

同义密码子使用模式对多肽链共翻译折叠的影响研究进展

汪梦竹^{1,2,3}, 胡欣妍^{1,2,3}, 杨宣叶^{1,2,3}, 高明阳^{1,2,3}, 周建华^{*1,2,4}

1 西北民族大学生物医学研究中心 生物工程与技术国家民委重点实验室, 甘肃 兰州 730030

2 西北民族大学生物医学研究中心 甘肃省动物细胞技术创新中心, 甘肃 兰州 730030

3 西北民族大学生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730010

4 中国农业科学院兰州兽医研究所, 甘肃 兰州 730046

汪梦竹, 胡欣妍, 杨宣叶, 高明阳, 周建华. 同义密码子使用模式对多肽链共翻译折叠的影响研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(7): 3146-3158.

WANG Mengzhu, HU Xinyan, YANG Xuanye, GAO Mingyang, ZHOU Jianhua. Synonymous codon usage patterns influence co-translational folding of nascent polypeptide chain: a review[J]. Microbiology China, 2023, 50(7): 3146-3158.

摘要: 同义密码子使用模式作为核苷酸与氨基酸的纽带, 其多样性介导了核糖体扫描速率, 同时扩充了基因的遗传信息存储量。随着新型技术的应用, 发现特异性密码子和密码子结合力可调节核糖体扫描速率并影响蛋白质构象。同义密码子使用模式通过多种方式在不同环节影响着核糖体扫描速率, 同时还影响着自身 mRNA 的稳定性。本文简述了密码子使用模式如何在核糖体扫描翻译 mRNA 的过程中实现对多肽链翻译延伸的调控, 为今后生物工程学领域如何优化蛋白高效表达提供可参考的思路与理念。

关键词: 同义密码子使用模式; 遗传信息; 基因表达; 核糖体扫描; tRNA

资助项目: 西北民族大学引进人才科研项目(xbmuyjrc202225); 中央高校基本科研业务费专项资金(31920220069); 国家自然科学基金(31302100)

This work was supported by the Fundamental Research Funds for Introduction of Talents of Northwest Minzu University (xbmuyjrc202225), the Fundamental Research Funds for the Central Universities (31920220069), and the National Natural Science Foundation of China (31302100).

*Corresponding author. E-mail: zhoujianhuazjh@163.com

Received: 2022-10-02; Accepted: 2023-01-01; Published online: 2023-02-24

Synonymous codon usage patterns influence co-translational folding of nascent polypeptide chain: a review

WANG Mengzhu^{1,2,3}, HU Xinyan^{1,2,3}, YANG Xuanye^{1,2,3}, GAO Mingyang^{1,2,3},
ZHOU Jianhua^{*1,2,4}

1 Key Laboratory of Biotechnology and Bioengineering of State Ethnic Affairs Commission, Biomedical Research Center, Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, Gansu, China

2 Gansu Tech Innovation Center of Animal Cell, Biomedical Research Center, Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, Gansu, China

3 College of Life Science and Engineering, Northwest Minzu University, Lanzhou 730010, Gansu, China

4 Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730046, Gansu, China

Abstract: Synonymous codons usage pattern as a bridge between nucleotides and amino acids, and their diversity mediates the ribosome scanning rate while expanding the genetic information storage of genes. With the application of new technologies, studies have demonstrated that specific codons and codon binding can modulate ribosome scanning rate and protein folding. Synonymous codon usage patterns affect the ribosome scanning rate in different ways and the stability of corresponding mRNAs. This paper briefly describes how the synonymous codon usage patterns regulate polypeptide chain extension in the process of ribosome scanning and translation of mRNA, which provides reference for the optimization of protein expression in bioengineering in the future.

Keywords: synonymous codon usage pattern; genetic information; gene expression; ribosome scanning; tRNA

翻译延伸(translation elongation)作为蛋白质合成的重要环节,其保真性决定着蛋白质的氨基酸数目、成分和空间构象。在真核细胞及原核细胞中翻译延伸过程均可分为进位、转位和移位 3 个环节:核糖体在起始密码子(AUG)处完成自组装后进入进位反应阶段,肽酰-tRNA 占据 P 点,氨酰-tRNA 进入 A 点;紧接着进入转位反应阶段,多肽链从 P 点的肽酰-tRNA 转移到 A 点的氨酰-tRNA 上,此时核糖体在 mRNA 序列上的位置未发生改变;当核糖体沿着 mRNA 向前移动 1 个密码子的位置时,肽酰-tRNA 即可进入 P 点,此时空置的 A 位点为下一个密码子对应的氨酰-tRNA 的进入做好准备(图 1)。在翻译延伸过程中不难发现,氨酰-tRNA 在细胞内的含量差异以及 mRNA 序列中同义密码子使用

模式的多样性是决定核糖体扫描翻译速率的重要生物遗传学因素^[1-3]。然而,不同生物同义密码子使用模式(synonymous codon usage pattern)的多样性、tRNA 在特定细胞类型与细胞周期中的表达丰度,以及未遵循 Watson-Crick 碱基配对原则的摆动性均可影响翻译延伸速率,其中同义密码子使用模式所介导的核糖体扫描速率的变化对于多肽链延伸以及蛋白空间构象的形成至关重要。相较于高等生物细胞中同义密码子使用模式调控翻译延伸速率的多样性和复杂性,低等生物(尤其是单核细胞生物和病毒)同义密码子使用模式在此项生物调控中的作用更为明显^[4-6]。

在不同微生物同义密码子使用模式的遗传学特征过程中,研究发现密码子使用模式的多

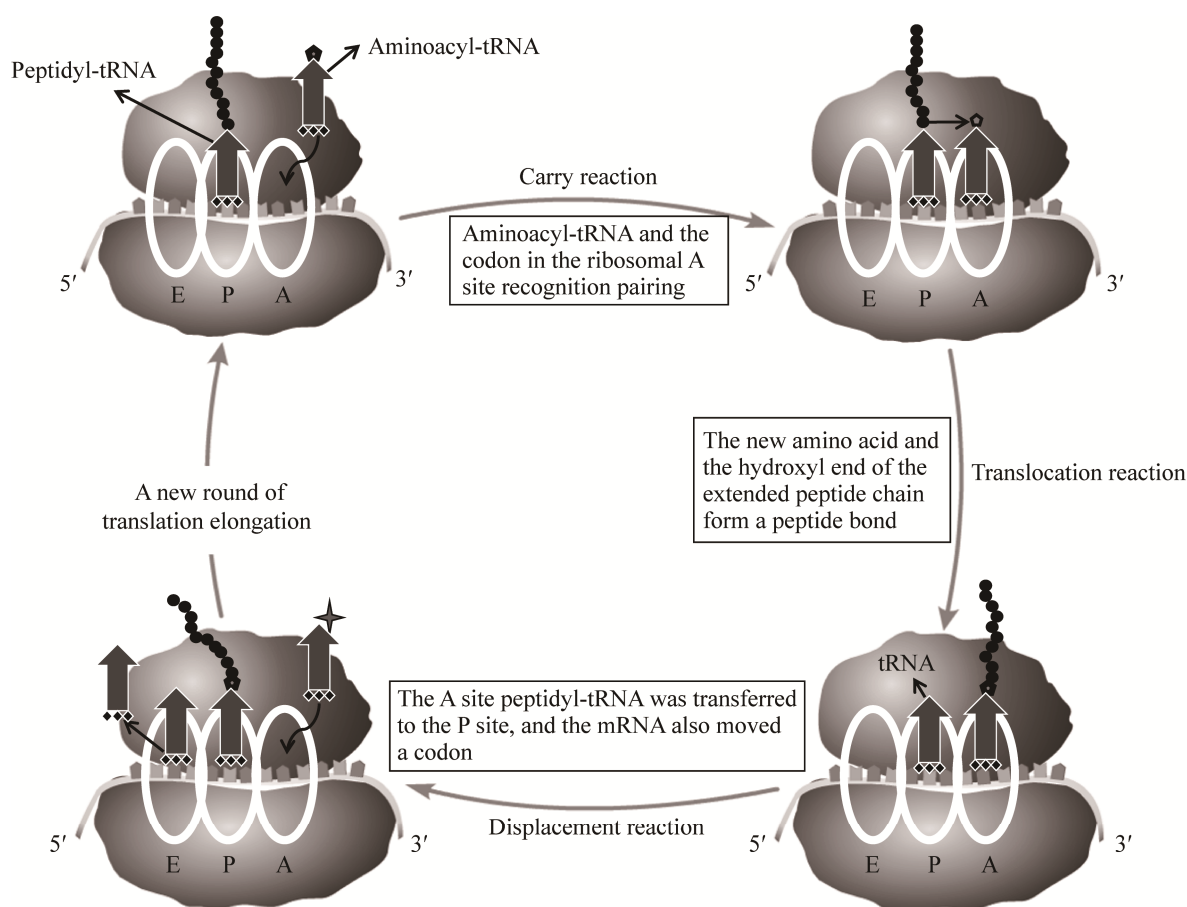


图 1 核糖体扫描翻译 mRNA 过程

Figure 1 The scenario of ribosome scanning on mRNA for gene expression.

样性能够使有限的基因组携带更多生物遗传信息,其中包括由自然选择压力介导的共翻译折叠(co-translation folding)和精微调控(fine-tuning translation)^[7-11]。目前越来越多的研究证明,同义密码子使用模式在介导核糖体扫描翻译 mRNA 序列过程中会依赖共翻译折叠机制来指导多肽链形成正确的空间构象,但同义密码子的选择偏嗜性如何介导核糖体实现对新生多肽链共翻译折叠仍需进一步研究。

1 同义密码子导致的摆动性对翻译延伸速率的影响

在核糖体图谱技术(ribosome profiling)尚未

问世前,研究单个同义密码子对基因表达效率的影响较为困难^[12]。但在特定密码子位点上,单个同义密码子使用偏嗜性对翻译延伸速率的影响却可作为推断速率限制因素的一个重要生物遗传学参数。在早期对大肠杆菌的研究中,研究人员应用各种实验手段探究了同义密码子使用偏嗜性对核糖体扫描翻译速率的影响。例如,应用放射自显影技术研究含有^[35S]甲硫氨酸的 β -半乳糖苷酶受到特定同义密码子使用偏嗜性的影响改变翻译延伸速率的过程中,将编码谷氨酸的 2 种同义密码子 GAA 和 GAG 分别以 30–60 个密码子串联的形式插入 *lacZ* 基因中,结果发现 2 种同义密码子介导的目标蛋白表达

效率相差 3 倍^[13]。虽然人工引入同义密码子串联体会对天然蛋白空间结构造成影响, 但这一结果从侧面印证了同义密码子单体确实可以调节翻译延伸速率。通过研究密码子使用模式对口蹄疫病毒前导蛋白表达效率的影响, 研究人员分析并验证出前导蛋白表达效率关键编码区的同义密码子使用模式后, 发现使用频率低的密码子倾向于出现在表达效率低的前导蛋白编码序列中, 而使用频率高的同义密码子倾向于出现在表达效率高的前导蛋白序列中^[14-16]。近期, 将真菌体内半乳糖代谢(galactose metabolism, GAL)基因群作为同义密码子使用模式与高表达基因相关性的研究工具, Labella 等发现 CUG-Ser1 进化分支中优势密码子往往出现在与人类息息相关的真菌 GAL 基因群中, 有效提升了真菌乳糖代谢相关的生命活动效率^[17]。

核糖体图谱技术的推广和应用^[18], 为深入研究单体同义密码子使用模式对翻译延伸速率的影响提供了技术支持。在核糖体扫描翻译 mRNA 链的过程中, A 位点与 P 位点的密码子受到核糖体保护不会被核酸酶降解, 这意味着核糖体在特定 mRNA 链上的分布密度可间接反映同义密码子对翻译延伸速率的影响^[19-20]。2021 年, Frye 等利用 Perl 语言建立了 CONCUR 算法, 将核糖体分布密度数据与密码子在核糖体 A、P、E 位点和彼此邻近位点的出现频率相结合, 进一步提高了评估密码子影响翻译延伸速率的精确性^[21]。随着生物技术的不断发展, 在对 HEK 293T 细胞特定基因以及多功能干细胞(pluripotent embryonic stem cell)基因群的密码子使用偏嗜性对于翻译延伸影响的研究中, 通过核糖体图谱技术精确解析了同义密码子介导的 tRNA 摆动性识别的不同环节, 以及 tRNA 关键核酸位点化学修饰对翻译延伸速率的影响^[22-23]。这些研究以不同切入点证明了同

义密码子导致的摆动性可以对翻译延伸速率产生影响, 但目前仍需对其原理进行多角度的深入研究。

1.1 tRNA 识别摆动性对翻译延伸的影响

在核糖体扫描翻译过程中, 氨酰-tRNA 与 A 位点同义密码子的摆动性识别会降低翻译延伸速率。在秀丽隐杆线虫和 HeLa 细胞中, 识别并结合 NNU 和 NNC 密码子的同工受体 tRNA 相同, 但 GU 在配对过程中的摆动性识别要比 Watson-Crick 碱基配对原则指导下的 GC 配对的摆动性识别速率慢很多^[24]。此外, 在酵母菌利用同义密码子 CGA 编码精氨酸以及 CCG 编码脯氨酸的过程中, 氨酰-tRNA 利用识别摆动性进行 IA 和 UG 碱基配对, 以实现相应密码子位点处翻译延伸速率的降低^[25]。其中, tRNA 反密码子环 34 位碱基修饰对提升特定氨酰-tRNA 与同义密码子摆动性识别速率意义重大。例如, tRNA^{Glu} 中 34 位的尿嘧啶未经修饰时, 谷氨酸的两种同义密码子与同工受体 tRNA 摆动性识别会使翻译延伸速率出现差异^[26]。这种影响不只存在于上述位点中, 无独有偶, tRNA 分子中其他位点碱基的高频修饰也能够“迎合”特定外界环境改变或者调控特定密码子使用模式基因的表达^[27-28]。生物工程菌及细胞在外源基因的高效表达中发挥着关键作用, 在此过程中, tRNA 化学修饰在扩容识别同义密码子种类的同时, 对目的蛋白翻译速率及精准性的影响仍需进一步探究。

1.2 tRNA 含量对翻译延伸的影响

除了 tRNA 修饰对同义密码子的识别摆动性以外, 不同含量氨酰-tRNA 进入核糖体 A 位点与同义密码子结合的效率差异也是影响翻译延伸速率的重要原因。这是因为低含量氨酰-tRNA 与 A 位点同义密码子识别通常比高含量氨酰-tRNA 识别所耗费的时间更多。例如,

当 T 淋巴细胞受到免疫刺激分化增殖时, tRNA 表达含量改变的同时, tRNA 的两种修饰活性, 即怀丁苷(wybutosine)和 2 甲硫基-N6-苏氨酰氨基甲腺苷($\text{ms}^2\text{t6A}$)等化学修饰降低^[2]。此外, 人肺癌细胞在分化、克隆化和浸润感染过程中, 与 tRNA 甲基转移酶复合物相关的 METTL1 与 WDR4 基因的密码子使用模式对癌细胞中 tRNA 修饰活性而言非常重要, 而且癌细胞中相关基因密码子使用模式有别于正常细胞^[29]。不只细胞在适应外界环境时会出现 tRNA 表达含量与化学修饰方面的改变, 后生动物的典型代表——线虫在缺氧环境刺激下, 也会通过调节 tRNA 表达含量来整体调控体细胞蛋白的翻译效率, 最终适应缺氧环境^[30]。但这并不能说明 tRNA 表达含量决定了新生多肽链的翻译延伸速率, 还需要考虑新生多肽链翻译延伸过程中的物质供给、细胞状态、细胞周期和蛋白构象等多种因素。为了确定 tRNA 表达含量是否单独产生影响, 借助核糖体图谱技术将特定 tRNA 的表达含量降低到原来的 30% 后发现, 目标蛋白在翻译延伸速率上所受影响较小^[30]。这进一步体现出 tRNA 在介导翻译延伸速率的过程中并非单一地通过调节其表达水平来进行调控, 即翻译延伸速率影响因素具有复杂性和多元性。这种现象的出现可能与 tRNA 绝对含量、氨酰-tRNA 与同义密码子摆动性识别效率、同源 tRNA 与近同源 tRNA (near-cognate tRNAs) 在对同义密码子竞争识别配对等息息相关^[31]。依托大肠杆菌表达系统, Smith 等在分析富含赖氨酸多肽极性对翻译延伸速率影响的过程中, 发现 mRNA 与 tRNA 化学修饰作为一种重要的翻译速率调控机制, 需要 mRNA 序列特征与表达多肽极性特征共同作用^[32]。

结合上述研究成果, 利用核糖体图谱技术深入研究单个氨酰-tRNA 在细胞中的绝对浓

度、氨酰-tRNA 参与翻译过程的有效浓度, 以及同源和近源 tRNA 之间的竞争对多肽链合成速率调控的作用将成为日后研究的重点。这些研究引导生物工程领域的研究人员在利用工程菌表达外源蛋白的过程中, 充分考虑目标蛋白多肽极性、编码基因同义密码子使用模式与宿主菌的相容性和工程菌活性状态等因素, 从而使表达出的目标蛋白空间构象更接近其自然状态。

2 密码子联合体对翻译延伸速率的影响

虽然核糖体图谱技术极大地提高了单个同义密码子在翻译延伸中的“分辨率”, 但从核糖体结构特点出发, 核糖体不同位点(E、P 和 A 位点)与同义密码子联合体在翻译延伸中的作用也不容小觑。核糖体对 mRNA 序列的扫描并非简单的“火车与刚性铁轨”, 所以在研究中还需考虑同义密码子使用模式对 mRNA 序列二级结构的影响, 以及核糖体扫描翻译具有高度复杂拓扑结构 mRNA 时产生解旋等因素。上述影响因素在疫苗设计、临床治疗和生物工程高效表达等领域具有重要意义^[33]。例如, 针对特定同义密码子家族成员进行使用模式的替换, 基因翻译起始区域所形成的 RNA 二级结构的稳定性会发生改变, 进而影响 RNA 半衰期和核糖体扫描翻译 mRNA 序列的难易程度。在对不同 RNA 病毒基因组同义密码子使用模式的遗传学特点分析中, 不难发现同义密码子使用偏嗜性是病毒适应宿主细胞表达系统的一种遗传学现象, 其生物学本质就是同义密码子使用模式对 RNA 自身结构的影响, 并通过适应宿主 tRNA 表达特点来顺利实现自身蛋白的高效表达^[9,34-36]。

随着对同义密码子使用模式在生物进化和生命活动中作用研究的不断深入, 研究人员发现同义密码子很大程度上是与其周围邻近核苷酸甚至邻近密码子密切相关的^[37-38]。为了综合分析进入核糖体 E、A 和 P 位点(尤其是 A 和 P 位点)密码子对翻译延伸的影响, 研究人员引入了密码子二联体(codon pair)这一概念。这有助于解释核糖体扫描翻译过程所受到的无义和错义密码子(nonsense and missense codon)的干扰。随着研究对象范围的不断扩大, 研究人员发现密码子二联体使用模式的偏嗜性具有普适性, 这一发现已在物种进化过程的遗传动力学特性分析研究中得到应用^[39]。关于密码子二联体使用偏嗜性是否会影响核糖体扫描翻译过程的问题, 结合翻译延伸过程(图 1)、tRNA 在细胞中表达水平以及某些特定密码子二联体使用频率极低等研究结果, 我们认为密码子二联体除了影响 mRNA 稳定性之外, 还能在核糖体 P 和 A 位点调节多肽链的翻译延伸以及空间构象的形成。

近年来, 研究人员以流感病毒为研究模型, 将病毒基因组中特定密码子二联体使用偏嗜性进行了弱化, 发现病毒基因组的稳定性明显降低、病毒蛋白产量减少, 最终导致病毒毒力减弱^[40]。这种在表达过程中对密码子二联体使用模式变化的敏感性不仅发生在病毒基因组中, 原核生物和真核生物细胞基因也存在着相同的现象。Huang 等以毕赤酵母(*Pichia pastoris*)为研究对象, 将 2 种报告基因(*MT1-MMP E2C6* 和 *ADAM17 A9B8 scFvs*)进行了分析并对密码子二联体的使用模式进行了优化, 结果发现优化后 *MT1-MMP E2C6* 和 *ADAM17 A9B8* 的表达量均有提高, 分别是野生型的 5 倍和 7 倍^[41]。这为提高目标蛋白在工程菌株中的表达效率提供了新思路。然而, 结合我们以及同行对不同生物体基因密码子使用模式与蛋白空间结构的相关

性的分析结果来看^[10,42-45], 同义密码子的改造虽然可以不同程度地提高外源基因的表达效率, 但对稀有密码子的优化往往会以蛋白质失活为代价。我们认为, 这些稀有密码子出现在基因的特定位置(尤其是蛋白功能结构域的边界处)是为了更好地参与核糖体扫描翻译过程中多肽链共翻译折叠(co-translational folding)这一生物学过程(图 2)。早期研究中, 研究人员利用沙门氏菌作为宿主菌, 巧妙地运用串联组氨酸标签作为检测探头, 研究丝氨酸对应的 UCA 密码子所形成的不同密码子二联体对组氨酸标签下游基因翻译延伸的影响, 发现密码子二联体在 mRNA 二级结构稳定性方面与调低核糖体翻译延伸速率中均发挥着重要作用^[46]。同样地, 研究人员以毕赤酵母为宿主菌对内源性或者外源性基因进行密码子或密码子二联体的优化改造, 发现目标蛋白的折叠错误率明显上升^[47-48]。基于诸多研究成果, 印证了同义密码子使用模式如同无形的遗传“指挥棒”一样, 精确指导细胞中不同表达含量的 tRNA 和氨酰-tRNA 进入核糖体 A 位点, 然后以去氨酰化的状态从 E 位点解离出去, 在此过程中精准调控多肽链的延伸速度, 最终以共翻译折叠的方式实现活性功能蛋白的合成。尽管密码子二联体在控制多肽链共翻译折叠的过程中的分子机制已逐步完善, 但基于核糖体翻译复合物中 A、P 和 E 位点的联动机制, 密码子三联体(甚至是终止密码子使用模式与其周围核苷酸环境)对于多肽链延伸(终止)及折叠是否会影响翻译还需要进一步研究。

3 同义密码子使用模式在低表达基因中的生物学意义

虽然同义密码子使用模式在基因群或者特定基因中发挥翻译调控作用的过程十分复杂,

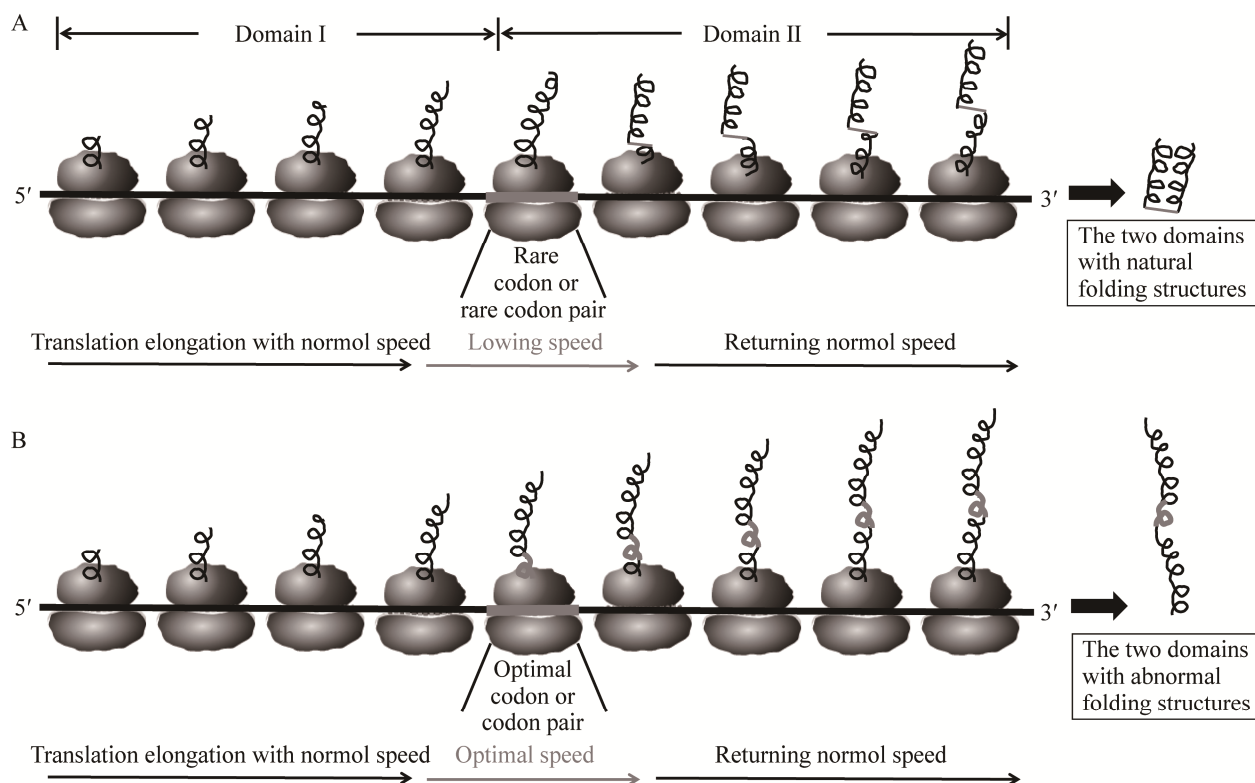


图2 核糖体扫描翻译过程中多肽链共翻译折叠 A: 特定位置稀有密码子. B: 密码子

Figure 2 Co-translational folding of polypeptide chains during ribosome scanning and translation. A: Rare codons at specific positions. B: Codons.

但是研究人员通过分析研究“抽丝剥茧”，逐一梳理出其在翻译表达各个环节的遗传学意义。我们将从同义密码子使用模式对转录物半衰期、翻译起始阶段效率、蛋白产物稳定性等方面的影响来阐述其在低表达基因中的遗传生物学意义。

3.1 同义密码子使用模式对 mRNA 稳定性的影响

早在 20 世纪 80 年代，同义密码子使用模式与 mRNA 稳定性之间的相关性就已在酵母 PGK1 基因表达的相关研究中被首次提出，随后这种相关性在关于稀有密码子对 MAT α 1 和 PGK1 基因对应 mRNA 稳定性影响的研究中得到了进一步证实^[49-50]。核糖体图谱技术在 mRNA 半衰期与基因表达相关研究中的广泛应

用，进一步证明 mRNA 稳定性是影响新生多肽链翻译延伸速率的重要因素^[51-52]。为应对不同类型翻译终止的情况，mRNA 稳定性的改变总体上可分为 3 类：(1) 由于核苷酸突变导致密码子突变为终止密码，提前终止多肽链合成致使 mRNA 降解，称为无义衰减(nonsense-mediated decay)；(2) 由于核糖体扫描翻译过程中无法顺利通过编码序列被迫中止翻译，导致翻译复合物解聚和 mRNA 降解，称为中止衰减(no-go decay)；(3) 由于核糖体扫描翻译了截断的 mRNA 或只含有 poly(A)尾巴不含终止密码子的 mRNA，导致 mRNA 衰减，称为无终止性衰减(nonstop decay)。目前，学术界对于蛋白翻译影响 mRNA 稳定性的机制大体归纳为上述三类，不难看出同义密码子使用模式的改变所导致的

RNA 二级结构(局部或者整体区域)的变化对于蛋白质表达效率十分重要。

对酵母基因组转录 mRNA 群体的稳定性进行分析发现, 使用频率高的优势同义密码子在 mRNA 稳定性方面发挥着正向作用, 反之, 使用频率极低的同义密码子则会促进 mRNA 的衰减^[53]。这并不意味着稀有密码子就是 mRNA 衰减和降低多肽链合成效率的罪魁祸首。在探究酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)体内能够降低蛋白表达的密码子是否会通过减弱 mRNA 稳定性来降低基因表达效率的研究中, Sharma 等指出这些“低表达”密码子若出现在翻译起始密码子下游则不会减弱 mRNA 的稳定性, 反而保证了蛋白的顺利表达^[51]。该结论丰富了同义密码子使用模式在不同编码区域的生物遗传学意义, 使有限长度的编码基因扩容了丰富的生物遗传信息。同义密码子使用模式对 mRNA 稳定性的影响是具有普适性的, 不仅存在于单核生物体内^[54], 高等多细胞动物同样遵循此项法则。当斑马鱼授精后, 母体向合子的转变(maternal to zygotic transition)是胚胎发育中的重要阶段, 在合子基因组执行的排他控制中, 特定密码子使用模式的形成能够促进母体基因组 mRNA 的快速降解, 确保胚胎顺利发育^[55]。同义密码子使用模式不仅可以影响 mRNA 稳定性, 进而影响胚胎发育的过程, 在利用线粒体基因在细胞核中高效表达的临床治疗技术中也有同义密码子使用模式的参与。线粒体中氧化磷酸化蛋白(oxidative phosphorylation protein)同义密码子使用模式具有很强的遗传选择性, 同义密码子使用模式的优化在一定程度上可以提高相关线粒体基因的异位表达(allotopic expression), 而且可恢复呼吸链的相关生物学活性^[56]。这些最新的研究成果表明编码基因同义密码子使用模式与 mRNA 代谢生物学活动息息相关, 由此说

明同义密码子使用模式在不同的生物学领域研究价值很大。

3.2 密码子使用对 mRNA 代谢活动的影响

Dhh1 蛋白是一种高度保守的 DEAD 基因盒解旋酶, 能够快速识别在 mRNA 链上慢速扫描翻译的核糖体, 必要时可终止新生多肽链的翻译延伸并促使 mRNA 降解。当 Dhh1 基因被敲除后, 含有非优化密码子的 mRNA 翻译依赖模式(translation-dependent manner)对半衰期有明显的延长作用, 因此提高了酵母菌体蛋白表达^[57]。然而, 以脉孢菌属(*Neurospora*)为代表的真菌在基因转录的过程中, Hhh1 和 Dbp2 基因的密码子使用模式对 mRNA 相关的代谢活动调节能力较差, 而染色质调控因子(chromatin regulator)和转录因子(transcription factor)的同义密码子使用模式对 mRNA 的代谢活动影响则很明显^[58]。上述实验均以无 RNA 编辑剪切的单体 mRNA 为研究对象, 证实了同义密码子使用模式参与了 RNA 稳定性和翻译延伸过程。关于同义密码子使用模式是否会影响 RNA 剪切编辑的问题, 研究人员以 GC 含量高的人类基因组为研究对象, 发现 RNA 剪切对高含量 GC 的 RNA 相关转录后成熟和胞质内定位的影响不大, 但对富含 AT 的 RNA 转录和运输到胞质后的定位有明显影响, 这表明人类基因组在漫长的进化过程中逐渐形成了密码子使用模式参与 RNA 代谢相关生命活动的稳定遗传特征^[59]。在秀丽线虫的生殖细胞中, Argonaute 家族蛋白将转录后的 RNA 链切割成数千种小 RNA 分子, 待切割 RNA 序列进行同义密码子优化后则会阻遏 Argonaute CSR1 对其进行切割^[60]。除了 RNA 剪切与密码子的相关性外, 同义密码子使用模式还与 RNA 甲基化息息相关。N⁶-甲基腺苷(N⁶-methyladenosine, m⁶A)是真核细胞 mRNA 中最常见的甲基化修饰, 病毒基因组中同义密

密码子使用模式在一定程度上能够影响与 m^6A 修饰活性相关的转录、运输和免疫逃避^[61]。与 m^6A 的研究相比,探究由5-甲基胞嘧啶与核糖组成的5-甲基胞苷(5-methylcytidine, m^5C)对mRNA相关生物活性影响的研究较少,但mRNA的 m^5C 活性与mRNA转位、代谢活动和翻译延伸速率密切相关^[62]。Selmi等利用交联免疫沉淀解析单核苷酸甲基化的技术(methylation-dependent individual-nucleotide resolution cross-linking and immunoprecipitation)发现,NSUN6甲基转移酶能够特异性识别3'非编码区保守的CTCCA核酸基序,并且对mRNA甲基化非常敏感,能够指导基因翻译延伸的正确终止^[63]。这也在一定程度上反映了 m^5C 、 m^6A 与mRNA代谢活动过程中同义密码子使用模式的遗传生物学特征密切相关。例如,在大肠杆菌中优化 α -淀粉酶(α -amylase)基因同义密码子使用模式后,其mRNA衰减周期缩短,胞嘧啶甲基化位点减少,使蛋白的产率明显降低^[64]。不仅如此,大肠杆菌作为一种成功的商业化表达工程菌,在表达外源基因的过程中,特定同义密码子使用模式的外源基因在转录mRNA后会对菌体产生RNA毒性作用(RNA toxicity),但可通过自身启动子的突变来降低毒性mRNA转录水平,实现对毒性mRNA的耐受^[65]。

在现有研究结果的基础上,深入研究RNA序列长度与同义密码子使用模式变化之间的互作原理,将有助于理解蛋白氨基酸长度反馈机制(protein length-dependent feedback)如何通过同义密码子使用模式的改变来介导多肽链翻译起始和影响翻译延伸速率的变化^[66]。为了降低mRNA异常突变对后续翻译的不利影响,宿主细胞逐渐进化出针对mRNA表达产物质量的监控降解机制。这涉及mRNA序列中同义密码子使用模式在翻译延伸调控中与tRNA的互作,

此外,密码子使用模式还会影响参与核糖体翻译复合物的相关蛋白因子(如分子伴侣蛋白TF、DnaK、GroEL和翻译因子Ffh等)与mRNA的特异性识别,进而调节蛋白多肽链共翻译折叠和蛋白质降解等生物学活性^[67]。人源细胞中RACK1及Asc1蛋白位于翻译复合物中mRNA出口孔道附近的小核糖体亚基上,为新生多肽依赖性翻译停滞提供条件,并通过一种未知的机制将核糖体质量控制(the ribosome quality control, RQC)复合物引入停滞的核糖体中^[68]。Asc1参与了CGA介导的酿酒酵母翻译抑制,Asc1基因的缺失有效改善了CGA密码子重复序列的通读率和移码率。此外,Ltn1作为E3泛素连接酶是RQC的组成部分,可使CGA密码子重复序列上游新生多肽靶向降解^[69]。然而,目前对RQC的研究仍不够深入,同义密码子使用模式在其中发挥的翻译延伸调控作用及与之相关的互作原理还需进一步研究。

4 结论

在核糖体扫描翻译mRNA的过程中,无论是单一mRNA还是基因组转录的mRNA群都会受到同义密码子使用模式所带来的遗传生物学效应的影响,即同义密码子使用模式对多肽链翻译延伸的调控。这种同义密码子使用模式所介导的翻译调控可以是关键基因中特定同义密码子的改变,也可以是比邻同义密码子构成的密码子联合体。除此之外,同义密码子使用模式对氨酰-tRNA修饰、mRNA二级结构稳定性、mRNA甲基化修饰等代谢活动都有很强的关联性。同义密码子使用模式对优化蛋白高效表达和研究其产生的生物学功能意义重大,将其与病毒基因组的研究紧密结合在口蹄疫病毒、牛病毒性腹泻病毒的研究中提供了极大帮助。虽然越来越多的证据支持密码子使用模式

的上述遗传生物学特征, 但是关于减缓核糖体作用的具体机制、延伸和输出之间的耦合以及密码子功能的全谱分析, 还有待进一步探究。

REFERENCES

- [1] BEHRENS A, RODSCHINKA G, NEDIALKOVA DD. High-resolution quantitative profiling of tRNA abundance and modification status in eukaryotes by mim-tRNAseq[J]. *Molecular Cell*, 2021, 81(8): 1802-1815.e7.
- [2] RAK R, POLONSKY M, EIZENBERG-MAGAR I, MO YF, SAKAGUCHI Y, MIZRAHI O, NACHSHON A, REICH-ZELIGER S, STERN-GINOSSAR N, DAHAN O, SUZUKI T, FRIEDMAN N, PILPEL Y. Dynamic changes in tRNA modifications and abundance during T cell activation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(42): e2106556118.
- [3] ROBERTSON WE, FUNKE LFH, de la TORRE D, FREDENS J, ELLIOTT TS, SPINCK M, CHRISTOVA Y, CERVETTINI D, BÖGE FL, LIU KC, BUSE S, MASLEN S, SALMOND GPC, CHIN JW. Sense codon reassignment enables viral resistance and encoded polymer synthesis[J]. *Science*, 2021, 372(6546): 1057-1062.
- [4] SCHMITZ A, ZHANG FZ. Massively parallel gene expression variation measurement of a synonymous codon library[J]. *BMC Genomics*, 2021, 22(1): 149.
- [5] LIU Y, YANG Q, ZHAO FZ. Synonymous but not silent: the codon usage code for gene expression and protein folding[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2021, 90: 375-401.
- [6] TIAN J, YAN YR, YUE QX, LIU XQ, CHU XY, WU NF, FAN YL. Predicting synonymous codon usage and optimizing the heterologous gene for expression in *E. coli*[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 9926.
- [7] CAO XA, HU W, SHANG YJ, LIU YS, HAN SY, WANG YN, ZHAO L, LI XR, ZHOU JH. Analyses of nucleotide, synonymous codon and amino acid usages at gene levels of *Brucella melitensis* strain QY1[J]. *Infect Genet Evol*, 2018; 65: 257-264.
- [8] MA XX, WANG YN, CAO XA, LI XR, LIU YS, ZHOU JH, CAI XP. The effects of codon usage on the formation of secondary structures of nucleocapsid protein of peste des petits ruminants virus[J]. *Genes & Genomics*, 2018, 40(9): 905-912.
- [9] ZHOU JH, SU JH, CHEN HT, ZHANG J, MA LN, DING YZ, STIPKOVITS L, SZATHMARY S, PEJSACK Z, LIU YS. Clustering of low usage codons in the translation initiation region of hepatitis C virus[J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2013, 18: 8-12.
- [10] GAO ZL, ZHOU JH, ZHANG J, DING YZ, LIU YS. The silent point mutations at the cleavage site of 2A/2B have no effect on the self-cleavage activity of 2A of foot-and-mouth disease virus[J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2014, 28: 101-106.
- [11] ZHOU JH, ZHANG J, CHEN HT, MA LN, DING YZ, PEJSACK Z, LIU YS. The codon usage model of the context flanking each cleavage site in the polyprotein of foot-and-mouth disease virus[J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2011, 11(7): 1815-1819.
- [12] 肇涛澜, 张硕, 钱文峰. 翻译延伸的顺式调控机理与生物学效应[J]. *遗传*, 2020, 42(7): 613-631.
- ZHAO TL, ZHANG S, QIAN WF. Cis-regulatory mechanisms and biological effects of translation elongation[J]. *Hereditas*, 2020, 42(7): 613-631 (in Chinese).
- [13] SØRENSEN MA, PEDERSEN S. Absolute *in vivo* translation rates of individual codons in *Escherichia coli*. The two glutamic acid codons GAA and GAG are translated with a threefold difference in rate[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1991, 222(2): 265-280.
- [14] MA XX, FENG YP, GU YX, ZHOU JH, MA ZR. Effect of the nucleotides surrounding the start codon on the translation of foot-and-mouth disease virus RNA[J]. *Acta Virologica*, 2016, 60(2): 151-155.
- [15] ZHOU Y, REN Y, DAI G, LI X, XIANG Y, ZHANG J, JIANG Y, JIANG S, HOU X, ZHU Z, WU R. Genetic characterization and clinical characteristics of bovine viral diarrhoea viruses in cattle herds of Heilongjiang Province, China[J]. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 2022, 23(1): 69-73.
- [16] ZHOU JH, ZHANG J, SUN DJ, MA Q, MA B, PEJSACK Z, CHEN HT, MA LN, DING YZ, LIU YS. Potential roles of synonymous codon usage and tRNA concentration in hosts on the two initiation regions of foot-and-mouth disease virus RNA[J]. *Virus Research*, 2013, 176(1/2): 298-302.
- [17] LABELLA AL, OPULENTE DA, STEENWYK JL, HITTINGER CT, ROKAS A. Signatures of optimal codon usage in metabolic genes inform budding yeast ecology[J]. *PLoS Biology*, 2021, 19(4): e3001185.
- [18] 魏康宁, 崔俊霞, 王梦蕾, 王丽, 李用芳. 翻译组研究技术进展[J]. *生物技术通报*, 2019, 35(7): 222-229.
- WEI KN, CUI JX, WANG ML, WANG L, LI YF.

- Advances in the techniques of studying translome[J]. Biotechnology Bulletin, 2019, 35(7): 222-229 (in Chinese).
- [19] KINIRY SJ, MICHEL AM, BARANOV PV. Computational methods for ribosome profiling data analysis[J]. Wiley Interdisciplinary Reviews RNA, 2020, 11(3): e1577.
- [20] WANG YR, ZHANG H, LU J. Recent advances in ribosome profiling for deciphering translational regulation[J]. Methods, 2020, 176: 46-54.
- [21] FRYE M, BORNELÖV S. CONCUR: quick and robust calculation of codon usage from ribosome profiling data[J]. Bioinformatics, 2021, 37(5): 717-719.
- [22] ALEXAKI A, KAMES J, HETTIARACHCHI GK, ATHEY JC, KATNENI UK, HUNT RC, HAMASAKI-KATAGIRI N, HOLCOMB DD, DiCUCCIO M, BAR H, KOMAR AA, KIMCHI-SARFATY C. Ribosome profiling of HEK293T cells overexpressing codon optimized coagulation factor IX[J]. F1000Research, 2020, 9: 174.
- [23] BORNELÖV S, SELMI T, FLAD S, DIETMANN S, FRYE M. Codon usage optimization in pluripotent embryonic stem cells[J]. Genome Biology, 2019, 20(1): 119.
- [24] PHIZICKY EM, HOPPER AK. tRNA biology charges to the front[J]. Genes & Development, 2010, 24(17): 1832-1860.
- [25] LAREAU LF, HITE DH, HOGAN GJ, BROWN PO. Distinct stages of the translation elongation cycle revealed by sequencing ribosome-protected mRNA fragments[J]. eLife, 2014, 3: 01257.
- [26] ZUKO A, MALLIK M, THOMPSON R, SPAULDING EL, WIENAND AR, BEEN M, TADENEV ALD, van BN, SIJLMANS C, SANTOS LA, BUSSMANN J, CATINOZZI M, DAS S, KULSHRESTHA D, BURGESS RW, IGNATOVA Z, STORKEBAUM E. tRNA overexpression rescues peripheral neuropathy caused by mutations in tRNA synthetase[J]. Science. 2021 Sep 3; 373(6559): 1161-1166.
- [27] ZHANG W, FOO M, EREN AM, PAN T. tRNA modification dynamics from individual organisms to metaepitranscriptomics of microbiomes[J]. Molecular Cell, 2022, 82(5): 891-906.
- [28] YU NX, JORA M, SOLIVIO B, THAKUR P, ACEVEDO-ROCHA CG, RANDAU L, de CRÉCY-LAGARD V, ADDEPALLI B, LIMBACH PA. tRNA modification profiles and codon-decoding strategies in *Methanocaldococcus jannaschii*[J]. Journal of Bacteriology, 2019, 201(9): e00690-e00618.
- [29] MA JY, HAN H, HUANG Y, YANG CL, ZHENG SY, CAI TC, BI J, HUANG XH, LIU RM, HUANG LB, LUO YF, LI W, LIN SB. METTL1/WDR4-mediated m⁷G tRNA modifications and m⁷G codon usage promote mRNA translation and lung cancer progression[J]. Molecular Therapy: the Journal of the American Society of Gene Therapy, 2021, 29(12): 3422-3435.
- [30] ITANI OA, ZHONG XF, TANG XT, SCOTT BA, YAN JY, FLIBOTTE S, LIM Y, HSIEH AC, BRUCE JE, van GILST M, CROWDER CM. Coordinate regulation of ribosome and tRNA biogenesis controls hypoxic injury and translation[J]. Current Biology, 2021, 31(1): 128-137.e5.
- [31] EYLER DE, FRANCO MK, BATOOL Z, WU MZ, DUBUKE ML, DOBOSZ-BARTOSZEK M, JONES JD, POLIKANOV YS, ROY B, KOUTMOU KS. Pseudouridylation of mRNA coding sequences alters translation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2019, 116(46): 23068-23074.
- [32] SMITH TJ, TARDU M, KHATRI HR, KOUTMOU KS. mRNA and tRNA modification states influence ribosome speed and frame maintenance during poly (lysine) peptide synthesis[J]. Journal of Biological Chemistry, 2022, 298(6): 102039.
- [33] TO KKW, CHO WCS. An overview of rational design of mRNA-based therapeutics and vaccines[J]. Expert Opinion on Drug Discovery, 2021, 16(11): 1307-1317.
- [34] ZHOU JH, LI XR, LAN X, HAN SY, WANG YN, HU YH, PAN QW. The genetic divergences of codon usage shed new lights on transmission of hepatitis E virus from swine to human[J]. Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases, 2019, 68: 23-29.
- [35] LIU YS, ZHOU JH, CHEN HT, MA LN, PEJSKAK Z, DING YZ, ZHANG J. The characteristics of the synonymous codon usage in enterovirus 71 virus and the effects of host on the virus in codon usage pattern[J]. Infection, Genetics and Evolution, 2011, 11(5): 1168-1173.
- [36] ZHOU JH, ZHANG J, SUN DJ, MA Q, CHEN HT, MA LN, DING YZ, LIU YS. The distribution of synonymous codon choice in the translation initiation region of dengue virus[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e77239.

- [37] MORTON BR. Context-dependent mutation dynamics, not selection, explains the codon usage bias of most angiosperm chloroplast genes[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2022, 90(1): 17-29.
- [38] SAWYER JK, KABIRI Z, MONTAGUE RA, ALLEN SR, STEWART R, PARAMORE SV, COHEN E, ZARIBAFZADEH H, COUNTER CM, FOX DT. Exploiting codon usage identifies intensity-specific modifiers of Ras/MAPK signaling *in vivo*[J]. *PLoS Genetics*, 2020, 16(12): e1009228.
- [39] ALEXAKI A, KAMES J, HOLCOMB DD, ATHEY J, SANTANA-QUINTERO LV, LAM PVN, HAMASAKI-KATAGIRI N, OSIPOVA E, SIMONYAN V, BAR H, KOMAR AA, KIMCHI-SARFATY C. Codon and codon-pair usage tables (CoCoPUTs): facilitating genetic variation analyses and recombinant gene design[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2019, 431(13): 2434-2441.
- [40] GROENKE N, TRIMPERT J, MERZ S, CONRADIE AM, WYLER E, ZHANG HW, HAZAPIS OG, RAUSCH S, LANDTHALER M, OSTERRIEDER N, KUNEC D. Mechanism of virus attenuation by codon pair deoptimization[J]. *Cell Reports*, 2020, 31(4): 107586.
- [41] HUANG YD, LIN T, LU LF, CAI F, LIN J, JIANG YE, LIN Y. Codon pair optimization (CPO): a software tool for synthetic gene design based on codon pair bias to improve the expression of recombinant proteins in *Pichia pastoris*[J]. *Microbial Cell Factories*, 2021, 20(1): 209.
- [42] ZHOU JH, YOU YN, CHEN HT, ZHANG J, MA LN, DING YZ, PEJSAK Z, LIU YS. The effects of the synonymous codon usage and tRNA abundance on protein folding of the 3C protease of foot-and-mouth disease virus[J]. *Infection, Genetics and Evolution*, 2013, 16: 270-274.
- [43] KOMAR AA. Synonymous codon usage-a guide for Co-translational protein folding in the cell[J]. *Molekuliarnaia Biologiia*, 2019, 53(6): 883-898.
- [44] LIU Y. A code within the genetic code: codon usage regulates co-translational protein folding[J]. *Cell Communication and Signaling: CCS*, 2020, 18(1): 145.
- [45] PARVATHY ST, UDAYASURIYAN V, BHADANA V. Codon usage bias[J]. *Molecular Biology Reports*, 2022, 49(1): 539-565.
- [46] HAN SY, HU W, KAN W, GE ZY, SONG XY, LI LX, SHANG YJ, ZENG QY, ZHOU JH. Analyses of genetics and pathogenesis of *Salmonella enterica* QH with narrow spectrum of antibiotic resistance isolated from yak[J]. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 2020, 82: 104293.
- [47] XU YC, LIU KS, HAN Y, XING YZ, ZHANG YX, YANG QY, ZHOU M. Codon usage bias regulates gene expression and protein conformation in yeast expression system *P. pastoris*[J]. *Microbial Cell Factories*, 2021, 20(1): 91.
- [48] LIU KS, OUYANG YQ, LIN R, GE CY, ZHOU M. Strong negative correlation between codon usage bias and protein structural disorder impedes protein expression after codon optimization[J]. *Journal of Biotechnology*, 2022, 343: 15-24.
- [49] HENNIGAN AN, JACOBSON A. Functional mapping of the translation-dependent instability element of yeast MAT α 1 mRNA[J]. *Mol Cell Biol*, 1996, 16(7): 3833-43.
- [50] LAGRANDEUR T, PARKER R. The cis acting sequences responsible for the differential decay of the unstable MFA2 and stable PGK1 transcripts in yeast include the context of the translational start codon[J]. *RNA*, 1999, 5(3): 420-33.
- [51] SHARMA AK, VENEZIAN J, SHIBER A, KRAMER G, BUKAU B, O'BRIEN EP. Combinations of slow-translating codon clusters can increase mRNA half-life in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(51): e2026362118.
- [52] MAUGER DM, CABRAL BJ, PRESNYAK V, SU SV, REID DW, GOODMAN B, LINK K, KHATWANI N, REYNDERS J, MOORE MJ, McFADYEN IJ. mRNA structure regulates protein expression through changes in functional half-life[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(48): 24075-24083.
- [53] GINGOLD H, DAHAN O, PILPEL Y. Dynamic changes in translational efficiency are deduced from codon usage of the transcriptome[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(20): 10053-63.
- [54] BOËL G, LETSO R, NEELY H, PRICE WN, WONG KH, SU M, LUFF JD, VALECHA M, EVERETT JK, ACTON TB, XIAO R, MONTELIONE GT, AALBERTS DP, HUNT JF. Codon influence on protein expression in *E. coli* correlates with mRNA levels[J]. *Nature*, 2016, 529(7586): 358-363.
- [55] BAZZINI AA, del VISO F, MORENO-MATEOS MA, JOHNSTONE TG, VEJNAR CE, QIN YD, YAO J, KHOKHA MK, GIRALDEZ AJ. Codon identity

- regulates mRNA stability and translation efficiency during the maternal-to-zygotic transition[J]. *The EMBO Journal*, 2016, 35(19): 2087-2103.
- [56] LEWIS CJ, DIXIT B, BATIUK E, HALL CJ, O'CONNOR MS, BOOMINATHAN A. Codon optimization is an essential parameter for the efficient allotopic expression of mtDNA genes[J]. *Redox Biology*, 2020, 30: 101429.
- [57] COURTEMACHE M, GLASS L, ROSENGARTEN MD, GOLDBERGER AL. Beyond pure parasystole: promises and problems in modeling complex arrhythmias[J]. *The American Journal of Physiology*, 1989, 257(2 Pt 2): H693-H706.
- [58] ZHAO FZ, ZHOU ZP, DANG YK, NA H, ADAM C, LIPZEN A, NG V, GRIGORIEV IV, LIU Y. Genome-wide role of codon usage on transcription and identification of potential regulators[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(6): e2022590118.
- [59] MORDSTEIN C, SAVISAAR R, YOUNG RS, BAZILE J, TALMANE L, LUFT J, LISS M, TAYLOR MS, HURST LD, KUDLA G. Codon usage and splicing jointly influence mRNA localization[J]. *Cell Systems*, 2020, 10(4): 351-362.e8.
- [60] SINGH M, CORNES E, LI B, QUARATO P, BOURDON L, DINGLI F, LOEW D, PROCCACIA S, CECERE G. Translation and codon usage regulate argonaute slicer activity to trigger small RNA biogenesis[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 3492.
- [61] MORDSTEIN C, CANO L, MORALES AC, YOUNG B, HO AT, RICE AM, LISS M, HURST LD, KUDLA G. Transcription, mRNA export, and immune evasion shape the codon usage of viruses[J]. *Genome Biology and Evolution*, 2021, 13(9): evab106.
- [62] LIU JH, HUANG T, ZHANG YS, ZHAO TX, ZHAO XN, CHEN WY, ZHANG R. Sequence- and structure-selective mRNA m⁵C methylation by NSUN₆ in animals[J]. *National Science Review*, 2021, 8(6): nwaa273.
- [63] SELMI T, HUSSAIN S, DIETMANN S, HEIß M, BORLAND K, FLAD S, CARTER JM, DENNISON R, HUANG YL, KELLNER S, BORNELÖV S, FRYE M. Sequence- and structure-specific cytosine-5 mRNA methylation by NSUN₆[J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(2): 1006-1022.
- [64] XING YZ, GONG RQ, XU YC, LIU KS, ZHOU M. Codon usage bias affects α -amylase mRNA level by altering RNA stability and cytosine methylation patterns in *Escherichia coli*[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2020, 66(9): 521-528.
- [65] MITTAL P, BRINDLE J, STEPHEN J, PLOTKIN JB, KUDLA G. Codon usage influences fitness through RNA toxicity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(34): 8639-8644.
- [66] LYU XL, YANG Q, ZHAO FZ, LIU Y. Codon usage and protein length-dependent feedback from translation elongation regulates translation initiation and elongation speed[J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(16): 9404-9423.
- [67] ROJANO-NISIMURA AM, HANING KT, JANOVSKY J, VASQUEZ KA, THOMPSON JP, CONTRERAS LM. Codon selection affects recruitment of ribosome-associating factors during translation[J]. *ACS Synthetic Biology*, 2020, 9(2): 329-342.
- [68] 郑丽玉, 姚人骐, 姚咏明. 核糖体相关质量控制与核糖体自噬研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2022, 49(9): 1648-1657.
- ZHENG LY, YAO RQ, YAO YM. Update advances in ribosome-associated quality control and ribophagy[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2022, 49(9): 1648-1657 (in Chinese).
- [69] LETZRING DP, WOLF AS, BRULE CE, GRAYHACK EJ. Translation of CGA codon repeats in yeast involves quality control components and ribosomal protein L1[J]. *RNA (New York, N Y)*, 2013, 19(9): 1208-1217.