



脱腺苷酸酶与 RNA 代谢调控*

廖小燕 闫永彬**

(清华大学生命科学学院, 北京 100084)

摘要 真核细胞中, RNA 3'端 poly (A) 或 oligo (A) 的特异性水解被称为脱腺苷酸化 (deadenylation)。脱腺苷酸化的执行者被称为脱腺苷酸酶 (deadenylase)。绝大多数真核细胞中都存在多种脱腺苷酸酶, 其中 CCR4-NOT 复合体和 PAN2-PAN3 复合体负责细胞中大多数 mRNA 的非特异性降解, PARN 和 PNLDC1 等参与了特定子集 mRNA 的降解和多种非编码 RNA 的生物合成。作为 RNA 水平的重要调控者之一, 脱腺苷酸酶参与了几乎所有细胞生命活动和多种重要生理和病理过程。在真核细胞中, 脱腺苷酸酶的分子调控机制可能是: 细胞中的大量 RNA 结合蛋白是 RNA 命运调控的中心分子, 一方面根据 RNA 的状态或细胞需求识别特定的靶标 RNA 子集, 另一方面招募特定脱腺苷酸酶, 对特定子集 RNA 的 3'端进行降解或修剪, 从而调控 RNA 的最终命运。细胞中十余种脱腺苷酸酶同工酶、上千种 RNA 结合蛋白以及多种多样的翻译后修饰构成了复杂的动态分子调控网络, 帮助细胞在生长、增殖、分化、应激、死亡等重要生命活动中精确维持 RNA 稳态或快速转换基因表达谱。

关键词 脱腺苷酸酶, 酶分子调控, mRNA 降解, 翻译效率, RNA 代谢, RNA 结合蛋白

中图分类号 Q522, Q55, Q756

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0121

真核基因转录后的直接产物是核内不均一 RNA (heterogeneous nuclear RNA, hnRNA), 需要经过一系列的加工和修饰后才能成熟和发挥功能^[1]。成熟真核 mRNA 的 5'端通常存在 7-甲基鸟嘌呤帽子结构 (cap), 而 3'端存在长度不等的多聚腺苷酸 (poly (A)) 尾结构。哺乳动物 mRNA 的 poly (A) 尾平均长度约为 200 nt^[2], 酵母中约 70 nt^[3]。poly (A) 尾的长度是由聚腺苷酸化和脱腺苷酸化共同调节, 影响着真核生物 mRNA 的转录、质量控制、运输、翻译、沉默和降解等过程^[4-6]。非编码 RNA 的生物合成途径中也常常伴随着 3'末端寡聚腺苷酸的修饰加工。脱腺苷酸酶 (EC 3.1.13.4) 属于 3'-5'核酸外切酶, 特异性地催化 RNA 3'端 poly (A) 或 oligo (A) 的水解。绝大多数真核 mRNA 的降解途径依赖于脱腺苷酸化, 脱腺苷酸酶作为 mRNA 稳定性的负调控因子, 在细胞的 RNA 稳态维持中起重要作用。

到目前为止, 人们已经鉴定出了十几种不同的脱腺苷酸酶。其中, CCR4、CAF1、PAN2 和 ANGEL 等普遍存在于绝大多数真核生物中, 而

PARN、PNLDC1、Nocturnin 以及 PDE12 等主要存在于高等生物中^[7-14]。根据催化结构域的特征, 已知的脱腺苷酸酶属于 DEDD/类 DnaQ (CDD ID: cl10012) 和 EEP (CDD ID: cl00490) 两个超家族。除了高等生物中的 CAF1, 其他几乎所有已知的脱腺苷酸酶都包含一个核酸酶结构域和至少一个非催化结构域。值得一提的是, 酿酒酵母以及一些低等生物中, CAF1 的两种同工酶 (CAF1a 和 CAF1b/POP2) 在 N 端也具有富含 Q/N 的固有无序区域。非催化结构域可能具有两个潜在的功能: 一是参与调控核酸酶结构域的催化特性; 二是介导蛋白质相互作用从而调控脱腺苷酸酶的生理功能。在细胞中, PARN 和 PNLDC1 等脱腺苷酸酶以同源寡聚体的形式存在, PAN2 与调控亚基 PAN3 形成 PAN2-PAN3 复合体才能发挥催化功能, 而 CCR4

* 国家重点研发计划 (2020YFA0906900) 和国家自然科学基金 (31870783, 31370797, 31170757, 30770477) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 010-62783477, E-mail: ybyan@tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2023-04-06, 接受日期: 2023-04-21

和CAF1通常与多个NOT蛋白形成大的CCR4-NOT复合体。不同物种中, CCR4-NOT复合体NOT蛋白(哺乳动物中的同源物为CNOT蛋白)的种类和数量也存在多样性。细胞中执行同一催化功能的多种脱腺苷酸酶同时存在, 暗示细胞需要对脱腺苷酸酶的活性进行精细调控, 从而维持细胞内RNA的稳态。非催化结构域和调节亚基的存在也暗示脱腺苷酸酶可能具有复杂的分子调控。脱腺苷酸酶的种类、结构、催化特性、生化性质以及生理功能已经被详尽总结^[15-16], 本文将主要介绍脱腺苷酸酶的分子调控、生化功能和生理、病理意义。

1 脱腺苷酸酶的酶学特征

1.1 酶学性质与催化特点

脱腺苷酸酶的发现和命名来源于其对poly (A)的高度底物偏好性^[17-19], 但一些脱腺苷酸酶也被发现能较低效地降解非poly (A)底物。研究发现, 人CAF1的两种同工酶具有不同的底物选择性: CAF1a/CNOT7高度特异催化poly (A)降解, 而CAF1b/CNOT8对于低浓度的其他三种多聚核苷酸也具有水解的能力^[20]。酵母Ngl2p (ANGEL同源物)参与完成5.8S rRNA 3'加工的最后一步, 而Ngl3p也可以降解poly (U)、poly (C)和poly (dA)^[21]。人PARN也具有降解poly (U)和poly (dA)的能力, 尽管其活性比降解poly (A)低很多^[22-23]。同时, 人PARN也可能在体内脱尿基化过程中发挥潜在作用^[22]。值得注意的是, 这些脱腺苷酸酶的非poly (A)降解特性大多是通过体外实验确定的, 其潜在的生理相关性尚未被表征。

与其他DEDD和EEP核酸酶类似, 目前鉴定的所有脱腺苷酸酶都采用双金属离子催化方式(two-metal ion catalysis), 其活性均依赖于生理浓度的 Mg^{2+} 离子。结合在活性中心的两个 Mg^{2+} 离子不仅对脱腺苷酸酶的催化机制至关重要, 而且还可以调节酶的稳定性以及核酸酶结构域与非催化结构域之间的相互作用^[24-26]。除了 Mg^{2+} 之外, 部分脱腺苷酸酶的活性和底物选择性也受其他二价金属离子如 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ca^{2+} 和 Zn^{2+} 调节^[26-28], 然而目前还不清楚这些二价金属离子是否在体内起调节作用。氨基糖苷类和嘧啶核苷酸类化合物可以与活性中心的镁离子竞争, 从而抑制PARN的酶活性^[29-30]。

不同脱腺苷酸酶的催化效率具有较大差别。

人PARN具有高效的脱腺苷酸化酶活性, 比酵母或人源的CAF1活性高2~3个数量级^[27, 31]。PARN的极高活性可能来源于其高度持续性催化方式(processivity), 即酶能够持续结合同一条poly (A)并连续催化末端腺苷酸的水解^[32-33]。脱腺苷酸化酶的底物亲和力还受到poly (A)长度的调节。PARN对长poly (A)底物表现出较高的亲和力, 但当poly (A)长度小于6 nt时, 亲和力急剧下降^[22]。PAN2-PAN3复合体在酵母中将mRNA的poly (A)尾巴降解至60~80 nt、在哺乳动物中降解至110 nt左右^[8], 其后中短长度的poly (A)尾巴由CCR4-NOT复合体继续降解, 而CCR4-NOT复合体对最后两个腺苷酸的降解效率大大降低^[34]。

真核细胞中, 现有研究结果表明不同脱腺苷酸酶可能只降解转录组中的一个RNA子集, 但脱腺苷酸酶选择底物mRNA的分子机制还没有完全研究清楚。一般认为, 细胞质中的主要脱腺苷酸酶活性来自于PAN2-PAN3复合体和CCR4-NOT复合体, 而PARN等酶的活性受到高度调控。最近的代谢RNA标记实验显示, 酵母PAN2-PAN3复合体和CCR4-NOT复合体不仅具有不同的poly (A)长度偏好, 而且具有不同的底物偏好, 两种复合体损伤所引起的mRNA降解表型也不相同^[35]。对不同脱腺苷酸酶的敲低或敲除实验也显示出不同的细胞或动物表型。这些结果暗示, 在细胞或体内脱腺苷酸酶可能具有非常复杂的分子调控机制。根据现有研究结果, 提出了真核细胞中实现特异mRNA子集脱腺苷酸化的一个可能机制: 各种各样的RNA结合蛋白(RBP)作为底物选择性的中心分子, 招募含有特定顺式作用元件的mRNAs, 并通过与脱腺苷酸酶的非催化结构域或调节亚基的相互作用, 实现对含有特定顺式作用元件mRNA子集的特异性降解^[15-16]。

1.2 酶活性的调控

作为细胞内mRNA稳定性的负调控因子, 脱腺苷酸酶的活性应受到严格调控。同时, 当细胞内外环境发生变化, 细胞为了适应新的生存环境迅速转换基因表达谱时, 也需要对脱腺苷酸酶的活性和靶标RNA子集进行精细调控。到目前为止, 体外、细胞和体内实验已经发现了脱腺苷酸酶的多种调控因子。

1.2.1 小分子化合物

早期的体外和体内实验发现, cap及其类似物和钾离子等一价阳离子可以别构调节PARN的活

性^[32, 36-38]。PARN含有3个RNA结合结构域(核酸酶结构域、RRM和R3H)以及一个C端固有无序结构域。与一般的cap结合蛋白不同, PARN的cap结合位点位于RRM表面的非底物结合区域^[36, 39-42], 与cap对PARN的别构调节功能一致。

脱腺苷酸酶的小分子抑制剂一般结合在核酸酶结构域的活性中心附近, 通过与底物或Mg²⁺竞争来影响活性。研究发现氨基糖苷类和天然核苷酸可以抑制PARN的酶活性。例如, 氨基糖苷类新霉素B是一种Mg²⁺依赖性的脱腺苷酸酶广谱抑制剂^[43]。基于腺苷和胞嘧啶的葡萄糖吡喃糖核苷类似物也可抑制PARN活性, 而含有尿嘧啶、5'-氟嘧啶或胸腺嘧啶的葡萄糖吡喃糖核苷类似物是更强的抑制剂^[44]。目前关于CCR4-NOT脱腺苷酸酶的抑制剂研究相对较少。早期研究发现, 单核苷酸和RNA底物可以在不同程度上抑制酵母CCR4的活性^[45], 最近筛选鉴定的几种人CAF1a/CNOT7的化学小分子抑制剂也可以不同程度抑制CCR4b/CNOT6L和PARN^[46-47]。人CCR4b/CNOT6L和CAF1a/CNOT7脱腺苷酸酶活性的抑制实验表明, 核苷酸是比氨基糖苷类更有效的抑制剂^[48]。天然核苷酸或其代谢中间产物可以作为脱腺苷酸酶的抑制剂, 暗示RNA的生物合成途径和降解途径之间存在着交互调控, 但其在体内的生理意义还有待进一步研究。

1.2.2 非催化结构域

如前所述, 绝大多数脱腺苷酸酶都含有至少一个非催化结构域, 然而对大多数脱腺苷酸酶的非催化结构域的功能都知之甚少。除了介导蛋白质相互作用以外, PARN的R3H、RRM和C端结构域对于PARN的酶活性、催化方式、寡聚体组装、稳定性和细胞定位都起着重要的调节作用^[36, 39-42, 49-56]。酵母CCR4和CAF1的固有无序区域可能参与介导了其在P小体的定位^[57]。由于非催化结构域通常具有潜在的酶学特性调节功能, 深入探索这些结构域的功能可能有助于更好理解脱腺苷酸酶多样化的分子调控机制。

1.2.3 翻译后修饰

PARN是翻译后修饰最多的一种脱腺苷酸酶, 但其他脱腺苷酸酶的翻译后修饰似乎很罕见。PARN的翻译后修饰主要包括蛋白质水解、磷酸化和乙酰化。在非洲爪蟾卵母细胞和小牛胸腺提取物中, 分别鉴定出了缺少核定位信号序列和C端结构域的62 ku和54 ku蛋白质水解片段^[32, 58], PARN的蛋白质水解可能主要影响其细胞核定位和C端结

构域介导的蛋白质相互作用。在应激、发育或病理条件下, 人PARN存在多个磷酸化位点^[59-61]。血清饥饿诱导PARN的过度磷酸化能增强PARN的cap结合能力和持续性催化方式^[62]。急性白血病中PARN的表达水平和磷酸化状态都发生了改变, 但其病理功能尚不清楚^[61]。细胞中的机制研究表明, MK2介导的Ser557磷酸化通过调节PARN的细胞定位和蛋白质相互作用来促使PARN参与DNA损伤应答等细胞过程^[31, 50, 63]。此外, 最近发现乙酰转移酶p300和SIRT1分别介导了PARN-Lys566的乙酰化和去乙酰化, 暗示PARN作为SIRT1的底物蛋白可能参与了端粒维持和细胞衰老等生理过程。

虽然PARN之外的脱腺苷酸酶大都没有被鉴定出翻译后修饰, 但PAN2-PAN3和CCR4-NOT复合体中的调节亚基也存在磷酸化修饰。如, PAN3的磷酸化并不影响其与PAN2的结合^[64], 但会干扰其与poly(A)结合蛋白(PABP)的相互作用^[65]。MK2介导CNOT2的磷酸化抑制CCR4-NOT复合体的脱腺苷酸酶活性, 从而参与渗透胁迫应答^[66]。酵母中NOT1、NOT4和CAF1也存在磷酸化^[67], 但目前还不清楚这些磷酸化修饰的功能。

1.2.4 相互作用蛋白

根据其功能, 脱腺苷酸酶相互作用蛋白可以分为3类(图1)。a. 促进脱腺苷酸化的相互作用蛋白, 其中最广泛的蛋白质是能够识别特定顺式作用元件的RBPs。这些RBPs通过结合靶mRNA 3'非编码区的特定元件和脱腺苷酸酶, 提高脱腺苷酸化速率并实现脱腺苷酸酶对靶mRNA分子的特异性降解。b. 抑制脱腺苷酸化的相互作用蛋白, 这一类相互作用蛋白既包括RBPs也包括非RNA结合蛋白。第二类相互作用蛋白通过与脱腺苷酸酶结合, 阻遏脱腺苷酸酶与靶mRNA的物理接触, 从而保护靶mRNA免受脱腺苷酸化降解。c. 第三类相互作用蛋白不影响脱腺苷酸酶活性, 而是将脱腺苷酸酶招募到特定的亚细胞结构, 实现对特定时空靶mRNA的精细脱腺苷酸化。许多脱腺苷酸酶相互作用蛋白是各种信号通路中激酶的效应因子, 而磷酸化等翻译后修饰可以导致第一类和第二类相互作用蛋白的功能转换, 从而使得信号通路能够通过直接改变RNA稳态来调节基因表达谱。此外, 同一种RBP可能对不同类型的脱腺苷酸酶具有迥异的影响。如, PABP抑制PARN的酶活性, 但促进PAN2-PAN3和CCR4-NOT复合体的脱腺苷酸化活性。对于CCR4-NOT复合体中的两种脱腺苷酸酶CCR4和

CAF1, PABP却具有相反的作用, 即促进CCR4但抑制CAF1的脱腺苷酸化活性^[68]。到目前为止已经鉴定了相当多的脱腺苷酸酶相互作用蛋白, 典型的

脱腺苷酸酶相互作用蛋白可以参见已发表的综述^[15-16]。

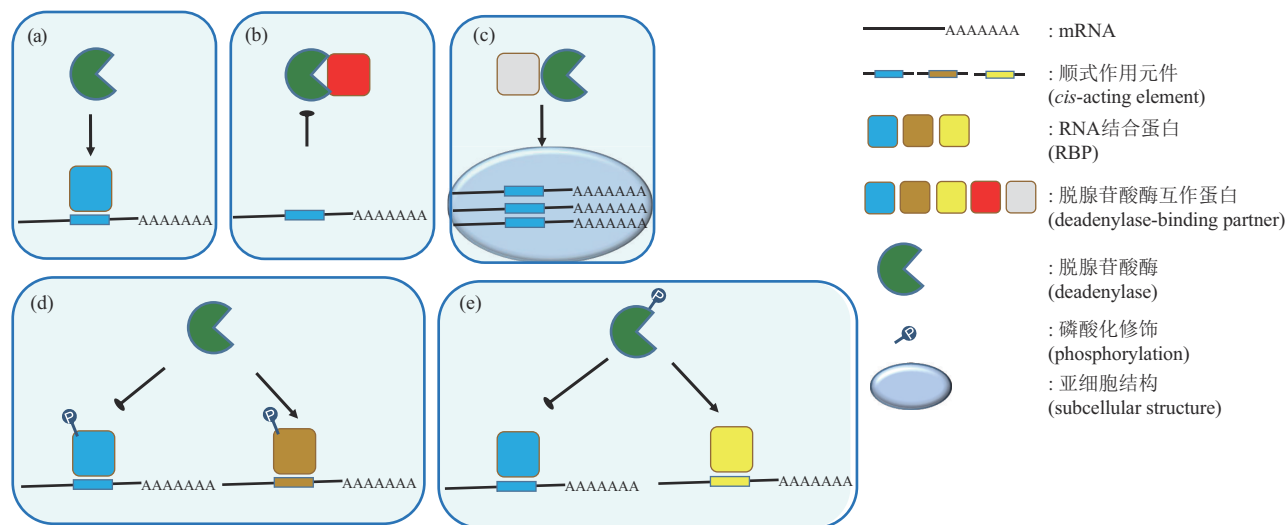


Fig. 1 Regulation of deadenylase activity by binding proteins and phosphorylation

图1 相互作用蛋白和磷酸化对脱腺苷酸酶活性的调控

(a) RNA结合蛋白招募脱腺苷酸酶对含有特定顺式作用元件的mRNA进行脱腺苷酸化。(b) 相互作用蛋白抑制脱腺苷酸酶活性或阻遏脱腺苷酸酶与mRNA相互作用。(c) 相互作用蛋白招募脱腺苷酸酶到特定的亚细胞结构。(d) RNA结合蛋白磷酸化影响脱腺苷酸酶的靶标mRNA子集。(e) 脱腺苷酸酶磷酸化影响其与RNA结合蛋白的相互作用。

2 脱腺苷酸酶的生化功能

脱腺苷酸酶通过调节mRNA的poly (A) 尾巴或非编码RNA的3'端oligo (A) 的长度, 参与了细胞内大多数RNA的生物合成、稳定性、质量控制和mRNA翻译效率等生化过程^[15-16, 69-70]。本文将在以往综述的基础上, 着重阐述脱腺苷酸酶在mRNA翻译效率和非编码RNA生物合成途径中的功能。

2.1 mRNA稳定性

一般认为, 细胞质中mRNA的非特异性降解或组成性降解主要依赖于PAN2-PAN3和CCR4-NOT两个复合体的两阶段降解模式。在该模式中, PAN2-PAN3复合体起始脱腺苷酸化, 将靶mRNA的poly (A) 尾降解至约110 nt, 而CCR4-NOT复合体继续降解剩下的110 nt至约10 nt^[8, 68]。当mRNA的poly (A) 尾小于10 nt时, mRNA将走向进一步的降解途径。因此, 在酵母或哺乳细胞中敲除*pan2*并不影响mRNA半衰期, 而敲除CCR4-NOT复合体会全局性延长mRNA半衰期^[68]。大多数以往研究认为PARN并不参与细胞质中mRNA的

非特异性降解。最近的研究表明, PARN不影响胞浆mRNA poly (A) 的长度分布, 但显著改变内质网上mRNA poly (A) 的长度分布和平均长度^[31]。这暗示不同类型的脱腺苷酸酶在功能上也许存在冗余, 但在细胞内的具体降解靶标可能不仅受到PABP等相互作用蛋白的调节, 而且受到细胞定位等多方面因素的影响。

2.2 翻译效率

脱腺苷酸酶是mRNA稳定性的负调控因子, 原则上可以通过影响转录本丰度负调控细胞内功能蛋白的表达水平。然而, 研究发现一些脱腺苷酸酶直接参与了mRNA翻译效率的调控, 暗示mRNA的翻译和降解过程存在有机偶联。内质网上定位的PARN可以降解具有较低翻译效率的mRNAs, 并介导核糖体在结合有不同数量核糖体的内质网mRNAs之间的重新分配, 促进一些内质网mRNAs提高翻译效率^[31]。

CCR4-NOT复合体中NOT亚基调节翻译过程的作用可能与其脱腺苷酸化活性无关。真核生物中, 翻译的延伸速率取决于密码子适配性 (codon optimality)^[71-72]。密码子适配性是指综合考虑核糖

体解读不同密码子速率的差异、tRNA 丰度以及侧翼密码子的识别对解码速率产生的影响^[73]。脱腺苷酸酶复合体和脱帽复合体可以感知延伸速率。当 mRNA 结合移动速度较慢的核糖体时,将以 CAF1 依赖的方式发生快速脱腺苷酸化和脱帽;而当 mRNA 结合快速移动的核糖体时,可避免 poly (A) 尾降解和脱帽。酵母中,CCR4-NOT 复合体的 NOT4 亚基可以泛素化核糖体 40S 亚基蛋白 eS7^[74-75],导致解码变慢从而核糖体 A 位缺乏 tRNA。与此同时,NOT5 亚基特异性地结合到核糖体 E 位,缩短含有非最优密码子转录本的半衰期。删除 NOT5 的核糖体 E 位互作结构域或突变 eS7 的泛素化位点可以稳定含有非最优密码子组合的转录本,并可阻止脱帽激活蛋白 Dhh1 的结合^[76]。因此,NOT5 结合核糖体以及 NOT4 介导 eS7 泛素化可能可以直接感知解码速率并发出延伸放缓的信号。CCR4-NOT 复合体的 NOT1、NOT4 和 NOT5 还参与了蛋白质复合体的共翻译组装过程^[77-78]。此外,凝聚性的 mRNA 不易被典型的核糖体或多核糖体亲和途径捕获,因此其翻译延伸动力学会受到影。最近的研究发现,酵母中 NOT1 和 NOT4 可以参与可溶性和不可溶 mRNA 的比例分配,从而调节翻译动力学^[79]。

2.3 非编码 RNA

大多数成熟的非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 缺乏 3'端 poly (A) 尾^[80],脱腺苷酸酶似乎对这些 ncRNA 不会产生影响。但近年来发现 PARN、PNLDC1 等脱腺苷酸酶广泛参与了 ncRNA 生物合成的调控 (图 2)。研究表明,PARN 对 miRNA 生物合成过程中的 3'端修剪是不可或缺的^[81-83],但其精确的生化机制仍然不清楚。其中一种假说认为,PARN 可能去除由 PAPD5 等末端核糖核苷酸转移酶添加的 3'端延伸或非模板化添加的 U 或 A,从而在 miRNA 生物合成中发挥作用^[83]。PARN 是一些核小 RNA (small nucleolar RNA, snoRNA) 3'端的微调剂^[84-85]。PNLDC1 参与了家蚕、秀丽隐杆线虫和哺乳动物中 piRNA (PIWI-interacting RNA) 的生物合成^[86-88]。PARN 和 TOE1 可促进核 ncRNA 的成熟,尤其是 Cajal 小体募集的特异性小 RNA (small Cajal body-specific RNAs, scaRNAs)。当 PARN 和 TOE1 受损时,scaRNAs 下调,导致核小 RNA (small nuclear RNA, snRNA) 假尿苷化缺陷^[85]。PARN 的功能丧失性突变可能通过端粒酶活性^[84, 89-92]、miRNA 成熟^[93]、rRNA

生物合成^[84, 94-95]的联合损伤引起人类疾病。因此,多功能的 PARN 通过调节 mRNA 和 ncRNA 代谢,参与了基因组稳定性的维持、细胞周期运行和代谢稳态。

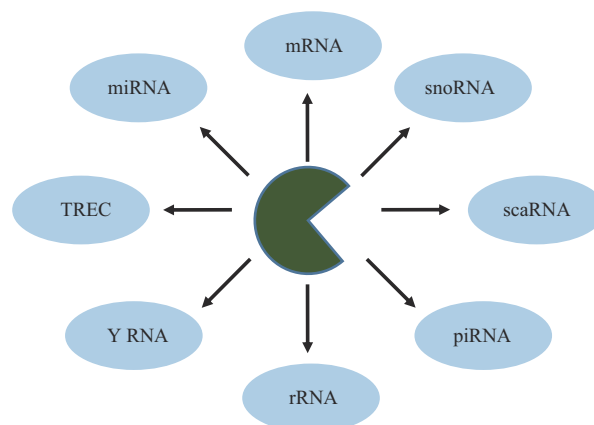


Fig. 2 Substrates of deadenylase in the cells

图2 脱腺苷酸酶的细胞内底物

脱腺苷酸酶与 miRNA 介导的基因沉默之间具有复杂的相互关系。miRNA 诱导的沉默复合体 (miRNA-induced silencing complex, miRISC) 通过招募 PARN 促进 ARE 元件依赖的脱腺苷酸化过程,而 PARN 缺失也会导致靶向 p53 mRNA 的多个 miRNA 的下调^[93]。在 G0 期细胞中,PARN 被鉴定为特化复合物 FXR1a 相关 miRNA 的组分,以激活 mRNA 的非常规翻译^[96]。CCR4-NOT 复合物也参与了 miRNA 介导的基因沉默。Ago-miRNA 和 TNRC6 (GW182) 家族蛋白结合,通过识别位于 mRNA 3'非编码区域的 miRNA 互补序列结合到靶标 mRNA 上。与此同时,TNRC6 通过直接相互作用招募 CCR4-NOT 与 PAN2-PAN3 两种脱腺苷酸酶复合体,促进 mRNA 的脱腺苷酸化和降解^[97]。miRNA 介导的 mRNA 脱腺苷酸化中 PAN2 几乎没有作用,起主要作用的是 CCR4-NOT 复合体中的 CAF1 和 CCR4。CNOT1 直接招募 CAF1,CAF1 招募 CCR4 协同作用,起始了 CAF1 依赖的脱腺苷酸化过程^[98]。

3 脱腺苷酸酶在生殖和发育中的功能

通过调节 RNA 代谢稳态,脱腺苷酸酶广泛参与了众多生理过程。脱腺苷酸酶在 DNA 损伤应答、基因组稳定性、发育和免疫应答中的功能可参见最近的综述^[15-16, 99-101]。本文主要阐述脱腺苷酸酶在

生殖、发育和干细胞干性维持中所发挥的生理功能。

多种脱腺苷酸酶都属于RNA代谢稳态调控的管家基因, 敲除或敲低会导致明显的生长缺陷或高等生物的胚胎致死。如, 在酿酒酵母中, 虽然CCR4-NOT复合体纯合缺失菌株是可存活的, 但其后代具有明显的生长缺陷^[102]。由于细胞周期出现异常, *ccr4*缺失的酿酒酵母突变株比野生型细胞大很多^[103]。在果蝇中, 在胚胎到幼虫的阶段缺失NOT3和CAF1蛋白都显现出致死表型^[104], 而*not1*基因的神经元特异性敲低也会导致果蝇致死^[105]。在小鼠中, *cnot3*的缺失导致胚胎致死^[104]。在人细胞中, CAF1a/CNOT7和CAF1b/CNOT8可以阻遏增殖抑制基因的表达, 从而促进细胞增殖^[106], 而敲低PARN、CCR4或CAF1的任何一种同工酶都可能导致人细胞系生长缺陷^[12, 107]。

多种脱腺苷酸酶在生殖过程中也起着重要的调控作用。*Twin* (果蝇编码CCR4的基因) 纯合突变体导致雌性果蝇不育^[108]。CAF1a/CNOT7与核视黄醇受体RXRB结合可增强其活性, 对精子的生成至关重要, *cnot7*基因缺失导致雄性小鼠不育^[109-110]。CCR4b/CNOT6L对于雌性生殖和内分泌调节是必需的, 敲除*cnot6l*导致雌性小鼠不育, 并且卵巢对促性腺激素的反应降低^[111-112]。在果蝇和小鼠中的机制研究表明, NANOS、Pumilio、DND1等RBPs通过招募CCR4-NOT复合体靶向降解Mei-P26等重要因子的mRNAs, 从而维持生殖干细胞的自我更新和定向分化^[113-115]。此外, PARN参与了非洲爪蟾卵母细胞成熟过程中的脱腺苷酸化过程^[18]。PNLDC1通过参与piRNA加工影响减数分裂和精子形成, *pnldc1*敲除导致雄性小鼠不育^[86, 116-117], 人*pnldc1*基因的错义突变或移码突变会导致无精症^[118]。

除了参与生殖干细胞维持, CCR4-NOT复合体中的多个亚基还参与了多能干细胞的干性维持和分化调控。CNOT1、CNOT2和CNOT3被发现参与小鼠和人胚胎干细胞的干性维持和自我更新^[119-122]。RNF219招募CCR4-NOT复合体参与了二细胞胚胎特异性转录本以及神经发育相关基因的调控^[122]。在多能干细胞从原始态到活化态的转变过程 (naïve-to-formative transition) 中, CAF1b/CNOT8通过脱腺苷酸化清除原始态干细胞特异的转录本^[123]。胚胎干细胞核内, miRNA诱导的沉默复合体中的AGO蛋白结合在靶mRNA的编码区和

内含子, AGO蛋白通过招募CCR4-NOT复合体清除核内mRNA以调节干细胞分化^[124]。淡水涡虫再生过程中的转分化过程也受到CCR4-NOT复合体调节^[125]。

在不同发育阶段, 脱腺苷酸酶被不同的RBPs招募, 实现细胞基因表达谱的快速切换, 从而影响细胞分化和个体发育过程^[16]。如在非洲爪蟾、果蝇、小鼠和人等物种的早期发育阶段, CCR4-NOT复合体、PARN和nocturnin等会被Smagug等RBPs招募, 特异性地对母源mRNA进行脱腺苷酸化^[126-131]。在胚胎发育阶段, 发育过程中起重要作用的RBPs会招募CCR4-NOT复合体等脱腺苷酸酶, 调节组织特异性基因、细胞周期和代谢相关基因的表达水平从而影响细胞分化过程^[100, 122, 132-133]。

4 脱腺苷酸酶与疾病

早期研究主要集中在脱腺苷酸酶的生化性质和所参与的生理功能, 对CCR4-NOT和PAN2-PAN3复合体的研究也长期集中在模式生物酵母中。最近20年来, 随着对生理功能研究的深入和分子生物学新技术的发展, 脱腺苷酸酶的突变和异常表达被发现广泛参与了端粒相关疾病、心血管疾病、神经发育疾病、癌症, 以及代谢相关疾病等多种重大疾病或罕见病的发生发展 (图3)。

4.1 端粒相关疾病

端粒缩短是衰老的基本特征之一, 端粒的异常缩短与许多遗传病密切相关, 但到目前为止仅有极少的端粒相关疾病的分子机制得到了较好阐释^[134]。2015年, 两个研究组分别在3个先天性角化不良遗传家系和76个原发性肺纤维化的遗传家系中发现, PARN遗传突变与端粒相关疾病的发生密切相关^[91-92]。后续研究鉴定了更多的严重先天性角化不良相关的PARN错义突变^[95, 135]。机制研究表明, PARN遗传突变可能破坏了PARN参与DNA损伤应答、核小RNA生物合成、rRNA合成、miRNA生物合成、细胞周期运行和细胞应激等多种功能^[92, 94], 而最令人惊讶的表型是与健康人群相比, 患者的端粒长度显著缩短。携带PARN突变的患者体内, 端粒维持相关基因明显下调^[92]。进一步研究发现PARN参与了端粒RNA组分TERC的转录后加工过程, PARN负责移除转录后添加的3'端oligo (A), 促进TERC的成熟和端粒结构的组装^[89]。

在酵母和人细胞系中的研究表明, CCR4-NOT

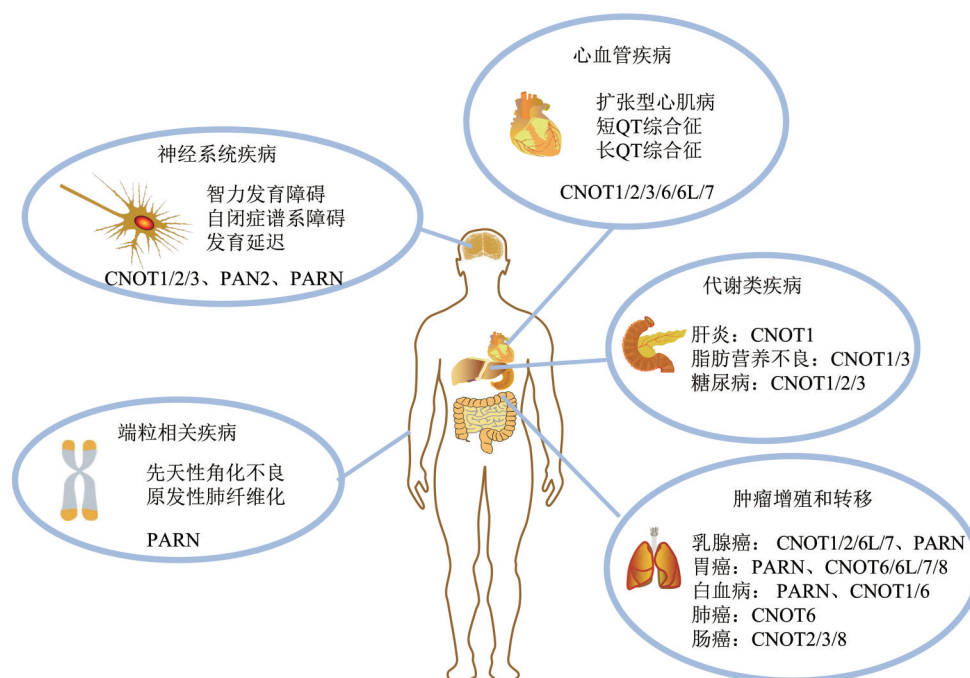


Fig. 3 Deadenylases in human diseases

图3 脱腺苷酸酶与人类疾病

复合体通过多种途径参与了基因组稳定性维持和端粒相关基因的调控^[16]，但到目前为止还没有CCR4-NOT复合体与端粒相关疾病的报道。

4.2 心血管疾病

心血管疾病是导致全球死亡人数最多的疾病。CCR4-NOT复合体可能与扩张型心肌病（dCM）、短QT综合征和长QT综合征等多种原发性心血管疾病相关^[104, 136-137]。如前所述，脱腺苷酸酶的生理功能包括了心肌细胞在内的各种类型细胞的分化调控。除此之外，在温度应激条件下，果蝇NOT3参与了心脏功能调节。敲除*not3*的杂合子小鼠表现出明显的扩张型心肌病表型，如心脏收缩力降低和心力衰竭几率增加，而组蛋白脱乙酰酶（HDACs）抑制剂能拯救*not3*^{+/-}小鼠的心脏缺陷，暗示NOT3可能参与了心脏相关的染色质重塑等表观遗传修饰^[104]。

*Cnot3*和*cnot1*心脏细胞条件敲除小鼠中，自噬途径关键蛋白ATG7表达上调，同时伴随着心肌细胞死亡，心脏收缩力下降，QT间期延长和心力衰竭等表型^[136]。研究发现，CNOT3介导了*atg7* mRNA的脱腺苷酸化。在CNOT3缺乏的心脏细胞中，ATG7与p53相互作用促进细胞死亡相关基因的表达，而同时敲除*atg7*和*cnot3*可部分修复小鼠

心脏缺损。这暗示在脱腺苷酸化水平低的心脏细胞中，ATG7与p53的异常相互作用促进心脏细胞凋亡和心肌功能受损。除了CNOT1和CNOT3，CCR4-NOT复合体的其他组分也参与了心脏结构和功能的维持^[137]。虽然模式生物中的机制研究取得了一些进展，但CCR4-NOT复合体在心血管疾病中的临床意义还需进一步探索。

4.3 神经系统疾病

最近，多种脱腺苷酸酶基因的遗传突变被发现与智力发育障碍和自闭症谱系障碍（ASDs）等神经发育障碍相关。人类遗传学研究表明，CNOT1功能结构域内的多个错义突变都可能导致神经发育障碍^[138-140]。在果蝇中的机制研究表明，9个NOT1突变体都观察到了求爱障碍、学习和记忆受损等神经发育障碍表型，而在突变体果蝇中表达野生型人源CNOT1 cDNA可以在一定程度上拯救以上表型。与单基因敲除相比，CNOT1和其他已知ASDs基因的联合敲除导致更严重的记忆缺陷。CNOT2被发现与染色体12q15微缺失综合征、全面发育延迟和特征性颅面异常的神经退行性疾病相关^[141-142]。CNOT3错义或截短突变也在ASDs患者^[143]和智力发育障碍患者^[144]中被报道。CCR4-NOT复合体亚基突变导致神经发育障碍可能来源于CCR4-NOT

复合体在早期发育阶段就参与了神经发育相关基因的稳定性调控^[122, 138-140]。此外, PAN2突变被发现与智力缺陷有关^[145-146], 携带PARN遗传突变的纯合子患者具有骨髓衰竭和严重的神经缺陷, 而杂合子患者具有相对较轻的发育迟缓和精神疾病^[84]。脱腺苷酸酶突变导致神经系统疾病的分子机制和病理功能还知之甚少, 需要进一步研究。

4.4 肿瘤

与脱腺苷酸酶在细胞周期、细胞死亡和基因组稳定性调控的功能一致^[15-16], 脱腺苷酸酶的异常表达被发现与多种癌症的发生发展密切相关, 但不同脱腺苷酸酶在不同肿瘤中的作用机制可能各不相同。在乳腺癌小鼠模型中, CNOT2敲低导致体内肺转移增加, 而CNOT2过表达影响多种肿瘤恶性表型相关因子的表达^[147]。TOB1介导CAF1a/CNOT7参与了多种促进肿瘤转移相关基因的表达调控^[148]。CCR4b/CNOT6L直接调节了抑癌基因p27^{Kip1}的mRNA和蛋白质水平^[10]。在一些胃癌患者中, PARN、CCR4a/CNOT6、CCR4b/CNOT6L、CAF1a/CNOT7和CAF1b/CNOT8等脱腺苷酸酶可能高表达。在胃癌细胞系中, 敲低这些脱腺苷酸酶都会诱导细胞周期阻滞、生长抑制和细胞凋亡, 但其所靶向的抑癌基因(如p53、p27、p21、mdm2等)mRNA可能各不相同^[12, 107]。CNOT1和CCR4a/CNOT6基因表达情况与B细胞急性淋巴细胞白血病易感性高度相关^[149], 而原发性急性骨髓性白血病和急性淋巴细胞白血病患者样本中PARN和CNOT6的表达均有升高^[150]。在肺癌中, CCR4a/CNOT6的高表达预示着更好的患者生存率, 尤其是发生转移的概率偏低^[151]。在浸润性乳腺癌中, PARN表达下调^[152]。在过表达CNOT2的6DT1乳腺癌细胞小鼠模型中, 乳腺癌的肺转移和肿瘤增殖均被抑制^[147]。在人大肠癌中, CNOT2和CAF1b/CNOT8的表达也有升高^[153-154], CNOT3也参与了调节结肠上皮细胞自我更新^[155]。

现有研究结果表明, 脱腺苷酸酶可能以多种途径参与了肿瘤的生长和转移。在不同类型的肿瘤组织中, 不同脱腺苷酸酶的主要靶标mRNAs和调控机制可能存在较大差异, 这些差异可能源于不同肿瘤组织基因表达谱之间的差别。此外值得注意的是, 脱腺苷酸酶作用机制的复杂性还体现在各种脱腺苷酸酶的功能冗余和代偿性表达, 需要在临床和机制研究中予以重视。

4.5 代谢类疾病

脱腺苷酸酶调节RNA稳态, 其功能缺陷可能会导致代谢相关基因的表达异常。CCR4-NOT复合体的正常功能对维持肝脏内环境的稳态非常重要, CNOT1在小鼠肝脏中的特异性缺乏会引起肝脏细胞转录本poly(A)尾的过度延伸, 最终导致致命性肝炎^[156]。在小鼠脂肪组织中敲除cnot3导致脂肪营养不良^[157], 而敲除cnot1导致脂肪营养不良并伴随着脂肪组织中出现肌肉样纤维结构^[158-159]。在糖尿病小鼠模型中, CNOT1、CNOT2和CNOT3的表达下调, 而β细胞特异性cnot3基因敲除小鼠具有糖尿病表型并显示胰岛素表达降低^[160]。脱腺苷酸酶在代谢类疾病中的分子机制还很少得到阐明, 推测可能与细胞分化过程中脱腺苷酸酶调控组织特异性基因的表达相关。

5 结论与展望

通过调节RNA 3'端poly(A)或oligo(A)的长度, 脱腺苷酸化不仅在mRNA稳定性和翻译效率调控中起着关键作用, 而且也是多种非编码RNA生物合成途径中必不可少的修饰加工者。作为RNA水平的重要调控者之一, 脱腺苷酸酶参与了几几乎所有细胞生命活动和多种重要生理和病理过程。然而, 由于RNA水平的调控研究还处于发展时期, 还需要更多研究才能阐明脱腺苷酸酶多种多样的生理功能和精细复杂的分子调控网络。

细胞中多种脱腺苷酸酶的活性受到严格的分子调控, 以维持细胞内的RNA稳态。脱腺苷酸酶分子调控网络的可能作用机制是: 细胞中上千种RBPs作为RNA命运调控的中心分子, 一方面根据RNA的状态或细胞需求识别特定的靶RNA子集, 另一方面招募特定脱腺苷酸酶, 实现脱腺苷酸酶对特定靶RNA子集3'端的修剪, 从而调控RNA的最终命运。翻译后修饰和相互作用蛋白表达谱的变化可以转换脱腺苷酸酶的活性状态和靶向的底物RNA子集, 从而响应发育和应激过程中细胞对基因表达情况的各种需求。由此, 细胞中十余种脱腺苷酸酶同工酶和上千种RBPs构成了复杂的动态分子调控网络, 帮助细胞在生长、增殖、分化、应激、死亡等重要生命活动中维持RNA稳态或转换基因表达谱。

脱腺苷酸酶所介导的RNA稳态调控与其他细胞调控途径之间可能存在着广泛的联系。翻译后修饰和蛋白质相互作用偶联了细胞信号传递与RNA

稳态调控,一方面激酶通过磷酸化修饰等可以改变脱腺苷酸酶的活性和底物选择,另一方面脱腺苷酸酶也可以响应细胞内的信号调节信号通路中关键基因的表达水平。除此之外,现有的零星研究表明,核苷类化合物可以调控脱腺苷酸酶活性,而脱腺苷酸酶也调节了自噬等过程,暗示脱腺苷酸酶可能与细胞内的多种生物合成和降解途径之间存在着交互调节。但到目前为止,现有研究所揭示的仍然是RNA-RBP-脱腺苷酸酶调控网络中的很小一部分,对于RNA降解途径与细胞其他重要过程之间的关系也还需要进一步探索。

参 考 文 献

- [1] Pederson T. Nuclear RNA-protein interactions and messenger RNA processing. *J Cell Biol*, 1983, **97**(5 Pt 1): 1321-1326
- [2] Edmonds M, Vaughan M H Jr, Nakazato H. Polyadenylic acid sequences in the heterogeneous nuclear RNA and rapidly-labeled polyribosomal RNA of HeLa cells: possible evidence for a precursor relationship. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1971, **68**(6): 1336-1340
- [3] McLaughlin C S, Warner J R, Edmonds M, *et al.* Polyadenylic acid sequences in yeast messenger ribonucleic acid. *J Biol Chem*, 1973, **248**(4): 1466-1471
- [4] Martinez J, Ren Y G, Nilsson P, *et al.* The mRNA cap structure stimulates rate of poly(A) removal and amplifies processivity of degradation. *J Biol Chem*, 2001, **276**(30): 27923-27929
- [5] Sachs A, Wahle E. Poly(A) tail metabolism and function in eucaryotes. *J Biol Chem*, 1993, **268**(31): 22955-22958
- [6] Kim J H, Richter J D. Opposing polymerase-deadenylase activities regulate cytoplasmic polyadenylation. *Mol Cell*, 2006, **24**(2): 173-183
- [7] 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
- [8] Yamashita A, Chang T C, Yamashita Y, *et al.* Concerted action of poly(A) nucleases and decapping enzyme in mammalian mRNA turnover. *Nat Struct Mol Biol*, 2005, **12**(12): 1054-1063
- [9] Wagner E, Clement S L, Lykke-Andersen J. An unconventional human Ccr4-Caf1 deadenylase complex in nuclear Cajal bodies. *Mol Cell Biol*, 2007, **27**(5): 1686-1695
- [10] Morita M, Suzuki T, Nakamura T, *et al.* Depletion of mammalian CCR4b deadenylase triggers elevation of the p27Kip1 mRNA level and impairs cell growth. *Mol Cell Biol*, 2007, **27**(13): 4980-4990
- [11] Morris J Z, Hong A, Lilly M A, *et al.* Twin, a CCR4 homolog, regulates cyclin poly(A) tail length to permit *Drosophila* oogenesis. *Development*, 2005, **132**(6): 1165-1174
- [12] Song X H, Liao X Y, Zheng X Y, *et al.* Human Ccr4 and Caf1 deadenylases regulate proliferation and tumorigenicity of human gastric cancer cells *via* modulating cell cycle progression. *Cancers (Basel)*, 2021, **13**(4): 834
- [13] Faber A W, Van Dijk M, Raue H A, *et al.* Ngl2p is a Ccr4p-like RNA nuclease essential for the final step in 3'-end processing of 5.8S rRNA in *Saccharomyces cerevisiae*. *RNA*, 2002, **8**(9): 1095-1101
- [14] Westmoreland T J, Marks J R, Olson J A, Jr., *et al.* Cell cycle progression in G1 and S phases is CCR4 dependent following ionizing radiation or replication stress in *Saccharomyces cerevisiae*. *Eukaryot Cell*, 2004, **3**(2): 430-446
- [15] Yan Y B. Deadenylation: enzymes, regulation, and functional implications. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2014, **5**(3): 421-443
- [16] Yan Y B. Diverse functions of deadenylases in DNA damage response and genomic integrity. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2021, **12**(3): e1621
- [17] Astrom J, Astrom A, Virtanen A. Properties of a HeLa cell 3' exonuclease specific for degrading poly(A) tails of mammalian mRNA. *J Biol Chem*, 1992, **267**(25): 18154-18159
- [18] Korner C G, Wormington M, Muckenthaler M, *et al.* The deadenylating nuclease (DAN) is involved in poly(A) tail removal during the meiotic maturation of *Xenopus* oocytes. *EMBO J*, 1998, **17**(18): 5427-5437
- [19] Astrom J, Astrom A, Virtanen A. *In vitro* deadenylation of mammalian mRNA by a HeLa cell 3' exonuclease. *EMBO J*, 1991, **10**(10): 3067-3071
- [20] Bianchin C, Mauxion F, Sentis S, *et al.* Conservation of the deadenylase activity of proteins of the Caf1 family in human. *RNA*, 2005, **11**(4): 487-494
- [21] Feddersen A, Dedic E, Poulsen E G, *et al.* *Saccharomyces cerevisiae* Ngl3p is an active 3'-5' exonuclease with a specificity towards poly-A RNA reminiscent of cellular deadenylases. *Nucleic Acids Res*, 2012, **40**(2): 837-846
- [22] Henriksson N, Nilsson P, Wu M, *et al.* Recognition of adenosine residues by the active site of poly(A)-specific ribonuclease. *J Biol Chem*, 2010, **285**(1): 163-170
- [23] Poulsen J B, Andersen K R, Kjaer K H, *et al.* Human 2'-phosphodiesterase localizes to the mitochondrial matrix with a putative function in mitochondrial RNA turnover. *Nucleic Acids Res*, 2011, **39**(9): 3754-3770
- [24] He G J, Liu W F, Yan Y B. Dissimilar roles of the four conserved acidic residues in the thermal stability of poly(A) -specific ribonuclease. *Int J Mol Sci*, 2011, **12**(5): 2901-2916
- [25] Liu W F, Zhang A, Cheng Y, *et al.* Effect of magnesium ions on the thermal stability of human poly(A)-specific ribonuclease. *FEBS Lett*, 2007, **581**(5): 1047-1052
- [26] Zhang J Q, He G J, Yan Y B. Biochemical and biophysical characterization of the deadenylase CrCaf1 from *Chlamydomonas reinhardtii*. *PLoS One*, 2013, **8**(7): e69582
- [27] Liu W F, Yan Y B. Biophysical and biochemical characterization of recombinant human Pop2 deadenylase. *Protein Expr Purif*, 2008, **60**(1): 46-52
- [28] Ren Y G, Martinez J, Virtanen A. Identification of the active site of poly(A)-specific ribonuclease by site-directed mutagenesis and Fe (2+)-mediated cleavage. *J Biol Chem*, 2002, **277**(8): 5982-5987
- [29] Balatsos N A, Anastasakis D, Stathopoulos C. Inhibition of human poly(A) -specific ribonuclease (PARN) by purine nucleotides:

- kinetic analysis. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2009, **24**(2): 516-523
- [30] Ren Y G, Martinez J, Kirsebom L A, *et al.* Inhibition of Klenow DNA polymerase and poly(A)-specific ribonuclease by aminoglycosides. *RNA*, 2002, **8**(11): 1393-1400
- [31] Duan T L, Jiao H, He G J, *et al.* Translation efficiency and degradation of ER-associated mRNAs modulated by ER-anchored poly(A)-specific ribonuclease (PARN). *Cells*, 2020, **9**(1): 162
- [32] Martinez J, Ren Y G, Thuresson A C, *et al.* A 54-kDa fragment of the Poly(A)-specific ribonuclease is an oligomeric, processive, and cap-interacting poly(A)-specific 3' exonuclease. *J Biol Chem*, 2000, **275**(31): 24222-24230
- [33] He G J, Yan Y B. A deadenylase assay by size-exclusion chromatography. *PLoS One*, 2012, **7**(3): e33700
- [34] Viswanathan P, Ohn T, Chiang Y C, *et al.* Mouse CAF1 can function as a processive deadenylase/3'-5'-exonuclease *in vitro* but in yeast the deadenylase function of CAF1 is not required for mRNA poly(A) removal. *J Biol Chem*, 2004, **279**(23): 23988-23995
- [35] Sun M, Schwalb B, Pirkel N, *et al.* Global analysis of eukaryotic mRNA degradation reveals Xrn1-dependent buffering of transcript levels. *Mol Cell*, 2013, **52**(1): 52-62
- [36] Liu W F, Zhang A, Cheng Y, *et al.* Allosteric regulation of human poly(A)-specific ribonuclease by cap and potassium ions. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, **379**(2): 341-345
- [37] Gao M, Fritz D T, Ford L P, *et al.* Interaction between a poly(A)-specific ribonuclease and the 5' cap influences mRNA deadenylation rates *in vitro*. *Mol Cell*, 2000, **5**(3): 479-488
- [38] Dehlin E, Wormington M, Korner C G, *et al.* Cap-dependent deadenylation of mRNA. *EMBO J*, 2000, **19**(5): 1079-1086
- [39] Wu M S, Reuter M, Lilie H, *et al.* Structural insight into poly(A) binding and catalytic mechanism of human PARN. *EMBO J*, 2005, **24**(23): 4082-4093
- [40] Nagata T, Suzuki S, Endo R, *et al.* The RRM domain of poly(A)-specific ribonuclease has a noncanonical binding site for mRNA cap analog recognition. *Nucleic Acids Res*, 2008, **36**(14): 4754-4767
- [41] Monecke T, Schell S, Dickmanns A, *et al.* Crystal structure of the RRM domain of poly(A)-specific ribonuclease reveals a novel m⁷G-cap-binding mode. *J Mol Biol*, 2008, **382**(4): 827-834
- [42] Nilsson P, Henriksson N, Niedzwiecka A, *et al.* A multifunctional RNA recognition motif in poly(A)-specific ribonuclease with cap and poly(A) binding properties. *J Biol Chem*, 2007, **282**(45): 32902-32911
- [43] Milone J, Wilusz J, Bellofatto V. Characterization of deadenylation in trypanosome extracts and its inhibition by poly(A)-binding protein Pab1p. *RNA*, 2004, **10**(3): 448-457
- [44] Balatsos N A, Vlachakis D, Maragozidis P, *et al.* Competitive inhibition of human poly(A)-specific ribonuclease (PARN) by synthetic fluoro-pyranosyl nucleosides. *Biochemistry*, 2009, **48**(26): 6044-6051
- [45] Viswanathan P, Chen J, Chiang Y C, *et al.* Identification of multiple RNA features that influence CCR4 deadenylation activity. *J Biol Chem*, 2003, **278**(17): 14949-14955
- [46] Maryati M, Airhihen B, Winkler G S. The enzyme activities of Caf1 and Ccr4 are both required for deadenylation by the human Ccr4-Not nuclease module. *Biochem J*, 2015, **469**(1): 169-176
- [47] Maryati M, Kaur I, Jadhav G P, *et al.* A fluorescence-based assay suitable for quantitative analysis of deadenylase enzyme activity. *Nucleic Acids Res*, 2014, **42**(5): e30
- [48] Zhang Q, Yan D, Guo E, *et al.* Structural basis for inhibition of the deadenylase activity of human CNOT6L. *FEBS Lett*, 2016, **590**(8): 1270-1279
- [49] He G J, Yan Y B. Contributions of the C-terminal domain to poly(A)-specific ribonuclease (PARN) stability and self-association. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, **18**(7): 100626
- [50] Duan T L, He G J, Hu L D, *et al.* The intrinsically disordered C-terminal domain triggers nucleolar localization and function switch of PARN in response to DNA damage. *Cells*, 2019, **8**(8): 836
- [51] He G J, Yan Y B. Self-association of poly(A)-specific ribonuclease (PARN) triggered by the R3H domain. *Biochim Biophys Acta*, 2014, **1844**(12): 2077-2085
- [52] He G J, Zhang A, Liu W F, *et al.* Distinct roles of the R3H and RRM domains in poly(A)-specific ribonuclease structural integrity and catalysis. *Biochim Biophys Acta*, 2013, **1834**(6): 1089-1098
- [53] Feng L K, Yan Y B. The N-terminus modulates human Caf1 activity, structural stability and aggregation. *Int J Biol Macromol*, 2012, **51**(4): 497-503
- [54] He G J, Zhang A, Liu W F, *et al.* Conformational stability and multistate unfolding of poly(A)-specific ribonuclease. *FEBS J*, 2009, **276**(10): 2849-2860
- [55] Zhang A, Liu W F, Yan Y B. Role of the RRM domain in the activity, structure and stability of poly(A)-specific ribonuclease. *Arch Biochem Biophys*, 2007, **461**(2): 255-262
- [56] Liu W F, Zhang A, He G J, *et al.* The R3H domain stabilizes poly(A)-specific ribonuclease by stabilizing the RRM domain. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, **360**(4): 846-851
- [57] Reijns M A, Alexander R D, Spiller M P, *et al.* A role for Q/N-rich aggregation-prone regions in P-body localization. *J Cell Sci*, 2008, **121**(Pt 15): 2463-2472
- [58] Copeland P R, Wormington M. The mechanism and regulation of deadenylation: identification and characterization of *Xenopus* PARN. *RNA*, 2001, **7**: 875-886
- [59] Olsen J V, Blagoev B, Gnani F, *et al.* Global, *in vivo*, and site-specific phosphorylation dynamics in signaling networks. *Cell*, 2006, **127**(3): 635-648
- [60] Van Hoof D, Munoz J, Braam S R, *et al.* Phosphorylation dynamics during early differentiation of human embryonic stem cells. *Cell Stem Cell*, 2009, **5**(2): 214-226
- [61] Weber C, Schreiber T B, Daub H. Dual phosphoproteomics and chemical proteomics analysis of erlotinib and gefitinib interference in acute myeloid leukemia cells. *J Proteomics*, 2012, **75**(4): 1343-1356
- [62] Seal R, Temperley R, Wilusz J, *et al.* Serum-deprivation stimulates cap-binding by PARN at the expense of eIF4E, consistent with the observed decrease in mRNA stability. *Nucleic Acids Res*, 2005,

- 33(1): 376-387
- [63] Reinhardt H C, Hasskamp P, Schmedding I, *et al.* DNA damage activates a spatially distinct late cytoplasmic cell-cycle checkpoint network controlled by MK2-mediated RNA stabilization. *Mol Cell*, 2010, **40**(1): 34-49
- [64] Collart MA, Panasenko O O. The Ccr4--not complex. *Gene*, 2012, **492**(1): 42-53
- [65] Huang K L, Chadee A B, Chen C Y, *et al.* Phosphorylation at intrinsically disordered regions of PAM2 motif-containing proteins modulates their interactions with PABPC1 and influences mRNA fate. *RNA*, 2013, **19**(3): 295-305
- [66] Suzuki T, Hoshina M, Nishijima S, *et al.* Regulation of CCR4-NOT complex deadenylase activity and cellular responses by MK2-dependent phosphorylation of CNOT2. *RNA Biol*, 2022, **19**(1): 234-246
- [67] Lau N C, Mulder K W, Brenkman A B, *et al.* Phosphorylation of Not4p functions parallel to BUR2 to regulate resistance to cellular stresses in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS One*, 2010, **5**(4): e9864
- [68] Yi H, Park J, Ha M, *et al.* PABP cooperates with the CCR4-NOT complex to promote mRNA deadenylation and block precocious decay. *Mol Cell*, 2018, **70**(6): 1081-1088. e1085
- [69] Goldstrohm A C, Wickens M. Multifunctional deadenylase complexes diversify mRNA control. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, **9**(4): 337-344
- [70] Villanyi Z, Collart M A. Ccr4-Not is at the core of the eukaryotic gene expression circuitry. *Biochem Soc Trans*, 2015, **43**(6): 1253-1258
- [71] Webster M W, Chen Y H, Stowell J A W, *et al.* mRNA deadenylation is coupled to translation rates by the differential activities of Ccr4-Not nucleases. *Mol Cell*, 2018, **70**(6): 1089-1100 e1088
- [72] Presnyak V, Alhusaini N, Chen Y H, *et al.* Codon optimality is a major determinant of mRNA stability. *Cell*, 2015, **160**(6): 1111-1124
- [73] Hanson G, Collier J. Codon optimality, bias and usage in translation and mRNA decay. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, **19**(1): 20-30
- [74] Takehara Y, Yashiroda H, Matsuo Y, *et al.* The ubiquitination-deubiquitination cycle on the ribosomal protein eS7A is crucial for efficient translation. *iScience*, 2021, **24**(3): 102145
- [75] Matsuki Y, Matsuo Y, Nakano Y, *et al.* Ribosomal protein S7 ubiquitination during ER stress in yeast is associated with selective mRNA translation and stress outcome. *Sci Rep*, 2020, **10**(1): 19669
- [76] Buschauer R, Matsuo Y, Sugiyama T, *et al.* The Ccr4-Not complex monitors the translating ribosome for codon optimality. *Science*, 2020, **368**(6488): eaay6912
- [77] Kassem S, Villanyi Z, Collart M A. Not5-dependent co-translational assembly of Ada2 and Spt20 is essential for functional integrity of SAGA. *Nucleic Acids Res*, 2017, **45**(3): 1186-1199
- [78] Panasenko O O, Somasekharan S P, Villanyi Z, *et al.* Co-translational assembly of proteasome subunits in NOT1-containing assemblyosomes. *Nat Struct Mol Biol*, 2019, **26**(2): 110-120
- [79] Allen G, Weiss B, Panasenko O O, *et al.* Not1 and Not4 inversely determine mRNA solubility that sets the dynamics of co-translational events. *Genome Biol*, 2023, **24**(1): 30
- [80] Ransohoff J D, Wei Y, Khavari P A. The functions and unique features of long intergenic non-coding RNA. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, **19**(3): 143-157
- [81] Boele J, Persson H, Shin J W, *et al.* PAPD5-mediated 3' adenylation and subsequent degradation of miR-21 is disrupted in proliferative disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(31): 11467-11472
- [82] Harwig A, Herrera-Carrillo E, Jongejan A, *et al.* Deep sequence analysis of AgoshRNA processing reveals 3' A addition and trimming. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2015, **4**(7): e247
- [83] Lee D, Park D, Park J H, *et al.* Poly(A)-specific ribonuclease sculpts the 3' ends of microRNAs. *RNA*, 2019, **25**(3): 388-405
- [84] Dhanraj S, Gunja S M, Deveau A P, *et al.* Bone marrow failure and developmental delay caused by mutations in poly(A)-specific ribonuclease (PARN). *J Med Genet*, 2015, **52**(11): 738-748
- [85] Son A, Park J E, Kim V N. PARN and TOE1 constitute a 3' end maturation module for nuclear non-coding RNAs. *Cell Rep*, 2018, **23**(3): 888-898
- [86] Ding D, Liu J, Dong K, *et al.* PNLDC1 is essential for piRNA 3' end trimming and transposon silencing during spermatogenesis in mice. *Nat Commun*, 2017, **8**(1): 819
- [87] Izumi N, Shoji K, Sakaguchi Y, *et al.* Identification and functional analysis of the pre-piRNA 3' trimmer in silkworms. *Cell*, 2016, **164**(5): 962-973
- [88] Tang W, Tu S, Lee H C, *et al.* The RNase PARN-1 trims piRNA 3' ends to promote transcriptome surveillance in *C. elegans*. *Cell*, 2016, **164**(5): 974-984
- [89] Moon D H, Segal M, Boyraz B, *et al.* Poly(A)-specific ribonuclease (PARN) mediates 3'-end maturation of the telomerase RNA component. *Nat Genet*, 2015, **47**(12): 1482-1488
- [90] Shukla S, Parker R. Hypo- and hyper-assembly diseases of RNA-protein complexes. *Trends Mol Med*, 2016, **22**(7): 615-628
- [91] Stuart B D, Choi J, Zaidi S, *et al.* Exome sequencing links mutations in PARN and RTEL1 with familial pulmonary fibrosis and telomere shortening. *Nat Genet*, 2015, **47**(5): 512-517
- [92] Tummala H, Walne A, Collopy L, *et al.* Poly(A)-specific ribonuclease deficiency impacts telomere biology and causes dyskeratosis congenita. *J Clin Invest*, 2015, **125**(5): 2151-2160
- [93] Shukla S, Bjerke G A, Muhrad D, *et al.* The RNase PARN controls the levels of specific miRNAs that contribute to p53 regulation. *Mol Cell*, 2019, **73**(6): 1204-1216. e1204
- [94] Benyelles M, Episkopou H, O'donohue M F, *et al.* Impaired telomere integrity and rRNA biogenesis in PARN-deficient patients and knock-out models. *EMBO Mol Med*, 2019, **11**(7): e10201
- [95] Dodson L M, Baldan A, Nissbeck M, *et al.* From incomplete penetrance with normal telomere length to severe disease and telomere shortening in a family with monoallelic and biallelic PARN pathogenic variants. *Hum Mutat*, 2019, **40**(12): 2414-2429

- [96] Bukhari S I A, Truesdell S S, Lee S, *et al.* A specialized mechanism of translation mediated by FXR1a-associated microRNP in cellular quiescence. *Mol Cell*, 2016, **61**(5): 760-773
- [97] Chen C Y, Zheng D, Xia Z, *et al.* Ago-TNRC6 triggers microRNA-mediated decay by promoting two deadenylation steps. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, **16**(11): 1160-1166
- [98] Fabian M R, Cieplak M K, Frank F, *et al.* miRNA-mediated deadenylation is orchestrated by GW182 through two conserved motifs that interact with CCR4-NOT. *Nat Struct Mol Biol*, 2011, **18**(11): 1211-1217
- [99] Murphy M R, Kleiman F E. Connections between 3' end processing and DNA damage response: ten years later. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2020, **11**(2): e1571
- [100] Akiyama T, Suzuki T, Yamamoto T. RNA decay machinery safeguards immune cell development and immunological responses. *Trends Immunol*, 2021, **42**(5): 447-460
- [101] Liu Y, Ramkumar N, Vu L P. RNA deadenylation complexes in development and diseases. *Biochem Cell Biol*, 2023, **101**(2): 131-147
- [102] Tucker M, Staples R R, Valencia-Sanchez M A, *et al.* Ccr4p is the catalytic subunit of a Ccr4p/Pop2p/Notp mRNA deadenylase complex in *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J*, 2002, **21**(6): 1427-1436
- [103] Manukyan A, Zhang J, Thippeswamy U, *et al.* Ccr4 alters cell size in yeast by modulating the timing of CLN1 and CLN2 expression. *Genetics*, 2008, **179**(1): 345-357
- [104] Neely G G, Kuba K, Cammarato A, *et al.* A global *in vivo* *Drosophila* RNAi screen identifies NOT3 as a conserved regulator of heart function. *Cell*, 2010, **141**(1): 142-153
- [105] Neumüller R A, Richter C, Fischer A, *et al.* Genome-wide analysis of self-renewal in *Drosophila* neural stem cells by transgenic RNAi. *Cell Stem Cell*, 2011, **8**(5): 580-593
- [106] Aslam A, Mittal S, Koch F, *et al.* The Ccr4-NOT deadenylase subunits CNOT7 and CNOT8 have overlapping roles and modulate cell proliferation. *Mol Biol Cell*, 2009, **20**(17): 3840-3850
- [107] Zhang L N, Yan Y B. Depletion of poly(A)-specific ribonuclease (PARN) inhibits proliferation of human gastric cancer cells by blocking cell cycle progression. *Biochim Biophys Acta*, 2015, **1853**(2): 522-534
- [108] Temme C, Zaessinger S, Meyer S, *et al.* A complex containing the CCR4 and CAF1 proteins is involved in mRNA deadenylation in *Drosophila*. *EMBO J*, 2004, **23**(14): 2862-2871
- [109] Berthet C, Morera A M, Asensio M J, *et al.* CCR4-associated factor CAF1 is an essential factor for spermatogenesis. *Mol Cell Biol*, 2004, **24**(13): 5808-5820
- [110] Nakamura T, Yao R, Ogawa T, *et al.* Oligo-asthenoteratozoospermia in mice lacking Cnot7, a regulator of retinoid X receptor beta. *Nat Genet*, 2004, **36**(5): 528-533
- [111] Dai X X, Jiang Z Y, Wu Y W, *et al.* CNOT6/6L-mediated mRNA degradation in ovarian granulosa cells is a key mechanism of gonadotropin-triggered follicle development. *Cell Rep*, 2021, **37**(7): 110007
- [112] Sha Q Q, Yu J L, Guo J X, *et al.* CNOT6L couples the selective degradation of maternal transcripts to meiotic cell cycle progression in mouse oocyte. *EMBO J*, 2018, **37**(24): e99333
- [113] Yamaji M, Jishage M, Meyer C, *et al.* DND1 maintains germline stem cells *via* recruitment of the CCR4-NOT complex to target mRNAs. *Nature*, 2017, **543**(7646): 568-572
- [114] Fu Z, Geng C, Wang H, *et al.* Twin promotes the maintenance and differentiation of germline stem cell lineage through modulation of multiple pathways. *Cell Rep*, 2015, **13**(7): 1366-1379
- [115] Joly W, Chartier A, Rojas-Rios P, *et al.* The CCR4 deadenylase acts with Nanos and Pumilio in the fine-tuning of Mei-P26 expression to promote germline stem cell self-renewal. *Stem Cell Rep*, 2013, **1**(5): 411-424
- [116] Nishimura T, Nagamori I, Nakatani T, *et al.* PNLDC1, mouse pre-piRNA Trimmer, is required for meiotic and post-meiotic male germ cell development. *EMBO Rep*, 2018, **19**(3): e44957
- [117] Zhang Y, Guo R, Cui Y, *et al.* An essential role for PNLDC1 in piRNA 3' end trimming and male fertility in mice. *Cell Res*, 2017, **27**(11): 1392-1396
- [118] Nagirnaja L, Morup N, Nielsen J E, *et al.* Variant PNLDC1, defective piRNA processing, and azoospermia. *N Engl J Med*, 2021, **385**(8): 707-719
- [119] Zheng X, Yang P, Lackford B, *et al.* CNOT3-dependent mRNA deadenylation safeguards the pluripotent state. *Stem Cell Rep*, 2016, **7**(5): 897-910
- [120] Zheng X, Dumitru R, Lackford B L, *et al.* Cnot1, Cnot2, and Cnot3 maintain mouse and human ESC identity and inhibit extraembryonic differentiation. *Stem Cells*, 2012, **30**(5): 910-922
- [121] Hu G, Kim J, Xu Q, *et al.* A genome-wide RNAi screen identifies a new transcriptional module required for self-renewal. *Genes Dev*, 2009, **23**(7): 837-848
- [122] Du H, Chen C, Wang Y, *et al.* RNF219 interacts with CCR4-NOT in regulating stem cell differentiation. *J Mol Cell Biol*, 2020, **12**(11): 894-905
- [123] Quan Y, Wang M, Xu C, *et al.* Cnot8 eliminates naïve regulation networks and is essential for naïve-to-formative pluripotency transition. *Nucleic Acids Res*, 2022, **50**(8): 4414-4435
- [124] Sarshad A A, Juan A H, Muler A I C, *et al.* Argonaute-miRNA complexes silence target mRNAs in the nucleus of mammalian stem cells. *Mol Cell*, 2018, **71**(6): 1040-1050.e1048
- [125] Solana J, Gamberi C, Mihaylova Y, *et al.* The CCR4-NOT complex mediates deadenylation and degradation of stem cell mRNAs and promotes planarian stem cell differentiation. *PLoS Genet*, 2013, **9**(12): e1004003
- [126] Sha Q Q, Zheng W, Wu Y W, *et al.* Dynamics and clinical relevance of maternal mRNA clearance during the oocyte-to-embryo transition in humans. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 4917
- [127] Yu C, Ji S Y, Sha Q Q, *et al.* BTG4 is a meiotic cell cycle-coupled maternal-zygotic-transition licensing factor in oocytes. *Nat Struct Mol Biol*, 2016, **23**(5): 387-394
- [128] Nishikawa S, Hatanaka Y, Tokoro M, *et al.* Functional analysis of nocturnin, a circadian deadenylase, at maternal-to-zygotic transition in mice. *J Reprod Dev*, 2013, **59**(3): 258-265

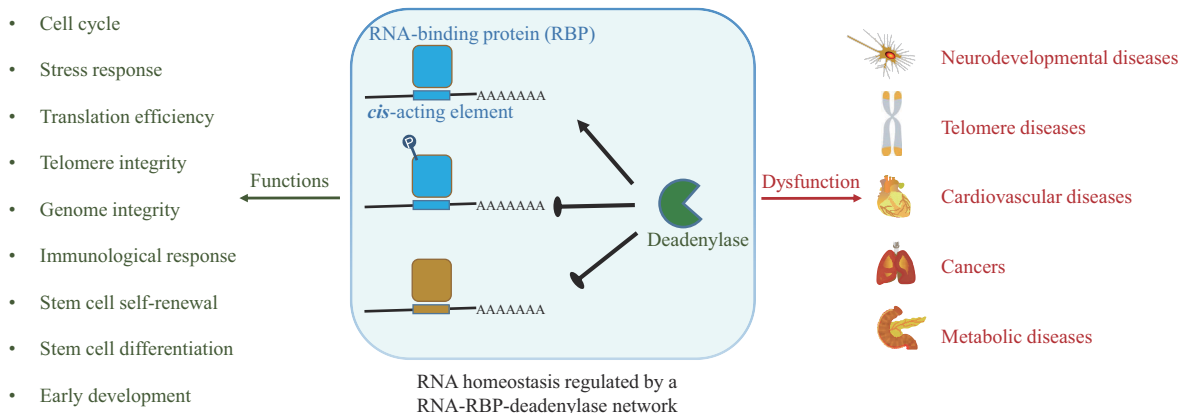
- [129] Rouget C, Papin C, Boureux A, *et al.* Maternal mRNA deadenylation and decay by the piRNA pathway in the early *Drosophila* embryo. *Nature*, 2010, **467**(7319): 1128-1132
- [130] Giraldez A J, Mishima Y, Rihel J, *et al.* Zebrafish MiR-430 promotes deadenylation and clearance of maternal mRNAs. *Science*, 2006, **312**(5770): 75-79
- [131] Semotok J L, Cooperstock R L, Pinder B D, *et al.* Smaug recruits the CCR4/POP2/NOT deadenylase complex to trigger maternal transcript localization in the early *Drosophila* embryo. *Curr Biol*, 2005, **15**(4): 284-294
- [132] Poleskaya A, Pinna G, Sassi Y, *et al.* Post-transcriptional modulation of interleukin 8 by CNOT6L regulates skeletal muscle differentiation. *Biochim Biophys Acta*, 2016, **1863**(2): 263-270
- [133] Temme C, Simonelig M, Wahle E. Deadenylation of mRNA by the CCR4-NOT complex in *Drosophila*: molecular and developmental aspects. *Front Genet*, 2014, **5**: 143
- [134] Martínez P, Blasco M A. Telomere-driven diseases and telomere-targeting therapies. *J Cell Biol*, 2017, **216**(4): 875-887
- [135] Burris A M, Ballew B J, Kentosh J B, *et al.* Hoyeraal-Hreidarsson syndrome due to PARN mutations: fourteen years of follow-up. *Pediatr Neurol*, 2016, **56**: 62-68. e61
- [136] Yamaguchi T, Suzuki T, Sato T, *et al.* The CCR4-NOT deadenylase complex controls Atg7-dependent cell death and heart function. *Sci Signal*, 2018, **11**(516): eaan3638
- [137] Elmen L, Volpato C B, Kervadec A, *et al.* Silencing of CCR4-NOT complex subunits affects heart structure and function. *Dis Model Mech*, 2020, **13**(7): dmm044727
- [138] De Franco E, Watson R A, Weninger W J, *et al.* A specific CNOT1 mutation results in a novel syndrome of pancreatic agenesis and holoprosencephaly through impaired pancreatic and neurological development. *Am J Hum Genet*, 2019, **104**(5): 985-989
- [139] Kruszka P, Berger S I, Weiss K, *et al.* A CCR4-NOT transcription complex, subunit 1, CNOT1, variant associated with holoprosencephaly. *Am J Hum Genet*, 2019, **104**(5): 990-993
- [140] Vissers L, Kalvakuri S, De Boer E, *et al.* De novo variants in CNOT1, a central component of the CCR4-NOT complex involved in gene expression and RNA and protein Stability, cause neurodevelopmental delay. *Am J Hum Genet*, 2020, **107**(1): 164-172
- [141] Alesi V, Loddo S, Cali F, *et al.* A heterozygous, intragenic deletion of CNOT2 recapitulates the phenotype of 12q15 deletion syndrome. *Am J Med Genet A*, 2019, **179**(8): 1615-1621
- [142] Uehara T, Takenouchi T, Yamaguchi Y, *et al.* CNOT2 as the critical gene for phenotypes of 12q15 microdeletion syndrome. *Am J Med Genet A*, 2019, **179**(4): 659-662
- [143] Chen Y C, Chang Y W, Huang Y S. Dysregulated translation in neurodevelopmental disorders: an overview of autism-risk genes involved in translation. *Dev Neurobiol*, 2019, **79**(1): 60-74
- [144] Martin R, Splitt M, Genevieve D, *et al.* De novo variants in CNOT3 cause a variable neurodevelopmental disorder. *Eur J Hum Genet*, 2019, **27**(11): 1677-1682
- [145] Reuter M S, Zech M, Hempel M, *et al.* Biallelic PAN2 variants in individuals with a syndromic neurodevelopmental disorder and multiple congenital anomalies. *Eur J Hum Genet*, 2022, **30**(5): 611-618
- [146] Maddirevula S, Alsahli S, Alhabeeb L, *et al.* Expanding the phenome and variome of skeletal dysplasia. *Genet Med*, 2018, **20**(12): 1609-1616
- [147] Faraji F, Hu Y, Wu G, *et al.* An integrated systems genetics screen reveals the transcriptional structure of inherited predisposition to metastatic disease. *Genome Res*, 2014, **24**(2): 227-240
- [148] Faraji F, Hu Y, Yang H H, *et al.* Post-transcriptional control of tumor cell autonomous metastatic potential by CCR4-NOT deadenylase CNOT7. *PLoS Genet*, 2016, **12**(1): e1005820
- [149] Gutierrez-Camino A, Lopez-Lopez E, Martin-Guerrero I, *et al.* Noncoding RNA-related polymorphisms in pediatric acute lymphoblastic leukemia susceptibility. *Pediatr Res*, 2014, **75**(6): 767-773
- [150] Maragozidis P, Karangeli M, Labrou M, *et al.* Alterations of deadenylase expression in acute leukemias: evidence for poly(a)-specific ribonuclease as a potential biomarker. *Acta Haematol*, 2012, **128**(1): 39-46
- [151] Maragozidis P, Papanastasi E, Scutelnic D, *et al.* Poly(A)-specific ribonuclease and Nocturnin in squamous cell lung cancer: prognostic value and impact on gene expression. *Mol Cancer*, 2015, **14**: 187
- [152] Miller T E, Gomez-Cambronero J. A feedback mechanism between PLD and deadenylase PARN for the shortening of eukaryotic poly(A) mRNA tails that is deregulated in cancer cells. *Biol Open*, 2017, **6**(2): 176-186
- [153] Seiden-Long I M, Brown K R, Shih W, *et al.* Transcriptional targets of hepatocyte growth factor signaling and Ki-ras oncogene activation in colorectal cancer. *Oncogene*, 2006, **25**(1): 91-102
- [154] Jung J H, Lee D, Ko H M, *et al.* Inhibition of CNOT2 induces apoptosis via MID1IP1 in colorectal cancer cells by activating p53. *Biomolecules*, 2021, **11**(10): 1492
- [155] Cejas P, Cavazza A, Yandava C N, *et al.* Transcriptional regulator CNOT3 defines an aggressive colorectal cancer subtype. *Cancer Res*, 2017, **77**(3): 766-779
- [156] Takahashi A, Suzuki T, Soeda S, *et al.* The CCR4-NOT complex maintains liver homeostasis through mRNA deadenylation. *Life Sci Alliance*, 2020, **3**(5): e201900494
- [157] Li X, Morita M, Kikuguchi C, *et al.* Adipocyte-specific disruption of mouse Cnot3 causes lipodystrophy. *FEBS Lett*, 2017, **591**(2): 358-368
- [158] Spuler S, Kalbhenn T, Zabojszcza J, *et al.* Muscle and nerve pathology in Dunnigan familial partial lipodystrophy. *Neurology*, 2007, **68**(9): 677-683
- [159] Hayashi Y K, Matsuda C, Ogawa M, *et al.* Human PTRF mutations cause secondary deficiency of caveolins resulting in muscular dystrophy with generalized lipodystrophy. *J Clin Invest*, 2009, **119**(9): 2623-2633
- [160] Mostafa D, Yanagiya A, Georgiadou E, *et al.* Loss of β -cell identity and diabetic phenotype in mice caused by disruption of CNOT3-dependent mRNA deadenylation. *Commun Biol*, 2020, **3**(1): 476

Regulation of RNA Metabolism by Deadenylases*

LIAO Xiao-Yan, YAN Yong-Bin**

(School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Graphical abstract



Abstract In eukaryotic cells, deadenylation is achieved by deadenylases, which are 3'-5' exonuclease that specifically degrade poly(A) or oligo(A) at the 3'-end of RNAs. Most eukaryotic cells contain more than a dozen of deadenylase isoenzymes. Among them, the CCR4-NOT complex and the PAN2-PAN3 complex are the main contributors of non-specific deadenylation of mRNAs, while PARN and PNLDC1 are involved in highly regulated deadenylation of mRNAs and the biogenesis of non-coding RNAs. Besides their roles in RNA metabolism, deadenylases are also regulators of transcription, translation efficiency, stress response, immunological response, genome integrity, and self-renewal and differentiation of stem cells. *In vitro* and *in vivo* studies have discovered that deadenylase activity can be modulated by low-molecular-weight compounds, intramolecular interactions between catalytic and non-catalytic/structural domains, post-translational modifications, and binding partners. By regulating the 3'-tail length of poly(A) or oligo(A) of RNAs, deadenylases have been found to participate in diverse cellular, physiological and pathological processes by modulating RNA homeostasis. Particularly, deadenylases are key players of development by regulating the clearance of maternal mRNAs, the expression of tissue-specific genes and the cross-talk with developmental signaling pathways. Recently, inherited mutations or aberrant expression of deadenylases has been associated with many diseases including telomere diseases, cardiovascular diseases, neurodevelopmental diseases, cancers, and metabolic diseases. The precise regulation of deadenylases in their diverse intracellular functions may be achieved by a complicated network composing of various *cis*-acting elements in the targeted RNAs, thousands of *trans*-acting RNA-binding proteins, and numerous

* This work was supported by grants from the National Key R&D Program of China (2020YFA0906900) and The National Natural Science Foundation of China (31870783, 31370797, 31170757, 30770477).

** Corresponding author.

Tel: 86-10-62783477, E-mail: ybyan@tsinghua.edu.cn

Received: April 6, 2023 Accepted: April 21, 2023

post-translational modifications. In this network, RNA-binding proteins may act as hubs to bind with targeted RNAs with specific *cis*-acting elements and to recruit a distinct deadenylase *via* protein-protein interactions, and thereby to modulate RNA fate by modifying the poly(A) length or trimming the oligo(A) at the 3'-end. The changes in the expression profile of RNA-binding proteins and in the post-translational modifications of deadenylase-binding partners provide a dynamic and responsive network to achieve the spatiotemporal regulation of gene expression. This complicated regulating network facilitates the cells to maintain RNA homeostasis or switch transcriptome to meet the demands of cell growth, proliferation, cell differentiation, stress response and cell death. The regulating network of deadenylases may also cross-talk with the other cellular pathways such as signaling transduction, autophagy, and anabolism of various biomacromolecules. In this review, we will discuss the regulators of deadenylases, the mechanisms of RNA homeostasis regulated by deadenylation, and the emerging roles of deadenylases in health and diseases.

Key words deadenylase, regulation of enzyme activity, mRNA decay, translation efficiency, RNA biogenesis, RNA-binding proteins

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0121