
研究揭示翻译调控型T-box核糖开关折叠与识别tRNA耦联的结构与动态机制

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/25019.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

T-box核糖开关是一类位于革兰氏阳性细菌mRNA的5'非翻译区的结构元件。它的长度通常在300核苷酸以下，可分为适配体结构域和表达平台结构域。T-box核糖开关通过其适配体结构域识别和结合特定的tRNA，并感知其3'末端的氨酰化状态，引发下游RNA元件构象状态的转变，进而在翻译水平或转录水平调控下游基因的表达。与其他核糖开关一般通过识别小分子代谢物或离子调控基因表达的机制不同，T-box基因表达调控的功能主要通过两个高度结构化的RNA（T-box核糖开关和tRNA）之间的相互作用实现。近年来，多种T-box核糖开关与tRNA复合物的三维结构已被解析，但分子内的和分子间的RNA-RNA相互作用如何促进T-box核糖开关的折叠和结构转变进而形成特定构象状态以发挥生理功能的机制，仍不清楚。

11月15日，中国科学院生物物理研究所方显杨研究组与清华大学生命科学学院陈春来研究组合作，在《自然-通讯》（Nature Communications）上，在线发表了题为Structural and dynamic mechanisms for coupled folding and tRNA recognition of a translational T-box riboswitch

的研究论文。该研究通过整合应用小角X射线散射（SAXS）技术、单分子荧光共振能量转移（smFRET）技术及分子动力学模拟，探究了来自皮疽诺卡氏菌（*Nocardia farcinica*）的ileS T-box核糖开关适配体结构域（包含stem I、stem II和stem IIA/B茎环元件）在溶液中的折叠与构象动态，构建了由镁离子及tRNA介导的T-box核糖开关适配体结构域的折叠自由能面，为探究RNA-RNA相互作用对RNA折叠与识别的重要影响以及发展和理性设计靶向RNA的新型抗生素药物提供了理论依据。

为实现对T-box核糖开关适配体结构域的高密度荧光探针标记（dense labeling），进而利用smFRET技术研究其构象动态，方显杨研究组发展了基于非天然碱基系统（NaM-TPT3）的长链RNA位点特异性荧光探针正交标记技术（图1）。该技术通过重叠延伸PCR及体外转录向RNA的特定位点引入化学修饰的非天然碱基，通过点击化学以及NHS酯基与氨基的化学反应将荧光探针与非天然碱基相耦联，从而实现对RNA的位点特异性标记。该方法突破了传统RNA位点特异性标记技术（如化学合成等）在标记长度、标记效率以及对结构的干扰等方面的局限性，将推动和拓展smFRET技术在研究长链RNA构象动态以及解析三维溶液结构模型中的应用。

科研人员采用基于非天然碱基系统的位点特异性正交荧光标记策略，在T-box核糖开关适配体结构域上选择七对标记位点，构建了一个密集的标志网络，得以全面探究tRNA及镁离子诱导的T-box核糖开关适配体的构象动态。研究发现，镁离子可以稳定stem IIA/B假结结构，使其与stem II结构域共轴堆积，进而诱导stem I与stem II结构域的预对接，使T-

box折叠为可以结合tRNA的活性构象，而tRNA的结合则进一步诱导了stem I与stem II结构域的对接。此外，研究利用SAXS技术，结合分子动力学模拟，建立了T-box核糖开关不同长度的转录中间产物在不同镁离子条件下的溶液结构模型，并结合突变实验，进一步证实了stem IIA/B假结结构以及S-turn结构基序在T-box识别tRNA过程中的重要作用。

综合上述实验结果，该研究提出了镁离子及tRNA介导的T-box核糖开关适配体的共转录折叠模型（图2），揭示了在转录过程中T-box核糖开关各个结构元件相互协同调控促进其折叠，以最终保证其能高效、快速识别tRNA的分子机制。总的来说，该工作揭示了镁离子以及分子内或分子间的RNA-RNA相互作用之间的微妙平衡在调控T-box核糖开关折叠和功能中的作用。

研究工作得到国家自然科学基金、北京市生物结构前沿研究中心、中国科学院战略性先导科技专项、中国博士后科学基金和清华大学水木学者计划的支持。

[论文链接](#)

图1. 基于非天然碱基系统的RNA位点特异性荧光标记技术

研究团队单位：生物物理研究所

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](http://www.iikx.com)转发