

酿酒酵母反义 snoRNA 一级结构的分析*

岳 强, 周 惠, 屈良鹤

(中山大学生物工程研究中心, 广东 广州 510275)

摘 要: 对酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 基因组中发现和鉴定的 41 个反义 snoRNA 进行一级结构的分析表明: 酿酒酵母 snoRNA 基因富含 AT; 41 个反义 snoRNA 全都具有 boxC' 和 boxD' 结构元素; 根据反义 snoRNA 保守结构元素及反义序列的数目和位置的特点, 将反义 snoRNA 分为 5 种结构类型, 认为 snoRNA 分子具有两个主要的功能区; 在 snR57、snR59、snR68、snR71 和 snR75 不具有指导甲基化反义序列的功能区中, 发现有一段长 10~12 个核苷酸的序列与 rRNA 互补, 为进一步研究反义 snoRNA 的结构与功能提供了重要线索。

关键词: 酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae*; 反义 snoRNA; 一级结构; 反义序列

中图分类号: Q752 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2001) 01-0068-05

随着许多真核生物基因组计划的进展, 以及计算机识别和鉴定基因技术的广泛运用, 大批新的 snoRNA 基因正源源不断地被报道。目前, 在各种真核生物中发现和鉴定的 snoRNA 基因总数已超过 300 个, 其中通过计算机识别方法发现的反义 snoRNA 基因就占有 2/3 以上^[1]。这些数据为深入开展 snoRNA 的研究奠定了基础。

阐明反义 snoRNA 结构与功能关系一直是 snoRNA 研究领域的重点内容之一。目前, 对反义 snoRNA 结构与功能关系的认识还较为单一, 除 U14 具有指导 rRNA 甲基化的同时, 还具有剪切 rRNA 前体的功能之外, 其余反义 snoRNA 均是通过反义序列与 rRNA 互补, 来指导 rRNA 中特定位置的核糖甲基化修饰。新近发现 snRNA 的甲基化修饰也是由反义 snoRNA 参与完成的^[2], 使反义 snoRNA 的作用对象由 rRNA 拓展到 snRNA。由于反义 snoRNA 具有结构的多样性^[3], 结构的多样性是否意味着功能的多样性, 则有待于对更多反义 snoRNA 结构的研究。

迄今为止, 酿酒酵母是发现反义 snoRNA 最为完全的真核生物, 即在 rRNA 的 55 个甲基化修饰位点中, 已发现指导其中 52 个甲基化位点中的 41 个反义 snoRNA^[4]。对酿酒酵母反义 snoRNA 一级结构的深入研究, 不仅有助于进一步了解反义 snoRNA 的结构特征, 而且也能阐明反义 snoRNA 结构与功能的关系提供有益的线索。本文在分析酿酒酵母反义 snoRNA 一级结构的基础

上, 对反义 snoRNA 一级结构的特征以及反义 snoRNA 结构与功能的关系进行了探讨。

1 数据和方法

1.1 数据搜集

从 Genbank 中调出酿酒酵母 41 个反义 snoRNA、20 个 boxH/ACA snoRNA 和 rRNA 基因的序列, 用于 snoRNA 基因的 AT 百分含量及一级结构的分析。

1.2 计算机分析

运用自编的计算机程序, 对酿酒酵母反义 snoRNA 基因序列进行搜索, 寻找与 rRNA 互补对序列。选取能与 rRNA 形成 Watson-Crick 配对, 长度在 10 个核苷酸以上的序列。

2 结果与讨论

2.1 酿酒酵母 snoRNA 基因的 AT 含量

41 个酿酒酵母反义 snoRNA 基因的 AT 百分含量全部都在 52% 以上, 最高为 77%, 平均可达 66%。20 个酿酒酵母 boxH/ACA snoRNA 基因的 AT 百分含量也都在 53% 以上, 平均为 62%。表明酿酒酵母 snoRNA 基因富含 AT。

酿酒酵母一共有 16 条染色体。41 个反义 snoRNA 和 20 个 boxH/ACA snoRNA 基因散布在这些染色体上。对酿酒酵母基因组 AT 百分含量的统计表明, 该种酵母每条染色体 AT 的百分含量都较高, 且均匀, 几乎都为 62%。看来酿酒酵

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39970171); 广东省自然科学基金资助项目 (990242)

收稿日期: 2000-09-04; 作者简介: 岳强 (1968-), 男, 硕士, 讲师; 通讯联系人: 屈良鹤。

母中的 snoRNA 基因富含 AT 可能与此有关。

2.2 酿酒酵母反义 snoRNA 一级结构的特征

对酿酒酵母 41 个反义 snoRNA 序列进行比较

分析发现, 这些 snoRNA 全部都具有 boxC' 和 boxD' 结构元素 (表 1)。

表 1 酿酒酵母结构元素之间的距离及反义序列和重复序列的长度¹⁾

Tab.1 Distance between structural elements, and length of antisense and repeat sequences

类型	snoRNA	总长度	长度/nt				BocC' - boxD'	内部反向重复序列
			boxC 至 boxD'		boxC' 至 boxD			
			正常序列	反义序列	正常序列	反义序列		
1	U18 ^[5]	102	23	15	27	-	25	5'TGGG 3' 3'GCCC 5'
	SnR13	123	17	10	30	-	33	5'GTTGCTG - TTTGG 3' 3'CAATGACTAAACC 5'
	SnR38 ^[5]	95	30	13	44	-	5	-
	SnR48	113	37	17	46	-	2	-
	SnR53	91	18	11	52	-	24	5'GTGTTCTGA 3' 3'CATAAGT 5'
	SnR54	86	30	13	25	-	3	-
	SnR55(Z10)	98	16	12	43	-	21	5'ATTCC 3' 3'TAAGG 5'
	SnR56	86	25	11	21	-	14	5'AACIT 3' 3'TTGAA 5'
	SnR58(Z12)	96	31	13	18	-	20	5'AGGAG 3' 3'TCCTC 5'
	SnR61(Z11)	90	25	11	25	-	12	-
	SnR62	100	29	14	26	-	18	5'ATTA 3' 3'TGAT 5'
	SnR64	101	18	11	48	-	8	-
	SnR65	100	32	11	25	-	16	5'AAAG 3' 3'TTTC 5'
	SnR66(Z16)	113	25	12	16	-	16	5'GTTTC 3' 3'CAAAG 5'
	SnR68	136	25	12			26	5'GGGCTCT 3' 3'TCTGACA 5'
	SnR69	101	38	18	28	-	8	-
	SnR70	164	16	9	15	-	106	/
	SnR71	89	16	9	30	-	16	5'GATC 3' 3'TTAG 5'
	SnR73(Z3) ^[6]	103	22	12	26	-	27	5'TCGA 3' 3'AGCT 5'
	SnR74(Z4) ^[6]	80	30	13	20	-	3	-
	SnR75(Z5) ^[6]	85	20	11	31	-	7	-
	SnR76(Z6) ^[6]	101	16	13	30	-	28	5'GAAA 3' 3'CTTT 5'
	SnR77(Z7) ^[6]	84	31	14	17	-	9	-
	SnR78(Z8) ^[6]	82	29	12	18	-	8	-
2	SnR39 ^[5]	89	36	-	23	13	3	-
	SnR39b	96	26	-	27	13	15	5'GCAA 3' 3'CGTT 5'
	SnR50(Z14)	90	29	-	20	12	13	-
	SnR57	88	23	-	18	15	20	5'ATATG 3' 3'TATAC 5'
	SnR59	78	27	-	21	14	3	-
	SnR63	255	31	-	32	10	165	/
	SnR72(Z2) ^[6]	98	24	-	31	15	9	-
	SnR79(Z9)	84	33	-	22	13	3	-

(转下页)

(接上页)

类型	snoRNA	长度/nt						内部反向重复序列
		总长度	boxC 至 boxD'		boxC' 至 boxD		BocC' - boxD'	
			正常序列	反义序列	正常序列	反义序列		
3	U24 ^[7]	87	19	12	25	14	16	5'GGAAGT 3' 3'CCITGA 5'
	SnR40 ^[5]	97	20	11	46	12	31	5'GGATGCC 3' 3'CCTGTGG 5'
	SnR41 ^[5]	110	31	11	30	20	17	5'TAGT 3' 3'ATCA 5'
	SnR47	99	34	11	13	12	9	-
	SnR51	107	16	14	32	16	32	5'ATTGGTCTTT 3' 3'TAATCGGGGA 5'
	SnR52(Z13)	115	22	10	23	13	20	5'AAAATC 3' 3'TTTTAG 5'
	SnR60(Z11)	104	22	10	30	19	18	5'TTGA 3' 3'AGCT 5'
	SnR67	82	18	11	24	11	13	-
4	U14	123	31	13	53	13	27	5'ACGA 3' 3'TGCT 5'

1) - 表示无反义序列; / 表示序列太长, 在此不列出反向重复序列

boxC' 和 boxD' 与正常的 boxC 和 boxD 最多有两个核苷酸的差异. boxC' 和 boxD' 之间的距离最短为两个核苷酸. 当两结构元素之间的距离在 13 个核苷酸以上, 则其间就会具有一段长 4 个核苷酸以上长的内部反向重复序列 (表 1). 与脊椎动物中的反义 snoRNA 基因分析结果相比较^[5], 发现只有人 U81 和 Z15 仅含有一个 boxC 和 boxD 结构元素. 酿酒酵母 41 个反义 snoRNA 中有 9 个具有两个指导 rRNA 甲基化的反义序列, 另外 32 个只含有一个指导 rRNA 甲基化反义序列. 因此, 根据反义 snoRNA 保守结构元素及反义序列的数目和位置的特点, 我们将 boxC/D 反义 snoRNA 分为 5 种结构类型 (图 1). 这些结构类型充分表明反义 snoRNA 在结构上的多样性. 同时也表明具有一个 boxC 和 boxD 结构元素的 snoRNA 是反义 snoRNA 最简单的结构类型; 含有 boxC' 和 boxD' 的反义 snoRNA 似乎是由两个具有单个 boxC 和 boxD 结构元素的 snoRNA 组合而成, 这从另一个侧面暗示 snoRNA 基因有重组的可能性. 我们先前报道的酿酒酵母 Z15 与粟酒裂殖酵母 Z15 在结构上的差异, 可能是由于反义 snoRNA 基因在进化过程中发生重组的结果^[8], 则支持了上述推测.

U24 是一个具有两个反义序列的 snoRNA. 用 U24 含有 boxD' 和 boxC' 以及 boxD' 的上游序列构建的微型 snoRNA 基因, 其表达产物在酿酒酵母中同样可以指导 rRNA 特定位点的甲基化修饰^[5], 暗示 boxC 至 boxD' 的序列与 boxC' 至 boxD

的序列在执行甲基化修饰功能时, 彼此似乎不相互影响, 两段序列在功能上相对独立. 因此, 我们认为 boxD' 和 boxC' 的存在, 可以将整个 snoRNA 分子分为 A 和 B 两个主要的功能区, 分别由 boxC 至 boxD' 和 boxC' 至 boxD 的序列组成 (图 1).

2.3 在 snR57 等 5 个 snoRNA 中发现新的与 rRNA 互补的序列

酿酒酵母有 32 个 snoRNA 只含有一个指导 rRNA 甲基化的反义序列, 这些 snoRNA 不含有指导甲基化反义序列的区域长达 30 多个核苷酸, 是否存在其他功能元素, 目前尚未有系统的研究. 我们专门编制了一个计算机搜索程序, 对这 32 个 snoRNA 的序列进行分析. 在 snR57、snR59、snR68、snR71 和 snR75 不含有指导甲基化反义序列的功能区中, 发现有一段长度为 10 ~ 12 个核苷酸的序列与酿酒酵母 rRNA 完全互补. 这些序列与 rRNA 互补的区域都位于 25S rRNA 的保守区内, 并且这些序列 3' 端最后一个核苷酸与 boxD'/D 的距离, 要比指导甲基化的反义序列与 boxD'/D 的距离要远, 即超出了反义序列指导甲基化所允许的与 boxD'/D 的距离范围之外 (一般在 3 个核苷酸以内), 表明这些序列并不指导 rRNA 核糖的甲基化修饰 (图 2). 这一发现表明, 在 snoRNA 不含有指导甲基化反义序列的功能区中, 存在一些其他的功能元素.

U14 是迄今为止唯一已知的具有多功能的反义 snoRNA. 虽然 U14 的两个功能区也具有两个与 rRNA 互补的序列, 但只有其中之一的 domain

B 具有指导甲基化的功能, domain A 却不指导核糖的甲基化, 而是参与 rRNA 前体的加工剪切^[9]. snR57、snR59、snR68、snR71 和 snR75 中

除了具有一段指导甲基化的反义序列之外, 还在另外一个功能区中包含一段与 rRNA 互补但并不指导甲基化的序列, 使得这 5 个 snoRNA 在结构

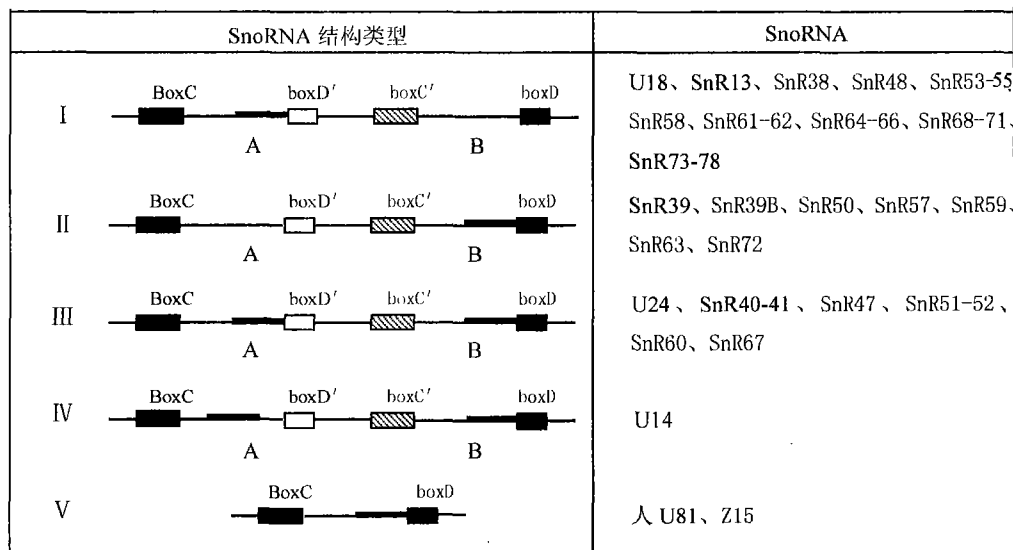


图 1 反义 snoRNA 5 种不同的结构类型

Fig.1 The different types of antisense snoRNA structure

A 和 B 分别表示 snoRNA 分子的两个功能区

snR57: 长 88nt

AAGCGTGATT ATAAAAAATG ATTTAAATAT TTTTCTGAGG AAGTATATGC AGGACATATT GTGAATTAGG AATTCTTCGT TTATGATC
25S rRNA(3289-3298) 18S rRNA

snR59: 长 78nt

CTTAATGATG AAAACATTC CTTATTCTCG ACTAGTCTTT GACAATGCTG TCGTTTAATC ACCATCTTTC GGCCTGACT
25S rRNA(1807-1818) 25S rRNA

snR68: 长 136nt

TATCATGATG AGCATTTATT TTACTGCGTT ATCGTATTGA CGGGGGCTGT TTAAGTACAG TCTGTTTTAT AATCTATATT
25S rRNA
CATTTATATT TTATATTTCT TACCGAGGAA ATTGACTCTT AACAGATTTG CTGAAA
25S rRNA(524-533)

snR71: 长 90nt

GTTATATGAT GATAACCTTC TCAGCTCACT CAGATCTTTT GATATGATTG ATAAAAATTT CCTATCCAAC ATTCATCAAT TTATCTGACC
25S rRNA 25S rRNA(2985-2995)

snR75(Z5): 长 89nt

TTATGATGAG ATATTTATAG ATGACGAGTC TGATCATTCG TGAAGACACA ACTATTAAA TTACCATTC A GCCTTCTCG AAGCTGTTT
25S rRNA 25S rRNA(2306-2315)

U14: 长 126nt

ATCACGGTGA TGAAAGACTG GTTCCTTAAC ATTCGCAGTT TCCACGGTAG GAGTACGCTT ACGAACCCAT CGTTAGTACT CTCGGTGACC
Domain A 18S rRNA
GCTCTTCTTT AGACCTTCC TAGGATGCTCG AGTGAT
Domain B 18S rRNA

图 2 SnR57 等 5 个反义 snoRNA 及其与 rRNA 互补的序列

Fig.2 Five snoRNAs and their sequence complementarities to rRNA

阴影部分表示 boxC/C' 和 boxD/D' 结构元素; 实下划线表示指导甲基化的反义序列; 虚下划线表示能与 rRNA 互补, 但不指导甲基化的序列. 括号中的数字表示该序列与 rRNA 互补的位置.

上与 U14 类似. 至于上述 5 个 snoRNA 中与 rRNA 互补的序列是否也像 U14 的 domain A 一样参与 rRNA 的加工, 或是具有其他未知的功能, 则有待进一步的研究.

参考文献:

- [1] 周惠, 屈良鹄. 一种从基因数据库中识别反义 snoRNA 基因的新方法[J]. 中山大学学报(自然科学版), 1999, 38(1): 25-29.
- [2] TYCOWSKI T K, YOU Z H, GRAHAM P J, et al. Modification of U6 splicesomal RNA is guided by other small RNAs[J]. Cell, 1998, 2: 629-638.
- [3] 屈良鹄. SnoRNA 基因组织的多样性[A]. 见: 第三届生命科学青年学者学术研讨会[C]. 西安: 第四军医大学出版社, 1998. 8.
- [4] LOWE T M, EDDY S R. A computational screen for methylation guide snoRNAs in yeast[J]. Science, 1999, 283: 1168-1170.
- [5] KISS-LASZLO Z, HENRY Y, KISS T. Sequence and structural elements of methylation guide snoRNAs essential for site-specific ribose methylation of pre-rRNA[J]. EMBO J, 1998, 17(3): 797-807.
- [6] QU L H, HENRAS A, LU Y J, et al. Seven novel methylation guide small nucleolar RNAs are processed from a common polycistronic transcript by Rat1p and RNase III in yeast[J]. Mol Cell Biol, 1999, 19: 1144-1158.
- [7] QU L H, HENRY Y, NICOLOSO M, et al. U24, a novel intron-encoded small nucleolar RNA with two 12nt long, phylogenetically conserved complementarities to 28S rRNA[J]. Nucleic Acids Res, 1995, 23: 2669-2676.
- [8] 周惠, 岳强, 杜延平, 等. 粟酒裂殖酵母 Z15 snoRNA 的鉴定及结构与功能分析. 中山大学学报(自然科学版), 2000, 39(2): 56-61.
- [9] LIANG W Q, FOURNIER M J. U14 base-pairs with 18S rRNA: a novel snoRNA interaction required for rRNA processing[J]. Genes & Dev, 1995, 9: 2433-2443.

Primary Structural Analysis of *Saccharomyces cerevisiae* Antisense snoRNAs

YUE Qiang, ZHOU Hui, QU Liang-hu

(Biotechnology Research Center, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The primary structure of the 41 antisense snoRNAs from *Saccharomyces cerevisiae* were analyzed. The results show that *S. cerevisiae* snoRNAs are AT-rich. The 41 antisense snoRNAs all possess the structure elements of boxC' and boxD' and they can be divided into five group according to the conserved structural element and the number or position of antisense sequence, suggesting two major functional regions within the snoRNA genes. Another 10~12 nucleotide sequence, which is complementary to rRNA, was found in snR57, snR59, snR68, snR71 and snR75 respectively, these sequences are supposed to have unknown function instead of guiding rRNA methylation. The findings would be helpful to elucidate the relationship between structure and function of antisense snoRNA.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*; antisense snoRNA; primary structure; antisense sequence