

## 施一公研究组揭示酿酒酵母催化后剪接体结构

The Group of Yigong Shi Has Revealed the Structure of the Post-catalytic Spliceosome from *Saccharomyces cerevisiae*

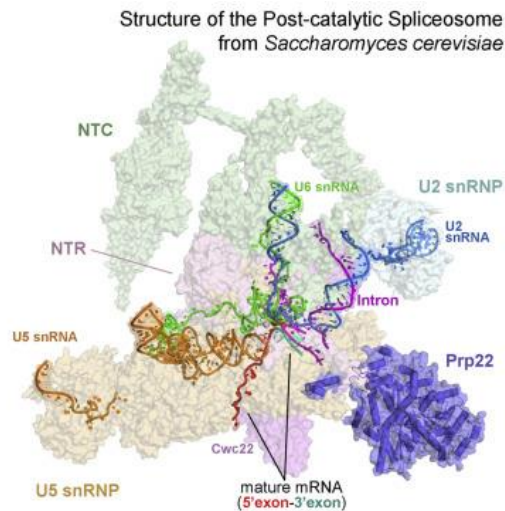


**【Cell 系列】**12月14日，清华大学生命学院、结构生物学高精尖创新中心施一公教授研究组就剪接体的结构与机理研究于 *Cell* 杂志再次发表最新成果。论文报道了酿酒酵母剪接体呈现 RNA 剪接反应完成后状态（定义为“P 复合物”）、整体分辨率为 3.6 埃的三维结构，首次展示了 pre-mRNA 中 3' 剪接位点的识别状态。该结构为回答 RNA 剪接反应过程中 pre-mRNA 中的 3' 剪接位点如何被识别，第二步转酯反应如何发生以及成熟的 mRNA 如何被释放等关键问题提供了重要的结构信息。

RNA 剪接是真核生物基因表达调控的重要环节之一，负责执行这一过程的是细胞核内一个巨大且高度动态变化的分子机器——剪接体（spliceosome）。2015 年，施一公研究组率先突破，在世界上首次报道了裂殖酵母剪接体 3.6 埃的高分辨率结构，首次展示了剪接体催化中心近原子分辨率的结构。这一重大研究成果对 RNA 剪接机理的研究产生革命性影响。

在最新发表的这篇 *Cell* 论文中，施一公研究组进一步探索并优化了蛋白提纯方案，通过在酿酒酵母中表达关键蛋白的失活突变体导致剪接体无法释放成熟的 mRNA，从而获得了稳定的、性质良好的 P complex 样品；随后，利用单颗粒冷冻电镜技术重构出了总体分辨率为 3.6 埃的高分辨率冷冻电镜结构，并搭建了原子模型。这一结构首次展示了 RNA 剪接两步转酯反应完成后剪接体的整体结构以及内部蛋白质、核酸组分的组装情况，其中，可以清晰的看到原本被内含子隔开的两个外显子已经共价连接形成成熟的 mRNA 并且被 U5 snRNA 识别固定在剪接体的反应中心。

值得一提的是，在这个结构中，第一次观察到了 pre-mRNA 中 3' 剪接位点 AG 被分支点 A 和 5' 剪接位点的第一个核苷酸 G 通过非经典的碱基互补配对共同识别的机制，这两个核苷酸 AG 还进一步被 5' 剪接位点的 G 和 U6 snRNA 通过碱基堆积力固定。因此，该结构的解析，首次展示了 3' 剪接位点被识别、关键蛋白 Prp22 参与成熟的 mRNA 释放等重要的结构信息，为领域内对第二步转酯反应发生时 3' 剪接位点如何被识别的长达数年的猜想与争论提供了最有效的结构证据。



Structure of the Post-catalytic Spliceosome from *Saccharomyces cerevisiae*

酿酒酵母催化后剪接体的结构

清华大学/西湖大学 施一公

2017年12月14日

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2017.10.038>

Removal of an intron from a pre-mRNA by the spliceosome results in the ligation of two exons in the post-catalytic spliceosome (known as the P complex). Here, we present a cryo-EM structure of the P complex from *Saccharomyces cerevisiae* at an average resolution of 3.6 Å. The ligated exon is held in the active site through RNA-RNA contacts. Three bases at the 3' end of the 5' exon remain anchored to loop I of U5 small nuclear RNA, and the conserved AG nucleotides of the 3'-splice site (3'SS) are specifically recognized by the invariant adenine of the branch point sequence, the guanine base at the 5' end of the 5'SS, and an adenine base of U6 snRNA. The 3'SS is stabilized through an interaction with the 1585-loop of Prp8. The P complex structure provides a view on splice junction formation critical for understanding the complete splicing cycle.