复杂. 在果蝇中, 可以被 Xrn 和 exosome 分别从 5' 及 3' 端降解^[32]. 而拟南芥、小鼠和 Epstein-Barr 病毒 mRNA 的上游片段, 往往先要在 3' 端加一个寡聚尿苷酸尾巴, 再进行脱帽及 5' → 3' 方向降解(图 1③④⑤⑥)^[33]. 从人类中的研究发现, 添加的尿苷酸尾巴可以被 LSM1-7 复合物识别结合, 不仅导致该片段脱帽及 5' → 3' 方向降解; 同时还可以抑制 3' → 5' 方向的降解^[34]. 除了 miRNAs 之外, siRNAs 的内切 mRNA 产物也有这种现象, 如莱茵衣藻 mRNA 被 siRNAs 的内切产物, 但与上面不同, 末端添加的为一个腺苷酸尾巴, 并且该尾巴促进上游片段的 3' → 5' 降解, 而不是脱帽及 5' → 3' 方向的降解^[35]. 以后又发现病毒 mRNA 被 siRNAs 内切后也有尿苷化降解现象^[36]. 从上述可以看出 miRNAs 或 siRNA 与靶标之间高度的互补关系不仅可以导致靶标的内切(图 1②)^[31], 而且也可以导致 miRNAs 或 siRNA 自身的尿苷化降解(图 1①)^[9]. 但是互补程度对两者的影响效果可能不一样, 因为两者内部形成 bulges 错配时, 可以抑制 miRNAs 对靶标的内切^[37], 但不抑制 miRNA 的自身尿苷化降解^[38]. 推测 miRNAs 的 3' 端与靶标的高度互补关系对 miRNA 的自身尿苷化非常重要, 但对其内切活性的影响程度还不清楚.

3 组蛋白 mRNA 的尿苷化

真核生物 mRNA 的 3' 端通常具有 poly(A) 尾巴, 但组蛋白 mRNA 的 3' 端没有 poly(A), 而是形成特殊的颈环结构, 导致其降解方式也不同于其他真核生物的 mRNA. 组蛋白 mRNA 通常只在细胞分裂的 S 期表达, 在 DNA 复制完成或复制受阻后会迅速降解, 以维持组蛋白与 DNA 之间的数量平衡. 其降解过程往往需要在后面添加一个 8~10nt 的尿苷酸尾巴, 尿苷酸转移酶失活可以阻止其降解, 说明尿苷化是降解必需的^[39-41]. 以前曾经认为催化尿苷化的酶为 PAPD1 (TUTase1) 或 PAPD5 (TUTase3), 但最近发现实际可能是 ZCCHC11^[42]. 组蛋白 mRNA 降解的具体过程是: 在 DNA 复制完成或复制受阻后, 核糖体可以招募无义介导 mRNA 降解(nonsense-mediated mRNA decay, NMD) 途径中的 Upf1 因子, Upf1 再招募 ZCCHC11 以及降解相关的酶在 5' → 3' 或 3' → 5' 两个方向上降解组蛋白 mRNA, 其中核酸酶 Xrn1 在脱帽后从 5' 端方

向的降解最重要(图 2a)^[41, 43]. 在 3'端方向的降解过程中, 可能需要经历多次重复尿苷化, 才能使末端的颈环结构被外切核酸酶 Eri1(exoribonuclease 1)彻底降解, 其中 Upf1 可以起解链酶的作用^[44]. 这种尿苷化增强颈环结构降解的现象也发生在肺腺癌转移相关转录物 1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1) 的 RNA 上,

在人类的很多癌症中, MALAT1 位点会转录一些非编码 RNAs, 这些 RNA 没有 poly(A) 尾巴, 但有颈环结构^[45-46]. 3'端同样具有颈环结构的原核生物 mRNA, 也有相似的末端修饰, 但添加的为 poly(A), 而非 poly(U), 且 poly(A)的作用主要是促进 mRNA 3'→5'方向的降解^[47], 而不像组蛋白 mRNA 中, 增强 5'端的脱帽降解.

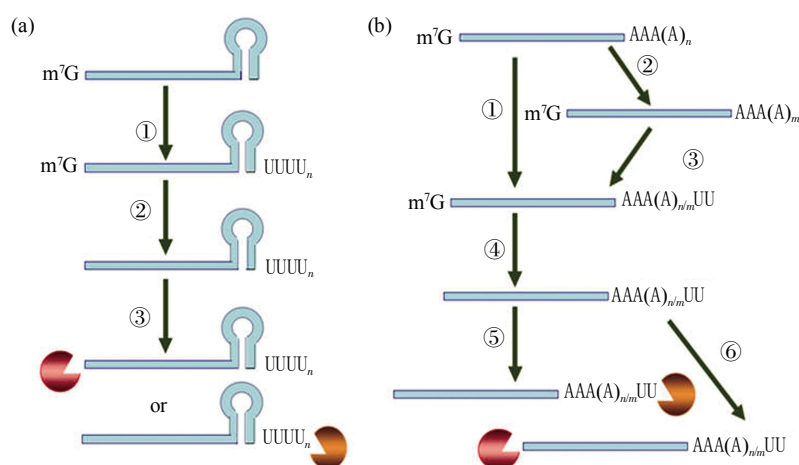


Fig. 2 The uridylation and degradation of histone mRNAs and polyadenylated mRNAs

图 2 组蛋白 mRNAs 和多聚腺苷化 mRNAs 的尿苷化降解

(a) 组蛋白 mRNAs 的尿苷化降解: ①组蛋白 mRNA 的尿苷化, ②组蛋白 mRNA 的脱帽, ③组蛋白 mRNA 在 5'端被 Xrn1 降解, 在 3'端被 Eri1 或 Dis3L2 降解. (b) 多聚腺苷化 mRNAs 的尿苷化降解: ①多聚腺苷化 mRNAs 的直接尿苷化, ②-③多聚腺苷化的 mRNAs 部分脱腺苷化后的尿苷化, ④mRNA 的脱帽, ⑤mRNAs 在 3'端被 Dis3L2 降解, ⑥mRNA 在 5'端被 Xrn1 降解.

4 mRNA 的 poly(A)尾巴后的尿苷化

这种现象最早在布氏锥虫的线粒体 mRNA 中发现: 这些 mRNA 以多顺反子形式转录, 经过剪切、编辑及末端添加 poly(A)后成熟. poly(A)有 2 种相反的功能: a. 促进未编辑过的 mRNA 进行 3'→5'降解; b. 稳定编辑过的 mRNA, 阻止在 3'→5'方向降解^[48]. 但这些被 poly(A)稳定的 mRNA 可以通过 RET1 在 poly(A)后添加一个尿苷酸组成的尾巴后降解, 推测尾巴的作用可能是: a. 招募尿苷酸特异性的核酸酶; b. 形成富含 AU 的元件(AU-rich element, ARE); c. 末端形成 poly(A)/poly(U) 双链 RNA^[49]. 后来, 这种现象又在粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)^[50]和构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)^[51]两种真菌的细胞质 mRNA

中发现: 酵母中, 尿苷化多发生在没有脱腺苷化的完整 poly(A)后, 一般只有 1~2nt 长, 极少数没有 poly(A)的 mRNA 后面具有 8nt 或 15nt 的尿苷酸尾巴^[50]. 与酵母尿苷酸转移酶 Cid1 同源的 CutA 或 CutB 催化了构巢曲霉 mRNA 的 3'端修饰, 但是这种修饰一般发生在 poly(A)尾巴缩短到 15nt 左右时, 而且添加的核苷酸为尿苷酸和胞苷酸两种, 序列多为 CUCU^[51]. 虽然构巢曲霉中 Lsm1-7 的相关研究还很少, 推测两种真菌中这种修饰的功能都是招募 Lsm1-7 和脱帽相关的复合物, 促进 mRNA 的脱帽降解(图 2b)^[50, 46]. 最近发现, 这种现象也存在于拟南芥的细胞质 mRNA, 一般通过两种情况引发: a. NMD 过程引发, 修饰发生在未脱腺苷化的 poly(A)后, 添加的核苷酸多为尿苷酸, 这种修饰对于 NMD 过程不需要, 但是可以促进带有提前终

止密码子 (premature termination codons, PTC) 的 mRNAs 与核糖体解离及脱帽降解, 以清除有缺陷的 mRNA 及防止产生异常蛋白质; b. poly(A) 的缩短引发, 推测在这些缺陷 mRNA 上的翻译终止过程中发生了类似 NMD 的事件, 导致这些 mRNA 末端被尿苷化修饰后降解^[5]。有趣的是, 生物中 NMD 的靶标 mRNA 可以通过 3 种方式降解: 内切途径、脱腺苷化途径以及脱腺苷化依赖性或非脱腺苷化依赖性的脱帽途径。最近揭示拟南芥中的降解方式属于非脱腺苷化依赖性脱帽途径^[52], 哺乳动物^[53]和酵母^[54]中也存在这种方式, 但拟南芥中 NMD 引发的尿苷化现象是否也存在于这两类生物中目前还没有相关报道。而酵母正常 mRNA poly(A) 后面的尿苷化修饰如何引起, 及作者观察到的极少数脱 poly(A) mRNA 的尿苷化是否也是类似 NMD 的过程引发, 也还需要进一步的研究。

近来发现一些病毒 mRNA 在 poly(A) 完全去除后也可以发生尿苷化, 然而尿苷化并没有引发病毒 mRNA 降解, 却成为了病毒 poly(A) 重建的平台^[55], 目前这种机制还不清楚, 但该途径可能有望成为新的抗病毒靶标。

5 U6 snRNA 的尿苷化

新转录的 U6 snRNA 在其 3' 端往往有连续的 4 个尿苷酸, 但哺乳动物中, 大多数成熟的 U6 snRNA 末端除了上述 4 个尿苷酸外, 还有 1 个非模板转录来的尿苷酸, 且形成 2', 3' 环磷酸形式, 少数 U6 snRNA 末端的尿苷酸尾巴较长, 可以达到 20nt^[56]。在催化 pre-mRNA 拼接的过程中, U6 snRNA 的 3' 端处于一个动态平衡中, 可以不断尿苷化延长和去尿苷化缩短, 一个 U6 snRNA 特异性的尿苷酸转移酶 TUTase 涉及尿苷化过程^[57], 而 3'→5' 外切核酸酶 USB1 催化末端的缩短, 以利于形成 3' 端环磷酸形式, USB1 功能缺失可以导致皮肤异色病合并中性粒细胞减少症发生^[58]。可见 U6 snRNA 末端的修饰对其损伤后的恢复, 及其再循环利用具有重要意义。

6 思考与展望

越来越多的研究揭示尿苷化可能是真核生物 RNA 一种非常重要的修饰方式, 这种修饰的一个重要功能可能是充当 RNA 降解的标记, 或降解复合物最初的组装平台。由于很多外切核酸酶对 RNA 的颈环机构比较敏感, 所以组蛋白 mRNA 的

尿苷化与原核生物的 mRNA 腺苷化非常相似, 一个重要功能是降解 RNA 颈环机构。此外, 真核生物 mRNA 的尿苷化还有利于 mRNA 脱帽降解, 而原核生物 mRNA 的腺苷化还有利于 mRNA 内切降解体 (degradosome) 复合物的组装^[59], 所以修饰的另一个重要功能可能是将靶标引入一个更有效的降解途径。有趣的是为什么修饰从原核生物的 poly(A) 转变成了真核生物的 poly(U)。推测也许由于原核生物 ρ 依赖性的终止子产生的 mRNA 末端往往都有一串 U, 所以 U 不可能成为原核生物 mRNA 降解的标记, 而 A 是 4 种核苷酸中丰度最高的, 于是原核生物形成了 poly(A) 作为 mRNA 降解标记的机制。至于这种标记到真核生物为什么转化成了 poly(U), 推测以后 poly(A) 获得了其他功能, mRNA 末端也不再有一串 U, 且催化修饰的这些酶来自于模板依赖性的酶, 所以专一性从 AU 碱基对中的 A 转而偏向于 U, 使真核生物 mRNA 的修饰主要是 poly(U), 而非 poly(C) 或 poly(G), 一些低等真核生物, 如衣藻, 同一种酶可以催化两种降解标记的形成就说明了这一点^[12, 35]。

真核生物中, 由于原来发现的很多核酸酶对末端尿苷酸尾巴都比较敏感, 尿苷化的第 3 个功能可能是将要降解的 RNA 引入一个普遍存在, 但目前我们还不十分了解的“新”的降解途径, 这些具有尿苷酸特异性的核酸酶也是最近刚刚发现, 如动物 Dis3L2 及植物 SOV, 推测 Dis3L2 可能涉及尿苷化的组蛋白 mRNA 或尿苷化的小 RNA 的降解^[60-61]。由于已经发现 Eri1 可以降解尿苷化的组蛋白 mRNA^[44], 所以 Dis3L2 与 Eri1 之间的关系需要进一步的研究证明。但 Dis3L2 降解尿苷化小 RNA 的推测得到了证实, 如它可以降解尿苷化的 pre-let-7 miRNA, 并且研究发现在 Perlman 综合征中该酶发生了突变, 导致极易患上 Wilms 癌^[62]。原来认为 miRNA 或 siRNA 内切 mRNA 产生的上游片段的尿苷化促进该片段 5'→3' 方向降解, 同时抑制 3'→5' 方向的降解^[34], 尿苷酸特异性的核酸酶的发现揭示这些片段也可以进行 3'→5' 方向的降解 (图 1 ⑦)^[60]。小 RNA 长度很短, 无需尿苷化也可以迅速降解, 而且成熟 miRNAs 的大小在不同发育时期和组织中可以发生变化, 3' 端的核苷酸添加是一个重要原因, 修饰的主要方式就是尿苷化或腺苷化^[63], 从而可以形成多种 miRNA 的功能异构体 (isomiRs)^[3], 所以小 RNA 尿苷化的一个重要功能可能是基因表达调节的一种方式。

目前真核生物与翻译相偶联的 mRNA 质量控制已经发现了 4 种: 如 NMD、No-go 降解 (No-go decay, NGD)、Non-stop 降解 (Non-stop decay, NSD) 及核糖体延伸介导的降解 (ribosome extension-mediated decay, REMD) 等^[64]。由于 NMD 可以引发 mRNA 完整 poly(A) 后的尿苷化, 翻译过程可以引发 poly(A) 缩短的 mRNA 尿苷化降解^[5], 而组蛋白 mRNA 尿苷化也具有翻译依赖性^[41, 43], 所以 mRNA 的尿苷化可能也是一种与翻译偶联的 mRNA 质量控制机制。由于真核生物 mRNA 存在广泛的转录后拼接, 其中拼接产生的含 PTC 的 mRNA 几乎可以达到拼接总产物的 30%^[65], NMD 引发尿苷化现象的发现揭示, NMD 不仅可以将该过程中异常蛋白质进行泛素化标记降解^[66], 还可以将缺陷的 mRNA 进行尿苷化标记的降解。

总之, RNA 尿苷化可能代表一种新的转录后基因表达调节机制, 但现在我们对此还了解甚少, 将来一方面应该深化作用机制的研究, 另一方面也应深化对相关重要酶的结构研究, 以增强我们对基因表达调控机制的认识, 积极开发新药更好地应用于临床医学。

参 考 文 献

- [1] Choi Y S, Patena W, Leavitt A D, *et al.* Widespread RNA 3'-end oligouridylation in mammals. *RNA*, 2012, **18**(3): 394-401
- [2] Kim Y K, Heo I, Kim V N. Modifications of small RNAs and their associated proteins. *Cell*, 2010, **143**(5): 703-709
- [3] Neilson C T, Goodall G J, Bracken C P. IsomiRs—the overlooked repertoire in the dynamic microRNAome. *Trends Genet*, 2012, **28**(11): 544-549
- [4] Ameres S L, Horwich M D, Hung J H, *et al.* Target RNA-directed trimming and tailing of small silencing RNAs. *Science*, 2010, **328**(5985): 1534-1539
- [5] Morozov I Y, Jones M G, Gould P D, *et al.* mRNA 3' tagging is induced by nonsense-mediated decay and promotes ribosome dissociation. *Mol Cell Biol*, 2012, **32**(13): 2585-2595
- [6] Hagan J P, Piskounova E, Gregory R I. Lin28 recruits the TUTase Zcchc11 to inhibit let-7 maturation in mouse embryonic stem cells. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, **16**(10): 1021-1025
- [7] Treiber T, Treiber N, Meister G. Regulation of microRNA biogenesis and function. *Thromb Haemost*, 2012, **107**(4): 605-610
- [8] Lehrbach N J, Armisen J, Lightfoot H L, *et al.* LIN-28 and the poly (U) polymerase PUP-2 regulate let-7 microRNA processing in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, **16**(10): 1016-1020
- [9] Piskounova E, Polyarchou C, Thornton J E, *et al.* Lin28A and Lin28B inhibit let-7 microRNA biogenesis by distinct mechanisms. *Cell*, 2011, **147**(5): 1066-1079
- [10] Li J, Yang Z, Yu B, *et al.* Methylation protects miRNAs and siRNAs from a 3'-end uridylation activity in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 2005, **15**(16): 1501-1507
- [11] Dölken L, Perot J, Cognat V, *et al.* Mouse cytomegalovirus microRNAs dominate the cellular small RNA profile during lytic infection and show features of posttranscriptional regulation. *J Virol*, 2007, **81**(24): 1371-1382
- [12] Ibrahim F, Rymarquis L A, Kim E J, *et al.* Uridylation of mature miRNAs and siRNAs by the MUT68 nucleotidyltransferase promotes their degradation in *Chlamydomonas*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(8): 3906-3911
- [13] Burroughs A M, Ando Y, de Hoon M J, *et al.* A comprehensive survey of 3' animal miRNA modification events and a possible role for 3' adenylation in modulating miRNA targeting effectiveness. *Genome Res*, 2010, **20**(10): 1398-1410
- [14] Kamminga L M, Luteijn M J, den Broeder M J, *et al.* Hen1 is required for oocyte development and piRNA stability in zebrafish. *EMBO J*, 2010, **29**(21): 3688-3700
- [15] Zhao Y, Yu Y, Zhai J, *et al.* The *Arabidopsis* nucleotidyl transferase HESO1 uridylates unmethylated small RNAs to trigger their degradation. *Curr Biol*, 2012, **22**(8): 689-694
- [16] Jones M R, Quinton L J, Blahna M T, *et al.* Zcchc11-dependent uridylation of microRNA directs cytokine expression. *Nat Cell Biol*, 2009, **11**(9): 1157-1163
- [17] van Wolfswinkel J C, Claycomb J M, Batista P J, *et al.* CDE-1 affects chromosome segregation through uridylation of CSR-1-bound siRNAs. *Cell*, 2009, **139**(1): 135-148
- [18] Baccarini A, Chauhan H, Gardner T J, *et al.* Kinetic analysis reveals the fate of a microRNA following target regulation in mammalian cells. *Curr Biol*, 2011, **21**(5): 369-376
- [19] Ishizu H, Nagao A, Siomi H. Gatekeepers for Piwi-piRNA complexes to enter the nucleus. *Curr Opin Genet Dev*, 2011, **21**(4): 484-490
- [20] Ketting R F. The many faces of RNAi. *Dev Cell*, 2011, **20**(2): 148-161
- [21] Kamminga L M, van Wolfswinkel J C, Luteijn M J, *et al.* Differential impact of the HEN1 homolog HENN-1 on 21U and 26G RNAs in the germline of *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Genet*, 2012, **8**(7): e1002702
- [22] Libri V, Miesen P, van Rij R P, *et al.* Regulation of microRNA biogenesis and turnover by animals and their viruses. *Cell Mol Life Sci*, 2013, **70**(19): 3525-3544
- [23] Wang Y, Jiang L, Ji X, *et al.* Hepatitis B viral RNA directly mediates down-regulation of the tumor suppressor microRNA miR-15a/miR-16-1 in hepatocytes. *J Biol Chem*, 2013, **288**(25): 18484-18493
- [24] Newman M A, Mani V, Hammond S M. Deep sequencing of microRNA precursors reveals extensive 3' end modification. *RNA*, 2011, **17**(10): 1795-1803
- [25] Heo I, Joo C, Kim Y K, *et al.* TUT4 in concert with Lin28 suppresses microRNA biogenesis through pre-microRNA uridylation. *Cell*, 2009, **138**(4): 696-708

- [26] Thornton J E, Chang H M, Piskounova E, *et al.* Lin28-mediated control of let-7 microRNA expression by alternative TUTases Zcchc11 (TUT4) and Zcchc6 (TUT7). *RNA*, 2012, **18**(10): 1875–1885
- [27] Lv K, Liu L, Wang L, *et al.* Lin28 mediates paclitaxel resistance by modulating p21, Rb and Let-7a miRNA in breast cancer cells. *PLoS One*, 2012, **7**(7): e40008
- [28] Cheloufi S, Dos Santos C O, Chong M M, *et al.* A dicer-independent miRNA biogenesis pathway that requires Ago catalysis. *Nature*, 2010, **465**(7298): 584–589
- [29] Heo I, Ha M, Lim J, *et al.* Mono-uridylation of pre-microRNA as a key step in the biogenesis of group II let-7 microRNAs. *Cell*, 2012, **151**(3): 521–532
- [30] Westholm J O, Ladewig E, Okamura K, *et al.* Common and distinct patterns of terminal modifications to mirtrons and canonical microRNAs. *RNA*, 2012, **18**(2): 177–192
- [31] Jones-Rhoades M W, Bartel D P, Bartel B. MicroRNAs and their regulatory roles in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 2006, **57**: 19–53
- [32] Ku G, McManus M T. Behind the scenes of a small RNA gene-silencing pathway. *Hum Gene Ther*, 2008, **19**(1): 17–26
- [33] Shen B, Goodman H M. Uridine addition after microRNA-directed cleavage. *Science*, 2004, **306**(5698): 997
- [34] Song M G, Kiledjian M. 3' Terminal oligo U-tract-mediated stimulation of decapping. *RNA*, 2007, **13**(12): 2356–2365
- [35] Ibrahim F, Rohr J, Jeong WJ, *et al.* Untemplated oligoadenylation promotes degradation of RISC-cleaved transcripts. *Science*, 2006, **314**(5807): 1893
- [36] Pantaleo V, Szittyá G, Burgyn J. Molecular bases of viral RNA targeting by viral small interfering RNA-programmed RISC. *J Virol*, 2007, **81**(8): 3797–3806
- [37] Carthew R W, Sontheimer E J. Origins and mechanisms of miRNAs and siRNAs. *Cell*, 2009, **136**(4): 642–655
- [38] Ebert M S, Sharp P A. MicroRNA sponges: progress and possibilities. *RNA*, 2010, **16**(11): 2043–2050
- [39] Mullen T E, Marzluff W F. Degradation of histone mRNA requires oligouridylation followed by decapping and simultaneous degradation of the mRNA both 5' to 3' and 3' to 5'. *Genes Dev*, 2008, **22**(1): 50–65
- [40] Wickens M, Kwak J E. Molecular biology. A tail tale for U. *Science*. 2008, **319**(5868): 1344–1345
- [41] Su W, Slepnev S V, Slevin M K, *et al.* 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
- [42] Schmidt M J, West S, Norbury C J. The human cytoplasmic RNA terminal U-transferase ZCCHC11 targets histone mRNAs for degradation. *RNA*, 2011, **17**(1): 39–44
- [43] Choe J, Kim K M, Park S, *et al.* Rapid degradation of replication-dependent histone mRNAs largely occurs on mRNAs bound by nuclear cap-binding proteins 80 and 20. *Nucleic Acids Res*, 2013, **41**(2): 1307–1318
- [44] Hoefig K P, Rath N, Heinz G A, *et al.* Eri1 degrades the stem-loop of oligouridylated histone mRNAs to induce replication-dependent decay. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, **20**(1): 73–81
- [45] Marzluff W F. Novel 3' ends that support translation. *Genes Dev*, 2012, **26**(22): 2457–2460
- [46] Wilusz J E, Jnbaptiste C K, Lu L Y, *et al.* A triple helix stabilizes the 3' ends of long noncoding RNAs that lack poly(A) tails. *Genes Dev*, 2012, **26**(21): 2392–2407
- [47] Kushner S R. mRNA decay in prokaryotes and eukaryotes: different approaches to a similar problem. *IUBMB Life*, 2004, **56** (10): 585–594
- [48] Kao C Y, Read L K. Opposing effects of polyadenylation on the stability of edited and unedited mitochondrial RNAs in *Trypanosoma brucei*. *Mol Cell Biol*, 2005, **25**(5): 1634–1644
- [49] Ryan C M, Read L K. UTP-dependent turnover of *Trypanosoma brucei* mitochondrial mRNA requires UTP polymerization and involves the RET1 TUTase. *RNA*, 2005, **11**(5): 763–773
- [50] Rissland O S, Norbury C J. Decapping is preceded by 3' uridylation in a novel pathway of bulk mRNA turnover. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, **16**(6): 616–623
- [51] Morozov I Y, Jones M G, Razak A A, *et al.* CUCU modification of mRNA promotes decapping and transcript degradation in *Aspergillus nidulans*. *Mol Cell Biol*, 2010, **30**(2): 460–469
- [52] Mérai Z, Benkovics A H, Nyikó T, *et al.* The late steps of plant nonsense-mediated mRNA decay. *Plant J*, 2013, **73**(1): 50–62
- [53] Frizzell K A, Rynearson S G, Metzstein M M. *Drosophila* mutants show NMD pathway activity is reduced, but not eliminated, in the absence of Smg6. *RNA*, 2012, **18**(8): 1475–1486
- [54] Nicholson P, Yepiskoposyan H, Metz S, *et al.* Nonsense-mediated mRNA decay in human cells: mechanistic insights, functions beyond quality control and the double-life of NMD factors. *Cell Mol Life Sci*, 2010, **67**(5): 677–700
- [55] Barr J N, Fearn R. How RNA viruses maintain their genome integrity. *J Gen Virol*, 2010, **91**(Pt 6): 1373–1387
- [56] Tazi J, Forne T, Jeanteur P, *et al.* Mammalian U6 small nuclear RNA undergoes 3' end modifications within the spliceosome. *Mol Cell Biol*, 1993, **13**(3): 1641–1650
- [57] Trippe R, Guschina E, Hossbach M, *et al.* Identification, cloning, and functional analysis of the human U6 snRNA-specific terminal uridylyl transferase. *RNA*, 2006, **12**(8): 1494–1504
- [58] Hilcenko C, Simpson P J, Finch A J, *et al.* Aberrant 3' oligoadenylation of spliceosomal U6 small nuclear RNA in poikiloderma with neutropenia. *Blood*, 2013, **121**(6): 1028–1038
- [59] Hankins J S, Denroche H, Mackie G A. Interactions of the RNA-binding protein Hfq with cspA mRNA, encoding the major cold shock protein. *J Bacteriol*, 2010, **192**(10): 2482–2490
- [60] Malecki M, Viegas S C, Cameiro T, *et al.* The exoribonuclease Dis3L2 defines a novel eukaryotic RNA degradation pathway. *EMBO J*, 2013, **32**(13): 1842–1854
- [61] Nagarajan V K, Jones C I, Newbury S F, *et al.* XRN 5' → 3' exoribonucleases: Structure, mechanisms and functions. *Biochim Biophys Acta*, 2013, **1829**(6–7): 590–603
- [62] Chang H M, Triboulet R, Thornton J E, *et al.* A role for the Perlman syndrome exonuclease Dis3L2 in the Lin28-let-7 pathway. *Nature*,

- 2013, **497**(7448): 244–248
- [63] Fernandez-Valverde S L, Taft R J, Mattick J S. Dynamic isomiR regulation in *Drosophila* development. *RNA*, 2010, **16**(10): 1881–1888
- [64] 谢兆辉, 曾强成, 沈 亮, 等 真核生物翻译过程中的 mRNA 质量控制. *生物化学与生物物理进展*, 2013, **40**(1): 22–29
- Xie Z H, Zeng Q C, Shen L, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2013, **40**(1): 22–29
- [65] Boue S, Letunic I, Bork P. Alternative splicing and evolution. *Bioessays*, 2003, **25**(11): 1031–1034
- [66] Shoemaker C J, Green R. Translation drives mRNA quality control. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, **19**(6): 594–601

Uridylation of RNA*

XIE Zhao-Hui^{1,2,3}**

⁽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;

⁽³⁾ Key Biophysical Laboratory of Functional Biomacromolecules of Shandong, Dezhou 253023, China)

Abstract Many RNAs can undergo post-transcriptional modifications, and recent studies have revealed that the nontemplated 3'-end uridines addition (Uridylation) on RNAs may also be a ubiquitous and conserved modification mode previously underappreciated, which occurs in many RNA substrates, such as polyadenylated mRNA, 5' fragments of mRNA cleaved by siRNAs or miRNAs, histone mRNAs, most of currently discovered small RNAs, U6 snRNA, transcriptional start site-associated RNAs, spliced introns, and so on, ranging from algae to humans. These modifications not only play important roles in marking RNA for degradation, promoting or inhibiting RNA biogenesis process, altering RNA activity efficiency and acting as a quality control mechanism of mRNA, but also associate with several human diseases, for example, cancer. In this review, recent achievements of uridylation on small RNAs, mRNA or its cleaved fragments, histone mRNAs and U6 snRNA will be discussed. The applicative perspective of these modifications will be discussed.

Key words uridylation, small RNAs, mRNA, histone mRNAs, U6 snRNA, diseases

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00235

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (30901023).

**Corresponding author.

Tel: 86-13969214206, E-mail: xiezh0523@163.com

Received: July 25, 2013 Accepted: October 16, 2013