

tRNA 衍生片段和 tRNA 半分子的生物学功能及其在疾病发生中的作用*

朱林文 谢 依 郭俊明**

(宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所, 浙江省病理生理学技术研究重点实验室, 宁波 315211)

摘要 tRNA 衍生片段(tRNA-derived RNA fragment, tRF)和 tRNA 半分子(tRNA halves, tiRNA)由成熟 tRNA 或其前体 tRNA 在不同位点特异性剪切产生, 它们是一类广泛存在于原核生物和真核生物转录组中的非编码小 RNA 分子. tRF 主要有 tRF-5、tRF-3 和 tRF-1 等 3 亚类, 分别来自成熟 tRNA 的 D 环至反密码环茎区间切割至 5'端、T 环开始至 3'端和前体 tRNA 的 3'端尾部, 其长度为 14~30 个核苷酸(nucleotide, nt). tiRNA 主要有 5' tiRNA 和 3' tiRNA 等 2 亚类, 是在成熟 tRNA 反密码子环处切割分别产生, 其长度为 29~50 nt. tRF 和 tiRNA 具有多种生物学功能, 既可以在应激反应中作为信号分子, 又可以作为基因表达的调节者. 它们与人类多种疾病(如肿瘤、神经退行性疾病、代谢性疾病和传染病等)的发生密切相关, 有望成为疾病诊断的新型标志物. 本文就 tRF 和 tiRNA 的分类、生物学功能以及与人类疾病的关系作一综述.

关键词 tRNA 衍生片段, tRNA 半分子, 基因表达调控, 疾病发生

学科分类号 Q7, Q5

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0163

转移核糖核酸(transfer RNA, tRNA)是蛋白质合成过程的重要接头分子, 它们可以特异性地识别信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 分子中的密码子, 并运载氨基酸基团掺入到新合成的多肽链中. 在生物体中, DNA 分子上的 tRNA 基因经过转录成前体 tRNA, 然后加工为成熟的 tRNA 分子. 大多数 tRNA 由 70~90 个核苷酸(nucleotide, nt)组成. 在 tRNA 的一级结构中含有稀有碱基, 5'端总是磷酸化, 3'端为 CCA-OH. 三叶草结构是 tRNA 分子经典的二级结构, 该结构由二氢尿嘧啶环(D 环)、假尿嘧啶环(T_ψC 环, T 环)、反密码子环、可变环、氨基酸臂、二氢尿嘧啶臂、反密码子臂和假尿嘧啶臂组成. tRNA 折叠后形成倒“L”形的三级结构, 有利于 tRNA 携带的氨基酸进入核糖体的特定部位. 在不同条件下, tRNA 可以折叠成不同的高级结构, 例如 tRNA 的折叠与 Mg²⁺ 浓度直接相关.

有研究表明, 在很多物种细胞内, 在某些特定情况下, 成熟 tRNA 或前体 tRNA 被特异性剪切产生 tRNA 衍生片段(tRNA-derived RNA fragment,

tRF)或 tRNA 半分子(tRNA halves, tiRNA)^[1]. 与微 RNA(microRNA, miRNA)、长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)和环状 RNA (circular RNA, circRNA)等当前研究热点 RNA 分子一样, tRF 和 tiRNA 的重要性在相当长的一段时间内被人们所忽略. 但是近期, tRF 和 tiRNA 的重要功能逐渐被发现, 它们广泛存在于各种生物的组织细胞中, 具有组织特异性和疾病相关性. tRF 和 tiRNA 在肿瘤、代谢性疾病和神经系统疾病等重大疾病中都具有重要的调控功能^[2]. 本课题组经转录组测序也发现, 胃癌组织和胃癌患者血浆中均出现异常表达的 tRF 和 tiRNA. 为此, 本文在简要介绍 tRNA 相关片段的分类和生物学功能的基础上, 重点介绍它们在疾病发生中的主要作用.

* 浙江省公益技术研究社会发展(2016C33177)和宁波市科技创新团队项目(2017B001)资助.

** 通讯联系人.

Tel: 0574-87600758, E-mail: guojunming@nbu.edu.cn

收稿日期: 2017-04-27, 接受日期: 2017-06-09

1 tiRNA 和 tRF 的分类

tRNA 相关片的分类是依据其在前体 tRNA 或成熟 tRNA 上的映射位置来决定. 目前已建立了相关数据库(tRFdb; <http://genome.bioch.virginia.edu/trfdb/>), 其中每种分子被给予一个独立的名称^[3]. 最早发现的 tRNA 相关片段是应激(如饥饿)诱导的 tiRNA. 它们从成熟 tRNA 的反密码子环中通过特异性切割产生, 其长度为 29~50 nt. 虽然它们原先被命名为应激碎片, 但在非应激条件下也可检测到^[4]. 基于是否包括反密码子裂解位点的 5'或 3'序列, tiRNA 可分为 2 个亚类: 5' tiRNA 和 3' tiRNA. 前者序列从成熟 tRNA 的 5'端开始至反密码环结束, 而后者序列则从反密码环末端开始至成熟 tRNA 的 3'端结束^[5]. 通过核糖核酸酶血管生成素(angiotensin, ANG; 酵母中称为 RNY1)切割产生的 tiRNA 具有 5'的羟基而不是 5'的磷酸酯^[6-7], 它们不同于通过 Dicer 或 III 型 RNase 酶切割产生的 miRNA 和小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA).

衍生自 tRNA 的另一类小 RNA 分子是长度为 14~30 nt 的 tRF. 这些小 RNA 类似于 miRNA, 具有 5'磷酸和 3'羟基. 基于它们的映射位置, 这些 tRF 分为 3 个亚类: tRF-5、tRF-3 和 tRF-1^[1]. tRF-5 和 tRF-3 分别从成熟 tRNA 的 5'和 3'端产生, 而 tRF-1 从前体 tRNA 的 3'端产生^[1]. tRF-5 的长度小于 30 nt, 在 tRNA D 环和反密码环茎区之间裂解产生, 因酶切位置不同产生 3 个特定长度, 因此进一步将 tRF-5 分为 3 个亚亚类: tRF-5a (14~16 nt)、tRF-5b (22~24 nt) 和 tRF-5c (28~30 nt). tRF-3 主要成员的长度约为 18~22 nt, 包括 tRF-3a 和 tRF-3b; 它们的切割位点都在 TψC 环中. 在高通量测序数据中还可以看到其他 tRNA 片段, 它们的丰度通常比最高丰度片段低 2~3 个数量级^[3].

除了上述 tiRNA 和 tRF 外, 还可能还有其他类型的 tRNA 片段, 例如 tRF-2, 它是在缺氧条件下诱导产生的一个只包含反密码子茎环的新型 tRNA 片段^[8].

总之, 可以根据酶切位点的不同, 将 tRNA 相关片段分为 tiRNA 和 tRF(图 1). tiRNA 通常由

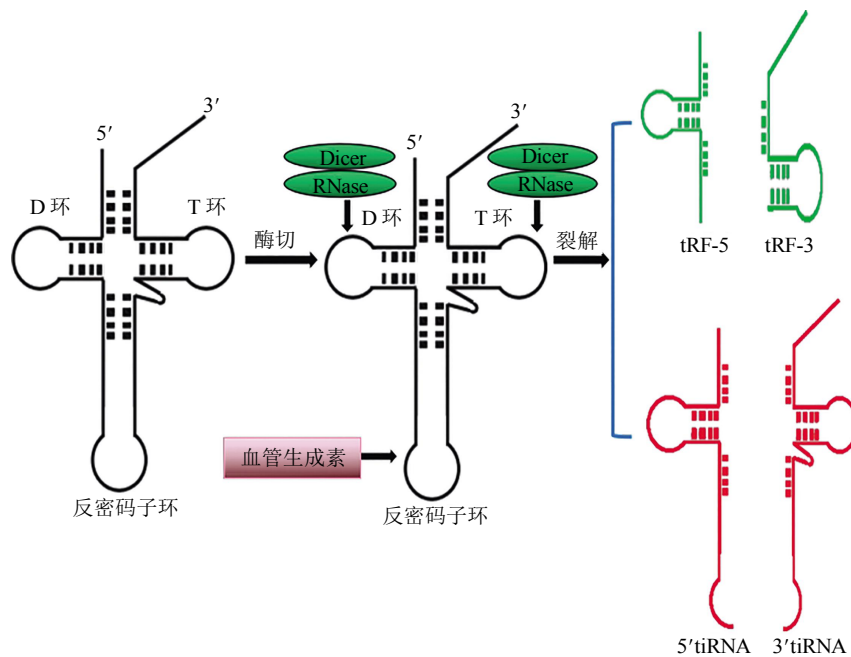


Fig. 1 Biogenesis schematic of main tRNA-derived small RNAs

图 1 tRNA 来源的主要小 RNA 产生示意图

tRF-5 和 tRF-3 由 Dicer/RNase 酶切成熟 tRNA 产生(绿色部分); 在 D 环和反密码环之间茎区的切割产生 tRF-5, 在 T 环处切割产生 tRF-3. 5'tiRNA 和 3'tiRNA 由血管生成素在成熟 tRNA 的反密码子环中切割产生(红色部分).

29~50 nt 组成, 分为 5'tiRNA 和 3'tiRNA 等 2 个亚类. tRF 通常短于 tiRNA, 约 14~30 nt, 主要分为 4 个亚类: a. tRF-5. 源自成熟 tRNA 的 5' 端. b. tRF-3. 对应于成熟 tRNA 的 3' 部分, 包括 CCA 末端. c. tRF-1. 来源于前体 tRNA 的 3'-UTR 区域, 且 3' 端含有多聚 U 序列. d. i-tRF. 区别于以上 3 种类型, 主要来自成熟 tRNA 的内部区域.

2 tiRNA 和 tRF 的生物学功能

尽管 tiRNA 和 tRF 的具体生物学功能尚未完全阐明, 但越来越多的证据表明它们具有多种生物学功能. 例如: 通过结合蛋白质影响 mRNA 的稳定性^[8]; 与细胞色素 C 相互作用调节细胞凋亡; 传递给后代, 改变后代基因转录级联过程^[9-10]; 以 miRNA 的形式发挥基因负调控作用^[11]等.

2.1 在应激反应中作为信号分子

一些研究表明, tiRNA 在应激条件下特别是在饥饿诱导和氧化应激下会有所增加^[4, 12]. tiRNA 可以促进应激颗粒(stress granule, SG)的组装^[13]. SG 是一种细胞质核糖核蛋白, 在应激诱导的转移抑制、细胞修复及细胞生存相关蛋白转移中起重要作用. 在应激环境中, SG 组装的提高可能在肿瘤细胞缺氧和饥饿诱导应激中起着重要的作用. 应激条件下, tiRNA 还可通过与细胞色素 C 结合, 防止它与凋亡酶激活因子 1(apoptotic protease activating factor-1, Apaf-1)发生相互作用和阻断后续的 caspase-9 活化, 进而抑制细胞凋亡^[14].

在前列腺癌细胞的研究中发现, 应激条件下除了产生 tiRNA 外, 还可产生 tRF^[15]. 有人发现, 在前列腺癌细胞株中, tRF-3 的表达量与细胞增殖率呈正相关^[15].

可见, tiRNA 和 tRF 参与细胞应激反应, 并影响细胞增殖. 应激条件(如营养缺失或氧化应激)往往先于细胞凋亡. 在应激条件下, tRF 的表达量按比例提高^[4]. 在正常细胞中, tRF 可作为内源性凋亡信号, 通过抑制凋亡相关蛋白的转移引起细胞凋亡; 而在肿瘤细胞中, 与应激有关的 tRNA 裂解作用途径可导致细胞凋亡失衡和促进肿瘤细胞增殖.

2.2 作为基因表达的调节者

有报道表明, tRF 参与基因调控和沉默^[16-17]. 在人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染细胞中有小 RNA 的表征^[16]. Yeung 等^[16]发现了一个高丰度的、18 nt 长的小 RNA. HIV 的 RNA 与人体细胞 tRNA^{Lys} 的 3' 端可形成双链 RNA 杂交体; 通过使用病毒逆转录酶, tRNA^{Lys} 被逆转录成 cDNA 并充当互补 DNA 合成的引物^[16]. tRNA^{Lys} 来源的 3'tRF 与 Dicer 酶和阿格蛋白 2 (argonaute 2, Ago2)的结合是人体针对 HIV 的防御反应之一.

哺乳动物疱疹病毒可通过 tRNA 生物合成途径产生有功能的病毒 miRNA. 在这个过程中产生的短转录物包含一个类似 5'tRF 的分子, 其两侧是由 RNA Pol III 产生的 3'前体 miRNA 发夹, 随后被 RNase Z 断裂开, 释放出前体 miRNA 发夹, 然后由 Dicer 酶进一步加工成成熟的病毒 miRNA^[18-19]. 在人类基因组中, 发现了由 lncRNA——转移相关肺腺癌转录物 1 (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1)的 3'序列加工而成的类似 tRNA 的高度保守结构, 它是 RNase P 和 RNase Z 的酶解产物^[20]. 虽然目前仍然不清楚它的具体功能, 但它在人类细胞中的存在可能并不是一个孤立的事件. 例如: 在 *POPI*(processing of precursor 1)基因内含子中发现了与 tRNA^{Gly} 相似的 tRNA 三叶草样结构, 该基因编码核糖核酸酶 P 的一个蛋白质亚基, 后者可与 tRNA 5'端相互作用^[21].

5'tRF 似乎不与 Ago2 紧密结合, 但相反会与 Ago1 优先结合^[22]. Ago1 在转录后基因沉默作用是通过 siRNA 或 miRNA 介导的^[23].

综上所述, 虽然 tiRNA 和 tRF 的种类似乎非常丰富, 但是目前对其研究仍然不够深入. 然而, 有越来越多的证据表明, tiRNA 和 tRF 在应激条件下可以作为信号分子, 也可以参与基因调控.

3 tiRNA 和 tRF 在疾病发生中的作用

现已发现, tiRNA 和 tRF 与人类多种疾病(例如: 肿瘤、代谢性疾病、神经精神性疾病和传染病等)密切相关(表 1).

Table 1 tRFs and tiRNAs with human diseases

表 1 tRF 和 tiRNA 与人类疾病

人类疾病	tRF 或 tiRNA	参考文献	
肿瘤	B 细胞淋巴瘤	tRF-3	[24-25]
	乳腺癌	tRF 和 tiRNA	[8]
	前列腺癌, 结肠癌	tRF-1001	[1]
	淋巴瘤	tRF-3027	[8]
	乳腺癌, 前列腺癌	tiRNA	[25-26]
代谢性疾病	获得性代谢紊乱	tRF 和 tiRNA	[9-10]
神经精神疾病	肌萎缩性侧索硬化	tiRNA	[27]
	帕金森病	tiRNA	[27]
	神经元丢失症	tiRNA	[28]
	神经退行性疾病	tiRNA	[29]
传染病	慢性病毒性肝炎	tRF 和 tiRNA	[30]

3.1 肿瘤

细胞活动包括分化、增殖、分裂、衰老和凋亡等, 这些过程受到严格有序地控制. RNA 聚合酶组装、染色质重塑、转录因子结合、RNA 编辑及剪接、转录后调控和核糖体扫描异常等均可能引起肿瘤的发生^[1]. 人们已经在多种肿瘤细胞株中发现了 tRF 和 tiRNA 的异常表达^[1, 24-26]. 研究发现, tRF 和 tiRNA 在应激条件下的表达水平将升高, 特别是在缺氧和其他氧化应激条件下升高更明显^[32]. 在 B 细胞淋巴瘤细胞株中, 人们发现 tRF-3 以 miRNA 形式抑制细胞增殖, 并调节 DNA 损伤反应^[24]. tRF 和 tiRNA 通过结合一些 RNA 结合蛋白降低肿瘤相关基因转录产物的稳定性, 而此时这些 tRF 和 tiRNA 充当着肿瘤抑制基因的作用^[8]. 来自前体 tRNA^{Ser} 的 tRF-1(tRF-1001)在多种肿瘤细胞株中高度表达, 是肿瘤细胞增殖所必需的^[1]. ANG 诱导的 tiRNA 不仅促进 SG 装配和帮助细胞在不利条件下生存, 而且还有助于 ANG 介导的血管生成和癌细胞增殖. tiRNA 也可以结合细胞色素 C 并帮助癌细胞逃避细胞凋亡. 有研究发现, 敲低过表达的一些 tRF 可抑制肿瘤细胞的增殖, 而恢复缺乏的这些 tRF 则防止癌症转移^[33]. 因此, tRF 和 tiRNA 被认为在肿瘤发生中起较为关键的作用^[25].

3.2 代谢性疾病

越来越多的证据表明, tRF 会改变一些后代基因的调控. Chen 等^[9]发现, 高脂饮食(high fat diet, HFD)雄性小鼠的后代在出生后第 7 周表现出糖耐量减低和胰岛素抵抗, 而在第 15 周变得尤为严重. 进一步研究发现, HFD 后代小鼠的葡萄糖耐

受是由 30~34 nt 的 tRF 导致的^[9]. 研究人员对正常饮食和 HFD 后代小鼠进行全基因组比对发现, HFD 后代中涉及酮体、碳水化合物和单糖代谢的基因表达水平显著降低^[9]. 若将 HFD 小鼠精子中的 tRF 和 tiRNA 注射到正常受精卵中, 早期胚胎和胰岛细胞代谢途径的基因表达谱将发生明显改变^[9]. 因此, 精子 tRF 和 tiRNA 作为表观遗传因子的一类亲本, 介导了膳食诱导的代谢性疾病遗传至后代.

另一项研究发现, tRF 在哺乳动物精子成熟和受精过程中发挥重要作用^[10]. 为了解饮食对精子 RNA 的影响, 研究人员对低蛋白(low protein, LP)饮食的小鼠展开了研究^[10]. 研究结果显示, 睾丸中未成熟精子的小 RNA 与 LP 饮食并没有对应关系, 但附睾中成熟精子的小 RNA 受到了显著的影响, 特别是 tRNA^{Gly-GCC} 水平显著升高^[10]. 进一步研究表明, 该 tRNA 抑制小鼠胚胎干细胞中可塑性相关基因的表达^[10].

上述 2 项研究相辅相成地展示了饮食对精子 tRF 的重要影响, 而这种影响会改变一些后代基因的表达, 从而引起相应的代谢紊乱.

3.3 神经精神疾病

tRNA 合成或 tRNA 加工酶缺陷会引起多种神经精神疾病. 例如: 具有抑制 RNA 酶活性的 ANG 突变体与肌萎缩性侧索硬化(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)的病理过程相关. 在帕金森病(Parkinson disease, PD)患者的脑组织中也发现了一类 ALS 相关的 ANG 突变体^[27]. 研究发现, 来自前体 tRNA 的一些 tiRNA 与神经元丢失有关^[28]. 切割及腺苷酸化因子 I 亚基 1(cleavage and polyadenylation

factor I subunit 1, CLP1)是一种剪接前体 tRNA 内含子的重要酶^[34], 已发现在神经退行性疾病中显示出 CLP1 突变^[29]. 遗传性 CLP1 突变患者可发展为严重的运动感觉缺陷, 表现为皮层发育不全和小头症^[35]. 突变的 CLP1(R140H)不能与 tRNA 剪接核酸内切酶(tRNA-splicing endonuclease, TSEN)相互作用, 导致具有内含子的几种 tRNA 的剪接缺陷^[36]. TSEN 在 3'内含子-外显子连接处切割转录本, 但在没有 CLP1 的情况下, 3'外显子的 5'-OH 处不被磷酸化, 并且在随后的剪接步骤中被中断^[37]. 这导致患者细胞中来自 tRNA 的内含子或 3' tiRNA 样片段 3'外显子的积累^[38]. 令人惊讶的是, 目前没有发现成熟 tRNA 在患者的成纤维细胞中有缺陷^[39]. 尽管 3' tiRNA 样片段转染入神经元确实可导致细胞毒性的增加; 但目前不清楚 tRNA 内含子或 3' tiRNA 样片段的积累, 或特定 tRNA 在神经元成熟中的缺陷是否为疾病发生的原因^[40].

随着研究的深入, ANG 诱导的 tiRNA 与细胞应激反应和神经发育性疾病之间的关联得到进一步增强. CLP1 活性丧失将会导致一些前体 tRNA 的异常改变^[41], 从而敏化氧化应激诱导的 P53 激活和 P53 介导的神经元细胞死亡, 诱导运动神经元损伤、肌肉功能损失和呼吸衰竭^[42]. 另一种情况是, 属于 5-胞嘧啶甲基转移酶的 OP2/Sun RNA 甲基转移酶家族成员 2 (OP2/Sun RNA methyltransferase family member 2, NSun2)基因的突变可引起小头症和其他神经系统异常^[43]. 在 NSun2 缺失突变的大脑皮层、海马以及纹状体神经元中, tRNA 5-胞嘧啶甲基化的缺乏增强了 ANG 结合能力并切割 tRNA 将导致 5' tiRNA 的积累, 这反过来降低蛋白质翻译应激途径的活化速率和细胞体积的减少, 并促进细胞凋亡^[44].

3.4 病理性应激损伤

缺乏氧或营养的应激反应可影响细胞的功能, 导致疾病的发生. 这些应激条件都有可能刺激 tiRNA 的产生^[45]. 已经证实, 氧化应激、热休克或紫外线照射等应激诱导产生的 tiRNA 可采用不依赖磷酸-eIF2 α 的方式抑制翻译^[46]. 再者, 敲低 ANG 会降低由亚硝酸盐诱导的缺氧应激所产生的 tiRNA 水平^[13]. 在组织损伤(例如毒性损伤、辐射和缺血再灌注损伤)的动物模型中, 人们发现 tiRNA 生成与组织损伤的程度相关^[47]. 应激可导致 tRNA 构象变化, 随后由 ANG 介导 tiRNA 的产生. 另有研究发现, 5' tiRNA 的上调与病毒和立克

次体的感染有关, 结果将抑制细胞凋亡和促进细胞存活^[32]. 在慢性病毒性肝炎发生过程中, 已观察到 30~35 nt 的 tRF 和 tiRNA 在肝细胞高表达^[30].

4 展 望

目前, 大多数 tRF-5 和 tRF-3 生物发生的具体过程是未知的. 有人认为, 当 tRNA^{lle-TAT} 形成包含茎环发夹(类似于前体 miRNA)的替代二级结构时^[48], 产生一些 tRF-3(例如, tRF-3033)而不是标准的三叶草结构^[49]. Schopman 等^[50]认为, 一些 tRNA 可以折叠成茎环发夹结构(而不是传统认为的三叶草结构), 并作为生成 miRNA 样分子的常规前体 miRNA. 因此, 探索 tRNA 的其他可能结构对于阐明 tRNA 的功能是必要的.

tRNA 中的许多碱基在 tRNA 成熟期间被修饰, 并且这种修饰受 ANG 加工的影响^[51]. 事实上, NSUN5 或 DNA 甲基转移酶 2 (DNA methyltransferase 2, DNMT2)的突变引起 tRNA 异常甲基化和抑制 ANG 裂解, 导致 tiRNA 的过量产生, 促进神经退行性病变的发生^[52]. 因此, 了解 tRNA 被修饰的完整信息将有助于理解 tRF 的生物发生. 虽然对缺失 Dicer 的细胞和对苍蝇的短 RNA 数据的分析表明 tRF 是独立于 Dicer 产生的, 但有报道说明 Dicer 在产生 tRF 中发挥作用^[53].

tRF 还可以与互补 RNA 形成双链分子, 充当引物结合位点或与 Ago 中的靶 RNA 碱基配对. 因此, 通过占据蛋白质上的 RNA 结合位点, tRF 扰乱其他转录物的结合, 具有广泛的影响^[8, 54]. tRF-5 的核定位及其与 Ago 蛋白的缔合, 说明一些 tRF 可在染色质调节中起作用.

另外, tRF 和 tiRNA 的组成和数量高度依赖于细胞类型和疾病状态^[33]. 特别是, tRF 和 tiRNA 高度富集于生物体液中, 有时甚至高于 miRNA^[26, 55]. 由于 tRF 和 tiRNA 广泛参与实体瘤和白血病的病理发生过程^[56], 因此, 基于 tRF 和 tiRNA 的非侵袭性生物标志物在疾病诊断中的应用将具有广阔的前景.

参 考 文 献

- [1] Veneziano D, Di Bella S, Nigita G, *et al.* Noncoding RNA: current deep sequencing data analysis approaches and challenges. *Hum Mutat*, 2016, **37**(12): 1283-1298
- [2] Olvedy M, Scaravilli M, Hoogstrate Y, *et al.* A comprehensive repertoire of tRNA-derived fragments in prostate cancer. *Oncotarget*, 2016, **7**(17): 24766-24777
- [3] Kumar P, Mudunuri S B, Anaya J, *et al.* tRFdb: a database for

- transfer RNA fragments. *Nucleic Acids Res*, 2015, **43**(D1): D141–D145
- [4] Keam S P, Sobala A, Ten Have S, *et al.* tRNA-derived RNA fragments associate with human multisynthetase complex (MSC) and modulate ribosomal protein translation. *J Proteome Res*, 2017, **16**(2): 413–420
- [5] Li S, Hu G F. Emerging role of angiogenin in stress response and cell survival under adverse conditions. *J Cell Physiol*, 2012, **227**(7): 2822–2826
- [6] Keam S P, Hutvagner G. tRNA-derived fragments (tRFs): emerging new roles for an ancient RNA in the regulation of gene expression. *Life (Basel)*, 2015, **5**(4): 1638–1651
- [7] Yamasaki S, Ivanov P, Hu G F, *et al.* Angiogenin cleaves tRNA and promotes stress-induced translational repression. *J Cell Biol*, 2009, **185**(1): 35–42
- [8] Kumar P, Kuscu C, Dutta A. Biogenesis and function of transfer RNA-related fragments (tRFs). *Trends Biochem Sci*, 2016, **41**(8): 679–689
- [9] Chen Q, Yan M, Cao Z, *et al.* Sperm tsRNAs contribute to intergenerational inheritance of an acquired metabolic disorder. *Science*, 2016, **351**(6271): 397–400
- [10] Sharma U, Conine C C, Shea J M, *et al.* Biogenesis and function of tRNA fragments during sperm maturation and fertilization in mammals. *Science*, 2016, **351**(6271): 391–396
- [11] Lalaouna D, Carrier M C, Semsey S, *et al.* A 3' external transcribed spacer in a tRNA transcript acts as a sponge for small RNAs to prevent transcriptional noise. *Mol Cell*, 2015, **58**(3): 393–405
- [12] Thompson D M, Lu C, Green P J, *et al.* tRNA cleavage is a conserved response to oxidative stress in eukaryotes. *RNA*, 2008, **14**(10): 2095–2103
- [13] Emara M M, Ivanov P, Hickman T, *et al.* Angiogenin-induced tRNA-derived stress-induced RNAs promote stress-induced stress granule assembly. *J Biol Chem*, 2010, **285**(14): 10959–10968
- [14] Liu C, Stonestrom A J, Christian T, *et al.* Molecular basis and consequences of the cytochrome c-tRNA interaction. *J Biol Chem*, 2016, **291**(19): 10426–10436
- [15] Martens-Uzunova E S, Jalava S E, Dits N F, *et al.* Diagnostic and prognostic signatures from the small non-coding RNA transcriptome in prostate cancer. *Oncogene*, 2012, **31**(8): 978–991
- [16] Yeung M L, Bennasser Y, Watashi K, *et al.* Pyrosequencing of small non-coding RNAs in HIV-1 infected cells: evidence for the processing of a viral-cellular double-stranded RNA hybrid. *Nucleic Acids Res*, 2009, **37**(19): 6575–6586
- [17] Hirose Y, Ikeda K T, Noro E, *et al.* Precise mapping and dynamics of tRNA-derived fragments (tRFs) in the development of *Triops cancriformis* (tadpole shrimp). *BMC Genet*, 2015, **16**: 83
- [18] Reese T A, Xia J, Johnson L S, *et al.* Identification of novel microRNA-like molecules generated from herpesvirus and host tRNA transcripts. *J Virol*, 2010, **84**(19): 10344–10353
- [19] Whisnant A W, Kehl T, Bao Q, *et al.* Identification of novel, highly expressed retroviral microRNAs in cells infected by bovine foamy virus. *J Virol*, 2014, **88**(9): 4679–4686
- [20] Wilusz J E, Freier S M, Spector D L. Spector, 3' end processing of a long nuclear-retained noncoding RNA yields a tRNA-like cytoplasmic RNA. *Cell*, 2008, **135**(5): 919–932
- [21] Parker B J, Moltke I, Roth A, *et al.* New families of human regulatory RNA structures identified by comparative analysis of vertebrate genomes. *Genome Res*, 2011, **21**(11): 1929–1943
- [22] Burroughs A M, Ando Y, de Hoon M J, *et al.* Deep-sequencing of human argonaute-associated small RNAs provides insight into miRNA sorting and reveals argonaute association with RNA fragments of diverse origin. *RNA Biol*, 2011, **8**(1): 158–177
- [23] Gagnon K T, Corey D R. Argonaute and the nuclear RNAs: new pathways for RNA-mediated control of gene expression. *Nucleic Acid Ther*, 2012, **22**(1): 3–16
- [24] Martens-Uzunova E S, Olvedy M, Jenster G. Beyond microRNA - novel RNAs derived from small non-coding RNA and their implication in cancer. *Cancer Lett*, 2013, **340**(2): 201–211
- [25] Goodarzi H, Liu X, Nguyen H C, *et al.* Endogenous tRNA-derived fragments suppress breast cancer progression *via* YBX1 displacement. *Cell*, 2015, **161**(4): 790–802
- [26] Yang X L, Schimmel P. Functional expansion of the tRNA world under stress. *Mol Cell*, 2011, **43**(4): 500–502
- [27] van Es M A, Schelhaas H J, van Vught P W, *et al.* Angiogenin variants in Parkinson disease and amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol*, 2011, **70**(6): 964–973
- [28] Saikia M, Hatzoglou M. The many virtues of tRNA-derived stress-induced RNAs (tiRNAs): discovering novel mechanisms of stress response and effect on human health. *J Biol Chem*, 2015, **290**(50): 29761–29768
- [29] Telonis A G, Loher P, Honda S, *et al.* Dissecting tRNA-derived fragment complexities using personalized transcriptomes reveals novel fragment classes and unexpected dependencies. *Oncotarget*, 2015, **6**(28): 24797–24822
- [30] Selitsky S R, Baran-Gale J, Honda M, *et al.* Small tRNA-derived RNAs are increased and more abundant than microRNAs in chronic hepatitis B and C. *Sci Rep*, 2015, **5**(1): 7675
- [31] Green D, Fraser W D, Dalmay T. Transfer RNA-derived small RNAs in the cancer transcriptome. *Pflugers Arch*, 2016, **468**(6): 1041–1047
- [32] Anderson, P Ivanov P. tRNA fragments in human health and disease. *FEBS Lett*, 2014, **588**(23): 4297–4304
- [33] Maute R L, Schneider C, Sumazin P, *et al.* tRNA-derived microRNA modulates proliferation and the DNA damage response and is down-regulated in B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, **110**(4): 1404–1409
- [34] Hanada T, Weitzer S, Mair B, *et al.* CLP1 links tRNA metabolism to progressive motor-neuron loss. *Nature*, 2013, **495**(7442): 474–480
- [35] Ivanov P, O' Day E, Emara M M, *et al.* G-quadruplex structures contribute to the neuroprotective effects of angiogenin-induced tRNA fragments. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(51): 18201–18206
- [36] Weitzer S, Hanada T, Penninger J M, *et al.* CLP1 as a novel player

- in linking tRNA splicing to neurodegenerative disorders. Wiley Interdiscip Rev RNA. 2015, **6**(1): 47–63
- [37] Cassandrini D, Biancheri R, Tessa A, *et al.* Pontocerebellar hypoplasia clinical, pathologic, and genetic studies. *Neurology*, 2010, **75**(16): 1459–1464
- [38] McLaughlin H M, Sakaguchi R, Liu C, *et al.* Compound heterozygosity for loss-of-function lysyl-tRNA synthetase mutations in a patient with peripheral neuropathy. *Am J Hum Genet*, 2010, **87**(4): 560–566
- [39] Phizicky E M, Hopper A K. tRNA biology charges to the front. *Genes Dev*, 2010, **24**(17): 1832–1860
- [40] Popow J, Englert M, Weitzer S, *et al.* HSPC117 is the essential subunit of a human tRNA splicing ligase complex. *Science*, 2011, **331**(6018): 760–764
- [41] Safka Brozkova D, Deconinck T, Griffin L B, *et al.* Loss of function mutations in HARS cause a spectrum of inherited peripheral neuropathies. *Brain*, 2015, **138**: 2161–2172
- [42] Vester A, Velez-Ruiz G, McLaughlin H M, *et al.* A loss-of-function variant in the human histidyl-tRNA synthetase (HARS) gene is neurotoxic *in vivo*. *Hum Mutat*, 2013, **34**(1): 191–199
- [43] Blanco S, Dietmann S, Flores J V, *et al.* Aberrant methylation of tRNAs links cellular stress to neuro-developmental disorders. *EMBO J*, 2014, **33**(18): 2020–2039
- [44] Martinez F J, Lee J H, Lee J E, *et al.* Whole exome sequencing identifies a splicing mutation in NSUN2 as a cause of a Dubowitz-like syndrome. *J Med Genet*, 2012, **49**(6): 380–385
- [45] Wang Q, Lee I, Ren J, *et al.* Identification and functional characterization of tRNA-derived RNA fragments (tRFs) in respiratory syncytial virus infection. *Mol Ther*, 2013, **21** (2): 368–379
- [46] Saikia M, Jobava R, Parisien M, *et al.* Angiogenin-cleaved tRNA halves interact with cytochrome c, protecting cells from apoptosis during osmotic stress. *Mol Cell Biol*, 2014, **34**(13): 2450–2463
- [47] Mishima E, Inoue C, Saigusa D, *et al.* Conformational change in transfer RNA is an early indicator of acute cellular damage. *J Am Soc Nephrol*, 2014, **25**(10): 2316–2326
- [48] Rijal K, Maraia R J, Arimbasseri A G. A methods review on use of nonsense suppression to study 3' end formation and other aspects of tRNA biogenesis. *Gene*, 2015, **556**(1): 35–50
- [49] Couvillion M T, Sachidanandam R, Collins K. A growth-essential tetrahymena piwi protein carries tRNA fragment cargo. *Genes Dev*, 2010, **24**(24): 2742–2747
- [50] Schopman N C, Heynen S, Haasnoot J, *et al.* A miRNA-tRNA mix-up tRNA origin of proposed miRNA. *RNA Biol*, 2010, **7**(5): 573–576
- [51] Sobala A, Hutvagner G. Small RNAs derived from the 5' end of tRNA can inhibit protein translation in human cells. *RNA Biol*, 2013, **10**(4): 553–563
- [52] Khan M A, Rafiq M A, Noor A, *et al.* Mutation in NSUN2, which encodes an RNA methyltransferase, causes autosomal-recessive intellectual disability. *Am J Hum Genet*, 2012, **90**(5): 856–863
- [53] Zheng L L, Xu W L, Liu S, *et al.* tRF2Cancer: A web server to detect tRNA-derived small RNA fragments (tRFs) and their expression in multiple cancers. *Nucleic Acids Res*, 2016, **44**(W1): W185–W193
- [54] Haussecker D, Huang Y, Lau A, *et al.* Human tRNA-derived small RNAs in the global regulation of RNA silencing. *RNA*, 2010, **16**(4): 673–695
- [55] Schageman J, Zerlinger E, Li M, *et al.* The complete exosome workflow solution: from isolation to characterization of RNA cargo. *Biomed Res Int*, 2013, **2013**(8): 253957–253957
- [56] Venkatesh T, Suresh P S, Tsutsumi R. tRFs: miRNAs in disguise. *Gene*, 2016, **579**(2): 133–138

The Biological Functions of tRNA-derived Fragments and tRNA Halves, and Their Roles in The Pathogenesis*

ZHU Lin-Wen, XIE Yi, GUO Jun-Ming**

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Zhejiang Key Laboratory of Pathophysiology, Medical School of Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract The tRNA-derived RNA fragments (tRFs) and tRNA halves (tiRNAs) are derived from mature transfer RNAs (tRNAs) or precursor tRNAs through specific cleavage at different sites. They are belonged to small non-coding RNA molecules widely existing in prokaryotic and eukaryotic transcriptome. tRFs are classified into tRF-5s, tRF-3s and tRF-1s. tRF-5s and tRF-3s are generated from the cleavage between D-ring and anticodon loop to 5'-end, and T-ring to 3'-end of mature tRNAs, respectively. tRF-1s are from the 3' trailer fragment of precursor tRNAs. The sizes of tRFs are 14–30 nt. tiRNAs, 29–50 nt in length, are divided into 5' tiRNAs and 3' tiRNAs. They are generated within the anti-codon loop. tRFs and tiRNAs have a variety of biological functions. They can be not only stress-activated signal molecules but also coordinators of gene expression. Moreover, tRFs and tiRNAs are associated with the occurrence of a variety of human diseases such as cancers, neurodegenerative diseases, hereditary metabolic diseases, and infectious diseases. Thus, they may become a new type of biomarkers for the diagnosis of these diseases. In this paper, the classification of tRFs and tiRNAs, their biological functions, and their relationships with human diseases were reviewed.

Key words tRNA-derived RNA fragment, tRNA halves, gene expression regulation, disease occurrence

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0163

* This work was supported by grants from Applied Research Project on Nonprofit Technology of Zhejiang Province (2016C33177) and the Scientific Innovation Team Project of Ningbo (2017B00001).

**Corresponding author.

Tel: 86-574-87600758, E-mail: guojunming@nbu.edu.cn

Received: April 27, 2017 Accepted: June 9, 2017