

· 热点评 ·

RNA 解旋酶调控rRNA内稳态: 水稻耐热 新机制、分子育种新资源

胡时开^{1,2}, 钱前^{1,2*}

¹中国水稻研究所, 水稻生物学国家重点实验室, 杭州 310006; ²中国农业科学院深圳农业基因组研究所, 深圳 518120

摘要 高温热害是影响水稻(*Oryza sativa*)产量形成的重要限制因子。DEAD-box RNA解旋酶在核糖体RNA前体加工及植物抗逆中扮演着重要角色。最近, 中国科学家在DEAD-box RNA解旋酶调控水稻耐热性分子机理研究方面取得了突破性进展。

关键词 DEAD-box RNA解旋酶, 内稳态, 核糖体RNA (rRNA), 水稻, 耐热性

胡时开, 钱前 (2016). RNA解旋酶调控rRNA内稳态: 水稻耐热新机制、分子育种新资源. 植物学报 51, 283–286.

温度是影响植物生长发育的重要环境因素, 全球变暖导致的温度上升对农作物产量形成造成了显著负面影响(Challinor et al., 2014; Ray et al., 2015)。为了适应种植区域的环境温度以及由天气变化、季节变化和昼夜周期引起的温度波动, 植物(作物)进化出了一些内在的耐受策略来适应外界环境的高温和低温条件(Wahid et al., 2007)。例如, 热休克蛋白的保护、膜脂饱和现象及活性氧的清除等均与植物的耐热性有关(McClung and Davis, 2010; Mittler et al., 2012; Bita and Gerats, 2013)。最新研究显示, 蛋白酶体 α 2亚基Thermo-tolerance 1 (TT1)和类受体蛋白激酶ERECTA都能提高水稻(*Oryza sativa*)的耐热性(Li et al., 2015; Shen et al., 2015), 而COLD1通过调节G蛋白信号转导途径调控水稻的耐寒性(Ma et al., 2015)。尽管如此, 水稻适应温度变化的分子机制仍有很多不清楚的地方, 尤其是近年来, 水稻遭遇高温热害的情况频繁发生, 致使水稻大面积减产甚至绝收, 对水稻生产及粮食安全造成了严重威胁。因此, 研究水稻耐高温的机理、发掘水稻的耐高温基因资源, 进而培育耐高温新品种对水稻生产具有重要的现实意义。

核糖体RNA (rRNA)的内稳态对于生物体正常生长和发育至关重要, 对核糖体RNA前体(pre-rRNA)的正常加工是维持rRNA内稳态的关键, 而核糖体小亚基(small subunit, SSU)在pre-rRNA加工中必不可少

(Venema and Tollervey, 1995)。酵母中至少有7个RNA解旋酶与SSU有关, 且RNA解旋酶Rrp3在对细胞增殖所需的pre-rRNA加工过程中起重要作用(Dragon et al., 2002; Granneman et al., 2006)。RNA解旋酶广泛参与各种细胞过程, 如转录、RNA剪接、RNA转运与降解以及翻译。已有研究表明, RNA解旋酶参与细菌和酵母的冷胁迫反应(Owtrim, 2006, 2013; Cordin et al., 2006)。冷胁迫能影响rRNA的内稳态, 而RNA解旋酶通过水解ATP可对结合位点附近的短RNA双链进行解旋, 介导RNA的构象变化来保护rRNA的内稳态(Owtrim, 2006; Chen et al., 2008; Pyle, 2008)。相对于其它生物, 高等植物具有更大且更多样化的RNA解旋酶家族(Linder and Owtrim, 2009)。例如, 水稻基因组至少编码73个RNA解旋酶(Kim et al., 2008), 这表明RNA解旋酶在调节细胞应对各种各样的非生物胁迫中扮演着重要角色(Umate et al., 2010; Kang et al., 2012)。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) DEAD-box RNA解旋酶LOS4通过促进mRNA从细胞核运输到细胞质中来调节植物的抗寒性(Gong et al., 2002; Gong et al., 2005); 这个家族的另一个成员AtRH25通过一种未知的机制调节植物的耐冷性(Kim et al., 2008); 其它一些DEAD-box RNA解旋酶家族成员则在植物的耐盐中起作用(Amin et al., 2012; Macovei and Tuteja, 2012; Tuteja et al., 2013)。然而, 关于RNA解旋酶在

收稿日期: 2016-04-04; 接受日期: 2016-04-26

* 通讯作者。E-mail: qianqian188@hotmail.com

植物耐高温和抗热性中的作用却报道很少。

最近,中国科学院遗传与发育生物学研究所薛勇彪研究与程祝宽研究组合作揭示了DEAD-box RNA解旋酶调控水稻植株的耐热机制(Wang et al., 2016)。薛勇彪等通过遗传筛选,从籼稻品种中籼3037中获得了1个自然突变的隐性热敏感矮化突变体*thermotolerant growth required1-1 (togr1-1)*。该突变体在3个环境温度条件不同的稻区种植表现出显著的表型差异。在扬州的夏季和秋季种植(日最高温度达38°C,有23天的日最高温度超过34°C(水稻热胁迫的临界温度),71天的日最高温度超过30°C),*togr1-1*表现出极端矮化、窄叶和不结实。在北京的夏季和秋季种植(日最高温度可达36°C,有23天的日最高温度超过34°C,72天的日最高温度超过30°C),*togr1-1*在9月之前表现出矮化和窄叶,9月后温度开始降低,*togr1-1*能逐渐恢复到半矮秆的表型,最后产生小的稻穗并收获少量的种子。在海南陵水的冬季和春季种植(营养生长阶段日最高温度一般低于28°C),*togr1-1*与野生型的表型仅有轻微差异。为进一步确认*togr1-1*表型的变化对温度的依赖性,研究人员检测了在人工控温条件下生长3周后突变体幼苗的状态。在30°C、32.5°C和35°C条件下,突变体*togr1-1*的株高、根长和根数均显著降低,而在25°C下与野生型相比除株高略有降低外,其它性状并无差异。此外,突变体苗期的株高、根长和根数3个变量的相对值与温度呈显著负相关。进一步研究表明,*togr1-1*生长迟缓的表型是由高温胁迫引起的。细胞学分析发现,维管束和侧脉数量减少导致*togr1-1*叶片变窄,所有的节间均缩短导致*togr1-1*植株变矮。对叶鞘、叶片、节间和根的成熟区进行横切观察,发现*togr1-1*与野生型相比在细胞伸长上没有显著差异,但细胞数目减少,从细胞水平上证明了TOGR1是高温条件下细胞正常分裂所必需的。

研究人员将TOGR1定位到第3号染色体28.5 kb的物理距离内。测序分析发现,在候选基因LOC_Os03g46610第1个外显子的第140位核苷酸处发生了G到T的单碱基替换,导致第47位的甘氨酸残基被缬氨酸残基取代。转基因互补实验结果表明,LOC_Os03g46610能互补突变体*togr1-1*的表型。此外,研究人员还筛选到了3个隐性等位突变体,即*togr1-2*、*togr1-3*和*togr1-4*,发现它们均表现出高温依赖性的

生长抑制,进一步证明了TOGR1的突变导致水稻植株热敏感表型。TOGR1启动子融合GUS报告基因的检测结果表明,TOGR1在不同发育阶段的根、茎、叶、小穗和花药中均有表达。TOGR1的表达水平受温度的正向调控,同时受生理钟的调节。TOGR1编码1个包含9个基序且温度依赖型的DEAD-box RNA解旋酶,该解旋酶参与高温条件下pre-rRNA的正常加工。生化分析进一步发现,TOGR1先与SSU的核心组分U3 snoRNA结合,形成pre-rRNA加工复合物,然后对pre-rRNA进行正常加工生成成熟的rRNA;而*togr1-1*突变体中由于TOGR1基因突变,导致突变后的TOGR1蛋白(*togr1-1*)不能被招募到SSU中形成功能性的pre-rRNA加工体,致使rRNA的生物合成受阻。亚细胞定位结果显示,TOGR1-GFP融合蛋白定位于细胞核,主要在核仁中富集,*togr1-1*-GFP融合蛋白信号则仅在细胞核外离散分布,在细胞核中未检测到,表明突变后的TOGR1蛋白(*togr1-1*)丧失了进入细胞核的能力,也进一步解释了*togr1-1*中rRNA生物合成受阻的原因。TOGR1的表达水平受温度的正向调控,那么过表达TOGR1基因是否能提高植物的耐热性?薛勇彪等的研究发现,与野生型相比,过表达TOGR1转基因植株对热胁迫(生长2周的幼苗45°C处理52小时后恢复生长7天)的耐受性显著升高:株高、千粒重和每穗粒数均显著增加,且株高与TOGR1的表达水平呈正相关,说明提高TOGR1的表达水平能有效改良植株在高温条件下的生长状态,并提高水稻植株的耐热性。转录组分析进一步发现,TOGR1是初级代谢过程所必需的,从而适应高温环境;TOGR1的突变则会导致代谢系统的紊乱,妨碍正常的细胞分裂,进而影响高温条件下植株的生长。

从以上研究结果可以推知,在相对凉爽的气候条件下,由于其它RNA解旋酶的作用,使TOGR1解旋酶变得可有可无,pre-rRNA处于正确的构象,能被顺利的加工成成熟的rRNA,从而维持植物的正常生长。但在高温条件下,pre-rRNA产生错误折叠且其与前体加工蛋白之间的相互作用被破坏,而TOGR1作为RNA的分子伴侣,能协助折叠错误的pre-rRNA形成正确的构象并维持加工蛋白与pre-rRNA之间的相互作用,从而确保产生正常的rRNA数量,以便在高温条件下协调初级代谢过程和正常的植物生长。截至目前,这是唯一1个RNA解旋酶调节植物耐热性的例子,

揭示了水稻适应高温炎热天气的新机制, 为全面阐明水稻耐热的调控网络奠定了基础, 也促进了分子模块设计水稻耐高温新品种的培育。同时, 也提出了许多需要思考和亟待解决的问题, 如TOGR1影响rRNA的生物合成, rRNA的合成如何影响细胞分裂? TOGR1在自然群体中的基因型分布特征是什么? 耐热性强的TOGR1有利等位基因型有哪些特征? 其地理区域分布特点是什么? 对这些问题的深入解析, 将有利于进一步明确TOGR1调控水稻耐热性的分子机制, 促进水稻耐高温分子设计育种的应用。

参考文献

- Amin M, Elias S, Hossain A, Ferdousi A, Rahman M, Tuteja N, Seraj Z (2012). Over-expression of a DEAD-box helicase, PDH45, confers both seedling and reproductive stage salinity tolerance to rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Breed* **30**, 345–354.
- Bita C, Gerats T (2013). Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. *Front Plant Sci* **4**, 273.
- Challinor A, Watson J, Lobell D, Howden S, Smith D, Chhetri N (2014). A meta-analysis of crop yield under climate change and adaptation. *Nat Clim Chang* **4**, 287–291.
- Chen Y, Potratz J, Tijerina P, Del Campo M, Lambowitz A, Russell R (2008). DEAD-box proteins can completely separate an RNA duplex using a single ATP. *Proc Natl Acad Sci USA* **105**, 20203–20208.
- Cordin O, Banroques J, Tanner N, Linder P (2006). The DEAD-box protein family of RNA helicases. *Gene* **367**, 17–37.
- Dragon F, Gallagher J, Compagnone-Post P, Mitchell B, Porwancher K, Wehner K, Wormsley S, Settlege R, Shabanowitz J, Osheim Y, Beyer A, Hunt DF, Baserga S (2002). A large nucleolar U3 ribonucleoprotein required for 18S ribosomal RNA biogenesis. *Nature* **417**, 967–970.
- Gong Z, Dong C, Lee H, Zhu J, Xiong L, Gong D, Stevenson B, Zhu J (2005). A DEAD box RNA helicase is essential for mRNA export and important for development and stress responses in Arabidopsis. *Plant Cell* **17**, 256–267.
- Gong Z, Lee H, Xiong L, Jagendorf A, Stevenson B, Zhu J (2002). RNA helicase-like protein as an early regulator of transcription factors for plant chilling and freezing tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**, 11507–11512.
- Granneman S, Bernstein K, Bleichert F, Baserga S (2006). Comprehensive mutational analysis of yeast DEXD/H box RNA helicases required for small ribosomal subunit synthesis. *Mol Cell Biol* **26**, 1183–1194.
- Kang H, Park S, Kwak K (2012). Plant RNA chaperones in stress response. *Trends Plant Sci* **18**, 100–106.
- Kim J, Kim K, Oh T, Park C, Kang H (2008). Functional characterization of DEAD-box RNA helicases in *Arabidopsis thaliana* under abiotic stress conditions. *Plant Cell Physiol* **49**, 1563–1571.
- Li X, Chao D, Wu Y, Huang X, Chen K, Cui L, Su L, Ye W, Chen H, Chen H, Dong N, Guo T, Shi M, Feng Q, Zhang P, Han B, Shan J, Gao J, Lin H (2015). Natural alleles of a proteasome $\alpha 2$ subunit gene contribute to thermotolerance and adaptation of African rice. *Nat Genet* **47**, 827–833.
- Linder P, Owttrim G (2009). Plant RNA helicases: linking aberrant and silencing RNA. *Trends Plant Sci* **14**, 344–352.
- Ma Y, Dai X, Xu Y, Luo W, Zheng X, Zeng D, Pan Y, Lin X, Liu H, Zhang D, Xiao J, Guo X, Xu S, Niu Y, Jin J, Zhang H, Xu X, Li L, Wang W, Qian Q, Ge S, Chong K (2015). COLD1 confers chilling tolerance in rice. *Cell* **160**, 1209–1221.
- Macovei A, Tuteja N (2012). MicroRNAs targeting DEAD-box helicases are involved in salinity stress response in rice (*Oryza sativa* L.). *BMC Plant Biol* **12**, 183.
- McClung C, Davis S (2010). Ambient thermometers in plants: from physiological outputs towards mechanisms of thermal sensing. *Curr Biol* **20**, R1086–R1092.
- Mittler R, Finka A, Goloubinoff P (2012). How do plants feel the heat? *Trends Biochem Sci* **37**, 118–125.
- Owttrim G (2006). RNA helicases and abiotic stress. *Nucleic Acids Res* **34**, 3220–3230.
- Owttrim G (2013). RNA helicases: diverse roles in prokaryotic response to abiotic stress. *RNA Biol* **1**, 96–110.
- Pyle A (2008). Translocation and unwinding mechanisms of RNA and DNA helicases. *Annu Rev Biophys* **37**, 317–336.
- Ray D, Gerber J, MacDonald G, West P (2015). Climate variation explains a third of global crop yield variability. *Nat Commun* **6**, 5989.
- Shen H, Zhong X, Zhao F, Wang Y, Yan B, Li Q, Chen G, Mao B, Wang J, Li Y, Xiao G, He Y, Xiao H, Li J, He Z (2015). Overexpression of receptor-like kinase ERECTA improves thermotolerance in rice and tomato. *Nat Biotechnol* **33**, 996–1003.

Tuteja N, Sahoo R, Garg B, Tuteja R (2013). OsSUV3 dual helicase functions in salinity stress tolerance by maintaining photosynthesis and antioxidant machinery in rice (*Oryza sativa* L. cv. 'IR64'). *Plant J* **76**, 115–127.

Umate P, Tuteja R, Tuteja N (2010). Genome-wide analysis of helicase gene family from rice and Arabidopsis: a comparison with yeast and human. *Plant Mol Biol* **73**, 449–465.

Venema J, Tollervey D (1995). Processing of pre-ribosomal

RNA in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* **11**, 1629–1650.

Wahid A, Gelani S, Ashraf M, Foolad M (2007). Heat tolerance in plants: an overview. *Environ Exp Bot* **61**, 199–223.

Wang D, Qin B, Li X, Tang D, Zhang Y, Cheng Z, Xue Y (2016). Nucleolar DEAD-Box RNA helicase TOGR1 regulates thermotolerant growth as a pre-rRNA chaperone in rice. *PLoS Genet* **12**, e1005844.

DEAD-box RNA Helicase Regulate rRNA Homeostasis: New Mechanism on Rice Thermotolerance, New Prospective on Rice Molecular Breeding

Shikai Hu^{1,2}, Qian Qian^{1,2*}

¹State Key Laboratory of Rice Biology, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China; ²Agriculture Genome Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shenzhen 518120, China

Abstract High temperature stress is a significant factor limiting rice growth and yield formation. DEAD-box RNA helicase plays a vital role in the processing of pre-rRNA and plant stresses response. Recently, Chinese scientists have great progress in the molecular mechanism of regulating thermo-tolerant of DEAD-box RNA helicase in rice.

Key words DEAD-box RNA helicase, homeostasis, ribosomal RNA (rRNA), rice, thermotolerance

Hu SK, Qian Q (2016). DEAD-box RNA helicase regulate rRNA homeostasis: new mechanism on rice thermotolerance, new prospective on rice molecular breeding. *Chin Bull Bot* **51**, 283–286.

* Author for correspondence. E-mail: qianqian188@hotmail.com