



## Nucleic Acids Research: NOVA2调控神经CircRNA生物发生

发布时间: 2021-06-29 16:23:18 分享到:

环状RNA(CircRNAs)在大脑中高度表达,在神经元分化过程中其表达增加。在发育中的小鼠大脑中调节环状RNA的因素是未知的。NOVA1和NOVA2是神经丰富的RNA结合蛋白,在选择性剪接中的作用得到了很好的描述。从RNA-seq数据中提取的CircRNA图谱显示,在Nova2基因敲除小鼠的胚胎皮质中,全局CircRNA水平降低,但在Nova1基因敲除小鼠中没有。对分离的缺乏NOVA2的抑制性和兴奋性皮层神经元的分析显示,CircRNA的减少更加显著,并确立了NOVA2在促进CircRNA生物发生中的广泛作用。为了研究控制NOVA2调控CircRNA生物发生的顺式元件,作者构建了一个基于Efnb2基因的反向剪接报告。作者发现,当位于内含子两侧的Yca Y簇被诱变时,NOVA2介导的CircEfnb2的反向剪接受到损害。CLIP(交联和免疫沉淀)和其他报告分析证明了位于CircRNA位点两侧内含子的NOVA2结合位点的重要性。NOVA2是第一个被发现发育中的大脑中全球促进CircRNA生物发生的RNA结合蛋白。

*Nucleic Acids Research, 2021, 1*  
<https://doi.org/10.1093/nar/gkab523>

### NOVA2 regulates neural circRNA biogenesis

David Knupp<sup>1</sup>, Daphne A. Cooper<sup>1</sup>, Yuhki Saito<sup>2</sup>, Robert B. Darnell<sup>2</sup> and Pedro Miura<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, University of Nevada, Reno, Reno, NV 89557, USA and <sup>2</sup>Laboratory of Molecular Neuro-oncology and Howard Hughes Medical Institute, The Rockefeller University, New York, NY 10065, USA

Received May 22, 2020; Revised May 03, 2021; Editorial Decision June 02, 2021; Accepted June 09, 2021

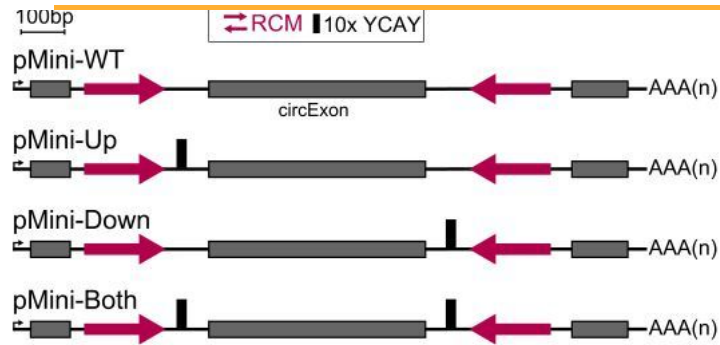
图片来源: <https://doi.org/10.1093/nar/gkab523>

选择性剪接(AS)影响95%的人类多外显子基因。通过AS,数十万种具有不同结构属性、定位模式和翻译效率的RNA异构体可以表达为具有不同功能的蛋白质异构体。在哺乳动物的神经系统中,AS尤其普遍和高度保守。在大脑发育过程中,AS负责在特定的阶段建立神经元特异的剪接模式,而发育调节的替代外显子在突触形成、神经元迁移和轴突引导中起着重要作用。发育过程中特定阶段的AS模式是由在神经元中丰富或特异表达的RNA结合蛋白(RBPs)控制的,对正常发育至关重要,因为它们的失调是许多神经疾病的基础。

环状RNA(CircRNA)是通过反向剪接产生的,这是AS的一种。在反向剪接过程中,下游的5'剪接位点(SS)与上游的3'产生抗外切核糖核酸酶的闭环'圈'的环化外显子的SS。最具特征性的CircRNA来源于蛋白质编码基因的注释外显子,许多外显子独立于宿主基因调节,并在不同的时间点表现出独特的表达模式。到目前为止,人们认为CircRNA的功能包括隔离microRNAs、翻译小肽、调节免疫反应、运输和支架限制性商业惯例。CircRNA在全基因组水平上富集于脑组织中,并在神经分化和成熟过程中显著上调。作者还发现CircRNAs在衰老过程中会积聚,这种趋势似乎只出现在脑组织和神经元中。大脑表达的CircRNA的功能意义正在显现,只有少数CircRNA被发现神经系统发挥作用。

已确定了几种限制性商业惯例来调节CircRNA的生物发生,包括蝇眼、颤栗(QKI)、ADAR、FUS以及几种hnRNPs和SR蛋白。然而,从活体脑或神经元数据集缺乏限制性商业惯例对CircRNA调控的研究。有几个特征明确的剪接因子在神经系统中起作用,包括RBFOX1/2/3、PTPBP1/2、nrSR100/SRRM4、Hu蛋白和NOVA1/2。这些剪接因子中任何一个的缺失或失调都会导致严重的、往往是致命的神经缺陷。最具特征性的神经丰富剪接因子是nov A蛋白,它最初被发现是副肿瘤性视阵挛肌阵挛共济失调患者的自身抗原,这是一种以运动和认知缺陷为特征的神经系统疾病。Nov A1和Nov A2是与Yca Y基序簇结合以调节AS的类似物。在小鼠中,任何一种基因敲除(KO)都会导致早期死亡。这归因于NOVA1缺乏症中运动神经元的死亡,以及皮层和浦肯野神经元在NOVA2中的异常迁移。虽然这两种蛋白质识别相同的RNA结合基序,但它们的表达在很大程度上是相互的。例如,免疫组织化学和原位杂交数据显示NOVA2在中脑和脊髓低表达,而在皮层和海马高表达。相反,nov a1在中脑和脊髓高表达,在皮层相对低表达。此外,NOVA1和NOVA2似乎控制着发育中皮层中不同的剪接调控网络。最近,兴奋性(Emx1+)或抑制性(GAD2+)神经元中NOVA2的条件性敲除(CKO)导致了数以千计的AS事件,这些事件在很大程度上是每种细胞类型所独有的。此外,兴奋性神经元中NOVA2的丢失导致皮层和海马层结构的紊乱,而NOVA2-KO抑制神经元中未观察到这种情况。这些发现显示了在不同神经元亚型中检查AS结果的重要性。





人工后拼接报告的示意图

图片来源: <https://doi.org/10.1093/nar/gkab523>

为了构建人工CircMini-WT载体,将含有全长GFP编码序列、部分人ZKSCAN1内含子序列和部分Mboat2内含子序列的两个gBlock克隆到上述改进的pUC19载体中。作者使用默认设置的伯克利果蝇基因组计划剪接预测工具来指导GFP和内含子序列的修改,这将提高剪接效率并防止意外剪接产物的产生。此外,现有的YCA Y基序也发生了突变,以阻止Nov A2结合。人工10x YCA Y序列通过gBlock产生,并被克隆到与CircRNA基因座相关的50bp上游(pMini-up)、49bp下游(PMiniDown)或两个位置(pMini-Both)。

来源: 生物谷

联系我们 | 人才招聘

© 版权所有 中国实验动物学会 京ICP备14047746号 京公网安备11010502026480

地址: 北京市朝阳区潘家园南里5号 (100021) 电话: 010 - 67776816 传真: 010 - 67781534 E-mail: calas@cast.org.cn

技术支持: 山东瘦课网教育科技股份有限公司

| 站长统计

