邮箱

联系我们





______ [高級]



♠ 您现在的位置: 首页 > 科研 > 科研进展

生化与细胞所研究探索在细胞内酵母tRNALeu的功能

8月23日,《核酸研究》(Nucleic Acids Research)在线发表了中科院上海生命科学研究院生化与细胞所王恩多 研究组的最新研究成果"利用亮氨酸tRNA基因敲除菌株研究酵母亮氨酸tRNA的体内功能"。

氨基酰-tRNA合成酶(aaRS)催化tRNA的氨基酰化反应,为蛋白质合成提供原料。合成正确的氨基酰-tRNA对保 证蛋白质合成的质量控制至关重要。aaRS催化反应的专一性不仅涉及到aaRS,也与tRNA有关。目前,通常采用T7 RNA聚合酶转录和核苷酸定点突变的体外方法研究tRNA的功能。体外转录得到的tRNA无修饰碱基,可能影响tRNA的活 性。定点突变得到tRNA变种工作量大、耗时。在体外研究tRNA与aaRS的相互作用的研究受到限制,尤其是酵母亮氨 酰-tRNA合成酶与tRNALeu相互作用的研究,由于用体外转录方法得到的酵母tRNALeu活性太低,报道不多。

王恩多研究组的博士研究生黄骞利用同源重组的方法,分别敲除了酵母tRNALeu(GAG)和tRNALeu(UAG)的基因, 构建了两株酵母tRNALeu体内基因敲除菌株tl(gag)-△1和tl(uag)-△1-3。研究发现,酵母tRNALeu(GAG)不是酵母生 长的必需tRNA; 而酵母tRNALeu(UAG)为酵母生长必需,可以识别四种CUN密码子,首次发现酵母用"超摆动" (superwobbling)阅读亮氨酸密码。研究人员通过化学诱变tRNALeu(UAG)基因,在菌株t1(uag)-△1-3中建立了随 机突变库,在基因水平上筛选并发现了若干影响tRNALeu (UAG)转录、与LeuRS的氨基酰和编校功能有关的tRNALeu (UAG)的关键碱基。此外,他们还利用t1(uag)-Δ1-3通过基因定点突变得到带有修饰碱基的酵母tRNALeu(UAG)变 种,体外研究了用体内方法筛选到的tRNALeu变种的功能,体内和体外数据相符。

该研究不仅丰富了对酵母tRNALeu功能的认识,也为进一步研究酵母tRNA的结构和功能关系提供了有效的研究系 统。

该研究得到科技部、国家自然科学基金委和中国科学院的资助。

打印本页

关闭本页