

真核生物核酸外切体(exosome)的研究进展*

杨 敏¹⁾ 韩玉珍^{2)**}

(¹⁾河南科技大学农学院, 洛阳 471003; (²⁾中国农业大学生物学院, 植物生理学与生物化学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要 RNA 的加工和降解是调控基因时空表达的重要步骤, 在调节生物体的生长和发育过程中起着至关重要的作用。几乎所有的 RNA 都是从一条长的前体加工处理而来, 形成成熟的 RNA 发挥功能, 之后进行降解。RNA 的降解需要 5'-3' 核酸外切酶、3'-5' 核酸外切酶及核酸内切酶的参与。在真核细胞中, 部分 3'-5' 核酸外切酶所进行的 RNA 降解依赖于一种称为核酸外切体(exosome)的复合物。该复合物由 9 个核心蛋白亚基组成, 已有的证据表明, 其广泛参与了动物、酵母及植物体中多种 RNA 的加工和降解过程。本文综述了真核生物中核酸外切体的研究进展, 讨论了该复合体在 RNA 加工降解过程中的作用机制。

关键词 RNA, 核酸外切体, 真核生物

学科分类号 Q7, Q5, Q94

DOI: 10.16476/j.pibb.2014.0050

RNA 的加工、稳定及降解是基因时空表达的重要步骤, 在调节生物体的生长发育中起重要作用。细胞中几乎所有的 RNA 都是从一条长的前体加工处理而来, 形成成熟的 RNA 发挥其功能, 之后进行降解。研究表明, 在真核细胞中, 存在着大量的内切和外切核糖核酸酶参与 RNA 的加工和降解过程。外切酶主要包括 5'-3' 核酸外切酶和 3'-5' 核酸外切酶。5'-3' 核酸外切酶以 XRN 蛋白家族为代表, 广泛存在于酵母、动物及植物中, 目前已经有较为深入的研究^[1-6]。3'-5' 核酸外切酶所进行的 3'-5' 方向的降解是真核生物中 mRNA 的主要降解途径, 依赖于一种称为核酸外切体(exosome)的复合物^[7-9]。该复合物参与 RNA 的加工和降解过程已在酵母和动物中得到了验证, 且作用机制相似, 而在植物中部分亚基的功能也已经得到了验证, 但作用机制与其他真核生物似乎有不同之处。本文综述了真核生物中核酸外切体的研究进展, 重点讨论该复合体在 RNA 加工和降解过程中的作用机制, 并对植物及其他真核生物外切体的功能进行了比较。

1 核酸外切体的结构特征

核酸外切体的核心是一个由 6 个蛋白亚基组成的环状结构, 这 6 个蛋白都含有保守的 RNase

phosphorolytic (RNase PH) 结构域^[10]。在古菌中, 这 6 个蛋白亚基为两种不同的 RNase PH 类似蛋白, 分别称为核糖体 RNA 加工蛋白 41 (ribosomal RNA-processing protein 41, Rrp41) 和 42 (ribosomal RNA-processing protein 41, Rrp42), 二者形成二聚体, 3 个二聚体构成环状结构。真核生物中外切体的核心结构则由 6 种不同的蛋白质组成^[11], 这 6 个蛋白中 3 个与古菌的 Rrp41 相似, 另外 3 个则与 Rrp42 相似^[12], 分别称为 RRP41、RRP46、MTR3; RRP42、RRP43/OIP2 和 RRP45/PM-Scf175, 形成 3 个异二聚体: RRP41-RRP45、MTR3-RRP42 和 RRP43-RRP46。除了这 6 个蛋白之外, 外切体还包括结合在环状顶端的 3 个蛋白亚基(RRP4、RRP40 和 CSL4), 这 3 个蛋白都含有 S1 结构域(一种 RNA 结合结构域), 其中 RRP4 和 RRP40 还包括 KH 结构域(K-homology domain), 同样可以结合 RNA。在酵母和人体中, 单独的 6 个核心蛋白亚基在体外是不能组装成环状结构的, 只有当顶端

* 国家自然科学基金(30670192)和青年科学基金(31101153)资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 010-62733807, E-mail: hanyuzhen@cau.edu.cn

收稿日期: 2014-05-30, 接受日期: 2014-09-10

的 3 个蛋白存在时才能形成稳定的外切体结构^[10, 13]. 晶体结构分析显示, 这 3 个顶端蛋白可以将 6 个核心蛋白连接: RRP40 连接 RRP45 和 RRP46, RRP4 连接 RRP41 和 RRP42, CSL4 连接 MTR3 和 RRP43, 由此建起桥梁, 形成核酸外切体的稳定结构^[10]. 也有报道认为这些顶端蛋白因为具有 RNA 结合域, 所以它们的功能是将外切体与底物 RNA 相结合以完成核酸外切酶的功能^[14]. 综上所述, 这 9 个蛋白被认为是外切体的核心蛋白. 除此之外, 在真核生物中, 还往往包含 2 个能够与外切体核心相结合的外围蛋白质: Rrp44p/Dis3、Rrp6p/ (PM/ Scl100)^[15-17, 9], 以及一些松散结合的调节蛋白. 其中 Rrp44p 可以和酵母外切体复合物的所有亚基结合, 并且对外切体活性的发挥起着重要的作用^[17-18], 在人体中也有这种同源蛋白的存在, 但是没有证据显示这一同源蛋白可以与人源外切体复合物结合^[19]. 最新的研究表明在拟南芥中 AtRRP44A 承担这一角色^[20]. Rrp6p 在酵母中是细胞核外切体的特

有组分, 但在人体及植物中, Rrp6p 在细胞核和细胞质外切体中都存在^[21-22].

2 核酸外切体在真核生物中的功能

2.1 参与细胞胞质内 mRNAs 的降解

在酿酒酵母中, mRNA 的两条主要降解途径已被详细说明, 并且这两条途径在多数真核生物中是保守的(图 1a), 即 mRNA 的降解首先开始于去掉 3' 端 poly (A) 尾巴的脱腺苷化过程^[23-25], 然后进入两条主要的降解途径: a. 5'-3' mRNA 降解途径, 该途径由定位在 P 小体中的脱帽复合体(包括 DCP1、DCP2、VCS 等组分)脱掉帽子, 使 mRNA 的 5' 端暴露出来, 然后由 5'-3' 核酸外切酶(以动物和酵母中的 XRN1 和植物中的 XRN4 为代表)从 5' 端开始降解 mRNA^[1-4]; b. 3'-5' mRNA 降解途径, 该途径是由胞质核酸外切体发挥 3'-5' 核酸外切酶活性进行的 mRNA 降解过程^[7-9]. 尽管几乎所有 mRNA 的降解都依赖于这两条途径, 但是不同

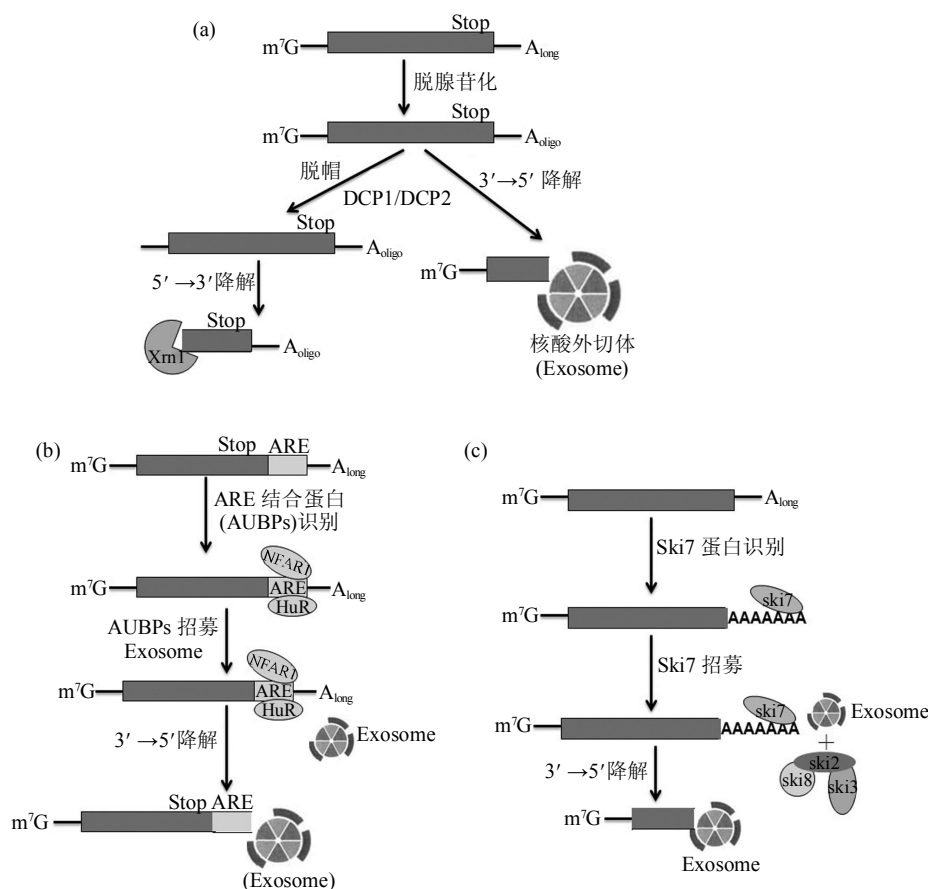


Fig. 1 Exosome involves in the degradation of mRNAs

图 1 核酸外切体(exosome)参与 mRNAs 的降解过程

(a) 真核生物依赖于脱腺苷酸的 mRNA 降解过程. mRNA 降解开始于 poly (A) 尾巴的缩短, 之后进入两条降解途径. (b) 核酸外切体(exosome)参与 ARE-mRNA 的降解过程. (c) 核酸外切体(exosome)参与没有终止子的异常 mRNA 的降解过程. Stop 代表终止子.

的 mRNA 降解速度是不一样的, 例如, 哺乳动物中 3' 非翻译区(UTR)具有 ARE(AU-rich element)的转录本的降解速度相对较快^[26-27]。如图 1b 所示, AREs 能够被 AUBPs (AU-rich elements binding proteins) 识别, 包括 KSRP、HuR、AUF1、tristetraprolin (TTP)、NFAR1 等, 这些蛋白能够与外切体互作, 通过这种互作招募外切体结合到 ARE-RNAs 上, 促进这些 mRNA 的快速降解^[28-31]。

在植物中, 外切体也参与了胞质内 mRNAs 的降解。Chekanova 等利用 tiling microarray 分析, 发现拟南芥 RRP4、RRP41 的突变引起了大量 mRNAs 的积累。qRT-PCR 结果也进一步验证了部分 mRNA 积累的存在, 暗示拟南芥中的这些外切体组分参与了 mRNAs 降解过程。对拟南芥的外切体组分 RRP45 也有报道, 编码 RRP45 的有两个基因: *RRP45A* 和 *RRP45B*, 相应的突变体为: *AtRRP45a* 和 *AtRRP45b (cer7)* 表现出不同程度的表皮蜡质积累减少的表型, 同时 *cer7* 突变体中 *CER3/WAX2/YRE* (一个关键的蜡质生物合成基因) 的转录水平明显降低。作者认为 RRP45B/CER7 参与了一些特异 mRNA 的降解, 这些特异 mRNA 编码的蛋白应该是 *CER3/WAX2/YRE* 的负调控因子^[32]。另外, 中国农业大学韩玉珍课题组^[33]对拟南芥的另外一个可能的核酸外切体组分 RRP41L(RRP41-LIKE)进行了详细的研究报道, 证明了 RRP41L 参与了编码拟南芥种子储藏蛋白 SSPs 及 ABA 合成和信号途径中相关蛋白 mRNA 的降解途径, 影响拟南芥的萌发和早期生长过程。

2.2 参与真核生物中异常 mRNA 的降解

在真核细胞中, 基因的表达通常是由 DNA 到 RNA 再到蛋白质, 该过程需要一系列的监控措施。一方面, 细胞中蛋白质的表达机制极其巧妙: 在“基因表达工厂”中包括了分别负责转录、剪切、mRNA 加工、转运、翻译等过程的“部门”, 这些“部门”相互联系, 共同作用产生错误率极低的蛋白质产物。另一方面, 细胞内存在防止错误产物产生的机制, 将异常的 mRNA 与正常的 mRNA 区分开来, 并将异常的 mRNA 迅速降解, 其中无义密码子介导的 mRNA 的降解 (nonsense-mediated mRNA decay, NMD) 是在 20 多年前被发现并已详细研究的过程, 这种机制所降解的大部分转录产物均包含翻译提前终止的密码子, 即无义密码子, 避免截短的有潜在危害的蛋白产生^[34-36], 这些错误的 mRNAs 都是由前体的错误剪接及无义的突变产生。

后来, 在酵母及哺乳动物细胞质中发现了另外一种纠错机制 (non-stop decay, NSD), 如图 1c 所示: 这种机制旨在降解没有终止子的异常 mRNA (non-stop mRNA)^[37-38]。在酵母中, 大部分 mRNAs 的降解依赖于脱腺苷酸降解途径, 而这种 non-stop 降解机制不依赖于这条途径, 而是需要胞质外切体和 Ski 复合体来完成^[39-40]。酵母 Ski 复合体包含 RNA 解旋酶 Ski2p、Ski3p 和 Ski8p, 这三个 Ski 蛋白组成的复合体定位于细胞质中^[41], 任何一个基因的突变都会使 3'-5' 的降解功能受到抑制, 但是不影响外切体的其他功能^[42], 所以 Ski 复合体被认为是胞质外切体的辅助因子。这个复合体与外切体不能直接互作, 需要另一个配体蛋白 Ski7p, 它有一个既能与 Ski 复合体互作, 又能与外切体互作的 N 端, 通过这种互作以完成外切体的降解功能^[43]。而它的 C 端是一个与翻译延伸因子 EF1A (EF1 α) 同源的 GTP 结合域, 它与 N 端有着完全不同的功能^[44]。EF1A (EF1 α) 是一个主要的翻译因子, EF1 α •GTP 催化氨酰 tRNA 结合到核糖体的 A 位点。在 mRNA 翻译及终止过程中, 具有 ATP 结合域的 EF1A 能够与核糖体的 A 位点结合实现 mRNA 的延伸翻译, 于是有人提出这样一个设想: Ski7p 的 C 端可以与核糖体空的 A 位点结合, 从而使 mRNA 的 3' 端无法继续延伸, 这时 Ski7p 的 N 端利用与外切体的互作发挥 3'-5' 外切酶功能, 实现异常 mRNA 的降解^[45], 已经合成的不正常蛋白则会被水解掉; 也可能是由于没有终止子, 核糖体与 3'-UTR 或是 poly (A) 尾巴形成了异常的 mRNP 结构, 而 Ski7p 恰能识别这种结构, 从而实现 non-stop mRNA 的降解。最新的研究表明, Ski7 蛋白在哺乳动物中是不存在的, 参与此过程的是另外一个 eRF3 家族成员 Hbs1, Hbs1 与 Dom34 形成蛋白复合体, 再与 exosome-Ski 复合体共同作用参与 NSD 降解过程^[46]。

2.3 参与 RNA interference(RNAi)过程中 mRNA 的降解

RNAi 是通过内源或外源性的双链 RNA (double-strand RNA, dsRNA) 介导细胞内 mRNA 发生特异性降解, 导致靶基因的表达沉默, 蛋白质合成受阻, 进而调节基因表达的保守途径, 这一途径既可以在转录水平也可以在转录后水平发挥作用, 并且这一现象广泛存在^[47-49]。RNAi 由细胞内的长双链 RNA(double-stranded RNA, dsRNA)所激发, 这些 dsRNA 首先被一种特异的 RNase III 家族的核

糖核酸酶 (RNase III ribonuclease) Dicer 所识别, 在 ATP 的作用下, 先将 dsRNA 解旋, 再将其切割为 22~25 个核苷酸长的 siRNA 或 miRNA, 这些小 RNA 会与另外一些蛋白形成 RNA 诱导的沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC). 在哺乳动物中, RISC 是通过与目标 mRNA 的 3' UTR 部分或完全结合, 使目标 mRNA 降解或是阻断目标 mRNA 翻译, 从而使相应基因沉默^[50-52].

为了深入研究 RISC 结合的靶 mRNA 降解过程, Orban 和 Izaurralde^[53]对果蝇进行研究, 发现由 RISC 切下来的核酸片段的降解方式是: 5' 端 mRNA 片段从 3' 端开始 (3'→5') 由核酸外切体进行迅速降解, 而 3' 端片段则是由 XRN1 从 5' (5'→3') 端开始降解的. 另外, 由核酸外切体发挥 3'-5' 核酸外切酶功能实现的 mRNA 降解同样需要果蝇中的酵母同源蛋白 Ski2p、Ski3p 和 Ski8p 的参与, 这说明了 Ski 复合体与外切体共同降解 mRNA 的途径在进化上是保守的.

2.4 参与了核内多种 RNA 3' 端的加工过程

在真核生物中, 核内 RNA 的成熟需要 3' 端的加工和修饰过程. 酿酒酵母 5.8S rRNA 的加工是研究最早也是最详尽的过程. 早在 1995 年就发现 5.8S rRNA 的产生是通过 Rrp4p 对其前体 7S 的加工处理来实现的, 这一过程包括了对 7S 3' 端约 140 个核苷酸的加工处理过程. *rrp4-1* 是一个对温度敏感的酵母致死型突变体. 用不同的探针对 *rrp4-1* RNA 进行 Northern blot 分析, 结果显示: 在正常条件下, *rrp4-1* 中积累很少量的分子质量在 7S 和成熟 5.8S rRNA 之间的前体; 但是在高温条件下, *rrp4-1* 突变体中的这些前体大量积累. 利用 5' 和 3' 端不同位置的探针进行检测的结果显示: 在 *rrp4-1* 突变体中只能检测到与 3' 端互补的片段, 说明 Rrp4p 在 5.8S rRNA 的成熟过程中起到了 3'-5' 核酸外切酶的功能^[54]. 随后的研究证明酵母核酸外切体的所有组分都参与 5.8S rRNA 的加工过程^[8, 55], 除此之外, 酵母核酸外切体还参与了 snRNA(包括 U4, U5)及 snoRNA(包括 U14, U18 和 U24)前体 3'-5' 端的加工过程^[55]. 在人体中, 核酸外切体也参与了 5.8S rRNA 前体的加工过程^[56]. 在植物中, 外切体参与 5.8S rRNA 加工过程的报道最早开始于拟南芥 RRP41, 将 RRP41 的 cDNA 在酵母突变体 *rrp41/ski6* 中表达, 可以恢复突变体的热敏感表型, 纠正突变体中不正常的 5.8S rRNA 前体的加工^[57]. 拟南芥另外两个外切体组分的突变体

rrp4-1, *rrp41* 都呈现出纯合体致死的严重表型. 为了更好地研究这些组分的功能, 研究者利用雌二醇诱导 RNA 干扰系统, 获得 *rrp41^{iRNAi}* 及 *rrp4^{iRNAi}* 突变体, 发现在突变体中同样积累了大量的 3' 端没有剪切完全的 5.8S rRNA 前体, 暗示 RRP4、RRP41 也参与了 5.8S rRNA 的加工成熟过程^[58]. 最新的研究表明, 拟南芥外切体组分 AtRRP44A 同样参与 5.8S rRNA 的加工成熟过程^[20]. 除拟南芥外, Xi 等^[59]还报道了大麦中的 RRP46, 认为该蛋白参与了由大麦霉粉病菌引起的不依赖于 R 基因的细胞死亡过程. 对 *rrp46(bcd1)* 突变体的 RNA 进行分析, 发现在突变体中, 5.8S rRNA、18S rRNA、26S rRNA 的前体也都有大量的积累, 暗示 RRP46 参与这些小 rRNA 的加工过程.

3 结 语

近年来, 核酸外切体(exosome)的结构及功能研究不断深化, 为我们深入了解真核细胞中 RNA 加工和降解提供了理论依据. 已有的研究表明, 在真核生物中, 大部分亚基参与 RNA 加工的过程都要依赖于外切体^[7-8], 虽然外切体的结构在真核生物中基本一致, 但是各亚基的催化活性及功能都是有差别的. 例如: 在酵母和人中, 外切体的 6 个含有 RNase PH 域的亚基是没有催化活性的^[13, 60]. 但是, 在果蝇中有报道认为外切体的单个亚基可以单独或是 2 个亚基形成子复合物发挥特定的功能^[61]. 在拟南芥中, 也有报道 RRP41 单个亚基是有催化活性的^[57]. 针对这些结果, 我们认为今后的工作主要包括两个方面: a. 以没有催化活性的亚基为研究对象, 明确它们是仅仅作为核酸外切体结构的一部分还是具有其他未知的功能; b. 以有催化活性的亚基为研究对象, 研究它们在作为核酸外切体亚基行使功能的同时, 是否可以单独行使更多的功能.

另外, 在酵母及其他真核生物中, 外切体任何亚基的缺失都会导致致死的表型, 且各亚基突变影响的表达谱也几乎相同^[15, 55, 58]. 但是在拟南芥中, 我们发现不同亚基表现出不同的功能, 影响不同的生长发育过程, 且影响的严重程度不一样, 影响的基因表达谱也存在差异, 如表 1 所示. 拟南芥外切体亚基 CSL4 的突变体 *cs14-1*、*cs14-2*, 没有明显的表型, 对整个外切体功能的影响也很小, 影响的表达谱也很少^[58], 不像酵母中都会产生致死表型; 拟南芥两个编码 RRP45 亚基的基因(RRP45A 和 RRP45B), 单个基因的缺失仅仅会导致不同程度蜡

质减少的表型；同时本课题组对 RRP41L 的研究也验证了这一结果，RRP41L 缺失突变体 *rrp41l* 也不会致死，只是表现出萌发晚，早期生长慢的表型，另外本课题组通过对 *rrp41l* 及 *rrp41^{irna}* 突变体表达谱的分析发现它们影响的表达谱也不同^[33]。从目前来看，核酸外切体各亚基在各物种中特别是植物中的功能是有差异的，而加强对植物各亚基功能的深入研究，弄清楚它们之间的异同，将有助于对核酸外切体进化及保守性的理解。

Table 1 Exosome subunit homologs encoded in the *Arabidopsis* genome, and phenotypes of mutant
表 1 拟南芥核酸外切体各亚基组分及突变体表型

亚基类型	亚基名称	AGI ID	突变体(纯合体)表型
S1+KH domains	RRP4	At1g03360	致死
S1+KH domains	RRP40A	At2g25355	无报道
S1+KH domains	RRP40B	At4g32175	无报道
S1+KH domains	CSL4	At5g38885	无明显表型
RNase PH domain	RRP41	At3g61620	致死
RNase PH domain	RRP42	At3g07750	无报道
RNase PH domain	RRP43	At1g60080	无报道
RNase PH domain	RRP45A	At3g12990	蜡质积累减少的表型
RNase PH domain	RRP45B	At3g60500	蜡质积累减少的表型
RNase PH domain	RRP46	At3g46210	无报道
RNase PH domain	MTR3	At4g27490	萌发晚，早期生长慢

此外，值得一提的是，近年来对于核酸外切体调节因子的研究也越来越多，如拟南芥 MTR4，是酵母 Mtr4p 的类似物，该亚基的突变体 *mtr4* 表现出生长发育缺陷，5.8S rRNA、18S rRNA 前体大量积累，说明 MTR4 参与了 5.8S rRNA、18S rRNA 的加工过程^[62]。另外一个辅助因子，啤酒酵母的 Rrp47，该蛋白对于 Rrp6 的稳定和正常表达具有重要作用^[63]。这些结果说明调节因子在生物体中也发挥着极其重要的作用。

综上所述，核酸外切体及相关蛋白质在生物体生长发育过程中至关重要，目前被研究得十分有限。所以，对于真核生物尤其是植物核酸外切体各亚基及辅助因子作用机制的研究和比较应得到足够的重视，是之后研究的重点。针对这些问题，利用分子生物学、遗传学、核酸外切体结构分析及生物化学技术手段相结合的方法将有助于研究的顺利开展。

参 考 文 献

- [1] Garneau N L, Wilusz J, Wilusz C J. The highways and byways of mRNA decay. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, **8**(2): 113–126
- [2] Hsu C L, Stevens A. Yeast cells lacking 5'→3' exoribonuclease 1 contain mRNA species that are poly (A) deficient and partially lack the 5'cap structure. *Mol Cell Biol*, 1993, **13**(8): 4826–4835
- [3] Kastenmayer J, Green P. Novel features of the XRN-family in *Arabidopsis*: Evidence that AtXRN4, one of several orthologs of nuclear Xrn2p/Rat1p, functions in the cytoplasm. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**(25): 13985–13990
- [4] Rymarquis L A, Souret F F, Green P J. Evidence that XRN4, an *Arabidopsis* homolog of exoribonuclease XRN1, preferentially impacts transcripts with certain sequences or in particular functional categories. *RNA*, 2011, **17**(3): 501–511
- [5] Miki T S, Rüegger S, Gaidatzis D, *et al.* Engineering of a conditional allele reveals multiple roles of XRN2 in *Caenorhabditis elegans* development and substrate specificity in microRNA turnover. *Nucleic Acids Res*, 2014, **42**(6): 1–12
- [6] Nagarajan V K, Jeones C I, Newbury S F, *et al.* XRN 5'→3' exoribonucleases: Structure, mechanisms and functions. *Biochim Biophys Acta*, 2013, **1829**(6–7): 590–603
- [7] Estévez A M, Lehner B, Sanderson C M, *et al.* The roles of intersubunit interactions in exosome stability. *J Biol Chem*, 2003, **278**(37): 34943–34951
- [8] Mitchell P, Petfalski E, Shevchenko A, *et al.* The exosome: a conserved eukaryotic RNA processing complex containing multiple 3'-5' exoribonucleases. *Cell*, 1997, **91**(4): 457–466
- [9] Janusz K, Lima C D. The eukaryotic RNA exosome. *Curr Opin Struct Biol*, 2014, **24**: 132–140
- [10] Liu Q, Greimann J C, Lima C D. Reconstitution, activities, and structure of the eukaryotic RNA exosome. *Cell*, 2006, **127** (6): 1223–1237
- [11] Lorentzen E, Walter P, Fribourg S, *et al.* The archaeal exosome core is a hexameric ring structure with three catalytic subunits. *Nat Struct Mol Biol*, 2005, **12**(7): 575–581
- [12] Raijmakers R, Egberts W V, van Venrooij W J, *et al.* Protein-protein interactions between human exosome components support the assembly of RNase PH-type subunits into a six-membered PNPase-like ring. *J Mol Biol*, 2002, **323**(4): 653–664
- [13] Dziembowski A, Lorentzen E, Conti E, *et al.* A single subunit, Dis3, is essentially responsible for yeast exosome core activity. *Nat Struct Mol Biol*, 2006, **14**(1): 15–22
- [14] Chekanova J A, Dutko J A, Mian I S, *et al.* *Arabidopsis thaliana* exosome subunit AtRrp4p is a hydrolytic 3'→5' exonuclease containing S1 and KH RNA~binding domains. *Nucleic Acids Res*, 2002, **30**(3): 695–700
- [15] Allmang C, Petfalski E, Podtelejnikov A, *et al.* The yeast exosome and human PM-Scl are related complexes of 3'→5' exonucleases. *Genes Dev*, 1999b, **13**(16): 2148–2158
- [16] Raijmakers R, Schilders G, Pruijn G J M. The exosome, a molecular machine for controlled RNA degradation in both nucleus and

- cytoplasm. *Eur J Cell Biol*, 2004, **83**(5): 175–183
- [17] Schneider C, Anderson J T, Tollervey D. The exosome subunit Rrp44 plays a direct role in RNA substrate recognition. *Mol Cell*, 2007, **27**(2): 324–331
- [18] Reis F P, Barbas A, King A A K, *et al.* Modulating the RNA processing and decay by the exosome: altering Rrp44/Dis3 activity and End-Product. *PloS One*, 2013, **8**(11): e76504
- [19] Schilders G, van Dijk E, Raijmakers R, *et al.* Cell and molecular biology of the exosome: how to make or break an RNA. *Int Rev Cytol*, 2006, **251**: 159–208
- [20] Kumakura N, Otsuki H, Tsuzuki M, *et al.* *Arabidopsis* AtRRP44A is the functional homolog of Rrp44/Dis3, an exosome component, is essential for viability and is required for RNA processing and degradation. *PloS One*, 2013, **8**(11): e79219
- [21] Van Dijk E L, Schilders G, Pruijn G J M. Human cell growth requires a functional cytoplasmic exosome, which is involved in various mRNA decay pathways. *RNA*, 2007, **13**(7): 1027–1035
- [22] Lange H, Holec S, Cognat V, *et al.* Degradation of a polyadenylated rRNA maturation by-product involves one of the three RRP6-like proteins in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Cell Biol*, 2008, **28**(9): 3038–3044
- [23] Couttet P, Fromont-Racine M, Steel D, *et al.* Messenger RNA deadenylation precedes decapping in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**(11): 5628–5633
- [24] Parker R, Song H. The enzymes and control of eukaryotic mRNA turnover. *Nat Struct Mol Biol*, 2004, **11**(2): 121–127
- [25] Zhang X, Kleiman F E, Devany E. Deadenylation and its regulation in eukaryotic cells. *Methods Mol Biol*, 2014, **1125**: 289–296
- [26] Shyu A B, Belasco J G, Greenberg M E. Two distinct destabilizing elements in the c-fos message trigger deadenylation as a first step in rapid mRNA decay. *Genes Dev*, 1991, **5**(2): 221–231
- [27] Xu N, Chen C, Shyu A B. Modulation of the fate of cytoplasmic mRNA by AU-rich elements: key sequence features controlling mRNA deadenylation and decay. *Mol Cell Biol*, 1997, **17**(8): 4611–4621
- [28] Chen C Y, Gherzi R, Ong S E, *et al.* AU binding proteins recruit the exosome to degrade ARE-containing mRNAs. *Cell*, 2001, **107**(4): 451–464
- [29] Gherzi R, Lee K Y, Briata P, *et al.* A KH domain RNA binding protein, KSRP, promotes ARE-directed mRNA turnover by recruiting the degradation machinery. *Mol Cell*, 2004, **14**(5): 571–583
- [30] Mukherjee D, Gao M, O'Connor J P, *et al.* The mammalian exosome mediates the efficient degradation of mRNAs that contain AU-rich elements. *MBO J*, 2002, **21**(1–2): 165–174
- [31] Hau H H, Walsh R J, Ogilvie R L, *et al.* Tristetraprolin recruits functional mRNA decay complexes to ARE sequences. *J Cell Biochem*, 2006, **100**(6): 1477–1492
- [32] Hooker T S, Lam P, Zheng H, *et al.* A core subunit of the RNA-processing/degrading exosome specifically influences cuticular wax biosynthesis in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2007, **19**(3): 904–913
- [33] Yang M, Zhang B, Han Y, *et al.* RRP41L, a putative core subunit of the exosome, plays an important role in seed germination and early seedling growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2013, **161**(1): 165–178
- [34] González C I, Bhattacharya A, Wang W, *et al.* Nonsense-mediated mRNA decay in *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene*, 2001, **274**(1–2): 15–25
- [35] Wilusz C J, Wormington M, Peltz S W. The cap-to-tail guide to mRNA turnover. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, **2**(4): 237–246
- [36] Kervestin S, Jacobson A. NMD: A multifaceted response to premature translational termination. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, **13**(11): 700–712
- [37] Frischmeyer P A, van Hoof A, O'Donnell K, *et al.* An mRNA surveillance mechanism that eliminates transcripts lacking termination codons. *Science*, 2002, **295**(5563): 2258–2261
- [38] van Hoof A, Frischmeyer P A, Dietz H C, *et al.* Exosome-mediated recognition and degradation of mRNAs lacking a termination codon. *Science*, 2002, **295**(5563): 2262–2264
- [39] Klauer A A, Van Hoof A. Degradation of mRNAs that lack a stop codon: a decade of nonstop progress. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2012, **3**(5): 649–660
- [40] Halbach F, Reichelt P, Rode M, *et al.* The yeast ski complex: crystal structure and RNA channeling to the exosome complex. *Cell*, 2013, **154**(4): 814–826
- [41] Brown J T, Bai X, Johnson A W. The yeast antiviral proteins Ski2p, Ski3p, and Ski8p exist as a complex *in vivo*. *RNA*, 2000, **6**(3): 449–457
- [42] Van Hoof A, Lennertz P, Parker R. Yeast exosome mutants accumulate 3'-extended polyadenylated forms of U4 small nuclear RNA and small nucleolar RNAs. *Mol Cell Biol*, 2000, **20**(2): 441–452
- [43] Araki Y, Takahashi S, Kobayashi T, *et al.* Ski7p G protein interacts with the exosome and the Ski complex for 3'-to-5' mRNA decay in yeast. *EMBO J*, 2001, **20**(17): 4684–4693
- [44] Benard L, Carroll K, Valle R C P, *et al.* The ski7 antiviral protein is an EF1- α homolog that blocks expression of non-Poly (A) mRNA in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Virol*, 1999, **73**(4): 2893–2900
- [45] Vasudevan S, Peltz S W, Wilusz C J. Non-stop decay-a new mRNA surveillance pathway. *BioEssays*, 2002, **24**(9): 785–788
- [46] Saito S, Hosoda N, Hoshino S. The Hbs1-Dom34 protein complex functions in non-stop mRNA decay in mammalian cells. *J Biol Chem*, 2013, **288**(24): 17832–17843
- [47] Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature*, 2004, **431**(7006): 350–355
- [48] Lippman Z, Martienssen R. The role of RNA interference in heterochromatic silencing. *Nature*, 2004, **431**(7006): 364–370
- [49] Meister G, Tuschl T. Mechanisms of gene silencing by double-stranded RNA. *Nature*, 2004, **431**(7006): 343–349
- [50] Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, **116**(2): 281–297
- [51] Djuranovic S, Nahvi A, Green R. miRNA-mediated gene silencing by translational repression followed by mRNA deadenylation and decay. *Science*, 2012, **336**(6078): 237–240

- [52] Pasquinelli A E. MicroRNAs and their targets: recognition, regulation and an emerging reciprocal relationship. *Nat Rev Genet*, 2012, **13**(4): 271–282
- [53] Orban T I, Izaurralde E. Decay of mRNAs targeted by RISC requires XRN1, the Ski complex, and the exosome. *RNA*, 2005, **11**(4): 459–469
- [54] Mitchell P, Petfalski E, Tollervey D. The 3' end of yeast 5.8 S rRNA is generated by an exonuclease processing mechanism. *Genes Dev*, 1996, **10**(4): 502–513
- [55] Allmang C, Kufel J, Chanfreau G, *et al.* Functions of the exosome in rRNA, snoRNA and snRNA synthesis. *EMBO J*, 1999a, **18**(19): 5399–5410
- [56] Meaux S, van Hoof A. Yeast transcripts cleaved by an internal ribozyme provide new insight into the role of the cap and poly(A) tail in translation and mRNA decay. *RNA*, 2006, **12**(7): 1323–1337
- [57] Chekanova J A, Shaw R J, Wills M A, *et al.* Poly (A) tail-dependent exonuclease AtRrp41p from *Arabidopsis thaliana* rescues 5.8 S rRNA processing and mRNA decay defects of the yeast ski6 Mutant and is found in an exosome-sized complex in plant and yeast cells. *J Biol Chem*, 2000, **275**(42): 33158–33166
- [58] Chekanova J A, Gregory B D, Reverdatto S V, *et al.* Genome-wide high-resolution mapping of exosome substrates reveals hidden features in the *Arabidopsis* transcriptome. *Cell*, 2007, **131** (7): 1340–1353
- [59] Xi L, Moscou M J, Meng Y, *et al.* Transcript-based cloning of RRP46, a regulator of rRNA processing and R gene-independent cell death in barley-powdery mildew interactions. *Plant Cell*, 2009, **21**(10): 3280–3295
- [60] Liu Q, Greimann J C, Lima C D. Reconstitution, activities, and structure of the eukaryotic RNA exosome. *Cell*, 2007, **131** (1): 188–190
- [61] Graham A C, Kiss D L, Andrulis E D. Differential distribution of exosome subunits at the nuclear lamina and in cytoplasmic foci. *Mol Biol Cell*, 2006, **17**(3): 1399–1409
- [62] Lange H, Sement F M, Gagliardi D. MTR4, a putative RNA helicase and exosome co-factor, is required for proper rRNA biogenesis and development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2011, **68**(1): 51–63
- [63] Feiqenbutz M, Garland W, Turner M, *et al.* The exosome cofactor Rrp47 is critical for the stability and normal expression of its associated exoribonuclease Rrp6 in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS One*, 2013, **8**(11): e80752

Research Advance of The Exosome in Eukaryotes*

YANG Min¹⁾, HAN Yu-Zhen^{2)**}

¹⁾ College of Agriculture, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China;

²⁾ State Key Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry, College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract RNA processing and degradation are essential steps in gene expression regulation that influences many aspects of development and growth. In eukaryotes, virtually all RNAs are processed from longer precursors to generate mature RNAs. After completing their functions, these RNAs enter to the decay pathway. 3' -exoribonucleases, 5' -exoribonucleases and endonucleases were involved in RNAs decay. In eukaryotic cells, part of 3' -exoribonucleases activity is contributed by the exosome, a complex composed of nine core subunits and several auxiliary components. The exosome has been shown to play an important role in processing and decaying of various RNA in animals, yeast and plants. In this paper, we briefly review the research advance of exosome in eukaryotes, and focus on the function mechanism of the exosome.

Key words RNA, exosome, eukaryotes

DOI: 10.16476/j.pibb.2014.0050

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30670192, 31101153).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-62733807, E-mail: hanyuzhen@cau.edu.cn

Received: May 30, 2014 Accepted: September 10, 2014