

# I 型内含子核酶研究进展\*

李志杰 张翼\*\*

(武汉大学生命科学院, 武汉 430072)

**摘要** I 型内含子核酶作为最早被发现的 RNA 催化剂, 在过去 20 年里得到了深入研究. 相关研究成果使人们在 RNA 的生物学功能、催化特征、结构与折叠特征等方面的认识有了革命性更新. 回顾了 I 型内含子核酶研究的主要进展, 重点对近年来在 I 型内含子核酶的结构和折叠方面所取得的重要成果进行了介绍, 分析和总结.

**关键词** I 型内含子, 核酶, 催化, 结构, 折叠

**学科分类号** Q71

在 I 型内含子核酶被发现之前, 蛋白质一直被认为是唯一具有催化功能的生物大分子. 1982 年, Kruger 等<sup>[1]</sup>报道了在没有蛋白质存在的条件下, 四膜虫 (*Tetrahymena thermophila*) 26 S rRNA 的前体可以在体外自我剪接 (autoexcision 或 self-splicing), 它所含的 I 型内含子 RNA 可以催化核酸主链上的磷酸二酯键断裂和连接反应. 在随后的几年中, 更多的实验事实证明四膜虫 I 型内含子具有和蛋白质酶相似的催化能力<sup>[2]</sup>. 几类其他的 RNA 也相继被证明具有催化活性. 为了与蛋白质酶类相区别, 化学本质为 RNA 的具有催化功能的生物大分子被统称为核酶 (ribozyme).

除了 I 型内含子核酶之外, 过去十几年里陆续发现的核酶主要包括: 锤头状核酶 (hammerhead ribozyme), 发卡状核酶 (hairpin ribozyme), HDV 核酶 (hepatitis delta virus ribozyme), *Neurospora varkud* satellite 核酶, RNase P 核酶, 以及 II 型内含子核酶等<sup>[3]</sup>.

近两年来, 人们又发现两种重要的有催化活性的 RNA: 一种是真核生物剪接体所包含的 U2 和 U6 RNA<sup>[4]</sup>, 另一种是核糖体大亚基 rRNA<sup>[5]</sup>. 核糖体大亚基 rRNA 是目前发现最大的核酶, 它所具有的肽键转移酶活性在已经发现的各种核酶中也显得很特殊, 因为无论其他核酶所催化的反应有多复杂, 其本质都是磷酸酯键转移反应. 另外, 人们通过体外演化 (*in vitro* evolution) 的方法得到了一些可以催化其他生化反应的人工核酶.

## 1 I 型内含子核酶的体外催化

### 1.1 天然 I 型内含子核酶所催化的反应

I 型内含子核酶所催化的典型反应是包括两步磷酸酯键转移反应的 RNA 剪接反应. 在这个反应

中需要镁离子、外源鸟苷或其磷酸化衍生物 (GMP、GDP、GTP). 首先, 一个外源鸟苷的 3' 羟基攻击 5' 剪接位点的磷原子, 并与内含子 5' 的第一个核苷酸形成 3', 5' 磷酸二酯键; 然后, 5' 外显子的 3' 羟基攻击 3' 剪接位点的磷原子, 导致内含子的释放和外显子的连接 (图 1). 这个反应机制是由体外剪接研究得到的, 实验证明此反应中间产物在体内也存在, 表明 I 型内含子在体内的剪接是通过同样的反应机制. 剪接反应释放出 5' 端连有外源 G 的内含子是 I 型内含子自剪接反应的显著特征<sup>[6]</sup>.

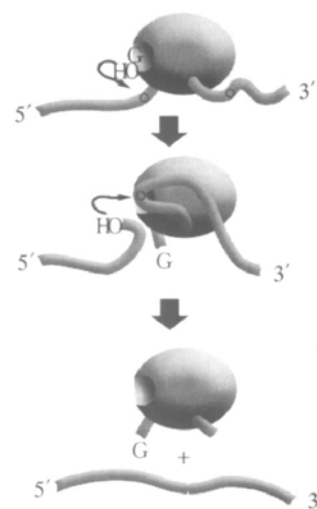


Fig. 1 Self-splicing mechanism of group I introns<sup>[6]</sup>

图 1 I 型内含子的自剪接反应<sup>[6]</sup>

圆圈“○”所在处为剪接位点.

\* 国家自然科学基金资助项目 (30170213).

\*\* 通讯联系人, 武汉大学生命科学院生物技术系.

Tel: 027-87216207, Fax: 027-87669560

E-mail: yizhang@whu.edu.cn

收稿日期: 2002-11-20, 接受日期: 2002-12-28

在剪接反应完成之后,许多内含子还会催化自身的环化反应.由内含子3'羟基攻击接近5'端的一个核苷酸,经过一个转酯反应完成.另外,带有I型内含子的前体RNA在3'剪接位点上,还特别容易发生位点特异性自发水解,水解反应无需外源G的参与<sup>[6]</sup>.

## 1.2 I型内含子核酶衍生物所催化的反应

天然四膜虫内含子核酶所催化的自剪接反应和环化反应均属分子内转酯反应,并不象典型的蛋白质酶那样能够把多个底物转化为产物.但是对I型内含子进行少量的改造所获得的一些RNA分子则具有多次转化底物的能力,这些RNA包括具有位点特异内切酶活性的L-21 *Sca* I (去掉四膜虫I型内含子的前21个核苷酸和最后5个核苷酸)<sup>[7]</sup>和具有连接酶活性的四膜虫内含子核酶<sup>[8]</sup>等.这些I型内含子核酶衍生物不但可以多次转换底物,还具有与蛋白质酶相当的催化效率<sup>[3]</sup>.

## 2 I型内含子的结构

### 2.1 核苷酸序列

目前,在Comparative RNA数据库(<http://www.rna.icmb.utexas.edu>)已收录了1600余种I型内含子序列.I型内含子的核苷酸序列长度分布于约140~4200 nt的范围内,其序列保守性很小.许多长度在1000 nt以上的I型内含子有编码蛋白质的开放阅读框(ORF).研究表明这些冗长的编码序列经常编码具有重要生物学活性的蛋白质.例如,有些ORF编码帮助I型内含子剪接的蛋白质因子,即成熟酶(maturase),对内含子在体内的有效剪接非常重要<sup>[6]</sup>.

### 2.2 二级结构

I型内含子的二级结构呈现出很高的保守性.所有的I型内含子都含有9个特征性的配对区.这些配对区由5'至3'方向被命名为P1~P9(图2),在两个配对区P<sub>m</sub>和P<sub>n</sub>之间的部分被命名为J<sub>m/n</sub>.在一些配对区的顶端是未配对的RNA单链环状区,以与之相邻的配对区来命名,称为L<sub>m</sub>.在不同的I型内含子里,保守的配对区之间常会有额外的配对区,这些配对区按照其上游的保守配对区可以依次命名为P<sub>m.1</sub>,P<sub>m.2</sub>等等<sup>[9]</sup>.

对催化活性很重要的P3与P7是两个远程配对区,它们的两条配对链从核苷酸序列来看相隔很远(图2). *Tetrahymena* 核酶折叠动力学的研究表明,P3与P7的形成是整个核酶形成活性构象的

限速步骤<sup>[10]</sup>.

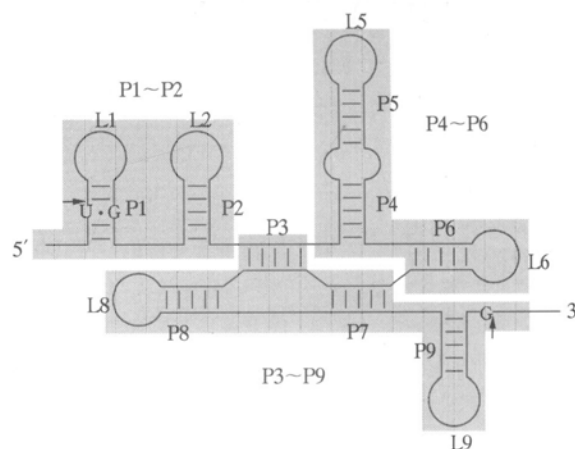


Fig. 2 The conserved secondary structure of group I introns<sup>[6]</sup>

图2 I型内含子的二级结构<sup>[6]</sup>

箭头所指处为剪接位点,各结构域以阴影标出.

### 2.3 三级结构

对四膜虫I型内含子空间结构的研究表明,整个分子可以分为3个结构域,即P1~P2结构域(含P1、P2),P4~P6结构域(含P4、P5、P6),P3~P9结构域(含P3、P7、P8、P9)<sup>[11,12]</sup>.保守配对区中间的非保守配对区也包括在相应的结构域内.在这3个结构域中,P4~P6与P3~P9构成了核酶的催化核心.

最初的I型内含子核酶空间结构模型是由序列同源比较推测得到的.通过对比87种I型内含子的序列,Michel等<sup>[12]</sup>发现,一些发生了协同变异的位点并不能用二级结构解释,因此推测它们在核酶的空间构象中相互接触,起到了稳定空间构象的作用.由此推得的I型内含子核心结构模型是一个紧密的RNA分子.这个模型的主要空间结构特征与后来通过X射线晶体学方法获得的结构基本一致.

1996年, *Tetrahymena* 内含子P4~P6区的晶体结构被解析出来.晶体结构显示,P4~P6区RNA在P5部分有一个150°的弯折.被称为P5abc的部分与P4、P5和P6并排靠在一起,形成了一个紧密的发夹形状.为这种形状提供稳定力量的是一个由2个镁离子介导的主链接触和一个核糖介导的主链接触<sup>[13]</sup>.1998年,构成 *Tetrahymena* 核酶催化核心的P4~P6与P3~P9结构域的晶体被解析出来.这个结构表明核酶RNA折叠成了规则紧密的形状,非常类似蛋白质酶的构造.P4~P6与单独结晶时的构象相比没有大的改变,仍旧呈发夹

状. P3~ P9 绕在 P4~ P6 的一边, 两个结构域一起形成了一个裂隙, 可以容纳包含 5' 剪接位点的短双螺旋. P7 没有采取正常 RNA 双螺旋的 A 构象, 而是形成了一个适合结合鸟苷的口袋形状. 这清楚地显示了一个在没有底物情况下已预先折叠好的催化结构<sup>[11]</sup> (图 3a~ h). 这些结构充分证明了大 RNA 分子可以形成紧密有序的空间构象来执行其催化功能.

## 2.4 与催化相关的结构要素

### 2.4.1 5' 剪接位点的选择——内部引导序列 (internal guiding sequence, IGS):

I 型内含子核酶对于底物的识别, 和对于切割位点的选择, 是通过与底物进行碱基配对实现的. 参与形成 P1 的两条链中, 3' 链完全来自于内含子, 称为内部引导序列 (IGS), 它与底物序列配对, 形成的 P1 伸入核酶的催化中心, 使位于底物链 5' 剪接位点上的磷原子暴露在亲核基团的附近, 导致位点特异的 RNA 分子内部切割.

在 5' 剪接位点前的外显子碱基通常为 U, 与

之相配对的内含子 IGS 碱基为 G, 它们形成的 U•G 配对是剪接位点的特征碱基对. 这个位置的 U•G 碱基对在所有的 I 型内含子中均是保守的, 说明其在剪接中的重要性<sup>[12]</sup>. 对四膜虫内含子的研究表明, Watson-Crick 标准碱基配对不能代替这个 U•G 对. 若用 G•C 取代 U•G, 虽然可以保持剪接位点不变, 但是剪接反应的  $K_{cat}/K_m$  减小到原来的 1/100. 唯一可以较好取代这个 U•G 配对的也是一个非标准的碱基配对, 即 C•A 配对<sup>[6]</sup>.

### 2.4.2 3' 剪接位点的选择:

序列分析显示, 与 IGS 有部分重叠的一段短序列可以与接近剪接位点的 3' 外显子形成称为 P10 的配对区. 虽然 P10 对 3' 剪接位点的定位有所贡献, 但 3' 剪接位点的选择并不依赖于 P10 的形成. 由 3' 剪接位点上游和 P7 下游的几个核苷酸形成的远距配对 P9.0 对 3' 剪接位点的定位起很重要的作用. I 型内含子的 3' 最后一个核苷酸通常是一个 G, 称为  $\omega$ G. 突变研究证实  $\omega$ G 与 3' 剪接位点的选择密切相关<sup>[6]</sup>.

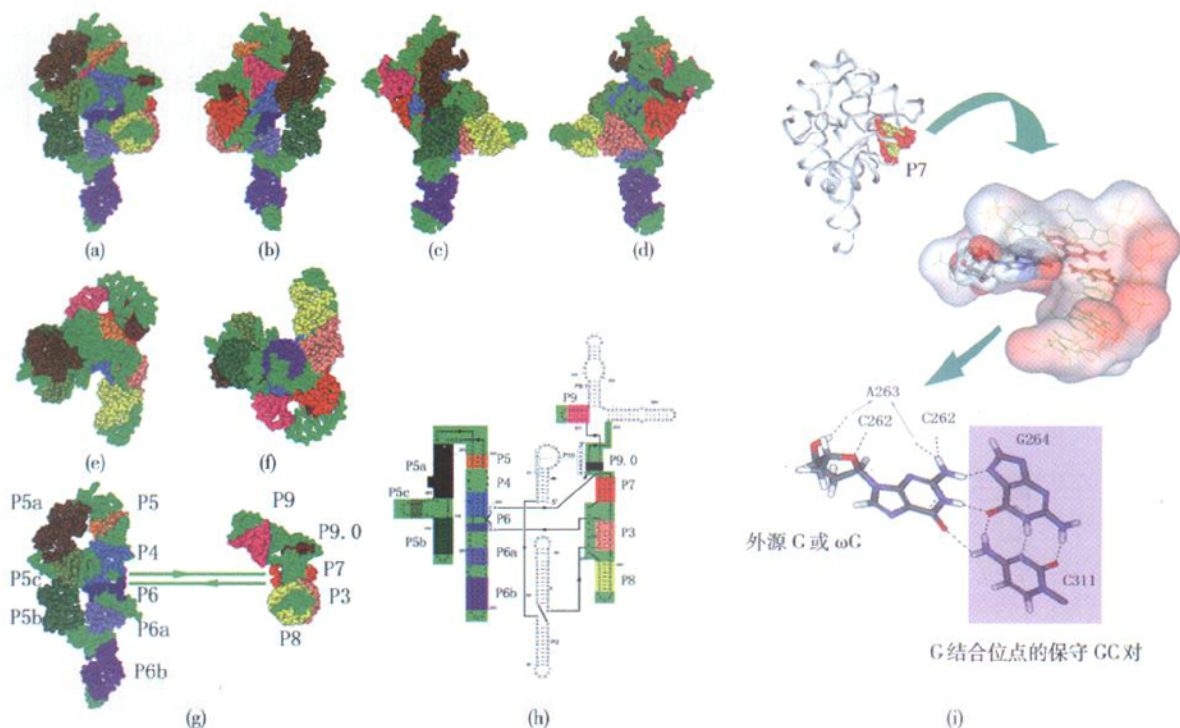


Fig 3 Stereoview of the crystal structure of *Tetrahymena* intron P4~ P6 and P3~ P9 domains with the G binding site being depicted<sup>[11, 14]</sup>

图 3 四膜虫 I 型内含子 P4~ P6 与 P3~ P9 结构域的晶体结构及鸟苷结合位点<sup>[11, 14]</sup>

(a) 正面; (b) 背面; (c) 左面; (d) 右面; (e) 顶面; (f) 底面; (g) 左: P4~ P6 结构域, 右: P3~ P9 结构域; (h) 相应的二级结构, 彩色示结晶中相应的区域, 其中绿色为非配对区, 其余为各配对区; (i) 鸟苷在 I 型内含子上的结合<sup>[14]</sup>. 图中核苷酸编号对应四膜虫 I 型内含子序列, 晶体结构数据来源于 www.pdb.org, (a) ~ (g) 的检索号为 IGRZ, (i) 的检索号为 IK2G. 所有分子结构图用 Accelrys ViewerLite 5.0 生成.

**2.4.3 鸟苷结合位点 (G-binding site):** 包含在 P7 配对区内的一个非常保守的 G•C 对, 被证实是结合外源 G 的位点. 外源 G 与这个 G•C 对形成氢键, 借助形成三体的方式结合在这个位点上<sup>[6]</sup>. NMR 研究显示, 外源 G 的核糖和碱基与空间临近的核苷酸形成了许多额外的氢键 (图 3i), 这些作用进一步增强了核酶与外源 G 的结合力<sup>[14]</sup>.

I 型内含子的剪接反应包括 5' 和 3' 两个位点连续的切割和连接反应, 其中 5' 剪接需要外源 G 的参与, 3' 剪接反应需要  $\omega$ G 帮助定位剪接位点, 而环化反应则需要  $\omega$ G 的 3' 羟基参与. 现在已经证明, G 结合位点是外源 G 与  $\omega$ G 共同的结合位置<sup>[6]</sup>.

**2.4.4 镁离子在 I 型内含子的结构与催化中的作用:** RNA 的某些特性很不利于它成为有效的催化剂. 其中一个很重要的因素就是 RNA 所带的大量负电荷会阻挠核酸主链之间的靠近和活性构象的形成. 研究表明, 许多种单价或多价阳离子对 I 型内含子核酶三级结构的形成具有重要的作用, 但不同阳离子的作用效果不同<sup>[15]</sup>. 毫摩尔浓度的二价金属离子即可以促使 I 型内含子核酶 RNA 折叠成稳定的三级结构, 而达到同样的稳定程度则需要上百倍的一价阳离子浓度<sup>[15]</sup>.

另外, 镁离子等二价金属离子被证明直接参与 I 型内含子核酶的催化反应, 是核酶催化核心的组分之一<sup>[16]</sup>. 值得注意的是, 并不是所有稳定的三级结构都具有催化活性, 研究发现镁离子和其他一些阳离子也可以稳定 I 型内含子核酶 RNA 的错误构象, 从而影响了其催化活性<sup>[17, 18]</sup>.

### 3 I 型内含子的折叠

核酶的发现大大激发了人们对 RNA 折叠问题的研究兴趣, RNA 分子如何形成其具有催化活性的空间结构是核酶研究的核心问题之一. 由于对四膜虫 I 型内含子核酶催化和结构等方面的研究已经有了很好的基础, 同时该核酶分子具有相当的复杂性, 它已经成为 RNA 折叠的重要模型, 并在这些年来得到了深入的研究.

虽然 RNA 与 DNA 都是核酸, 分别由 4 种不同的核苷酸组成, 但它们的生物化学特性却非常不同. 作为遗传物质的 DNA 是由相互配对的双链组成, 双螺旋结构赋予它非常高的稳定性. 通常以单链形式存在的 RNA 则具有很高的分子柔性, 可以形成多种空间结构并承担不同的生物学功能, 包括

识别多种信号和催化多样的生物反应等. 所以, 在分子折叠方面 RNA 更接近蛋白质. RNA 的折叠有两个核心问题: 一是如何从 RNA 的序列预测其结构, 二是 RNA 分子如何折叠成正确构象. 参照蛋白质折叠的理论和四膜虫核酶 RNA 折叠研究的成果, Woodson<sup>[17]</sup> 和 Thirumalai 等<sup>[19]</sup> 先后几次提出 RNA 折叠的理论. 下文讨论其中两个核心理论对 I 型内含子核酶折叠的解释和相关实验证据.

#### 3.1 I 型内含子核酶折叠的开始

带负电荷的 RNA 分子要折叠成紧密构象, 首先要克服由负电荷所引起的静电斥力. 因此, 各种带正电荷离子的介入对 RNA 折叠非常重要. 反离子的存在可以大大缓和 RNA 负电荷所引起的静电斥力, 通常高价离子比低价离子更加有效. Thirumalai 等<sup>[19]</sup> 提出, 与蛋白质折叠和 DNA condensation 类似, RNA 折叠的起始事件是处于伸展状态的 RNA 大分子迅速塌陷 (Collapse) 成较紧密的三级结构. 此理论与 Buchmueller 等<sup>[20]</sup> 的实验结果相符.

Collapse 所形成较紧密的 RNA 三级结构要进一步折叠才能形成紧密的三级结构. 对小分子 RNA 而言, 快速 Collapse 与进一步折叠可能同步发生, 例如, 四膜虫内含子的 P5abc 亚结构域 (56 nt) 的折叠约在 20~35 ms 内完成<sup>[21]</sup>. 对大分子 RNA, 进一步折叠则需要较长的时间, 譬如四膜虫内含子的 P4~P6 结构域 (约 160 nt) 的折叠在 1 s 以内完成, 而全长的内含子 (约 400 nt) 的折叠则需要数分钟才能完成<sup>[10]</sup>. 不过, 并不是所有折叠成的紧密 RNA 三级结构都是活性构象. 有些 RNA 分子在折叠中会形成错误的紧密结构而进入折叠的动力学陷阱.

#### 3.2 I 型内含子核酶折叠的途径

Thirumalai 等<sup>[19]</sup> 提出 RNA 折叠的动力学分流机制 (kinetic partition mechanism, KPM) 理论认为: 大分子 RNA 在折叠的初期可能会产生分化, 有一部分 RNA 通过快速途径, 迅速折叠成活性构象; 而一些 RNA 则通过慢途径形成正确构象 (图 4). 对于四膜虫内含子核酶折叠的单分子研究有力地支持了这个理论, 发现大约有 12% 的核酶 RNA 可以较快地折叠成活性构象, 而剩余的核酶分子则需要通过很长时间才能折叠成活性构象<sup>[22]</sup>. 结合 Collapse 理论和相关实验证据, 对四膜虫内含子 RNA 的折叠过程可以描述为: 在镁离子存在的情况下, 少部分四膜虫内含子 Collapse 成含正确碱

基配对的类活性结构 ( $I_s$ ), 然后迅速转化成活性构象 ( $N$ ), 整个过程约在 1 min 内完成, 即快速途径折叠; 大部分内含子 RNA 分子 Collapse 成含有错误碱基配对的非活性构象 ( $I_{NS}$ ),  $I_{NS}$  迅速转化成错误的折叠中间体 ( $I_i$ ), 此中间体因为需要解开错误配对才能形成活性结构, 所以转化过程需要很长的时间 (数小时)<sup>[19, 22]</sup>, 即慢途径折叠 (图 4). 慢途径中错误而稳定的折叠中间体 ( $I_i$ ) 常被称为折叠的动力学陷阱.

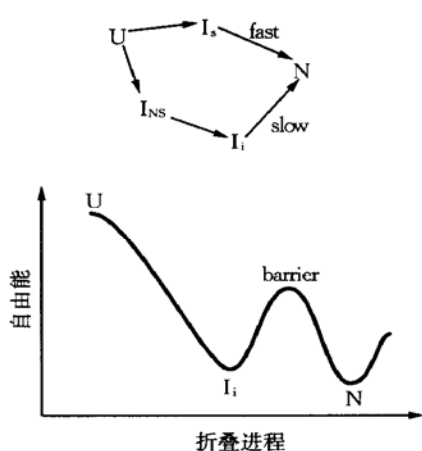


Fig. 4 *Tetrahymena* ribozyme folding pathway<sup>[19-22]</sup>

图 4 四膜虫 I 型内含子的折叠过程<sup>[19-22]</sup>

值得一提的是, 以前的研究中较多偏重于所折叠成的紧密结构而忽略了对其催化活性的跟踪, 导致许多结论的偏差. 这个局面的改变要特别归功于 Zhuang 等<sup>[22]</sup>用单分子荧光共振能量转移 (FRET) 的方法来检测四膜虫核酶 RNA 分子的折叠, 发现人们用其他方法<sup>[11]</sup>研究认为已经折叠完全的核酶分子大部分并不具有催化活性.

前面已经提到, RNA 的长度、序列与其 Collapse 成的构象有密切关系. 长度和序列各异的 I 型内含子很可能由于 Collapse 形成不同性质的构象, 而采取与四膜虫 I 型内含子核酶大相径庭的折叠途径. 与此推测一致的是, 研究发现四膜虫内含子核酶的一些突变体以降低 P4~P6 折叠速度为代价使大部分核酶分子不进入动力学陷阱<sup>[23]</sup>. 另外, 人们发现 I 型内含子 bI 5 的折叠并不进入动力学陷阱. 相反地, 此核酶折叠的限速步骤是从类活性构象转化成活性构象的过程. 原因可能是活性结构的稳定性差 (自由能高), 有趣的是其特异性结合蛋白 CBP2 的作用就在于稳定其活性结构<sup>[20]</sup>. 由

此可见, RNA 折叠机制的研究需要更加深入, 而对不同 I 型内含子 RNA 的研究可为 RNA 折叠机制的阐明提供新线索.

#### 4 I 型内含子在体内的剪接

虽然有些 I 型内含子核酶可以在无蛋白质的条件下独立完成催化反应, 但这种体外剪接通常需要比活细胞内浓度高很多的镁离子, 而且剪接效率也比体内剪接效率低. 另外, 无论镁离子浓度多高, 有许多 I 型内含子在体外不能自我剪接, 而这些内含子的体内剪接均是非常有效的, 例如啤酒酵母的线粒体内含子 bI 4, aI 4a, aI 5b 等. 所以, 一个显而易见的问题是 I 型内含子在体内是如何剪接的. 研究表明, 一些蛋白质辅助因子对 I 型内含子的体内外剪接均有重要作用. 目前已经发现的对 I 型内含子体内外剪接功能很重要的蛋白质因子可以分为两类. 一类是 RNA 结合蛋白, 这类蛋白质是通过与 RNA 特异性结合而稳定 RNA 的正确构象. 例如前面所提到的酵母线粒体的 I 型内含子 bI 5 的特异结合蛋白 CBP2<sup>[20]</sup>. 另一类帮助 RNA 正确折叠的蛋白质是 RNA Chaperone. 与 RNA 结合蛋白不同的是, 它们是通过非特异性结合来阻止 RNA 的错误折叠或解除 RNA 的错误构象<sup>[24, 25]</sup>. I 型内含子自己所编码的成熟酶<sup>[6]</sup>以及一些由其他基因所编码的蛋白质, 对一些 I 型内含子体内剪接的有效进行是必不可少的, 这些蛋白质的具体作用机制目前还不清楚.

#### 5 I 型内含子核酶的应用

除了极个别的 I 型内含子存在于原核生物的噬菌体中, 几乎所有的 I 型内含子都存在于低等真核生物中. 大部分 I 型内含子存在于真体内. 一些病原真菌, 如引起严重免疫型真菌感染的白色念珠菌和卡氏肺囊虫的核糖体 RNA 基因内含有 I 型内含子. 人们也发现一些其他病原体, 如阿米巴虫的核糖体 RNA 基因内也含有 I 型内含子. 因为 I 型内含子的有效和准确剪接是这类病原菌生存的必要条件, I 型内含子有望成为抗真菌感染的靶基因<sup>[26]</sup>.

I 型内含子的 IGS 具有底物结合和识别功能, 通过改变 IGS 的序列可以改变它的底物特异性. 利用这一特点, 人们设计出带有特定 IGS 的核酶来纠正一些疾病相关的错误 mRNA, 这就是由 I 型内含子核酶介导的基因治疗, 例如利用 I 型内含

子纠正镰刀形细胞贫血等<sup>[27]</sup>.

## 6 总结与展望

综上所述, 在过去 20 年的研究里, 科学家们对 I 型内含子核酶的体外催化机制, 折叠和结构进行了系统和深入的研究, 这些研究的重要发现逐渐揭开了这些核酶分子的结构与功能的紧密关系. 对 RNA 折叠问题的研究是近年来大分子结构与功能研究的一个新热点, 而 I 型内含子 RNA 已成为这个领域里最重要的研究模型. 在以前研究的基础上, 对 I 型内含子核酶折叠的深入研究将进一步揭开 RNA 折叠的奥秘. 而对其结合蛋白和 Chaperone 的研究及其在体内折叠的研究将成为本领域的新亮点. 同时, 对其他 I 型内含子核酶 (四膜虫 I 型内含子核酶以外) 的深入研究, 以及通过生物信息学方法对已经发现的 1 600 多种 I 型内含子进行系统分析和研究也是尤为重要的. 因为这些研究不但会加快人们对 RNA 折叠研究的进程, 帮助我们对 I 型内含子结构和功能的关系做出更准确的诠释, 并且可以了解 I 型内含子的起源, 及其在生物发展历史中所扮演过的重要角色提供一些重要线索.

## 参 考 文 献

- 1 Kruger K, Grabowski P J, Zaug A J, *et al.* Self-splicing RNA: autoexcision and autocyclization of the ribosomal RNA intervening sequence of *Tetrahymena*. *Cell*, 1982, **31** (1): 147~ 157
- 2 Zaug A J, Cech T R. The intervening sequence RNA of *Tetrahymena* is an enzyme. *Science*, 1986, **231** (4737): 470~ 475
- 3 Doudna J A, Cech T R. The chemical repertoire of natural ribozymes. *Nature*, 2002, **418** (6894): 222~ 228
- 4 Valadkhan S, Manley J L. Splicing-related catalysis by protein-free snRNAs. *Nature*, 2001, **413** (6857): 701~ 707
- 5 Nissen P, Hansen J, Ban N, *et al.* The structural basis of ribosome activity in peptide bond synthesis. *Science*, 2000, **289** (5481): 920~ 930
- 6 Cech T R. Self-splicing of group I introns. *Annu Rev Biochem*, 1990, **59**: 543~ 568
- 7 Zaug A J, Grosshans C A, Cech T R. Sequence-specific endoribonuclease activity of the *Tetrahymena* ribozyme: enhanced cleavage of certain oligonucleotide substrates that form mismatched ribozyme-substrate complexes. *Biochemistry*, 1988, **27** (25): 8924~ 8931
- 8 Doudna J A, Szostak J W. RNA-catalysed synthesis of complementary-strand RNA. *Nature*, 1989, **339** (6225): 519~ 522
- 9 Burke J M, Belfort M, Cech T R, *et al.* Structural conventions for group I introns. *Nucleic Acids Res*, 1987, **15** (18): 7217~ 7221
- 10 Sclavi B, Sullivan M, Chance M R, *et al.* RNA folding at millisecond intervals by synchrotron hydroxyl radical footprinting. *Science*, 1998, **279** (5358): 1940~ 1943
- 11 Golden B L, Gooding A R, Podell E R, *et al.* A preorganized active site in the crystal structure of the *Tetrahymena* ribozyme. *Science*, 1998, **282** (5387): 259~ 264
- 12 Michel F, Westhof E. Modelling of the three-dimensional architecture of group I catalytic introns based on comparative sequence analysis. *J Mol Biol*, 1990, **216** (3): 585~ 610
- 13 Cate J H, Gooding A R, Podell E, *et al.* Crystal structure of a group I ribozyme domain: principles of RNA packing. *Science*, 1996, **273** (5282): 1678~ 1685
- 14 Kitamura A, Muto Y, Watanabe S, *et al.* Solution structure of an RNA fragment with the P7/P9.0 region and the 3'-terminal guanosine of the *Tetrahymena* group I intron. *RNA*, 2002, **8** (4): 440~ 451
- 15 Grosshans C A, Cech T R. Metal ion requirements for sequence-specific endoribonuclease activity of the *Tetrahymena* ribozyme. *Biochemistry*, 1989, **28** (17): 6888~ 6894
- 16 Piccirilli J A, Vyle J S, Caruthers M H, *et al.* Metal ion catalysis in the *Tetrahymena* ribozyme reaction. *Nature*, 1993, **361** (6407): 85~ 88
- 17 Woodson S A. Compact but disordered states of RNA. *Nat Struct Biol*, 2000, **7** (5): 349~ 352
- 18 Zhang Y, Leibowitz M J. Folding of the group I intron ribozyme from the 26S rRNA gene of *Candida albicans*. *Nucleic Acids Res*, 2001, **29** (12): 2644~ 2653
- 19 Thirumalai D, Lee N, Woodson S A, *et al.* Early events in RNA folding. *Annu Rev Phys Chem*, 2001, **52**: 751~ 762
- 20 Buchmueller K L, Webb A E, Richardson D A, *et al.* A collapsed non-native RNA folding state. *Nat Struct Biol*, 2000, **7** (5): 362~ 366
- 21 Deras M L, Brenowitz M, Ralston C Y, *et al.* Folding mechanism of the *Tetrahymena* ribozyme P4~ P6 domain. *Biochemistry*, 2000, **39** (36): 10975~ 10985
- 22 Zhuang X, Bartley L E, Babcock H P, *et al.* A single-molecule study of RNA catalysis and folding. *Science*, 2000, **288** (5473): 2048~ 2051
- 23 Treiber D K, Williamson J R. Concerted kinetic folding of a multidomain ribozyme with a disrupted loop-receptor interaction. *J Mol Biol*, 2001, **305** (1): 11~ 21
- 24 Schroeder R, Grossberger R, Pichler A, *et al.* RNA folding *in vivo*. *Curr Opin Struct Biol*, 2002, **12** (3): 296~ 300
- 25 Mohr S, Stryker J M, Lambowitz A M. A DEAD-box protein functions as an ATP-dependent RNA chaperone in group I intron splicing. *Cell*, 2002, **109** (6): 769~ 779
- 26 Zhang Y, Li Z, Pilch D S, *et al.* Pentamidine inhibits catalytic activity of group I intron Ca. LSU by altering RNA folding. *Nucleic Acids Res*, 2002, **30** (13): 2961~ 2971
- 27 Sullenger B A, Cech T R. Ribozyme-mediated repair of defective mRNA by targeted, *trans*-splicing. *Nature*, 1994, **371** (6498): 619~ 622

## Progress in Group I Intron Ribozymes\*

LI Zhi Jie, ZHANG Yi\*\*

(Department of Biotechnology, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

**Abstract** As the first RNA catalyst (ribozyme) discovered in nature twenty years ago, group I intron has been extensively studied to understand catalysis, structure and folding of the catalytic RNA, which fundamentally contributes to the current understanding of RNA structure and function. Most of the major topics in group I intron study, emphasizing on the tertiary structure and folding issues that has bloomed in the past several years are reviewed.

**Key words** group I intron, ribozyme, catalysis, structure, folding

\* This work was supported by a grant from The National Natural Sciences Foundation of China (30170213).

\*\* Corresponding author. Tel: 86-27-87216207, Fax: 86-27-87669560, E-mail: yizhang@whu.edu.cn

Received: November 20, 2002 Accepted: December 28, 2002

## 《哈珀生物化学》书讯

### 内容简介

本书为英文原版的第25版, 得到世界许多国家的认同, 并以多种文字出版。国内曾有多所医科大学多年作为英语班的教材使用。全书内容丰富, 编排具有特色, 将结构和功能相似的物质编排在一起。全书六篇。第1至4篇是经典的生物化学内容, 此部分内容精练, 图表简洁明了。第5、6篇反映生物化学与生命科学的发展前沿, 并结合环保等世界关注的问题进行论述。全书注意结合临床, 内容写出了广度和深度, 并有前瞻性。书后附有血液、体液的组成及正常参考值和详尽的索引。本书适合于生命科学有关的教师、学生及临床工作人员。

### 基本资料

主编: [美] 默里 R.K.; 定价: 136.00 元; 字数: 174 万; 出版时间: 2003 年 1 月

### 邮购方式

邮政编码: 100717

地址: 北京市东黄城根北街 16 号

单位: 科学出版社学士书店

联系人: 马达, 万军

联系电话: 010-64030227; 64000246

(全国各大书城均有销售)