

tRNA 在基因表达中的调控作用

李岩, 周惠*

中山大学生命科学学院, 基因工程教育部重点实验室, 有害生物控制与资源利用国家重点实验室, 广州 510275

* 联系人, E-mail: lsszh@mail.sysu.edu.cn

收稿日期: 2008-10-01; 接受日期: 2008-11-28

国家自然科学基金(批准号: 30870530 和 30570398)和国家重点基础研究发展计划(批准号: 2005CB724600)资助项目

摘要 转移核糖核酸(transfer RNA, tRNA)是遗传信息传递过程中的“适配器”分子, 它们能够把 mRNA 所携带的遗传信息准确地翻译成蛋白质的氨基酸序列。然而, 近年来的研究表明, tRNA 在基因表达过程中还具有重要的调控作用。当生物面临外界某些营养压力胁迫时, 空载 tRNA 可作为效应分子影响细胞整体基因表达水平, 从而使机体应对不利的环境。在酵母和某些哺乳动物细胞中, tRNA 可以从细胞质逆行回细胞核。这种逆行一方面可以使细胞核的监控系统连续地监控 tRNA 的完整性, 另一方面, 在营养缺乏时, 逆行回细胞核的 tRNA 可以有效地降低蛋白质的合成水平。最新研究表明, tRNA 并不是绝对稳定的 RNA 分子。在某些生理或逆境胁迫下, tRNA 在其反密码环或反密码环左臂处被内切酶特异性切割成不同长度的片段。这些切割并不是无意义的随机降解现象, 而有可能产生一类新的信号分子, 如 tRNA 半分子或 sitRNA, 它们与生物应激反应中细胞整体代谢的基因表达调控有着密切的关系。关于 tRNA 调控功能的研究是一个新的前沿领域, 它将揭示 tRNA 结构与功能的多样性及其在遗传信息表达过程中的重要作用。

关键词

tRNA
sitRNA
基因表达
调控
应激

在所有的生物细胞中都存在 3 大类 RNA 分子, 即 mRNA(message RNA, 信使核糖核酸), rRNA(ribosome RNA, 核糖体核糖核酸)和 tRNA(transfer RNA, 转移核糖核酸)。其中, tRNA 约占细胞总 RNA 的 15%, 并且是一类高度稳定的 RNA 分子。在真核生物中, tRNA 基因由细胞核内的 RNA 聚合酶 转录, 初级转录产物经过一系列的加工修饰后才能成为长度为 73~93 个核苷酸的 tRNA 成熟体。人们通常认为, tRNA 仅仅在蛋白质的生物合成中发挥“适配器”的功能, 即通过反密码子序列精确识别 mRNA 中的密码子, 并把其 3 末端携带的氨基酸添加到正在延伸的肽链中, 从而把 DNA 所携带的遗传信息准确地翻译成蛋白质的氨基酸序列^[1]。早期 tRNA 研究领域的热点主要集中在其结构、加工成熟以及与氨基酰 tRNA

合成酶的相互作用上。随着研究的深入, tRNA 的生物功能逐渐呈现出多样性, 如谷氨酰-tRNA 参与植物叶绿素的生物合成; 甘氨酸-tRNA 参与细菌细胞壁的合成; 丙氨酸-tRNA 参与细菌氨基磷脂酰甘油的合成; 在动物细胞中, 精氨酸-tRNA 能够在蛋白质的 N 端添加一个氨基酸; tRNA 可以作为酶的抑制剂; tRNA 还能够充当反转录病毒复制的引物, 并且在病毒复制过程的第二次跳跃中起着重要作用^[2]。近年来, tRNA 与疾病的关系也备受人们关注。某些编码线粒体 tRNA 的基因发生突变则会导致如脑病、皮炎、心脏病和糖尿病等多种人类疾病^[3]。更有趣的是, 某些研究表明, 无论在原核生物还是真核生物中, tRNA 可以作为独特的调控分子, 在各个水平上调控基因的表达, 参与细胞内重要的生命活动。关于 tRNA 调控

功能的研究是一个新的前沿领域, 它将揭示tRNA结构与功能的多样性及其在遗传信息表达过程中的重要作用。

1 空载 tRNA 介导的基因表达调控

细菌能够感知并且对外界不利环境做出快速的反应, 这对于其生存来说是至关重要的。因此, 在长期的进化过程中, 细菌采取了各种策略以适应外界多种生存压力胁迫, 其中包括下调核酸及蛋白质的合成, 与此同时, 加速某些蛋白质的降解和氨基酸的合成。1969年, Cashel和Gallant^[4]首次发现, 大肠杆菌(*Escherichia coli*)在氨基酸饥饿时会积累大量的鸟苷四磷酸(ppGpp)和鸟苷五磷酸(pppGpp)。它们分别是由GDP和GTP磷酸化而来, 其中ATP是磷酸基的供体。起初, pppGpp先被合成, 随后转化成ppGpp。除了氨基酸饥饿外, ppGpp也可以在其他营养缺乏和生长抑制的情况下被诱导产生^[5]。大肠杆菌采用两种途径来合成ppGpp: 依赖RelA蛋白的通路和依赖SpoT蛋白的通路。在适宜的生长条件下, RelA和SpoT蛋白维持细胞质中ppGpp和pppGpp水平的相对稳定。然而, 在营养压力胁迫时(如氨基酸饥饿), 机体中空载tRNA的比例增加。空载tRNA可以作为效应分子, 进入50S核糖体的A位, 蛋白质合成随即终止。这时, RelA蛋白识别并结合停止移动的核糖体, 催化ppGpp的合成。在这一过程中, 有氨基酸负载tRNA与空载tRNA的比例是调控ppGpp合成的关键因素^[6]。ppGpp结合到RNA聚合酶的 β 和 β' 亚基上^[7,8], 在转录水平上抑制了大多数基因的表达, 仅开放少数基因(如与氨基酸合成相关的酶的基因)的表达。与此同时, rRNA和tRNA的合成受阻, 最终在全局水平上降低细菌的代谢水平, 从而使细菌渡过难关。当机体氨基酸水平恢复后, 空载tRNA迅速负载, 取代了结合在核糖体A位点的空载tRNA, 蛋白质合成得以继续。目前, SpoT蛋白如何感知饥饿压力并且合成ppGpp的分子机制仍不清楚。除氨基酸饥饿外, SpoT蛋白通路能够在大多数生存压力及营养缺乏的情况下合成ppGpp。有些证据表明, 除了在转录水平上调控基因的表达, ppGpp也可以导致蛋白质的降解^[9,10]。在其他原核生物中, ppGpp还参与了细菌对逆境的各种适应, 如细胞生理变化(包括形态学和发育的变化)、致病性的变化及次级代谢产物的合成, 其机制还有待于进一步

研究^[11]。

在枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和某些革兰氏阳性细菌中, 氨基酰-tRNA合成酶基因、氨基酸生物合成相关基因及转运蛋白基因的表达是由T box转录终止控制系统来调控的^[12,13]。这些受调控基因的5'非翻译区有一段长度为200~300个核苷酸的保守序列和结构元件, 其中含有内部转录终止子和竞争性抗终止子结构。当机体感知到氨基酰-tRNA合成酶或氨基酸水平下降时, 相应的空载tRNA水平增加。这时, 空载tRNA可以作为调控分子来参与T box基因家族的转录抗终止。它通过反密码子与5'非翻译区的specifier序列特异性的互补配对, 3'末端氨基酸接受臂与抗终止子的环区结合, 进一步稳定了抗终止子的结构, 并且阻止了竞争性终止子的形成。RNA聚合酶继续通过终止子区域, 从而转录出全长的mRNA。

在真核生物中, 空载tRNA也可以发挥调控作用。当酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)和哺乳动物遭受氨基酸饥饿时, 空载tRNA结合并激活蛋白激酶——Gcn2p^[14,15]。该蛋白调控结构域的氨基酸序列与组氨酸tRNA合成酶类似, 可以结合空载和负载(氨基酰化)的tRNA。然而, 只有在氨基酸缺乏时, 该结构域结合空载的tRNA分子后, Gcn2p才被激活。Gcn2p磷酸化eIF2(蛋白质合成的起始因子)的 α 亚基, 最终导致在翻译水平上降低蛋白质的整体合成。Gcn2p首先在酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中被发现, 其同源物也存在于链孢霉(*Neurospora crassa*)和黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)中, 因此, Gcn2p可以作为各种生物感知氨基酸饥饿的感应器。Gcn2p同时诱导Gcn4p蛋白大量积累, 从而加速了细胞生存所必需的氨基酸的合成^[16]。Gcn4p是氨基酸生物合成的转录调节因子, 在某些氨基酸饥饿时, 它可以激活30多种与氨基酸生物合成相关的基因, 并参与12条不同的通路^[17]。随后的研究进一步表明, 酵母中在缺乏葡萄糖时, 也会被诱导产生大量空载tRNA。这些空载tRNA同样可以发挥类似的调控作用^[18]。

以上事实充分说明, 当生物体面临外界某些营养压力胁迫时, tRNA通过脱氨基酰化, 转化为空载tRNA。这些空载tRNA作为调控分子参与机体内的生物途径, 在全局水平上调控基因的表达, 从而使机体能够在不利的环境下生存。

2 tRNA 逆行回核通路介导的基因表达调控

在真核生物中, tRNA 基因是由细胞核内的 RNA 聚合酶 II 转录的. 原初转录产物经过一系列的加工修饰后才能成为有生物功能的成熟 tRNA 分子. 转录后加工主要包括以下步骤: (i) RNase P 切除 5' 端 leader 序列; (ii) 内切酶和外切酶共同切除 3' 端的 trailer 序列; (iii) 3' 末端加 CCA 序列; (iv) 在某些含有内含子的 tRNA 中, 内切酶首先切除内含子, 然后由连接酶连接两个部分; (v) 碱基的修饰. 只有正确加工的 tRNA 才能在细胞核中被相应的氨基酰-tRNA 合成酶氨基酰化^[19,20]. 氨基酰化起到校对作用, 并且有助于 tRNA 携带氨基酸顺利地转运出核^[21,22].

人们通常认为, tRNA 的加工成熟步骤都是在细胞核中完成的, 细胞质则是其行使蛋白质合成功能的场所, tRNA 由细胞核向细胞质的转运是单方向且不可逆转的. 然而, 2005 年, Yoshihisa^[23]和 Hopper^[24]带领的两个研究小组对这种观点提出了挑战. 通过采用荧光原位杂交技术(FISH), 他们证明了在酿酒酵母中, tRNA 能够在细胞核和细胞质中来回穿梭. 那么 tRNA 由细胞质逆行回核的生物学功能是什么呢? 在酵母中, 负责切除 tRNA 内含子的酶与线粒体外膜相连, 因此, 其内含子的切除发生在细胞质中. 然而, 研究表明, 不含内含子的成熟 tRNA 和切除了内含子的 tRNA 均可被组成性的转运回细胞核. tRNA 的这种组成性转运回核也许是细胞核中的监控系统连续监控 tRNA 完整性的一种方式. 对于那些空载的、没有功能的 tRNA, 则由核内的 Trf4 poly(A)聚合酶复合物在 3' 末端加 poly(A) 序列, 最终导致外来体介导的降解. 通过这种方式, 机体可以及时阻止有缺陷的 tRNA 进入到翻译系统, 确保蛋白质合成的精确性. Hopper 等人也认为, 细胞核是细胞质 tRNA 潜在的贮存池. 在某些生理压力下, 如缺乏氨基酸时, tRNA 能够对细胞质中氨基酸的浓度有所响应. tRNA 逆行回细胞核能够在整体水平上有效地降低蛋白质在细胞内合成的水平.

最新的研究表明, tRNA 逆行也存在于缺乏葡萄糖的酵母中, 并且这种逆行是快速可逆的, 而且不需要新的转录过程^[25]. 更为重要的是, Shaheen 等人^[26]在去除氨基酸的大鼠肝癌细胞系中也证实了 tRNA 的

逆行现象, 并且当重新供给氨基酸后, 细胞核的 tRNA 又可以被重新释放回细胞质中. 因此, tRNA 能够根据机体的需要在细胞核和细胞质之间来回穿梭是一个普遍存在的现象, 从而实现了 tRNA 对细胞整体基因表达的转录后调控.

3 成熟 tRNA 内切为半分子介导的基因表达调控

在正常的生理条件下, 与 mRNA 的快速降解相比, 成熟 tRNA 和 rRNA 是具有较长半衰期的高度稳定的 RNA 分子. 然而, 当受到某些生存压力胁迫(如缺乏营养)时, 它们也会被切割降解. rRNA 占细胞总 RNA 的 80% 左右, 并且是机体内潜在的营养储存仓库. rRNA 的降解一方面降低了蛋白质的合成速率, 另一方面也释放了营养储备^[27]. tRNA 成熟体的稳定性在于: (i) 高度复杂的二级和三级结构; (ii) 与氨基酰-tRNA 合成酶、延伸因子及核糖体的暂时结合; (iii) 3' 末端受氨基酰化的保护, 从而不被外切酶降解. 然而, 自从研究 RNA 代谢以来, 人们就认识到, tRNA 成熟体在合成缺陷或在某些不利的内外压力胁迫下可以被切割降解^[27-29]. 近年来, 越来越多的证据表明, 某些成熟 tRNA 的切割及降解不是细胞内偶然的、无意义的过程. 相反, 它们可以在各个水平上以不同的方式调控生物体内基因的整体表达, 对其生物学意义的研究将进一步补充 tRNA 的调控网络.

2005 年, Lee 和 Collins^[30]在鉴定四膜虫(*Tetrahymena thermophila*)非编码 RNA 的过程中, 意外地发现: 当四膜虫缺乏必需氨基酸时, tRNA 成熟体可以被某些未知的内切酶切割成长度为 30~35 nt 左右的片段, 并且这些分子在一开始缺乏氨基酸时大量积累, 在 3 h 后丰度最高. 序列分析表明, 发生切割的位点均位于 tRNA 三叶草二级结构的反密码环处, 因此这类分子被命名为“tRNA 半分子(tRNA halves)”. 虽然发生切割的 tRNA 仅占成熟 tRNA 的一小部分, 但这种现象却存在于几乎整个 tRNA 家族. 此外, 发生切割的 tRNA 是那些没有氨基酰化的 tRNA. 内切酶切割后, 随着饥饿时间的延长, 外切酶继续降解半分子, 从而清除了机体内空载的 tRNA. 与高等动物类似, 四膜虫需要外源的 10 种必需氨基酸. 在其培养基中只要缺乏任何一种必需氨基酸, 就可以诱导 tRNA 半分子

的出现;与之相反,培养基中非必需氨基酸的缺乏则不能诱导tRNA切割成半分子.此外,蛋白质合成抑制剂——放线菌酮能够抑制tRNA半分子的产生.

类似tRNA成熟体内切的现象曾经在大肠杆菌中报道过:大肠杆菌在应激过程中,质粒编码的大肠菌素(colicin)会在tRNA成熟体的反密码环处切割为半分子^[31,32].然而,与四膜虫中tRNA半分子的产生不同:(i)大肠杆菌中的大肠菌素对tRNA的切割有专一性,如大肠菌素E5仅切割tRNA^{Tyr}, tRNA^{His}, tRNA^{Asn}, tRNA^{Asp},大肠菌素D仅切割tRNA^{Arg}的几个等受体,而在四膜虫中,这种切割几乎发生在所有的tRNA成熟体中;(ii)经tBlastn软件比对,在大肠杆菌中参与切割的酶并没有在四膜虫中找到同源物.Lee等人^[30]推测,四膜虫中成熟tRNA切割为半分子并随后降解,也许是机体清除空载tRNA的一种方式,从而确保了翻译的效率和精确性.tRNA半分子也许还可以作为信号分子来抑制空载tRNA的功能.

tRNA半分子并不是四膜虫特有的,它们也被证实存在于其他原核和真核生物中.天蓝色链霉菌(*Streptomyces coelicolor*)是一种生活在土壤中的革兰氏阳性菌.自然环境下,营养缺乏通常导致一系列复杂的形态学的分化过程,包括形成气生菌丝和孢子链,并且合成多种抗生素和次级代谢产物.这些过程是紧密调控的,并且部分是由**bld**和**whi**基因调控的.大多数**bld**和**whi**基因编码调控蛋白质.然而,它们的下游靶分子及诱导其表达的信号目前还没有被完全阐明^[33].为了研究参与该过程的调控小RNA,2008年,Haiser等人^[34]意外地发现,在天蓝色链霉菌形态和生理分化的过程中,成熟tRNA分子也在反密码环处被内切为半分子,并且这种切割是培养基依赖性的,即仅在诱导孢子的培养基MS/MM中,而不在丰富培养基R2YE中发生.这些tRNA半分子在24h出现,并且丰度最高,随着培养时间的延长而逐渐降解.在**bld**突变株中,tRNA半分子的表达谱与野生株不同,而在**whi**突变株中,半分子的表达谱与野生株类似.与Lee等人的发现不同,虽然几乎所有的tRNA都可以产生半分子,但切割通常发生在密码子使用频率较高的tRNA中.由于天蓝色链霉菌可以合成所有20种氨基酸,因此,减少氨基酸并不能引起tRNA半分子的积累.此外,严紧反应(stringent response)或者抑

制核糖体功能也不能诱导tRNA半分子的产生.

最近,Jöchl等人^[35]在烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)中也发现了类似的切割现象.烟曲霉是自然界中普遍存在的丝状腐生真菌,是曲霉中最常见的一种,也是临床上较为重要的条件致病性真菌.在烟曲霉孢子形成的过程中,tRNA半分子在孢子诱导6h时产生,并且在24h丰度最高.随着诱导时间的延长,半分子的丰度在48和72h显著降低,当孢子形成后完全消失.在这一过程中,也许某些外切酶的活性增加,从而导致半分子的降解.当孢子完全形成后,成熟tRNA的水平也降低.但随着孢子的萌发,成熟tRNA丰度逐渐增高,直至菌丝生长9~15h时水平最高.以上两个研究更进一步地表明,tRNA成熟体内切为半分子并不是没有意义的随机降解现象.由于孢子是一种代谢相对不活跃的静止状态,在孢子形成过程中,成熟tRNA被切割为半分子,从而减少了参与蛋白质合成的tRNA的数量,最终导致蛋白质合成速率的下降.

此外,tRNA半分子也可以产生于受到某些压力胁迫的哺乳动物细胞中^[36].Thompson等人^[37]也证实了在受氧压胁迫的酿酒酵母中,成熟tRNA分子也会发生类似的切割.值得注意的是,这种现象还存在于受氧压胁迫的植物及人类细胞中,这也意味着成熟tRNA内切为半分子是真核生物对氧压的普遍反应.

虽然在特定的生理条件下,tRNA成熟体可以在反密码环处被内切,切割产物统称为tRNA半分子,但是在不同的生物中,仍存在某些细微的切割差别.如大肠杆菌的大肠菌素E5在反密码环的34和35位之间精确切割;大肠菌素D则在38和39位之间精确切割;在烟曲霉中,切割发生在反密码子的第3个核苷酸之后;而在四膜虫、天蓝色链霉、酵母及动植物细胞中,切割并没有严格的位点特异性,可以发生在反密码环的整个区域中(表1).提示在不同的生物中,成熟tRNA内切为半分子可能是由不同的内切酶负责的.它们可能识别成熟tRNA保守的二级结构或特异的位点.tRNA半分子产生的机制及生物功能的阐明将为tRNA调控途径的多样性提供全新的证据.

4 tRNA切割为sitRNA介导的基因表达调控

贾第虫(*Giardia lamblia*)是一种呈全球范围分布的人畜共感染的肠道病原微生物^[38].它的整个生活

史中有两种细胞形态: 营养性的滋养体和具有感染性的包裹. 当滋养体随粪便释放到宿主之外的逆境中时形成包裹, 停止细胞增殖但仍保持较低水平的生理代谢, 其代谢水平仅为滋养体的 10%~20% [38,39]. 贾第虫在分类地位上介于原核和真核生物之间, 是最原始的真核生物之一. 贾第虫也是一种重要的单细胞真核模式生物[40].

最近, 本实验室在研究贾第虫包裹化特异表达的非编码RNA的过程中, 意外地发现了一类长度约为 46 nt 的小分子RNA[41]. 这类小RNA稳定存在于包裹诱导 24 h 后的贾第虫中, 并且丰度很高, 在溴化乙锭染色的凝胶中能被直接观察到. cDNA 序列分析结果表明, 这些分子不是细胞内 RNA 的随机降解片段, 97% 的序列来自于成熟 tRNA 的 3' 部分, 且切割位点均位于 tRNA 反密码环左臂, 因此被命名为 sitRNA (stress-induced tRNA-derived RNAs). tRNA 切割为 sitRNA 的现象普遍存在于贾第虫的整个 tRNA 家族, 而不是某些 tRNA 所特有的现象. 前人发现的 tRNA 半分子不同, sitRNA 在包裹诱导初期(3 h)便开始迅速积累, 随着培养时间的延长它们并不逐渐趋于降解, 而是在整个包裹形成过程中稳定表达, 在 24 h 处达到最高丰度. 这一现象暗示 sitRNA 在贾第虫包裹化中起着重要的作用. 包裹化是贾第虫对外界恶劣条件所做出的一种适应生存的反应, 其他逆境胁迫是否也能诱导 sitRNA 产生? 检测了低温、高温及缺血清培养等胁迫条件下的滋养体细胞, 发现均可诱导 sitRNA 的产生. 尤其在血清减少后, sitRNA 在很短的时间内即可出现, 并且随着饥饿时间的延长, 成熟 tRNA 及 sitRNA 逐渐被降解, 而此时, 大量

的 tRNA 半分子在细胞中积累. 尽管低温、高温及减少血清不能诱导贾第虫形成包裹, 但它们与包裹化过程的一个共同特点是机体的整体代谢水平显著下调. 与 tRNA 半分子不同, sitRNA 在贾第虫应激过程中稳定存在, 并且当压力撤除后, sitRNA 又可以消失. 因此推测, tRNA 在应激过程中被切割成 sitRNA 分子与细胞基因表达整体水平下调有关, 从而使贾第虫在胁迫条件下维持相对较低的代谢水平. 本研究结果提示, sitRNA 的产生是贾第虫包裹化及对逆境所作出的一种普遍反应.

是否所有生物都能够产生 sitRNA 应对突发的生理和外界环境的变化? 这是一个值得深入探讨的问题. 目前, 除贾第虫外, 在其他生物中尚未发现 sitRNA. 因此, 贾第虫可作为研究生物应对不利环境和适应性机制的良好模型. 进一步研究贾第虫 sitRNA 加工的过程及生物学功能将有助于阐明原生动物维持生活周期以及对逆境做出快速和恰当反应的机制.

5 结语

tRNA 是一类古老的生物分子, 其主要的生物学功能是在遗传信息的传递过程中发挥“适配器”的功能. 然而, 越来越多的实验证据表明, tRNA 并不是被动的把氨基酸转运到正在延伸的肽链上, 它们可以在机体的应激过程中主动地发挥调控作用(图 1). tRNA 是细胞中丰度最高的小分子 RNA, 并且直接关系到蛋白质的合成效率, 这使得它们可能成为一类良好的与细胞整体代谢相关的基因表达调控分子. 在不同的生理或应激条件下, tRNA 可以通过不同的

表 1 各种生物的 tRNA 切割现象

物种	诱导 tRNA 切割的因素	切割特异性	切割位点	产物长度	内切酶	功能预测
大肠杆菌[31,32]	压力诱导信号	tRNA ^{Tyr, His, Asn, Asp}	34 和 35 位之间		colicin E5	干扰蛋白质合成, 导致细胞死亡
		tRNA ^{Arg} 同功受体	38 和 39 位之间		colicin D	
四膜虫[30]	必需氨基酸饥饿	所有的 tRNA	反密码环区	30~35 nt	未知	清除空载 tRNA 或信号分子
天蓝色链霉[34]	细胞分化	所有的 tRNA	反密码环区	30~35 nt	未知	与代谢相关
烟曲霉[35]	细胞分化		反密码子第 3 个核苷酸之后		未知	下调蛋白质合成
哺乳动物细胞[36]	多种逆境		反密码环区	35~37 nt	血管生成素	参与细胞应激反应
酵母、植物、人类细胞[37]	氧压		反密码环区或反密码环附近	~40 nt	未知	作为信号分子抑制翻译
贾第虫[41]	包裹化和其他逆境	所有的 tRNA	反密码环左臂	~46 nt	未知	下调全局基因表达

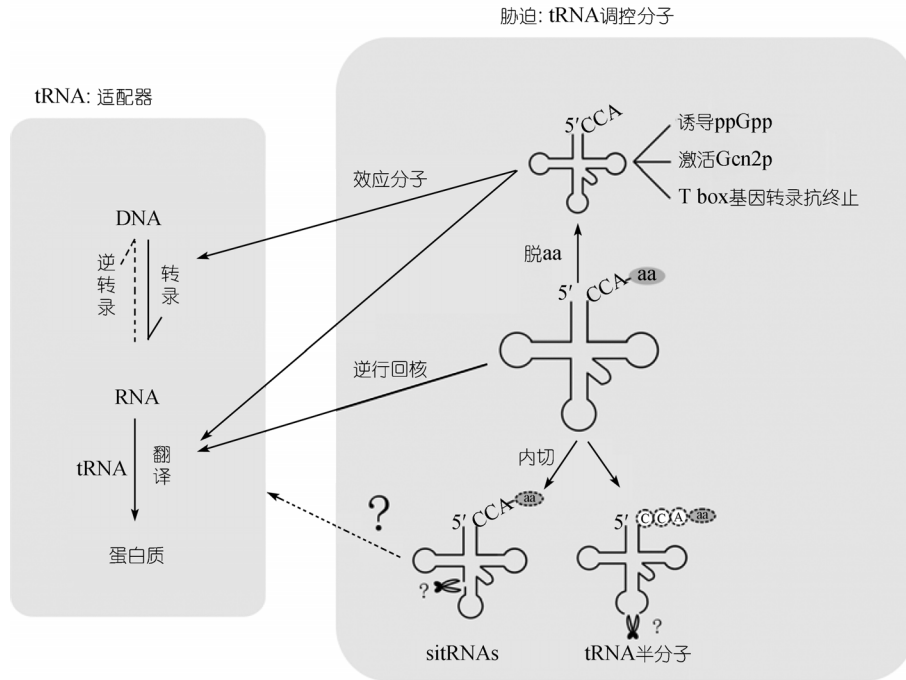


图1 tRNA 在应激反应中的调控作用

方式来调控基因的表达。当原核和真核生物面临营养缺乏,尤其是必需氨基酸缺乏时,空载 tRNA 作为效应分子参与机体对逆境的应激反应,在转录和翻译水平上调控基因的表达。当营养剥夺时,tRNA 通过逆行回细胞核,在转录后水平上调控基因的全局表达。在这两种情况下,tRNA 只是通过改变其负载水平来实现对基因表达的精细调控,细胞内完整 tRNA 分子的总体水平保持恒定。然而,在某些生理压力和分化过程中,tRNA 可以被特定内切酶加工成

半分子或 sitRNA 分子,直接影响到细胞内 tRNA 的整体水平,并可迅速产生高浓度的效应或信号分子,代表了一种更为直接和重要的调控方式。虽然在不同的生物中 tRNA 的切割有位点特异性,但对贾第虫这种最原始的真核生物的研究提示我们,tRNA 的切割是生物应对特定生理或环境压力而普遍存在的现象。对 tRNA 加工机制以及切割产物的生物学功能的研究将进一步揭示由小分子非编码 RNA 介导的新的基因调控网络及机制。

参考文献

- Hopper A K, Phizicky E M. tRNA transfers to the limelight. *Genes Dev*, 2003, 17(2): 162—180[DOI]
- 王德宝, 刘望夷. 转移核糖核酸——结构、功能与合成. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1995. 144—152
- McFarland R, Elson J L, Taylor R W, et al. Assigning pathogenicity to mitochondrial tRNA mutations: when "definitely maybe" is not good enough. *Trends Genet*, 2004, 20(12): 591—596[DOI]
- Cashel M, Gallant J. Two compounds implicated in the function of the RC gene of *E. coli*. *Nature*, 1969, 221: 838—841[DOI]
- Cashel M, Gentry D R, Hernandez V J, et al. The Stringent Response In *Escherichia coli* and *Salmonella*. Cellular and Molecular Biology. Washington DC: ASM Press, 1996. 1458—1496
- Magnusson L U, Farewell A, Nystrom T. ppGpp: a global regulator in *Escherichia coli*. *Trends Microbiol*, 2005, 13(5): 236—242[DOI]
- Chatterji D, Fujita N, Ishihama A. The mediator for stringent control, ppGpp, binds to the β -subunit of *Escherichia coli* RNA polymerase. *Genes Cells*, 1998, 3(5): 279—287[DOI]
- Touloukhonov I I, Shulgina I, Hernandez V J. Binding of the transcription effector ppGpp to *Escherichia coli* RNA polymerase is allosteric, modular, and occurs near the N terminus of the beta'-subunit. *J Biol Chem*, 2001, 276(2): 1220—1225[DOI]
- Kuroda A, Murphy H, Cashel M, et al. Guanosine tetra- and pentaphosphate promote accumulation of inorganic polyphosphate in *Escherichia coli*. *J Biol Chem*, 1997, 272(134): 21240—21243[DOI]

- 10 Kuroda A, Tanaka S, Ikeda T, et al. Inorganic polyphosphate kinase is required to stimulate protein degradation and for adaptation to amino acid starvation in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(25): 14264—14269 [\[DOI\]](#)
- 11 Chatterji D, Ojha A K. Revisiting the stringent response, ppGpp and starvation signaling. *Curr Opin Microbiol*, 2001, 4(2): 160—165 [\[DOI\]](#)
- 12 Grundy F J, Winkler W C, Henkin T M. tRNA-mediated transcription anti-termination *in vitro*: codon-anticodon pairing independent of the ribosome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(17): 11121—11126 [\[DOI\]](#)
- 13 Nelson A R, Henkin T M, Agris P F. tRNA regulation of gene expression: interactions of an mRNA 5'-UTR with a regulatory tRNA. *RNA*, 2006, 12(7): 1254—1261 [\[DOI\]](#)
- 14 Dong J, Qiu H, Garcia-Barrio M, et al. Uncharged tRNA activates GCN2 by displacing the protein kinase moiety from a bipartite tRNA-binding domain. *Mol Cell*, 2000, 6(2): 269—279 [\[DOI\]](#)
- 15 Hao S, Sharp J W, Ross-Inta C M, et al. Uncharged tRNA and sensing of amino acid deficiency in mammalian piriform cortex. *Science*, 2005, 307(5716): 1776—1778 [\[DOI\]](#)
- 16 Wilson W A, Roach P J. Nutrient-regulated protein kinases in budding yeast. *Cell*, 2002, 111(2): 155—158 [\[DOI\]](#)
- 17 Hinnebusch A G, Natarajan K. Gcn4p, a master regulator of gene expression, is controlled at multiple levels by diverse signals of starvation and stress. *Eukaryot Cell*, 2002, 1(1): 22—32 [\[DOI\]](#)
- 18 Yang R, Wek S A, Wek, R C. Glucose limitation induces GCN4 translation by activation of Gcn2 protein kinase. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(8): 2706—2717 [\[DOI\]](#)
- 19 Wolin S L, Matera A G. The trials and travels of tRNA. *Genes Dev*, 1999, 13(1): 1—10 [\[DOI\]](#)
- 20 Nakanishi K, Nureki O. Recent progress of structural biology of tRNA processing and modification. *Mol Cells*, 2005, 19(2): 157—166
- 21 Ibba M, Söll D. Aminoacyl-tRNAs: setting the limits of the genetic code. *Genes Dev*, 2004, 18: 731—738 [\[DOI\]](#)
- 22 Lund E, Dahlberg J E. Proofreading and aminoacylation of tRNAs before export from the nucleus. *Science*, 1998, 282(5396): 2082—2085 [\[DOI\]](#)
- 23 Takano A, Endo T, Yoshihisa T. tRNA actively shuttles between the nucleus and cytosol in yeast. *Science*, 2005, 309(5731): 140—142 [\[DOI\]](#)
- 24 Shaheen H H, Hopper A K. Retrograde movement of tRNAs from the cytoplasm to the nucleus in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(32): 11290—11295 [\[DOI\]](#)
- 25 Whitney M L, Hurto R L, Shaheen H H, et al. Rapid and reversible nuclear accumulation of cytoplasmic tRNA in response to nutrient availability. *Mol Biol Cell*, 2007, 18(7): 2678—2686 [\[DOI\]](#)
- 26 Shaheen H H, Horetsky R L, Kimball S R, et al. Retrograde nuclear accumulation of cytoplasmic tRNA in rat hepatoma cells in response to amino acid deprivation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(21): 8845—8850 [\[DOI\]](#)
- 27 Deutscher M P. Degradation of stable RNA in bacteria. *J Biol Chem*, 2003, 278(46): 45041—45044 [\[DOI\]](#)
- 28 Kaufmann G. Anticodon nucleases. *Trends Biochem Sci*, 2000, 25(2): 70—74 [\[DOI\]](#)
- 29 Li Z W, Reimers S, Pandit S, et al. RNA quality control: degradation of defective transfer RNA. *EMBO J*, 2002, 21(5): 1132—1138 [\[DOI\]](#)
- 30 Lee S R, Collins K. Starvation-induced cleavage of the tRNA anticodon loop in *Tetrahymena thermophila*. *J Biol Chem*, 2005, 280(52): 42744—42749 [\[DOI\]](#)
- 31 Ogawa T, Tomita K, Ueda T, et al. A cytotoxic ribonuclease targeting specific transfer RNA anticodons. *Science*, 1999, 283(5410): 2097—2100 [\[DOI\]](#)
- 32 Tomita K, Ogawa T, Uozumi T, et al. A cytotoxic ribonuclease which specifically cleaves four isoaccepting arginine tRNAs at their anticodon loops. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(15): 8278—8283 [\[DOI\]](#)
- 33 Claessen D, de Jong W, Dijkhuizen L, et al. Regulation of *Streptomyces* development: reach for the sky. *Trends Microbiol*, 2006, 14(7): 313—319 [\[DOI\]](#)
- 34 Haiser H J, Karginov F V, Hannon G J, et al. Developmentally regulated cleavage of tRNAs in the bacterium *Streptomyces coelicolor*. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(3): 732—741 [\[DOI\]](#)
- 35 Jöchl C, Rederstorff M, Hertel J, et al. Small ncRNA transcriptome analysis from *Aspergillus fumigatus* suggests a novel mechanism for regulation of protein synthesis. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(8): 2677—2689 [\[DOI\]](#)
- 36 Fu H J, Feng J J, Liu Q, et al. Stress induces tRNA cleavage by angiogenin in mammalian cells. *FEBS Lett*, 2008, doi: 10.1016/j.febslet.2008.12.043
- 37 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 [\[DOI\]](#)
- 38 Adam R D. Biology of *Giardia lamblia*. *Clin Microbiol Rev*, 2001, 14(3): 447—475 [\[DOI\]](#)
- 39 Luján H D, Mowatt M R, Nash T E. Mechanisms of *Giardia lamblia* differentiation into cysts. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1998, 61(3): 294—304
- 40 Morrison H G, McArthur A G, Gillin F D, et al. Genomic minimalism in the early diverging intestinal parasite *Giardia lamblia*. *Science*, 2007, 317(5846): 1921—1926 [\[DOI\]](#)
- 41 Li Y, Luo J, Zhou H, et al. Stress-induced tRNA-derived RNAs: a novel class of small RNAs in the primitive eukaryote *Giardia lamblia*. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36: 6048—6055 [\[DOI\]](#)