

文章编号: 0529-6579 (1999) 01-0089-92

酵母 snoRNA 基因簇启动子的比较分析^{*}

周 惠, 屈良鹄

(中山大学生物工程研究中心, 广州 510275)

摘 要: 报道对酿酒酵母 snoRNA 基因簇启动子序列的研究结果. 通过计算机分析, 发现酿酒酵母中 Z2-Z8 和 SnR190-U14 snoRNA 基因簇有相似的启动子结构. 这两个 snoRNA 基因簇都是由一个上游的启动子负责整个基因簇的转录, 产生多个顺反子 snoRNA 的前体, 然后再加工成熟为各个独立的 snoRNA. 在启动子保守序列 TATA box 的上游还发现 2 个 RAP1 序列, 表明 snoRNA 基因簇的表达可以通过 RAP1 元素与核糖体蛋白基因的表达协同调控. 这是在 snoRNA 基因的启动子中首次发现 RAP1 调控元素. 对 snoRNA 基因簇的进化特点也进行了讨论.

关键词: snoRNA 基因簇, 启动子, RAP1, 酿酒酵母

分类号: Q 754 **文献标识码:** A

近几年来, 从高等动物到单细胞酵母都发现了许多新的 snoRNA 基因, 它们在核糖体生物合成中起重要的调控作用^[1]. snoRNA 基因组织具有非常丰富的多样性, 即在不同生物中, 虽然存在许多功能相同的 snoRNA, 但是它们的基因组织却完全不同^[2]. 例如在哺乳动物中, 大部分 snoRNA 都是由蛋白基因的内含子编码; 而在酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中却发现了大量的独立转录的 snoRNA. 最近, 还在酿酒酵母中发现了由 7 个 snoRNA 基因组成的 Z2-Z8 基因簇. 可认为同一种 snoRNA 具有不同的生物合成过程, 而且也提出了 snoRNA 基因的表达如何与核糖体生物合成中其它基因的表达协同调控的问题. 本文通过分析酿酒酵母 Z2-Z8 基因簇的启动子区序列, 发现在酵母 snoRNA 基因簇中存在着核糖体蛋白基因的 RAP1 调控元素, 并对这一结果进行了讨论.

1 材料与方法

(1) SnoRNA 基因序列: Z2-Z8 snoRNA 基因簇序列为本实验室提供, 其它序列数据均从 Genbank 获得.

(2) 序列的比较和启动子元素分析以 PCgene 6.0 软件包进行.

2 结果与讨论

2.1 酵母 snoRNA 基因簇启动子区序列比较分析

对 Z2-Z8 基因簇进行计算机分析, 寻找和确定基因簇中 7 个 snoRNA 基因的转录元素, 结果表明: Z2-Z8 基因簇的各个基因间隔区序列长度在 81 ~ 141 个核苷酸之间, 没有发现

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目 (39730300)

收稿日期: 1998-05-10 第一作者简介: 周惠, 女, 45 岁, 讲师

任何保守的 UsnRNA 保守序列。然而, 一个典型的 TATA box 序列 TATAAATAAGAGAC 被发现位于 Z2-Z8 基因簇第一个 snoRNA 基因上游 247 位 (图 1a), 在该 TATA box 的上游 60 ~ 120 个核苷酸处还同时发现了 2 个 RAP1 序列, 分别命名为 RAP1-1 和 RAP1-2, 在 RAP1 元素与 TATA box 之间, 有一段 AT 丰富的序列。RAP1 是已知的酵母基因启动子的调控序列, 广泛存在于酵母核糖体基因的启动子中 (图 1c)。

酿酒酵母中还存在由 SnR190 和 U14 组成的另 1 个 snoRNA 基因簇^[3], 由于过去曾认为该基因簇可能是由内含子编码的, 所以其启动子区序列尚未被深入研究. 对该基因簇进行了计算机分析, 十分有趣的是, 虽然 Z2-Z8 与 SnR190-U142 个基因簇的序列和编码的 snoRNA 完全不同, 但在启动子结构上却有惊人的相似之处. ① 在 SnR190-U14 基因簇中, 基因间隔区仅 67 个核苷酸, 计算机分析指出不存在任何启动子元素. ② 在 SnR190 基因上游 227 位发现了 1 个典型的 TATA box 序列 (图 1b) TATAAATACTGGAC, 更有趣的是在该 TATA box 上游 100-190 个核苷酸处也发现了 2 个 RAP1 元素, 它们与 TATA box 之间也有 1 段 AT 丰富序列.

(a) Z2-Z8 snoRNA 基因簇

RAP1-1				
tg cctga aaa	cc caacc att	g cggac agcc	ct caataa cg	t atcttag ca
RAP1-2				
tt acc cg cac	a ccataa cat	ct agaa cttt	ttt c attt ct	g aaa attttt
tttt cttt cta	g gattac tt c	g g g <u>tataaa</u> t	a ag agac g ca	g aa atgg tta
TATA box				
tt gg caatta	a tgc ttct c	t cttta ataa	g ttac aatat	tagaatccTA ₊₁
TG ATTTC CAT		(160 nt).....	Z8snoRNA	

(b) snR190-U14 基因簇

RAPI-1
 gaatacccta taacttgagc tattcaatgc tcatcgataa aatttttcat
 RAPI-2
 ttctttaatt tcatgtttga gaaaaaaagt ttgcacaac ccaataacca
 cacgctgccc taagaaaaaa cttcttcagg ctgaaaagaa aatttttttt
 cattttctag agctttatgg gcagaaacaa aatgtatataa tactggacaa
 TATA box
 ccttctgtaa tctcgacatt cggttaataa gaattccct acataagaac
 °°°°(55 nt)°°° cagCATTGCA °°°°(86 nt)°°° snR190
 +1

(c) 酵母核糖体蛋白基因

*** A/GA/CACCCANN/CAT/CT/C ***AT rich*** TATAAA ***N***

图 1 酵母 snoRNA 基因簇启动子区序列比较分析

Fig 1 Comparative analysis of promoter region of yeast snoRNA gene cluster; +1 indicates the first nucleotide of transcription

以上分析的结果表明, Z2-Z8 基因簇与 SnR190-U14 基因簇都是由 1 个启动子负责整个

基因簇的转录; 该启动子具有与核糖体蛋白基因启动子十分相似的结构元素.

2.2 snoRNA 基因与核糖体蛋白基因协同表达调控

RAP1 是核糖体蛋白基因启动子中重要的调控元素, 并广泛存在于许多与酵母生长繁殖相关的基因中^[4]. RAP1 元素受 C 源调控, 它能使所控基因的 mRNA 水平在可发酵 C 源存在时大大提高, 从而协调细胞生长速度加快时的各种核糖体蛋白基因的表达.

目前在酵母中已发现 U24, SnR39 等 5 个内含子编码的 snoRNA, 它们的宿主基因分别为核糖体蛋白基因 (如 YL8) 或与细胞生长紧密相关的 G 蛋白基因和转录起始因子基因. 显然, 这些内含子 snoRNA 的表达与它们宿主基因表达相协调. 但是独立转录的 snoRNA 基因表达如何与核糖体生物合成相协调, 目前尚不清楚. 我们发现在 2 个 snoRNA 基因簇中也存在 RAP1 元素, 表明这些 snoRNA 表达可以通过 RAP1 元素与核糖体蛋白基因的表达协同调控. 迄今为止, 这是在 snoRNA 基因启动子中首次发现的 RAP1 调控元素.

2.3 snoRNA 基因簇的进化

从计算机分析结果可以推测 Z2-Z8 基因簇的转录是由第一个 snoRNA 基因上游启动子启动, 并转录出一个多顺反子的 snoRNA 前体, 然后再进一步加工成熟为各个独立的 snoRNA. 最近已有实验的结果证明了这一点 (待发表). 这一转录方式与原核生物中蛋白质基因的操纵子结构有一定的相似之处, 在真核生物中却是十分罕见的. 这基因组织和结构也许有非常古老的起源. 由于单细胞酵母具有许多高等生物不同的特点 (如基因组仅为 1.2×10^7 碱基对, 大部分基因都是单拷贝的), 需要较为简单又高效的表达调控方式, 因此保存了这一特殊的基因簇组织. 在人类等高等生物中没有发现 snoRNA 基因簇, 但是在一些高效表达的看家基因 (如许多核糖体蛋白基因) 的内含子中都存在多个 snoRNA 编码区. 一个宿主基因的转录可以导致数个 snoRNA 的表达^[5]. UHG 是人类等哺乳动物中一种特殊的 snoRNA 宿主基因^[6]. 该基因的外显子并不具有重要的功能, 而内含子却编码细胞生长必需的 U22 以及另外 7 个反义 snoRNA. 由此可见, 在不同生物中 snoRNA 基因的进化各具特点, 这些发现为进一步研究真核生物基因的起源和进化提供了有用的线索.

参考文献:

- [1] 屈良鹄. 核仁小分子 RNA. 生物工程进展, 1996, 16 (5): 21~26
- [2] MAXWELL E S, FOURNIER M J. The small nucleolar RNAs. Ann Rev Biochem, 1995, 35: 897~934
- [3] BALAKIN A G, LEMPICKI R A, HUANG G M, et al. *Saccharomyces cerevisiae* U14 small nucleolar RNA has little secondary structure and appears to be produced by post-transcriptional processing. J Biol Chem, 1995, 269: 739~746
- [4] KLEIN C, STRUHLK. Protein kinase A mediates growth-regulated expression of yeast ribosomal protein genes by modulating RAP1 transcriptional activity. Mol Cell Biol, 1994, 14: 1920~1928
- [5] NICLOISO M, QU L H, MICHOT B, et al. Intron-encoded, antisense small nucleolar RNAs: the characterization of nine novel species points to their direct role as guides for the 2'-O-ribose methylation of rRNAs. J Mol Biol, 1996, 260: 178~195
- [6] TYCOWSKI K T, SHUM D, STEITZ J A. A mammalian gene with introns instead of exons generating stable RNA products. Nature, 1996, 379: 4614

Comparative Analysis of Yeast snoRNA Gene Cluster Promoter

ZHOU Hui^{*}, QU Lianghu

Abstract: *Saccharomyces cerevisiae* snoRNA gene organization has shown some distinguished features from its homologue in vertebrates. By computer analysis, we have characterized the promoter elements of the Z2-Z8 snoRNA gene cluster. Only one upstream promoter was found to be responsible for the transcription of all snoRNA genes in the cluster, resulting in a polycistronic RNA precursor followed by processing to produce each individual snoRNA. The same is true for another snoRNA gene cluster containing snR190 and U14. More interestingly, two RAP1 sequences, located upstream from the TATA box of the promoter were identified for both of the two snoRNA clusters, indicating a close coordination of transcriptional regulation between the snoRNA gene cluster and ribosomal protein gene in the course of ribosome biogenesis. This is the first report for the RAP1 element in snoRNA gene. The evolutionary significance of snoRNA gene cluster was also discussed.

Keywords: snoRNA gene cluster, promoter, RAP1, *Saccharomyces cerevisiae*

^{*} Biotechnology Research Center, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China