

核糖核酸 5' 端 NAD⁺ 帽子修饰研究进展

董海娇^{1, 2} 杨晓玉³ 莫蓓莘¹ 陈雪梅⁴ 崔洁¹

(1. 深圳大学生命与海洋科学学院, 深圳 518037; 2. 深圳大学光电工程学院 光电子器件与系统(教育部/广东省)重点实验室, 深圳 518060; 3. 山东农业大学园艺科学与工程学院, 泰安 271018; 4. 美国加利福尼亚大学河滨分校整合基因组学研究中心/植物科学系, 美国加州河滨 92521)

摘要: m7G 帽子具有保护 RNA 不被降解以及招募相关蛋白参与内含子剪切、poly(A) 加尾、出核和翻译等功能。一直以来, 它被认为是真核生物 mRNA 所特有的修饰类型。然而近年来, 在包括原核生物在内的多个物种中均检测到一种新的 RNA 5' 端修饰, 即核酸代谢物烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺) 帽子。目前 NAD⁺ 修饰 RNA(NAD-RNA) 的生物学功能研究仍处于起始阶段。本文概述了 NAD-RNA 的发现及其检测和鉴定技术的发展; 探讨了 NAD⁺ 帽子对 RNA 的调控功能, 以及 NAD-RNA 脱帽和加帽的影响因素; 并进一步推测 NAD-RNA 在生物的生长、发育和环境响应中发挥的潜在功能。最后, 展望了未来 NAD-RNA 的研究方向和主题。

关键词: RNA 帽子; NAD⁺; NAD-RNA; 转录后调控; 生物学功能

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2021-0975

Research Progress in NAD⁺ Cap Modification at the 5' End of RNA

DONG Hai-jiao^{1, 2} YANG Xiao-yu³ MO Bei-xin¹ CHEN Xue-mei⁴ CUI Jie¹

(1. College of Life Sciences and Oceanography, Shenzhen University, Shenzhen 518037; 2. Key Laboratory of Optoelectronic Devices and Systems of Ministry of Education and Guangdong Province, College of Optoelectronic Engineering, Shenzhen University, Shenzhen 518060; 3. College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018; 4. Department of Botany and Plant Sciences, Institute of Integrative Genome Biology, University of California, Riverside, CA, 92521, USA)

Abstract: The m7G cap, which has long been considered as a hallmark of eukaryotic mRNAs, protects RNAs from degradation and recruits the machinery for splicing, polyadenylation, nuclear export, and translation. The nucleotide-containing metabolite, nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺), has recently been detected at the 5' end of RNAs in several species including prokaryotes as a new cap. Now research on the biological functions of NAD⁺-capped RNAs (NAD-RNAs) is still at the initial stage. This review summarizes the discovery of NAD-RNAs as well as the development of its detection and identification technology, discusses the regulatory functions of the NAD⁺ cap on RNA as well as the factors affecting RNA NAD⁺ capping and decapping, and speculates on the potential functions of NAD-RNAs in growth, development and environmental responses. Finally, we propose future research directions and topics in order to garner attention on the outstanding questions regarding the molecular and biological functions NAD-RNAs.

Key words: RNA cap; NAD⁺; NAD-RNA; post-transcriptional regulation; biological function

核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)分子同时具有信息分子和调控分子的双重身份, 在生命活动的各个方面发挥着重要作用。它种类繁多, 主要包括

经典的信使 RNA(messenger RNA, mRNA)、核糖体 RNA(ribosomal RNA, rRNA)和转运 RNA(transport RNA, tRNA), 以及近年来陆续被发现和报道的、

收稿日期: 2021-07-30

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31801077, 32000153), 中国博士后科学基金面上资助(2018M640822), 深圳市高等院校稳定支持计划面上项目(20200809224536001)

作者简介: 董海娇, 女, 博士, 研究方向: 植物表观遗传学; E-mail: 547860420@qq.com

通讯作者: 崔洁, 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 植物表观遗传学; E-mail: huademunaiyi@163.com

具有基因表达调控作用的微小 RNA (microRNA, miRNA) 和具有免疫和防御功能的小干扰 RNA (small interference RNA, siRNA) 等^[1-2]。随着技术的更新和研究的深入, RNA 在不同生物学过程中的功能和作用机制逐渐被揭示。

RNA 功能的发挥主要由其自身序列和结构特征所决定, 同时基于共价化学修饰的表观转录组 (epitranscriptome) 调控也发挥了重要的作用^[3]。目前, 在 RNA 分子上已鉴定到超过 170 种化学修饰, 它们发生在长链分子内部或者两端, 且多见于 tRNA 和 rRNA 上^[4]。mRNA 分子内部常见的碱基修饰有 N⁶-腺苷酸甲基化 (N⁶-methyladenosine, m⁶A)、5-甲基胞嘧啶 (5-methylcytosine, m⁵C) 和假尿苷 (pseudouridine, Ψ) 化等, 它们在 mRNA 的稳定性、内含子剪切、输出、翻译等生物学过程中发挥着重要的调控作用^[5]。其中, mRNA 的 m⁶A 修饰是近年的研究热点, 该过程的异常会导致动植物发育异常和疾病的出现, 如胚胎发育迟缓和肿瘤等^[6-7]。

7-甲基鸟嘌呤 (7-methylguanosine, m⁷G) 是真核生物 mRNA 5' 端特有的、经典的加帽修饰, 参与调控 mRNA 的稳定性、加工、运输和翻译等生物学过程, 具有重要的生物学意义^[8-9]。不同于真核生物, 传统观点认为原核生物 mRNA 5' 端以三磷酸 RNA (pppRNA) 为主, 没有类似 m⁷G 的帽子结构^[10]。但是 2009 年, 研究人员利用液相色谱-质谱联用仪 (liquid chromatograph mass spectrometer, LC-MS) 对细菌 RNA 的 5' 端进行分析, 鉴定到两种新的共价修饰, 即烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺) 和辅酶 A 衍生物 (dephosphocoenzyme A, DP-CoA), 并且 NAD⁺ 帽子修饰的 RNA (NAD-RNA) 占比更高^[11-12]。随后, 人们陆续在酵母、小鼠、人源细胞、拟南芥等真核生物中也发现了 NAD-RNA^[13-14], 暗示 RNA 的 NAD⁺ 加帽是一种非常保守的修饰机制。近年来, 研究人员整合酶处理捕获和高通量测序技术 (NAD captureSeq), 实现了全转录组水平的 NAD-RNA 鉴定^[15-16], 为随后 NAD-RNA 生物学功能及 NAD⁺ 修饰代谢通路的研究奠定基础。

NAD⁺ 又称辅酶 I, 是生物体内多种脱氢酶的辅酶, 可把代谢过程中由脱氢酶催化产生的氢离子传

递给黄素蛋白, 从而将三羧酸循环和呼吸链反应串联起来^[17-18]。而 NAD⁺ 作为一种全新的 RNA 5' 端修饰结构, 从最初发现至今仅有十几年的时间, 特别是在真核生物中, NAD-RNA 的鉴定和研究刚刚起步。本文聚焦于 NAD-RNA, 从其发现、检测技术的发展、生物学功能及其调控机制等方面对目前该领域取得的最新进展进行总结, 并对今后的研究做出展望。

1 NAD-RNA 的发现及其检测技术的发展

NAD-RNA 最早发现于大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和委内瑞拉链霉菌 (*Streptomyces venezuelae*) 体内。2009 年, 研究人员利用分子排阻色谱 (size-exclusion chromatography) 分离 *E. coli* 和 *S. venezuelae* 的大分子 RNA 片段, 然后以核酸酶 P1 将其消化为小分子片段, 通过高分辨率 LC-MS 对这些小分子片段进行分析, 首次检测到了位于 RNA 5' 端的 NAD⁺ 帽子修饰^[11]。Grudzien-Nogalska 等^[19] 在此基础上提出通过两步法来检测 NAD-RNA 的含量, 即 “NAD-capQ” (NAD cap detection and quantitation) 法, 主要包括 NAD-RNA 的核酸酶 P1 处理和游离的 NAD⁺ 含量的比色法检测。目前, NAD-capQ 已成功应用于大肠杆菌、酵母、人源细胞 HEK293T 和拟南芥中 NAD-RNA 的定量检测^[14, 19]。最近, Wang 等^[13] 结合 off-line HPLC (high performance liquid chromatography, 高效液相色谱) 和 LC-MS/MS 开发了可富集定量各种 RNA 帽子结构的 CapQuant 检测法, 并在登革热病毒、大肠杆菌、酵母、小鼠肝脏和肾脏以及人源 B 淋巴细胞的 mRNA 中鉴定到包括 m⁷G、NAD⁺ 在内的 26 种帽子修饰, 也表明 NAD⁺ 同 m⁷G 一样存在于 mRNA 的 5' 端。

NAD⁺ 及其代谢衍生物可参与生物体内多种基础的生理活动, 在调控细胞氧化还原稳态、蛋白翻译后修饰以及信号转导等过程中发挥着重要作用, 其含量异常可导致多种疾病的发生^[20-21]。NAD-RNA 是否参与上述过程, 或者与其它未知的代谢和调控途径有关呢? 为了解答上述问题, 研究人员开发了 NAD captureSeq, 利用腺苷二磷酸核糖环化酶 (adenosine diphosphate-ribosylcyclase, ADPRC) 在焓醇存在条件下催化 RNA 5' 端 NAD⁺ 发生转糖基化反

应生成炔烃 RNA (alkyne-RNA), 随后通过铜催化的炔叠氮化物环加成 (a copper-catalysed azide-alkyne cycloaddition, CuAAC) 反应将 alkyne-RNA 转化为生物素标记的 RNA (biotin-RNA) (图 1-A), 最后借助链霉亲和素磁珠分离 biotin-RNA 并进行高通量测序, 实现了在全基因组水平上对 *E. coli* 体内 NAD-RNA 的分析和鉴定^[15], 结果表明, *E. coli* 中 NAD-RNA 大多为特异的调控类小 RNA (small RNA, sRNA) 和 mRNA^[15]。随后, 研究人员利用 NAD captureSeq 先后在酵母、人源细胞、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 和拟南芥中鉴定 NAD⁺ 加帽修饰

的 RNA^[14, 22-24]; 与 *E. coli* 的研究结果类似, 这些物种中的 NAD-RNA 主要是 mRNA, 另有少量的非编码 RNA, 表明 NAD⁺ 是一种普遍存在的 RNA 修饰类型, 且与 m7G 一样主要修饰 mRNA, 但可转录生成 NAD-RNA 的基因数目要少于转录生成 m7G-RNA 的基因数目。对大肠杆菌、酵母、小鼠和拟南芥中 NAD-RNA 生成基因的 GO (gene ontology) 分析结果显示, 这些基因编码的蛋白主要涉及信号转导、转录相关过程、蛋白翻译及非生物胁迫响应如冷、热、旱、盐、ABA、营养缺失等^[14-15, 24-29]。

尽管 NAD captureSeq 为人们鉴定 NAD-RNA 提

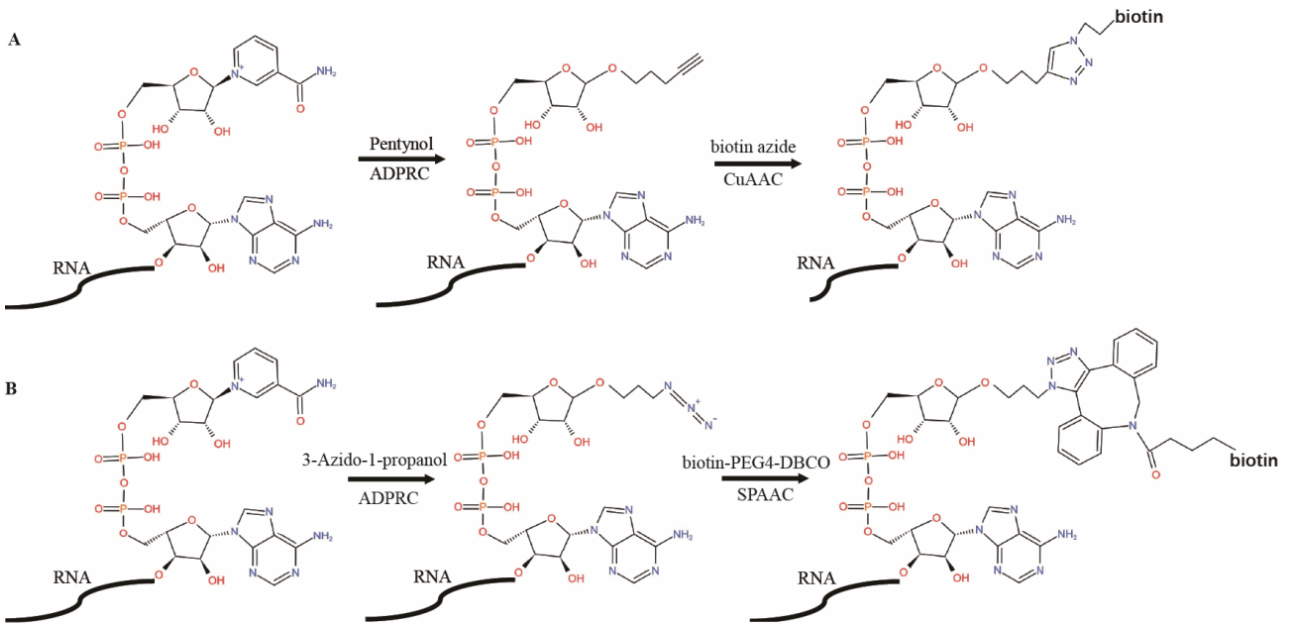


图 1 NAD-RNA 的 CuAAC (A) 和 SPAAC (B) 反应示意图

Fig. 1 Schematic diagram of CuAAC (A) and SPAAC (B) reactions of NAD-RNA

供了有力的技术保障, 但其仍存在一些缺陷。首先, 在捕获 NAD-RNA 的 CuAAC 反应中, 二价铜离子 (Cu^{2+}) 的存在会导致一定程度的 RNA 降解, 从而引起链霉亲和素磁珠富集的 RNA 片段呈现一定的 5' 端偏好, 这不利于对 NAD-RNA 全长转录本序列信息的了解以及其转录水平的计算; 此外, 该方法存在一定程度的假阳性, 近期有研究表明 CuAAC 反应对真核生物 m7G-RNA 亦存在微弱的转化能力, 导致捕获到的 RNA 分子中存在一定量的 m7G-RNA。为了克服上述问题, Hu 等^[26] 在

2021 年提出了 SPAAC-NAD-seq, 用以鉴定拟南芥中的 NAD-RNA; 该方法首先利用 anti-m7G 抗体特异去除拟南芥 mRNA 中的 m7G-RNA, 然后通过不依赖 Cu^{2+} 的应变促进的炔叠氮化物环加成 (strain-promoted azide-alkyne cycloaddition, SPAAC) 反应体系 (图 1-B), 捕获 NAD-RNA 并进行二代测序分析。与 NAD captureSeq 相比, SPAAC-NAD-seq 避免了 m7G-RNA 和 Cu^{2+} 的干扰, 因此大大提高了 NAD-RNA 鉴定的准确性和灵敏度。除此以外, Zhang 等^[28-31] 在 2019 年和 2021 年先后利用 CuAAC

和 SPAAC 反应处理拟南芥和大肠杆菌 RNA 样本, 然后在 NAD-RNA 的 5' 端连接一段合成的 RNA 标签 (tagRNA) 作为接头 (adaptor), 进一步富集含接头的 NAD-RNA 并通过 Oxford Nanopore sequencing 三代测序完成对 NAD-RNA 转录本信息的鉴定。相比 NAD captureSeq 和 SPAAC-NAD-seq, 该策略省去了传统 illumina 测序中的 RNA 片段化、cDNA 合成、PCR 扩增和片段筛选步骤, 进一步简化了 NAD-RNA 测序流程。以上全基因组水平的测序研究结果均表明, NAD⁺ 加帽修饰主要发生于部分编码蛋白的 mRNA 和部分具有特异调控功能的 sRNA, 其中真核生物中 NAD⁺-mRNA 主要来源于核基因, 少数来源于线粒体基因, 并为研究其具体的生物学功能奠定基础。

2 NAD⁺ 帽子对 RNA 转录后调控的影响

已有研究结果表明, 真核生物中 NAD⁺ 修饰的基因大多亦可被 m7G 加帽^[14, 23]。NAD⁺ 帽子是否和 m7G 一样, 能够保护 RNA 不被降解、招募相关蛋白参与 RNA 内含子剪切、poly (A) 加尾、出核和完成蛋白翻译等生物学过程呢? 大肠杆菌中的研究结果表明, NAD-RNA 可以抵抗 RNA 焦磷酸水解酶 (RNA-pyrophosphohydrolase, RppH) 对其 5' 端的加工, 进而避免被核糖核酸酶 E (ribonuclease E, RNase E) 降解^[15]; 此外, 原核生物 *B. subtilis* 的 NAD⁺ 加帽修饰也具有稳定 RNA 的作用, 可防止 RNase J1 介导的 5' 端到 3' 端降解的发生^[22]。不同于上述原核生物, 真核生物中广泛存在一类具有脱帽功能的酶 DXO 蛋白, 可以去除哺乳动物和拟南芥体内 RNA 的 NAD⁺ 帽子, 产生不稳定的 5' 单磷酸 RNA (pRNA), 并进一步催化将其降解, 最终影响体内 NAD-RNA 的水平^[23, 27], 这表明原核和真核生物中 RNA 的 NAD⁺ 加帽修饰可能具有不同的生物学意义。

高通量测序如 RNA-seq、翻译组测序 (ribosome profiling) 等是研究 RNA 修饰的转录后调控等生物学过程的重要手段^[7, 32]。目前, 部分研究小组已经开展了人源细胞 HEK293T 和拟南芥 NAD⁺ 加帽修饰对 mRNA 加工和翻译影响的初步研究工作, 结果显示 NAD-RNA 可顺利完成内含子剪切和 poly (A) 加尾过程^[14, 23, 26, 29]; 同时, 进一步检测到拟南芥的

内源 NAD-RNA 富集于多聚核糖体, 暗示了 NAD-RNA 可能具有蛋白编码的功能^[14]。但是也有不同的研究结果被报道。在 2017 年, 有研究人员将 NAD⁺ 加帽和 poly (A) 加尾修饰的荧光素酶基因 mRNA 导入人源细胞 HEK293T 中, 检测荧光素酶含量, 发现与对照并无显著差异, 推测外源 NAD⁺-mRNA 在 HEK293T 细胞不具备蛋白翻译的功能^[23, 33]。因此, 关于体内 NAD-RNA 是否具有蛋白编码的能力、是否可以向胞质运输以及原核生物和真核生物 NAD-RNA 转录后调控的异同等仍有待深入研究。

3 RNA 的 NAD⁺ 加帽和脱帽分子机制初探

真核生物中基因转录成 NAD-RNA 的含量约占相应转录本总含量的 1%~6%^[14, 23, 24, 33], 且体内 NAD-RNA 总含量也远低于 m7G-RNA 的占比^[13]。NAD⁺ 加帽和脱帽反应的效率直接决定 NAD-RNA 的含量。不同于 m7G-RNA 的转录起始后加帽^[34-37], RNA 的 NAD⁺ 加帽反应可能存在两种模式, 即转录起始和转录后加帽^[33]。(1) 转录起始加帽: 在体外条件下或细菌体内, NAD⁺ 可作为一种稀有的起始核苷酸 (non-canonical initiating nucleotide, NCIN) 在细菌 RNA 聚合酶 (RNA polymerase, RNAP) 或真核生物 RNAP II 作用下, 替代 ATP 作为首位碱基转录形成 NAD-RNA^[22, 38-39]; 相比细胞核 RNAP, 真核生物酵母和人的线粒体 RNAP (mitochondrial RNAP, mtRNAP) 可更加高效地利用 NAD⁺ 合成 NAD-RNA。此外, NAD⁺ 加帽的效率也受转录起始位点 (transcription start site, TSS) 序列 (+1A)、TSS 上游序列 (-1R) 以及细胞内的 NAD⁺ 含量等因素影响^[38, 40]。利用 CapZyme-Seq 技术, 研究人员分析了 *E. coli* 中约 16 000 个 NAD-RNA 基因启动子序列, 发现决定 NAD⁺ 加帽的启动子的特征序列为 H₃R₂R₁A₄S₂W₄₃W₄₄, 其中 A₄ 为 TSS^[41]。(2) 转录后加帽: 哺乳动物 snoRNA (small nucleolar RNA) 和 scaRNA (small cajal body RNA) 是大多来源于基因内含子的非编码小 RNA^[42-44], Jiao 等^[23] 研究发现被核酸外切酶加工过的 sno / scaRNA 5' 端可被 NAD⁺ 修饰, 暗示哺乳动物体内可能存在转录起始后的加帽反应。

除了加帽效率, 生物体内脱帽反应也是影响

NAD-RNA 含量的重要因素。DXO 蛋白家族是一类可以清除真核生物体内异常帽子修饰 RNA 的酶^[45], 如前所述, 也具有清除 NAD-RNA 的功能。DXO 的 NAD⁺ 脱帽活性最早在哺乳动物细胞中被检测到, 可去除体内部分 NAD-RNA 中的 NAD⁺ 帽子并进一步催化降解 pRNA^[23], 模式植物拟南芥的 DXO1 蛋白也具有相似的功能^[27]; 进一步研究发现, 当拟南芥 DXO1 功能缺失时, 体内的 NAD-RNA 可被加工成小 RNA^[27], 暗示 NAD-RNA 在特定条件下可能通过小 RNA 介导的表观调控机制发挥作用, 因此增加了 NAD-RNA 调控网络的复杂性。Nudix (nucleoside diphosphate linked to another moiety X) 是另一类只具有脱帽活性的水解酶蛋白家族, *E. coli* 的 Nudix 家族成员 RppH 可以催化三磷酸 RNA (pppRNA) 生成 pRNA, 进而由 RNase E 从 5' 端起始将其降解^[10, 46]; 哺乳动物 Nudix 家族成员 Dcp2、Nudt3 和 Nudt16 可催化体内 m7G-RNA 的脱帽反应, 而 Nudt2、Nudt12、Nudt15、Nudt17 和 Nudt19 则具有体外去 m7G 帽子的活性^[47]。最近的研究结果表明, Nudix 也参与了 NAD-RNA 的脱帽过程, 但不同于 DXO 蛋白, 它在 NAD⁺ 的烟酰胺和腺嘌呤之间发生酶解反应, 并依赖于核糖核酸酶进一步降解脱帽的 pRNA, 例如, NudC 和 RppH 可分别催化 *E. coli* 和 *B. subtilis* 体内 NAD-RNA 的脱帽反应, 生成 NMN (nicotinamide mononucleotide) 和 pRNA^[15, 22]; 小鼠 Nudt12 靶向与 DXO 不同的 NAD-RNA, 主要参与编码线粒体蛋白的核基因 mRNA 的 NAD⁺ 脱帽反应^[25]; 对哺乳动物 22 个 Nudix 成员的脱帽活性进行研究, 发现除上述 Nudt12 外, Nudt16 也具有去除 RNA 5' 端 NAD⁺ 帽子的功能^[48]。此外, 真核生物糖基水解酶 CD38 可在体外反应条件下将 NAD-RNA 分解为成 ADP-RNA 和烟酰胺, 暗示其可能是一类新的 NAD-RNA 脱帽酶^[49]。然而, 目前关于生物体内 NAD-RNA 加帽和脱帽等代谢过程以及调控途径的研究仍处于起步阶段, 有待于在今后的研究中进一步挖掘解析。

4 NAD-RNA 与生长发育和环境胁迫

生物体内 NAD-RNA 的丰度和种类与生长发育阶段和环境因素密切相关。研究发现, *E. coli* 指数

和稳定生长期 NAD⁺ 加帽修饰的 RNA 有较大差异, 除了两个时期共有的 79 个基因外, 另有 50 个指数生长期特异表达的 NAD-RNA 基因以及 150 个稳定生长期特异表达的 NAD-RNA 基因^[28]; 拟南芥幼苗和花中 NAD-RNA 的丰度以及可转录生成 NAD-RNA 的基因亦存在一定的差异^[14], 这些结果暗示基因的 NAD⁺ 加帽修饰可能具有一定的时空表达特异性。与 YEPD (yeast extract peptone dextrose) 培养基相比, 生长在合成培养基上的酵母体内 NAD⁺-mRNA 基因种类更多^[24]; 将人源 HEK293T 和包皮成纤维细胞进行热激 (42℃) 处理或置于葡萄糖缺失的培养基中培养, NAD-RNA 的含量均显著提高^[25]; 拟南芥幼苗 NAD-RNA 可响应脱落酸 (abscisic acid, ABA) 处理, 并且多数响应 ABA 的 NAD-RNA 的脱帽过程不依赖 DXO1^[27]; 对可转录成 NAD-RNA 的基因进行 GO 分析, 它们部分富集于非生物胁迫相关的路径^[14, 15, 24, 26-29], 以上结果表明 NAD-RNA 的合成与代谢过程与外界环境因素也密切相关, 这可能与 NAD⁺ 的辅酶特性有关。

5 总结与展望

借助于 LC-MS 和 NAD captureSeq 等技术, 人们发现了 RNA 5' 端的 NAD⁺ 加帽这一新的修饰类型。NAD⁺ 作为一种辅酶, 在转录过程中可替代 ATP 作为起始碱基、通过 RNAP/RNAP II 的催化生成 NAD-RNA, 并进一步完成内含子剪切、poly (A) 加尾等转录后加工过程。不同于经典的真核生物 m7G 帽子, NAD⁺ 加帽修饰在原核和真核生物 RNA 上均可检测到, 并且该修饰对 RNA 在原核和真核生物中稳定性的影响存在差异; 同时, 真核生物中 NAD-RNA 的占比远低于 m7G-RNA。基于此, 我们推测 NAD-RNA 的起源进化可能要早于 m7G-RNA, 早期在原核生物中 NAD⁺ 加帽具有保护 RNA 不被降解、维持其稳定性的作用; 但随着生物的进化, NAD-RNA 可能发生了功能分化, 被真核生物识别为异常 RNA, 进而被 DXO 等脱帽酶脱帽并进一步降解, 与此同时真核生物 RNA 被特有的 m7G 帽子所保护而不被降解并完成后续一系列的转录、转录后和翻译等过程, 逐渐替代 NAD-RNA 占主导地位。

后续可从以下几个方面进行研究, 来验证上述

猜测:(1)开展关于 NAD-RNA 和 m7G-RNA 代谢通路重要基因的进化分析;(2)鉴定与 NAD⁺加帽、脱帽、识别等过程相关的基因,并通过这些基因的功能研究解析 NAD-RNA 的变化对生物体的影响;(3)NAD-mRNA 能否完成正常的蛋白翻译过程,与 m7G-RNA 一样以蛋白形式发挥功能?或者直接以 RNA 形式作为调控因子发挥功能?(4)NAD⁺修饰的非编码 RNA 是否具有调控功能?

除了 NAD-RNA,近年来在生物体内还检测到了许多其他类型加帽修饰的 RNA,比如 dpCoA-RNA、FAD-RNA、UDP-Glc-RNA 和 UDP-GlcNAc-RNA 等,它们在体内的含量也远低于 m7G-RNA^[13]。然而,这些 RNA 序列信息以及与 NAD-RNA、m7G-RNA 是否存在着关联仍然未知。相信随着后续相关分析技术的突破,将会促进该领域相关研究工作的开展,进一步拓展和丰富 RNA 生物学基础理论知识。

参考文献

- [1] Julius C, Yuzenkova Y. Noncanonical RNA-capping: Discovery, mechanism, and physiological role debate [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2019, 10 (2): e1512.
- [2] Liu SR, Hu CG, Zhang JZ. Regulatory effects of cotranscriptional RNA structure formation and transitions [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2016, 7 (5): 562-574.
- [3] Kadumuri RV, et al. Epitranscriptomic code and its alterations in human disease [J]. *Trends Mol Med*, 2018, 24 (10): 886-903.
- [4] Machnicka MA, Milanowska K, Osman Oglou O, et al. MODOMICS: a database of RNA modification pathways—2013 update [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41 (database issue): D262-D267.
- [5] Gilbert WV, et al. Messenger RNA modifications: Form, distribution, and function [J]. *Science*, 2016, 352 (6292): 1408-1412.
- [6] Roundtree IA, Evans ME, et al. Dynamic RNA modifications in gene expression regulation [J]. *Cell*, 2017, 169 (7): 1187-1200.
- [7] Yu X, Sharma B, Gregory BD. The impact of epitranscriptomic marks on post-transcriptional regulation in plants [J]. *Brief Funct Genomics*, 2021, 20 (2): 113-124.
- [8] Ramanathan A, et al. mRNA capping: biological functions and applications [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44 (16): 7511-7526.
- [9] Topisirovic I, Svitkin YV, Sonenberg N, et al. Cap and cap-binding proteins in the control of gene expression [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2011, 2 (2): 277-298.
- [10] Deana A, Celesnik H, Belasco JG. The bacterial enzyme RppH triggers messenger RNA degradation by 5' pyrophosphate removal [J]. *Nature*, 2008, 451 (7176): 355-358.
- [11] Chen YG, Kowtoniuk WE, Agarwal I, et al. LC/MS analysis of cellular RNA reveals NAD-linked RNA [J]. *Nat Chem Biol*, 2009, 5 (12): 879-881.
- [12] Kowtoniuk WE, Shen YH, Heemstra JM, et al. A chemical screen for biological small molecule-RNA conjugates reveals CoA-linked RNA [J]. *PNAS*, 2009, 106 (19): 7768-7773.
- [13] Wang J, Alvin Chew BL, Lai Y, et al. Quantifying the RNA cap epitranscriptome reveals novel caps in cellular and viral RNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47 (20): e130.
- [14] Wang Y, Li S, Zhao Y, et al. NAD⁺-capped RNAs are widespread in the *Arabidopsis* transcriptome and can probably be translated [J]. *PNAS*, 2019, 116 (24): 12094-12102.
- [15] Cahová H, Winz ML, Höfer K, et al. NAD captureSeq indicates NAD as a bacterial cap for a subset of regulatory RNAs [J]. *Nature*, 2015, 519 (7543): 374-377.
- [16] Winz ML, Cahová H, Nübel G, et al. Capture and sequencing of NAD-capped RNA sequences with NAD captureSeq [J]. *Nat Protoc*, 2017, 12 (1): 122-149.
- [17] Harden A, Young W J. The alcoholic ferment of yeast-juice. Part II.—The coferment of yeast-juice [J]. *Proc R Soc Lond B*, 1906, 78 (526): 369-375.
- [18] Sultani G, Samsudeen AF, Osborne B, et al. NAD⁺: a key metabolic regulator with great therapeutic potential [J]. *J Neuroendocrinol*, 2017, 29 (10): e12508.
- [19] Grudzien-Nogalska E, Bird JG, et al. "NAD-capQ" detection and quantitation of NAD caps [J]. *RNA*, 2018, 24 (10): 1418-1425.
- [20] Houtkooper RH, Cantó C, Wanders RJ, et al. The secret life of NAD⁺: an old metabolite controlling new metabolic signaling pathways [J]. *Endocr Rev*, 2010, 31 (2): 194-223.
- [21] Xie N, Zhang L, Gao W, et al. NAD⁺ metabolism: pathophysiological mechanisms and therapeutic potential [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5: 227.
- [22] Frindert J, Zhang Y, Nübel G, et al. Identification, biosynthesis, and decapping of NAD-capped RNAs in *B. subtilis* [J]. *Cell Rep*, 2018, 24 (7): 1890-1901. e8.

- [23] Jiao XF, Doamekpor SK, Bird JG, et al. 5' end nicotinamide adenine dinucleotide cap in human cells promotes RNA decay through DXO-mediated deNADding [J] . Cell, 2017, 168 (6) : 1015-1027. e10.
- [24] Walters RW, Matheny T, Mizoue LS, et al. Identification of NAD⁺ capped mRNAs in *Saccharomyces cerevisiae* [J] . PNAS, 2017, 114 (3) : 480-485.
- [25] Grudzien-Nogalska E, Wu Y, Jiao X, et al. Structural and mechanistic basis of mammalian Nudt12 RNA deNADding [J] . Nat Chem Biol, 2019, 15 (6) : 575-582.
- [26] Hu H, Flynn N, Zhang HL, et al. SPAAC-NAD-seq, a sensitive and accurate method to profile NAD⁺-capped transcripts [J] . PNAS, 2021, 118 (13) : e2025595118.
- [27] Yu X, Willmann MR, Vandivier LE, et al. Messenger RNA 5' NAD⁺ capping is a dynamic regulatory epitranscriptome mark that is required for proper response to abscisic acid in *Arabidopsis* [J] . Dev Cell, 2021, 56 (1) : 125-140. e6.
- [28] Zhang HL, Zhong H, Wang XF, et al. Use of NAD tagSeq II to identify growth phase-dependent alterations in *E. coli* RNA NAD⁺ capping [J] . PNAS, 2021, 118 (14) : e2026183118.
- [29] Zhang H, et al. NAD tagSeq reveals that NAD⁺-capped RNAs are mostly produced from a large number of protein-coding genes in *Arabidopsis* [J] . PNAS, 2019, 116 (24) : 12072-12077.
- [30] Shao X, Zhang H, Yang Z, et al. NAD tagSeq for transcriptome-wide identification and characterization of NAD⁺-capped RNAs [J] . Nat Protoc, 2020, 15 (9) : 2813-2836.
- [31] Stark R, Grzelak M, Hadfield J. RNA sequencing : the teenage years [J] . Nat Rev Genet, 2019, 20 (11) : 631-656.
- [32] Kramer MC, Janssen KA, Palos K, et al. N⁶-methyladenosine and RNA secondary structure affect transcript stability and protein abundance during systemic salt stress in *Arabidopsis* [J] . Plant Direct, 2020, 4 (7) : e00239.
- [33] Kiledjian M. Eukaryotic RNA 5'-end NAD⁺ capping and DeNADding [J] . Trends Cell Biol, 2018, 28 (6) : 454-464.
- [34] Ghosh A, Lima CD. Enzymology of RNA cap synthesis [J] . Wiley Interdiscip Rev RNA, 2010, 1 (1) : 152-172.
- [35] Martinez-Rucobo FW, Kohler R, van de Waterbeemd M, et al. Molecular basis of transcription-coupled pre-mRNA capping [J] . Mol Cell, 2015, 58 (6) : 1079-1089.
- [36] Shuman S. Structure, mechanism, and evolution of the mRNA capping apparatus [M] //Progress in nucleic acid research and molecular biology. Amsterdam : Elsevier, 2000 : 1-40.
- [37] Shuman S. RNA capping : progress and prospects [J] . RNA, 2015, 21 (4) : 735-737.
- [38] Bird JG, Zhang Y, Tian Y, et al. The mechanism of RNA 5' capping with NAD⁺, NADH and desphospho-CoA [J] . Nature, 2016, 535 (7612) : 444-447.
- [39] Julius C, Yuzenkova Y. Bacterial RNA polymerase caps RNA with various cofactors and cell wall precursors [J] . Nucleic Acids Res, 2017, 45 (14) : 8282-8290.
- [40] Bird JG, Basu U, Kuster D, et al. Highly efficient 5' capping of mitochondrial RNA with NAD⁺ and NADH by yeast and human mitochondrial RNA polymerase [J] . eLife, 2018, 7 : e42179.
- [41] Vvedenskaya IO, Bird JG, Zhang Y, et al. CapZyme-seq comprehensively defines promoter-sequence determinants for RNA 5' capping with NAD [J] . Mol Cell, 2018, 70 (3) : 553-564. e9.
- [42] Dieci G, et al. Eukaryotic snoRNAs : a paradigm for gene expression flexibility [J] . Genomics, 2009, 94 (2) : 83-88.
- [43] Filipowicz W, Pogacić V. Biogenesis of small nucleolar ribonucleoproteins [J] . Curr Opin Cell Biol, 2002, 14 (3) : 319-327.
- [44] Kawaji H, Nakamura M, Takahashi Y, et al. Hidden layers of human small RNAs [J] . BMC Genomics, 2008, 9 : 157.
- [45] Jiao X, Chang JH, et al. A mammalian pre-mRNA 5' end capping quality control mechanism and an unexpected link of capping to pre-mRNA processing [J] . Mol Cell, 2013, 50 (1) : 104-115.
- [46] Bouvier M, Carpousis AJ. A tale of two mRNA degradation pathways mediated by RNase E [J] . Mol Microbiol, 2011, 82 (6) : 1305-1310.
- [47] Grudzien-Nogalska E, Kiledjian M. New insights into decapping enzymes and selective mRNA decay [J] . WIREs RNA, 2017, 8 (1) : e1379.
- [48] Sharma S, Grudzien-Nogalska E, Hamilton K, et al. Mammalian Nudix proteins cleave nucleotide metabolite caps on RNAs [J] . Nucleic Acids Res, 2020, 48 (12) : 6788-6798.
- [49] Abele F, Höfer K, Bernhard P, et al. A novel NAD-RNA decapping pathway discovered by synthetic light-up NAD-RNAs [J] . Biomolecules, 2020, 10 (4) : 513.