



glmS 核糖开关研究进展

周丁¹, 王倩^{1*}, 祁庆生^{1,2*}

¹ 山东大学国家糖工程技术研究中心, 山东 济南 250100

² 山东大学微生物技术国家重点实验室, 山东 济南 250100

摘要: glmS 核酶是存在于革兰氏阳性细菌中, 对葡糖胺-6-磷酸(GlcN6P)的合成起反馈抑制作用的核糖开关。同时, glmS 核糖开关是一种位于 *glmS* 基因 5'非翻译区的自剪切核酶。glmS 核糖开关/核酶通过结合 GlcN6P 后自剪切抑制下游基因 *glmS* 的表达。对 glmS 核糖开关结构和功能的研究将有助于开发新的抗生素作用靶点。本文对 glmS 核糖开关的结构和功能进行阐述并介绍 glmS 核糖开关近年来的研究进展和应用。

关键词: glmS 核酶, 核糖开关, 葡糖胺-6-磷酸, 自剪切

核酶是具有催化功能的 RNA 分子, 核糖开关是 mRNA 上折叠成一定构象的非编码序列, 该序列被特异代谢物结合而影响 mRNA 表达。核酶的发现改变了科学家对生物催化的看法, 核糖开关进一步提高了人们对细胞中 RNA 复杂功能的理解。研究者利用生物化学和生物物理学方法广泛探索了核酶和核糖开关的结构和功能, 这些成果有利于促进这些功能性 RNA 的应用。同时, 核糖开关经常被小而简单的化合物激活, 这种机制降低了开发核糖开关系统的成本, 而且大多数可激活其活性的化合物小到足以穿透细菌细胞壁和细胞膜, 这意味着该化合物添加到培养基便足以引起调节作用^[1]。

本课题组已成功在 L-赖氨酸核糖开关和 Schyung^[2]报道的在体外筛选得到的 *N*-乙酰神经氨酸(NeuAc)核糖开关后连接四环素抗性基因 *tetA*, 构建了 L-赖氨酸核糖开关筛选系统^[3]和 NeuAc 核糖开关筛选系统。*tetA* 基因表达的 TetA 蛋白抑制细胞生长, 当细胞中 L-赖氨酸浓度较高时, L-赖氨酸核糖开关感知并结合 L-赖氨酸, 通过构象改变抑制下游 *tetA* 基因表达, 使细胞获得更高的生长速率, 从而将 L-赖氨酸的浓度变化与细胞生长速率这一易于检测的表型相偶联。NeuAc 核糖开关筛选系统同理, 不过 NeuAc 核糖开关是人工合成的通过自剪切抑制下游基因 *tetA* 表达的核糖开关。

基金项目: 国家自然科学基金(31670077)

*通信作者。Tel: +86-531-88365628; E-mail: 王倩, qiqi20011983@gmail.com; 祁庆生, qiqingsheng@sdu.edu.cn

收稿日期: 2017-03-20; 修回日期: 2017-04-22; 网络出版日期: 2017-04-27

2004年 Breaker 等发现了 *glmS* 核糖开关, 并且发现这种核糖开关同时也是核酶^[4]。*glmS* 核糖开关/核酶位于 *glmS* 基因上游, 被葡萄糖胺-6-磷酸 (GlcN6P) 激活后能够发生自剪切, 进而调控 *glmS* 基因的表达。本文介绍了 *glmS* 核糖开关/核酶的结构并结合课题组所做工作阐述其功能和独特性。探讨了 *glmS* 核糖开关/核酶体外进化筛选相关的研究进展, 以及辅因子和 Mg^{2+} 在 *glmS* 核糖开关中的潜在作用机制, 为 *glmS* 核糖开关/核酶在微生物代谢调控和抗菌药物研究方面提供新的思路。

1 *glmS* 核糖开关的结构

glmS 核酶包含 4 个配对区域(P1–P4), 这 4 个

配对区域折叠形成 *glmS* 核酶的主要结构(图 1)^[5]。双嵌套“伪结”是 *glmS* 核酶三维结构的特征, 通过关键核苷酸的突变分析和高度保守的 DNA 序列相似性对比来研究 *glmS* 核酶^[6], 发现其中 P2.1 和 P2.2“伪结”包含催化核心, 高度保守的核心序列在图 1-A 中用红色核苷酸表示。P1 和 P2 包含形成催化核心必需的保守碱基对, 而 P3-P4 结构域不是自剪切所需的, 但它们的存在增强了剪切活性, 特别是在低浓度镁离子(Mg^{2+})条件下^[7]。切割位点位于 A-1 和 G1 之间, 在图 1-A 中用箭头表示。

在研究 *glmS* 核酶的晶体结构时发现, 这种多链核心结构具有辅因子结合能力^[8-9]。同时, *glmS* 核糖开关/核酶与辅因子的相互作用跟其他核糖开关相似, 都需要 Mg^{2+} 的参与。*glmS* 核酶的辅因子结合位点是开放的并且溶剂可接近。核酶内的螺

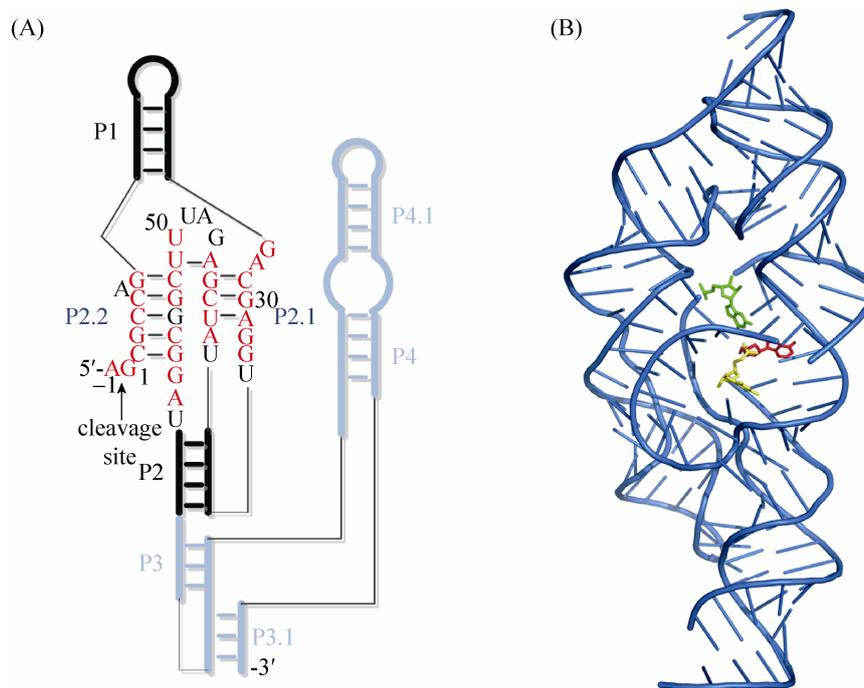


图 1. *glmS* 核酶的结构

Figure 1. Structure of the *glmS* ribozyme. A: secondary structure of the *Bacillus cereus* *glmS* ribozyme. B: tertiary structure of the *glmS* ribozyme from *Thermoanaerobacter tengcongensis* (PDB ID 2Z75). A-1 (red), G1 (yellow), G40 (green).

旋 P2.2 和 G1 核苷酸是辅因子结合和随后催化所必需的关键部分。

X 射线晶体学和动力学实验鉴定了蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) *glmS* 核酶催化核心内 G33, 这一保守鸟嘌呤位点的特异性突变导致了催化作用的丧失, 表明活性位点中该处的保守鸟嘌呤在催化机制中起重要作用^[10-11]。腾冲嗜热厌氧菌(*Thermoanaerobacter tengcongensis*)中 G40 与蜡状芽孢杆菌内 G33 相似。与天然配体类似的竞争性抑制剂葡萄糖-6-磷酸(Glc6P)和非天然糖甘露糖胺-6-磷酸(ManN6P)也能够与 RNA 结合发生相互作用。只是 Glc6P (与 GlcN6P 唯一不同是羟基代替氨基)不能支持 *glmS* 核糖开关自切割, 而 ManN6P 诱导切割的速度比 GlcN6P 慢约 7 倍。并且, 与 GlcN6P 相比, ManN6P 的结合亲和力较弱。因此, 结构和化学性质上与 GlcN6P 的相似程度可能是核酶选择配体的重要指标^[11]。

2 *glmS* 核糖开关的生物学功能

具有催化功能的 *glmS* 核糖开关位于枯草芽孢杆菌等低 GC 含量的革兰氏阳性菌的 *glmS* mRNA

的 5'非翻译区, *glmS* 信使 RNA 负责产生 GlmS 酶, 即果糖-6-磷酸酰胺转移酶, 其催化果糖-6-磷酸(Fru6P)产生 GlcN6P 的反应^[12-13]。这种氨基糖的生产是细菌细胞壁合成代谢途径的一部分, 因此, 该途径的适当调节对细菌活力的影响非常重要^[14]。枯草芽孢杆菌中 *glmS* 基因的调控机制与大肠杆菌中的反式调控不同, 它是通过 *glmS* 核糖开关进行顺式调控^[4]。*glmS* 核糖开关选择性地识别 GlcN6P, 并且被 *glmS* 基因的这种代谢产物活化 10^6-10^7 倍^[15-16]。代谢物的结合启动内部磷酸酯转移反应, 导致 mRNA 的自剪切和失活。剪切发生在 *glmS* AUG 密码子上游非翻译序列 245 bp 左右。自剪切使得 *glmS* 核糖开关的 RNA 暴露出 5'羟基, 随后 mRNA 被细胞内的 RNA 降解酶降解(图 2)。这种损失将导致细胞壁前体量的减少, 并且因此将诱导细胞膜损伤, 最终抑制细菌生长。对 RNA 降解的研究表明该反应涉及 RNase J1^[17], 该酶是大肠杆菌 RNase E 蛋白的同源物。

本课题组利用 *glmS* 核糖开关被 GlcN6P 激活发生自剪切的特性, 将其插入报告基因 *gusA* 前端, 构建 *glmS* 核糖开关筛选系统。在有显色底物

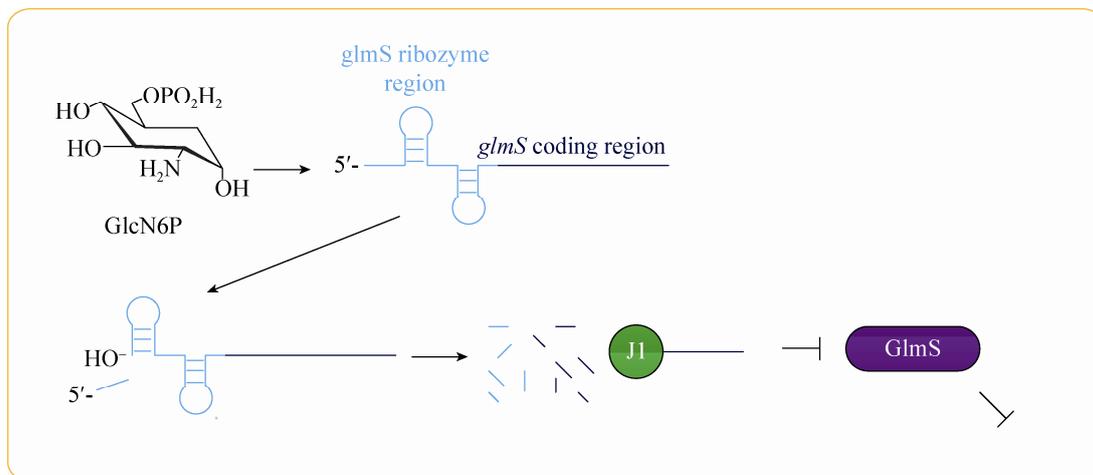


图 2. GlcN6P 作用于 *glmS* 核酶的模式示意图

Figure 2. Schematic illustration of the mode of action of GlcN6P to *glmS* ribozyme.

X-gluc 存在时, *gusA* 基因产物催化使其显蓝色。当胞内 GlcN6P 浓度较高时, GlcN6P 结合并激活 *glmS* 核糖开关, 开关发生自剪切导致下游 *gusA* 基因被胞内酶降解, 抑制 *gusA* 基因表达。胞内没有 *gusA* 基因表达产物, 所以在有显色底物 X-gluc 存在时呈无色。这样将胞内 GlcN6P 的浓度与菌株显色深浅相对应, 组成了 *glmS* 核糖开关筛选系统, 通过筛选系统筛选高产 GlcN6P 的菌株。

3 *glmS* 核糖开关的独特性

可以定义为核糖开关的 RNA 标准是:(1) RNA 必须特异性结合代谢物;(2) RNA 表现出由代谢物结合诱导的构象变化;(3) RNA 以依赖代谢物的方式来影响基因表达。*glmS* 核糖开关与其他核糖开关不同, 在 GlcN6P 存在下, *glmS* 核糖开关通过自剪切调控基因 *glmS* 的表达, 而其他类型核糖开关主要通过终止转录或抑制翻译起始来影响基因表达。

glmS 核酶同时与其他核酶也不同, 是一种需要辅因子激活的天然核酶。GlcN6P 辅因子直接参与并调控 RNA 自剪切的催化, 而其他核酶大多是需要广泛存在的化合物作为共底物或变构效应物而起间接作用^[16]。例如 I 型内含子在其自切割机制中利用鸟苷作为亲核底物。对 *glmS* 核酶和 GlcN6P 之间相互作用的研究为揭示其作用机制提供了证据。

4 *glmS* 核糖开关研究进展及应用

4.1 *glmS* 核糖开关的体外进化

glmS 核酶 RNA 结构的测定^[18]有利于合理地诱变该核酶, 以保持其整体结构完整性的同时, 使其进行体外进化获得新特性。Link 等^[19]和 Lau

等^[20]使用体外筛选来分离 *glmS* 核酶的序列变体, 这些研究旨在探索核酶的辅因子选择性, 发现了可有效利用除 GlcN6P 以外的分子作为催化辅因子的 *glmS* 核酶变体, 并探索这种基因表达调节 RNA 的可能的进化起源。因为 GlcN6P 参与大部分代谢过程, 并不是在特异菌株中存在, 所以难以在异源环境中选择性地激活 *glmS* 核酶。但不被 GlcN6P 而被其他辅因子激活的 *glmS* 核酶变体的进化和筛选将提供核酶和辅因子集, 有利于选择性激活 *glmS* 核酶, 同时这种核酶和辅因子集可应用于合成生物学^[21]。

最近有研究采用体外筛选来搜索野生型 *glmS* 核酶(以下称为 *glmS*^{WT})的不依赖辅因子的变体。为了保持核酶的整体结构, 只有催化核心中不参与形成特征性 *glmS* 核酶折叠三级结构的核苷酸被诱变。对所得序列变体文库进行体外筛选, 鉴定出了具有 3 个腺苷突变(以下称为 *glmS*^{AAA})的 RNA, 其在不存在 GlcN6P 的情况下具有切割 RNA 的活性。该突变体 RNA 在阳离子 Ca²⁺或 Mg²⁺存在下达到高达 3 min⁻¹的切割速率, 但其活性未被 GlcN6P 增强。X 射线小角散射(SAXS)和晶体学分析证实 *glmS*^{AAA} 具有与野生型核酶相似的折叠结构。3 个腺苷突变围绕易断裂的磷酸酯, 消除了野生型 RNA 结合辅因子 GlcN6P 的能力。但是 *glmS*^{AAA} 单核苷酸的回复突变便足以赋予 GlcN6P 依赖性, 这表明辅因子依赖性可以很容易地通过采用 *glmS* 核酶折叠的方式获得, 而且只有少数核苷酸可以赋予 RNA 某些特异性反应^[22]。因此, 稳定的 RNA 核酶的体外筛选可能发现催化几种不同的生物化学反应的紧密相关的 RNA 家族。另外, 因为 *glmS*^{WT} 核酶活性较强(接近 100 min⁻¹), 并且可以在不存在 GlcN6P 的情况下使用其他辅因子(例如缓冲液 Tris)^[22], 因此体外筛选需要严格

的条件。

研究使用体外进化筛选 glmS 核酶的不依赖于辅因子激活的变体,除了可以阐明核酶的催化机制之外,这样的变体还可以用于研究 glmS 核糖开关的进化祖先。从进化起源上看,glmS 核酶的祖先分子,可能是不需要辅因子激活的核酶或没有自切割能力的核糖开关^[23]。迄今未能发现 glmS 核糖开关的可能的分子祖先,因为没有通过内部酯交换裂解 RNA 的其他已知天然核酶需要辅因子激活,并且结合糖衍生物的其他核糖开关也未曾发现。glmS 核酶有可能起源于不需要辅因子激活的核酶。也就是说,该基因调节 RNA 的分子祖先可能是 RNA 自切割核酶,其随后获得了对 GlcN6P 的依赖性,并且因此具有调节该代谢物胞内水平的能力。

4.2 Mg²⁺在活性位点 glmS 核酶-辅因子复合物中的潜在影响

核酶是催化许多生物体特异性反应的 RNA 分子,与蛋白质不同,由于其骨架中存在磷酸基团而具有高负电荷,需要金属离子来参与结构的稳定化,甚至在一些情况下参与催化^[24]。尽管金属蛋白通常使用过渡金属作为氧化还原反应中心,但是核酶更倾向于与碱金属和碱土金属如 Na⁺和 Mg²⁺相互作用。例如,已经发现 Mg²⁺在 I 型和 II 型内含子自剪接机制中起重要作用。在 glmS 核酶中二价金属离子如 Mg²⁺和 Ca²⁺也能够影响自剪切反应的速率和 pK_a^[25-26]。

分析 Mg²⁺在活性位点中潜在的催化/抗催化作用有利于对 glmS 核酶自切割机制的研究。用分子动力学和模拟计算技术探索可能的 Mg²⁺结合位点,主要是图 3 中的 Site 1 和 Site 2,分别位于接近易断裂磷酸基团的非桥连氧和 G40 的 Hoogsteen 面附近。模拟的数据表明 glmS 核酶在切割位点

(Site 1)不使用 Mg²⁺,因为两种抗催化效应:(1)与来自活性位点的带正电荷的 GlcN6P 辅因子静电排斥,破坏 GlcN6P (O1)与断裂位点处磷酸基团的 *pro-R_p* 氧之间的氢键;(2)通过与去质子化的 A-1 (2'O)配位,阻断 A-1 (2'O)对易断裂磷酸基团的亲核攻击(图 3 中红色箭头)。活性位点内氢键相互作用(图 3 中虚线)的破坏也不利于催化^[27]。所以 Mg²⁺在 glmS 核酶活性位点(Site 1)的存在是破坏性的,因此发挥抗催化作用。

Mg²⁺另一种可能的位点,位于 G40 的 Hoogsteen 面(在图 3 中标记为“Site2”),与活性位点处的作用不同,该位点处 Mg²⁺离子不会显著破坏活性位点内的氢键相互作用或攻击活性位点构象,并且不表现出任何其他抗催化作用。在 G40 的 Hoogsteen 面附近的 Mg²⁺使 G40 (N1)的 pK_a降低,可能有利于促进去质子化推动自裂解反应从而有利于催化^[28]。但是需要进一步的实验和理论研究以完全解开 Mg²⁺在核酶中的不同作用。

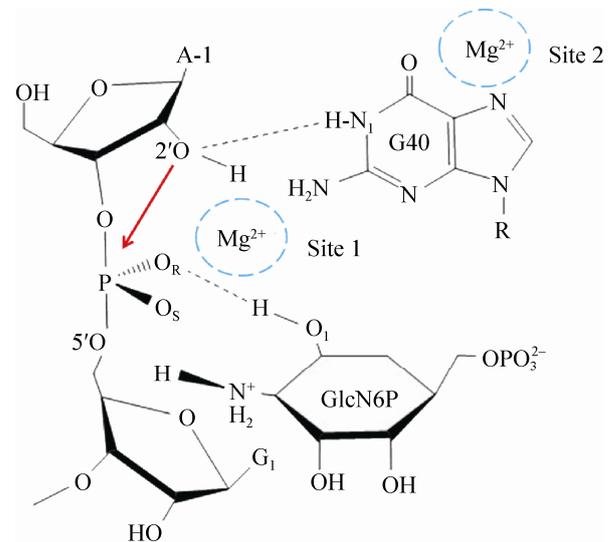


图 3. glmS 核酶活性位点处 Mg²⁺存在位置图示
Figure 3. Illustration of the location of Mg²⁺ in the active site of glmS ribozyme.

4.3 GlcN6P 辅因子在 glmS 核酶中起多种催化作用

蛋白质酶通常利用外源物质例如金属离子和小分子辅因子以辅助催化。核酶也募集辅因子以帮助催化。因为 RNA 只有 4 个相似的核碱基, 比蛋白质化学多样性要少得多。核酶通过辅因子协助表现出多样的催化作用, 从而补偿 RNA 有限的功能多样性。

RNA 酶已知使用至少 4 种不同的催化策略: 在线亲核攻击, 非桥接氧的中和, 2'-羟基亲核体的去质子化和 5'-氧离去基团的质子化。主要是一般的酸碱催化, 这有利于质子转移和静电催化, 稳定电荷积聚^[18]。已经发现了 GlcN6P 作为辅因子的作用; 然而, 其在自切割机制中的确切功能仍在研究中。glmS 核酶的结构不因 GlcN6P 的结合而改变^[10], 但不存在 GlcN6P 或相关含胺化合物的情况下不能发生自切割, 表明其参与催化。此外, 催化的表观反应 pK_a 与 GlcN6P 和其他类似物的胺官能团的 pK_a 一致, 此现象支持 GlcN6P 配体作为辅因子的作用。glmS 自切割的 pH 依赖性意味着 GlcN6P 作为广义的酸或碱用于反应^[29]。

GlcN6P 作为辅因子的作用通过晶体学进一步验证, 其主要作用基团是位于切割位点的胺基。GlcN6P 辅因子的胺基应该是作为广义的酸, 在 glmS 核酶自切割期间质子化 G1 的 5'-氧离去基团 (图 3)。分子动力学模拟也预测 GlcN6P 作为广义的酸, 因为结合 GlcN6P 时, glmS 核酶活性位点环境改变, 胺基官能团的 pK_a 与在溶液中 8.2 的 pK_a 相比减少 2.2 个 pH 单位^[30]。相反, 当与 glmS 核酶的 G33 (蜡状芽孢杆菌) 无活性突变体结合时, 胺基官能团的 pK_a 仅仅略微增加至约 8.4。虽然有一些数据支持这种假设, 但也有很多相互矛盾的证据^[31]。

4.4 glmS 核糖开关作为潜在的抗菌药物靶标

glmS 核糖开关被预测存在于至少 18 种革兰氏阳性菌中, 同时也在许多重要的人类病原体中也有所分布, 如炭疽杆菌、金葡菌、肉毒梭菌等均含有该靶标^[32]。因此期望发现靶向该核糖开关并表现为抗微生物活性的化合物。其中 carba-GlcN6P (美国专利 No. 20140066409A1, 2014) 被提议作为用于金黄色葡萄球菌感染治疗的潜在药物。因为金黄色葡萄球菌是多重耐药菌株, 所以寻找能够治愈这种细菌感染的有效药物是特别重要的。在使用 carba-GlcN6P 的情况下, glmS 核酶的底物裂解效率以及反应速率常数均与使用天然配体相似, 而细菌生长则降低 3 倍, glmS 基因表达水平也降低 2 倍^[33]。同时, Lim 等也合成了一系列 GlcN6P 类似物, 能够激活 glmS 核酶的活性从而抑制细菌的存活^[34]。因此, glmS 核糖开关是开发广谱抗菌化合物的非常有吸引力的靶标。

5 展望

基因表达的条件控制已经是科学家多年来关注的焦点。尽管存在几种基因表达调控系统, 但基于核糖开关的系统仍然能够在该领域占得一席之地。glmS 核糖开关介导基因控制的最关键机制是同时具有配体结合能力和核酶活性。其中 glmS 核糖开关作为自切割核酶, GlcN6P 作为 glmS 核糖开关自切割的辅因子。

生物化学和生物物理学为我们分析 glmS 核酶提供了相当多的信息。对 glmS 核糖开关的折叠、与配体的结合、金属离子的辅助作用和核糖开关调控机制也有了初步的认识, 但其自切割机制、金属离子的作用原理以及作为抗生素靶点的研发等方面仍存在许多问题, 需要进行更加深入而具体的研究。

参考文献

- [1] Machtel P, Bąkowska-Żywicka K, Żywicki M. Emerging applications of riboswitches—from antibacterial targets to molecular tools. *Journal of Applied Genetics*, 2016, 57(4): 531–541.
- [2] Cho S, Lee BR, Cho BK, Kim JH, Kim BG. *In vitro* selection of sialic acid specific RNA aptamer and its application to the rapid sensing of sialic acid modified sugars. *Biotechnology and Bioengineering*, 2013, 110(3): 905–913.
- [3] Wang JM, Gao DF, Yu XL, Li W, Qi QS. Evolution of a chimeric aspartate kinase for L-lysine production using a synthetic RNA device. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(20): 8527–8536.
- [4] Winkler WC, Nahvi A, Roth A, Collins JA, Breaker RR. Control of gene expression by a natural metabolite-responsive ribozyme. *Nature*, 2004, 428(6980): 281–286.
- [5] Nudler E, Mironov AS. The riboswitch control of bacterial metabolism. *Trends in Biochemical Sciences*, 2004, 29(1): 11–17.
- [6] Soukup GA. Core requirements for *glmS* ribozyme self-cleavage reveal a putative pseudoknot structure. *Nucleic Acids Research*, 2006, 34(3): 968–975.
- [7] Hull CM, Anmangandla A, Bevilacqua PC. Bacterial riboswitches and ribozymes potently activate the human innate immune sensor PKR. *ACS Chemical Biology*, 2016, 11(4): 1118–1127.
- [8] Hampel KJ, Tinsley MM. Evidence for preorganization of the *glmS* ribozyme ligand binding pocket. *Biochemistry*, 2006, 45(25): 7861–7871.
- [9] Klein DJ, Ferré-D'Amaré AR. Structural basis of *glmS* ribozyme activation by glucosamine-6-phosphate. *Science*, 2006, 313(5794): 1752–1756.
- [10] Klein DJ, Been MD, Ferré-D'Amaré AR. Essential role of an active-site guanine in *glmS* ribozyme catalysis. *Journal of the American Chemical Society*, 2007, 129(48): 14858–14859.
- [11] Cochrane JC, Lipchock SV, Smith KD, Strobel SA. Structural and chemical basis for glucosamine 6-phosphate binding and activation of the *glmS* ribozyme. *Biochemistry*, 2009, 48(15): 3239–3246.
- [12] Barrick JE, Corbino KA, Winkler WC, Nahvi A, Mandal M, Collins J, Lee M, Roth A, Sudarsan N, Jona I, Wickiser JK, Breaker RR. New RNA motifs suggest an expanded scope for riboswitches in bacterial genetic control. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(17): 6421–6426.
- [13] Zhang SX, Ganguly A, Goyal P, Bingaman JL, Bevilacqua PC, Hammes-Schiffer S. Role of the active site guanine in the *glmS* ribozyme self-cleavage mechanism: quantum mechanical/molecular mechanical free energy simulations. *Journal of the American Chemical Society*, 2015, 137(2): 784–798.
- [14] Milewski S. Glucosamine-6-phosphate synthase—the multi-facets enzyme. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 2002, 1597(2): 173–192.
- [15] Dong X, Tian ZY, Yang X, Xue Y. Theoretical study on the mechanism of self-cleavage reaction of the *glmS* ribozyme. *Theoretical Chemistry Accounts*, 2015, 134(5): 68.
- [16] McCarthy TJ, Plog MA, Floy SA, Jansen JA, Soukup JK, Soukup GA. Ligand requirements for *glmS* ribozyme self-cleavage. *Chemistry & Biology*, 2005, 12(11): 1221–1226.
- [17] Collins JA, Irnov I, Baker S, Winkler WC. Mechanism of mRNA destabilization by the *glmS* ribozyme. *Genes & Development*, 2007, 21(24): 3356–3368.
- [18] Ferré-D'Amaré AR, Doudna JA. RNA folds: insights from recent crystal structures. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 1999, 28(1): 57–73.
- [19] Link KH, Guo LX, Breaker RR. Examination of the structural and functional versatility of *glmS* ribozymes by using *in vitro* selection. *Nucleic Acids Research*, 2006, 34(17): 4968–4975.
- [20] Lau MWL, Ferré-D'Amaré AR. An *in vitro* evolved *glmS* ribozyme has the wild-type fold but loses coenzyme dependence. *Nature Chemical Biology*, 2013, 9(12): 805–810.
- [21] Dixon N, Duncan JN, Geerlings T, Dunstan MS, McCarthy JEG, Leys D, Micklefield J. Reengineering orthogonally selective riboswitches. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(7): 2830–2835.
- [22] Lau MWL, Ferré-D'Amaré AR. *In vitro* evolution of coenzyme-independent variants from the *glmS* ribozyme structural scaffold. *Methods*, 2016, 106: 76–81.
- [23] Pitt JN, Ferré-D'Amaré AR. Rapid construction of empirical RNA fitness landscapes. *Science*, 2010, 330(6002): 376–379.
- [24] Zhang SX, Stevens DR, Goyal P, Bingaman JL, Bevilacqua PC, Hammes-Schiffer S. Assessing the potential effects of active site Mg²⁺ ions in the *glmS* ribozyme-cofactor complex. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2016, 7(19): 3984–3988.
- [25] Klawuhn K, Jansen JA, Soucek J, Soukup GA, Soukup JK.

- Analysis of metal ion dependence in *glmS* ribozyme self-cleavage and coenzyme binding. *Chembiochem*, 2010, 11(18): 2567–2571.
- [26] Brooks KM, Hampel KJ. Rapid steps in the *glmS* ribozyme catalytic pathway: cation and ligand requirements. *Biochemistry*, 2011, 50(13): 2424–2433.
- [27] Mir A, Golden BL. Two active site divalent ions in the crystal structure of the hammerhead ribozyme bound to a transition state analogue. *Biochemistry*, 2016, 55(4): 633–636.
- [28] Dubecký M, Walter NG, Šponer J, Otyepka M, Banáš P. Chemical feasibility of the general acid/base mechanism of *glmS* ribozyme self-cleavage. *Biopolymers*, 2015, 103(10): 550–562.
- [29] Schüller A, Matzner D, Lünse CE, Wittmann V, Schumacher C, Unsleber S, Brötz-Oesterhelt H, Mayer C, Bierbaum G, Mayer G. Activation of the *glmS* ribozyme confers bacterial growth inhibition. *Chembiochem*, 2017, 18(5): 435–440.
- [30] Xin Y, Hamelberg D. Deciphering the role of glucosamine-6-phosphate in the riboswitch action of *glmS* ribozyme. *RNA*, 2010, 16(12): 2455–2463.
- [31] Bingaman JL, Zhang SX, Stevens DR, Yennawar NH, Hammes-Schiffer S, Bevilacqua PC. The GlcN6P cofactor plays multiple catalytic roles in the *glmS* ribozyme. *Nature Chemical Biology*, 2017, 13(4): 439–445.
- [32] McCown PJ, Roth A, Breaker RR. An expanded collection and refined consensus model of *glmS* ribozymes. *RNA*, 2011, 17(4): 728–736.
- [33] Lünse CE, Schmidt MS, Wittmann V, Mayer G. Carba-sugars activate the *glmS*-riboswitch of *Staphylococcus aureus*. *ACS Chemical Biology*, 2011, 6(7): 675–678.
- [34] Lim J, Grove BC, Roth A, Breaker RR. Characteristics of ligand recognition by a *glmS* self-cleaving ribozyme. *Angewandte Chemie International Edition*, 2006, 45(40): 6689–6693.

Research progress in *glmS* riboswitch

Ding Zhou¹, Qian Wang^{1*}, Qingsheng Qi^{1,2*}

¹ National Glycoengineering Research Center, Shandong University, Jinan 250100, Shandong Province, China

² State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Jinan 250100, Shandong Province, China

Abstract: The *glmS* ribozyme is predominantly present in gram-positive bacteria, and it is a riboswitch that inhibits the synthesis of glucosamine-6-phosphate. In addition, *glmS* riboswitch is a self-cleft ribozyme located in the 5' untranslated region of the *glmS* gene. Study on the structure and function of *glmS* riboswitch will be beneficial to develop new targets for antibiotic action. In this paper, we reviewed the structure and function of *glmS* riboswitch. In addition, we also introduce recent research progress and application of *glmS* riboswitch.

Keywords: *glmS* ribozyme, riboswitch, glucosamine-6-phosphate, self-cleavable

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31670077)

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-531-88365628; E-mail: Qian Wang, qiqi20011983@gmail.com; Qingsheng Qi, qiqingsheng@sdu.edu.cn

Received: 20 March 2017; Revised: 22 April 2017; Published online: 27 April 2017