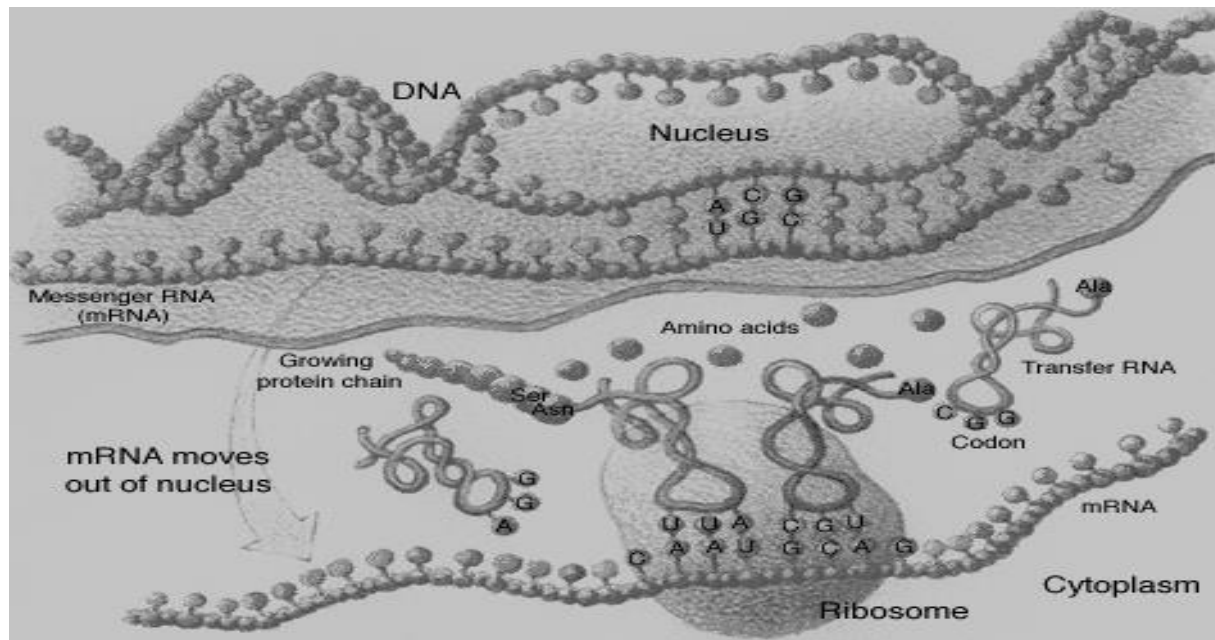


第十一章 RNA的生物合成

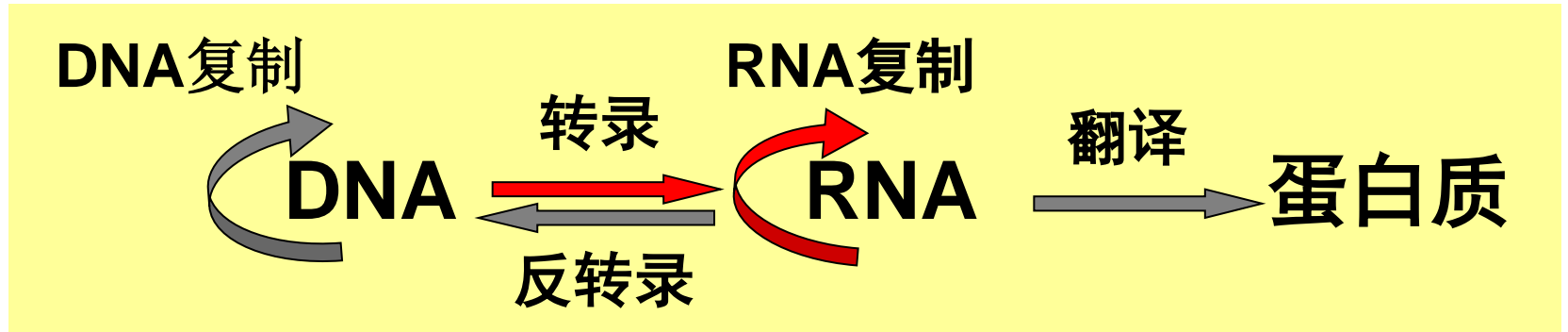
CHAPTER 11 RNA BIOSYNTHESIS



本章要求

1. 掌握转录体系中的原料、模板、酶等
2. 熟悉转录的基本过程
3. 了解原核生物和真核生物转录过程的异同
4. 掌握真核mRNA加工的主要形式及特点
5. 熟悉tRNA和rRNA加工的主要方式
6. 了解RNA复制的概念及意义

RNA生物合成



- 转录 (transcription) : DNA指导的 RNA合成

DNA $\xrightarrow{\text{转录}}$ RNA前体 $\xrightarrow{\text{加工}}$ 成熟RNA

- RNA复制 (RNA replication) : RNA指导的 RNA合成

第一节 转录体系

转录 (transcription)

在RNA聚合酶催化下，以DNA为模板，以4种三磷酸核苷（ATP, GTP, CTP, UTP）为原料进行的RNA聚合反应。



DNA-dependent RNA synthesis

一、转录体系及其特点

- 模板：DNA

- 碱基配对规律：

{	DNA —	A	G	C	T
		↓	↓	↓	↓
	RNA —	U	C	G	A

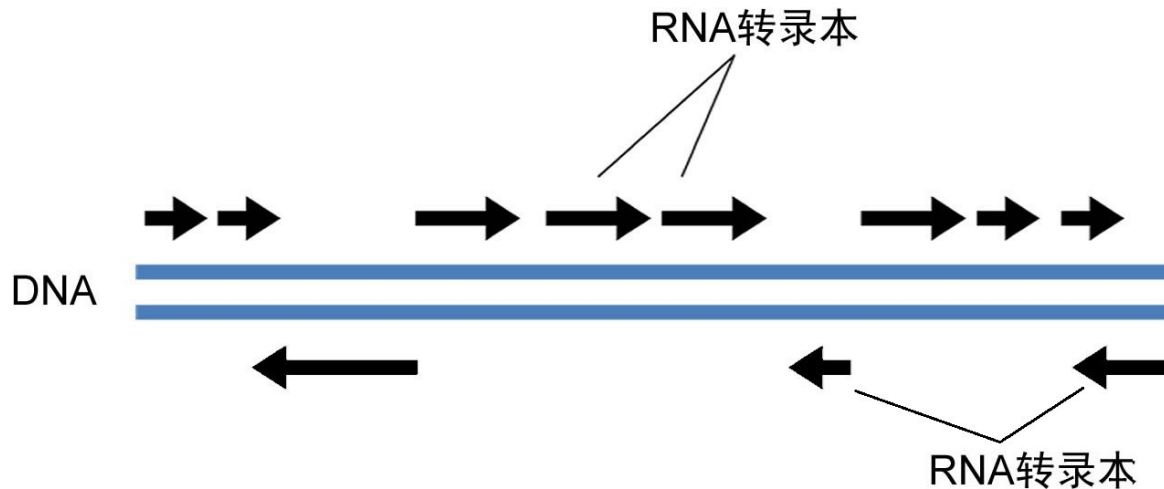
- RNA核苷酸连接方式：3',5'-磷酸二酯键

- 方向：5'→3'，合成过程是连续的，不需引物

- 方式：不对称转录 (asymmetric transcription)

不对称转录 (asymmetric transcription)

不同基因的模板链在DNA分子中并不固定，对同一条DNA单链而言，在某个基因区段可作为模板链，而在另一个基因区段则可能是编码链，这种现象称为不对称转录。



模板链 (template strand)

编码链 (coding strand)

5'-CGCATATTGCGTTAA-3'

DNA编码链 (非模板链)

3'-GCGTATAACGCAATT-5'

DNA模板链

5'-CGCAUAAUUGCGUUA-3'

RNA转录本

转录体系

- 原料: NTP (ATP, GTP, CTP, UTP)
- 模板: DNA的一条链 (template strand)
- 酶: RNA聚合酶 (RNA polymerase, RNA-pol)
- 无机离子: Mg^{2+} , Mn^{2+}
- 其他蛋白质因子: 转录因子, 终止因子

二、RNA聚合酶

RNA polymerase

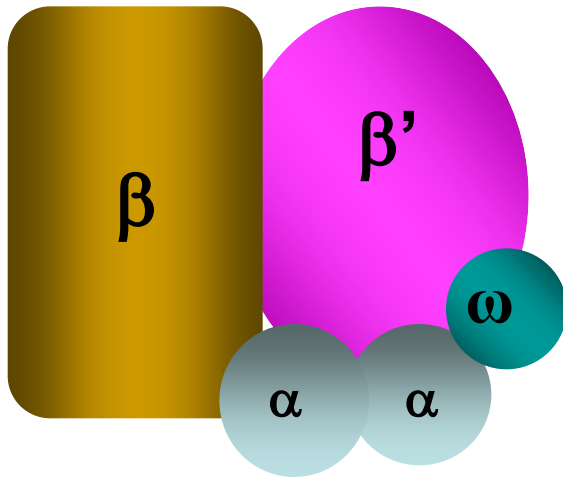
全称： 依赖DNA的RNA聚合酶

(DNA-dependent RNA polymerase)

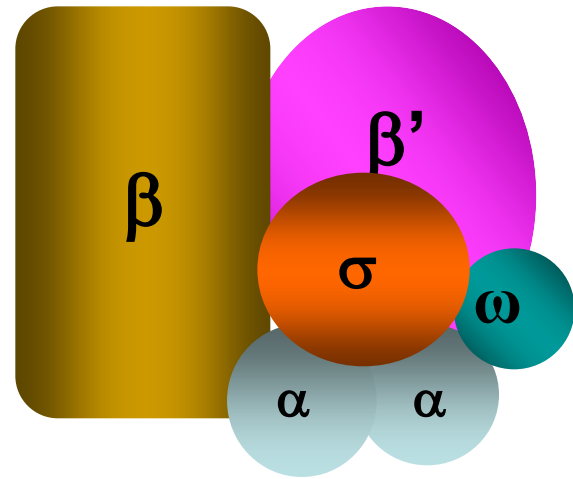
简称： RNA pol

(一) 原核生物RNA聚合酶

- 结构:



核心酶 (core enzyme)
 $\alpha_2\beta\beta'\omega$

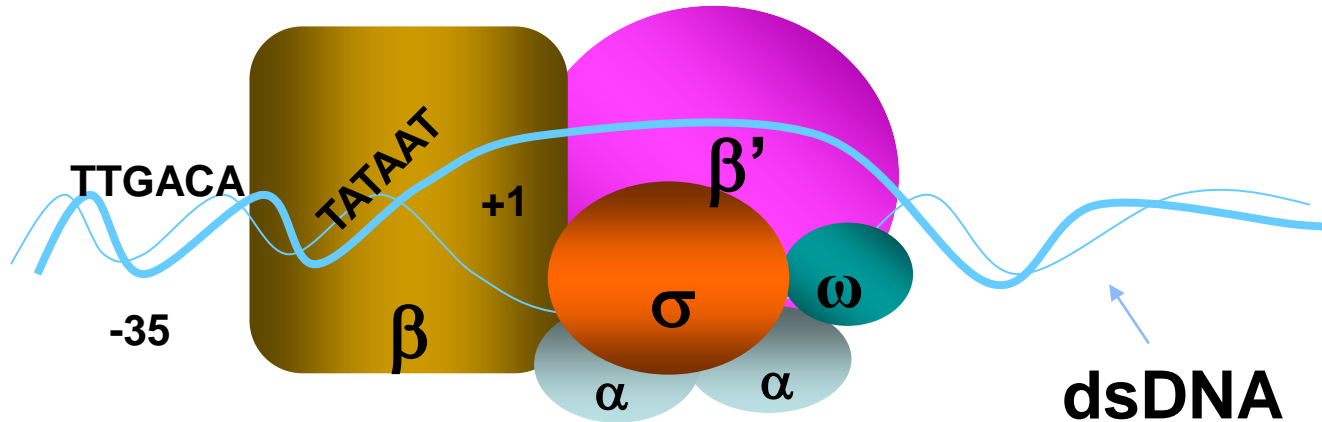


全酶 (holoenzyme)
 $\alpha_2\beta\beta'\omega\sigma$

● 原核RNA 聚合酶各亚基的作用

亚基	分子量	亚基数	功 能
α	36512	2	参与转录速率的调控
β	150618	1	催化聚合反应
β'	155613	1	结合DNA模板
ω	11000	1	功能不明
σ	70263	1	辨认起始点 (转录起始后脱落)

● 原核RNA聚合酶具有多种功能



1. 识别转录起始点
2. 促使DNA双链打开约13bp (-11~+2)
3. 催化NTP以3',5'-磷酸二酯键相连, 方向5'→3'
4. 识别转录终止信号

● 原核RNA聚合酶作用特点：

1. 聚合速率慢: 30~85 nt/s (DNA: 250~1000nt/s)

2. 错误率高: $10^{-4} \sim 10^{-5}$ (DNA: $10^{-9} \sim 10^{-10}$)

*RNA聚合酶有一定的校正功能

3. 活性可被利福霉素抑制 (与 β 亚基结合)

(二) 真核生物RNA聚合酶

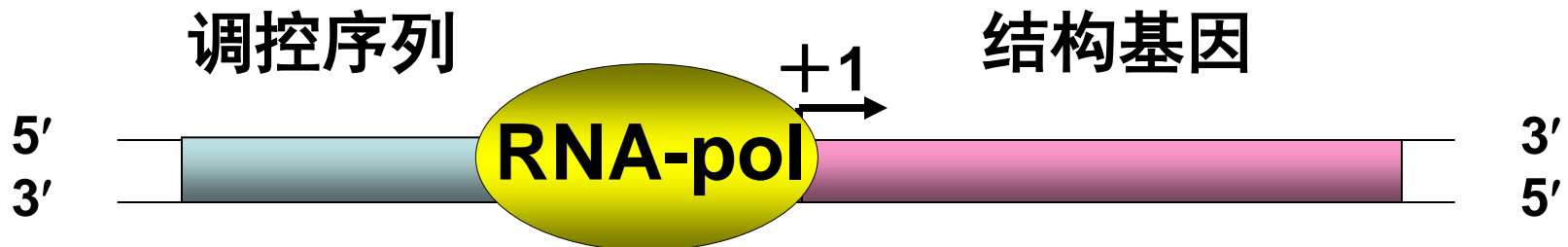
种类	I	II	III	Mt
定位	核仁	核质	核质	线粒体
转录产物	5.8S/18S/28S rRNA前体	mRNA前体 U1,U2,U4, U5 snRNA 前体	tRNA 前体 5S rRNA前 体 U6snRNA 前体	线粒体 RNA
利福平	不敏感	不敏感	不敏感	敏感
α -毒蕈碱	不敏感	极敏感	中等敏感	不敏感

原核生物和真核生物RNA聚合酶的亚基种类

大肠埃希菌 (核心酶)	真核 RNA聚合酶I	真核 RNA聚合酶II	真核 RNA聚合酶III
β'	RPA1	RPB1	RPC1
β	RPA2	RPB2	RPC2
α^I	RPC5	RPB3	RPC5
α^{II}	RPC9	RPB11	RPC9
ω	RPB6	RPB6	RPB6
	[+其他9种]	[+其他7种]	[+其他11种]

三、启动子与终止子

- 转录起始点 (start site)
以+1表示，一般为A或G
- 上游(upstream): 基因调控区(启动子、增强子、静息子)
- 下游(downstream): 基因转录区(结构基因、终止子)

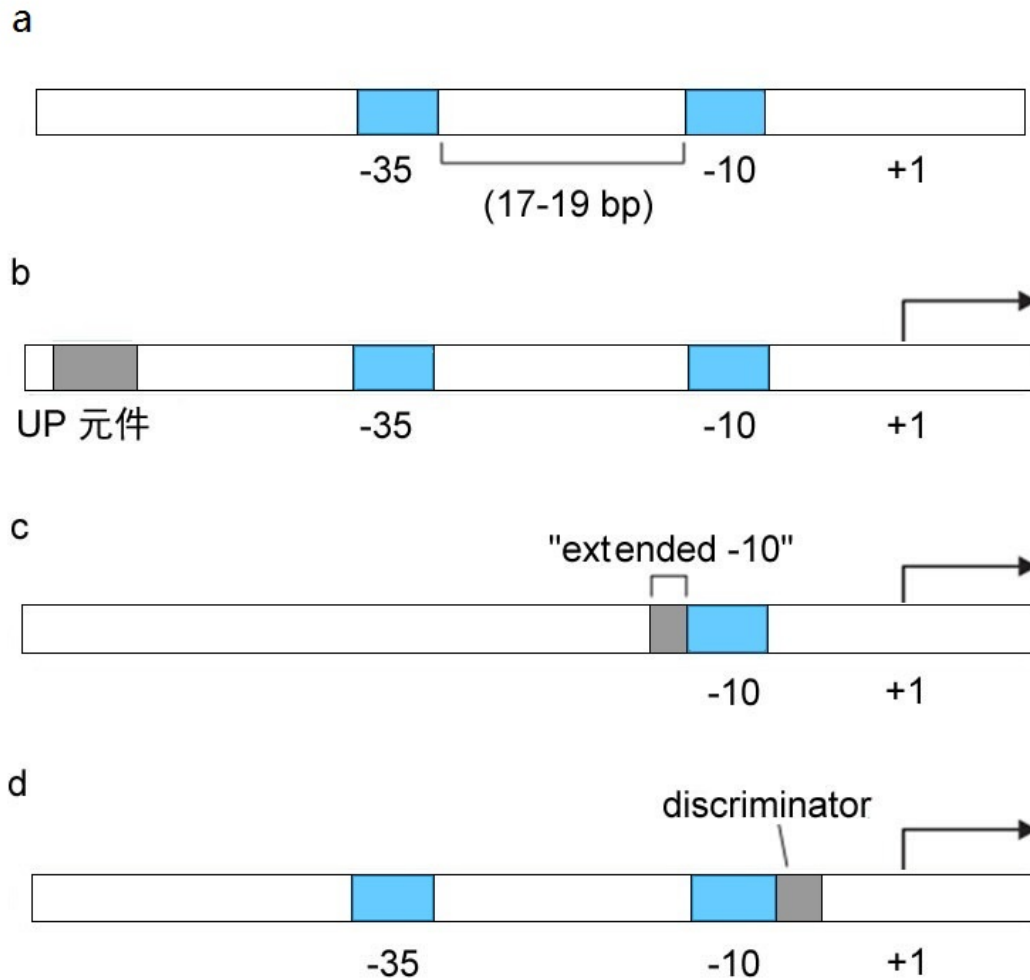


(一) 启动子 (promoter)

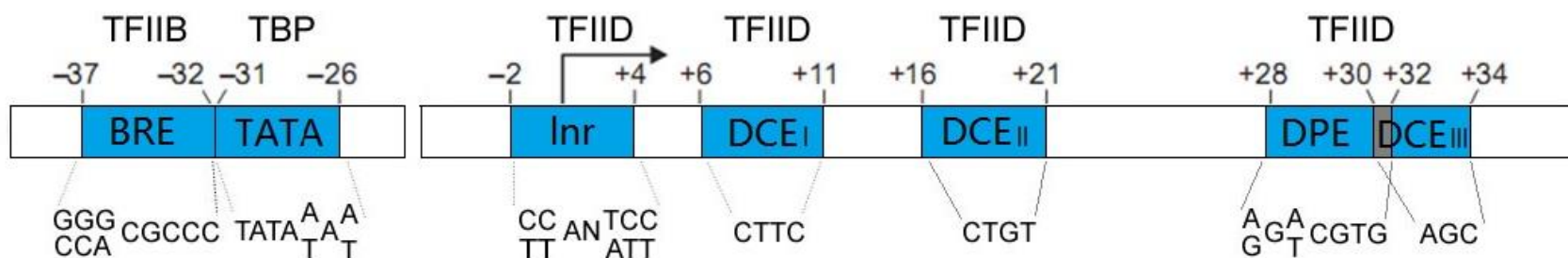
位于转录起始点上游的一段核苷酸序列，是RNA聚合酶识别并结合模板DNA的特定部位

	原核	真核
识别部位	—35区 5'-TTGACA-3'	—40～—110区 CAAT box GC box
结合部位	—10区 pribnow box 5'-TATAAT-3'	—25区 TATA box

原核生物启动子



真核生物RNA聚合酶II识别的启动子



(二) 终止子 (terminator)

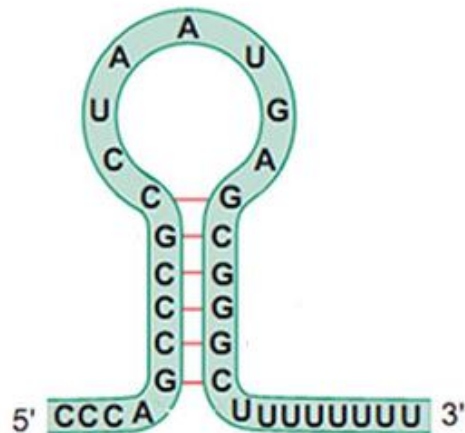
DNA模板中，具有转录终止作用的部位，
包括GC富集区和AT富集区。



终止子的RNA序列

5'-CCCAGCCCGCCUAAUGAGCGGGCUUUUUUUU-3'

终止子的
发夹结构



第二节 转录过程

转录过程可以分为三个阶段：

1. 转录起始（initiation）
2. 转录延长（elongation）
3. 转录终止（termination）

（一）转录起始（initiation）

转录起始需解决两个问题

- **RNA聚合酶必须准确结合转录模板的起始区域**
- **DNA双链解开，使其中的一条链作为转录的模板**

转录起始过程（原核）

RNA pol- σ 识别DNA启动子(-35区)



RNA pol与启动子结合(-10区)



DNA构象改变，启动子-10区处打开双链DNA分子（约13bp）



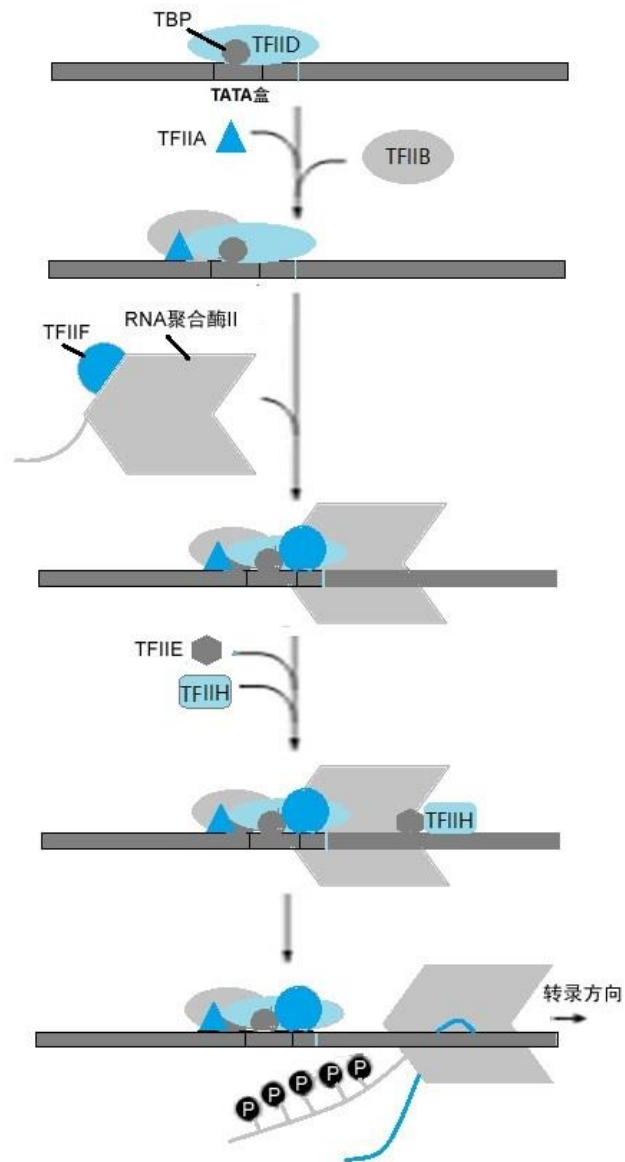
转录开始，形成第一个3',5'-磷酸二酯键（不需引物）



（循环使用）

核心酶沿模板向下游移动

真核生物转录前起始复合物



2. 转录延长（elongation）（原核）

核心酶沿DNA模板链向下游方向滑动



NTP以3',5'-磷酸二酯键逐个相连形成RNA链，方向5'→3'



RNA链延长，暂时形成DNA•RNA杂交体（约8bp）



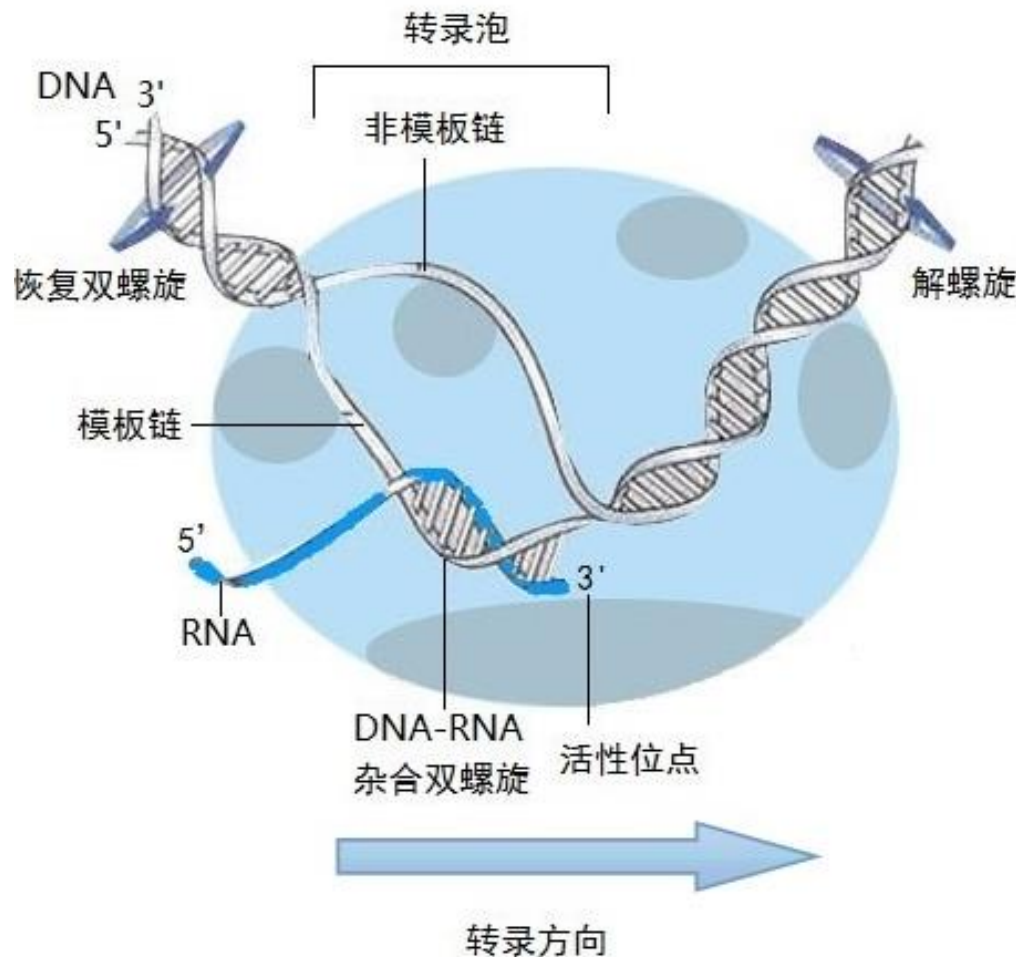
RNA逐步脱离模板链



核心酶滑过的部位，DNA链很快恢复双螺旋结构

转录泡 (transcription bubble)

由DNA双链（打开约13bp），RNA聚合酶与新合成的RNA链局部形成的结构。



3. 转录终止（ termination ） （原核）

核心酶遇到DNA模板的终止信号（终止子）



核心酶不能继续滑动



核心酶从模板DNA上脱落



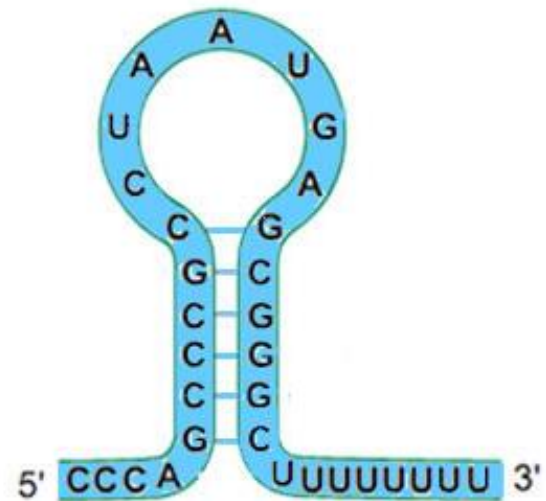
新合成的RNA链脱落，转录终止

原核转录终止方式：

- ◆ 不依赖 ρ 因子
- ◆ 依赖 ρ 因子

1. 不依赖 ρ 因子的转录终止

DNA模板上的终止信号处有特殊的碱基序列: GC富集区和AT富集区（终止子），使转录生成的RNA形成发卡结构和多聚U序列，促使转录终止。



2. 依赖 ρ 因子的转录终止

ρ 因子（6聚体蛋白质）：

- 辅助识别终止信号
- 诱使RNA聚合酶构象改变
- 具有解旋酶活性，释放RNA产物

第三节 转录后的加工过程

将转录生成的前体RNA转变为成熟的、有活性的RNA的过程

主要加工方式：

- 剪切 (cleavage) 和剪接 (splicing)
- 末端添加核苷酸 (terminal addition)
- 化学修饰 (modification)
- RNA编辑 (RNA editing)

一. mRNA前体的加工

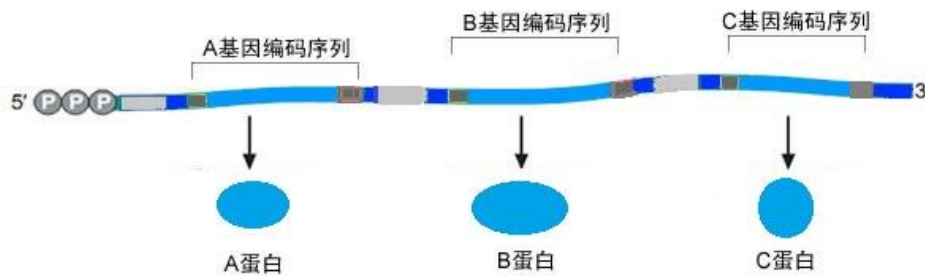
(一) mRNA生成的特点

- **原核生物：多顺反子mRNA (polycistronic mRNA)**
没有核膜，转录和翻译同时进行
不需复杂加工就表现出生物活性
- **真核生物：单顺反子mRNA (monocistronic mRNA)**
转录生成的是mRNA前体——hnRNA
需要在细胞核加工成成熟的mRNA

多顺反子mRNA

Polycistronic mRNA

a

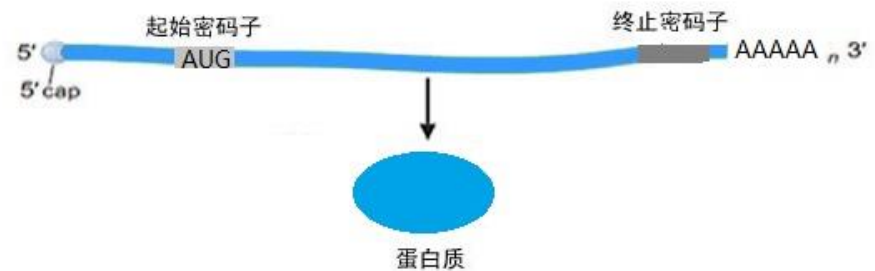


原核生物

单顺反子mRNA

Monocistronic mRNA

b

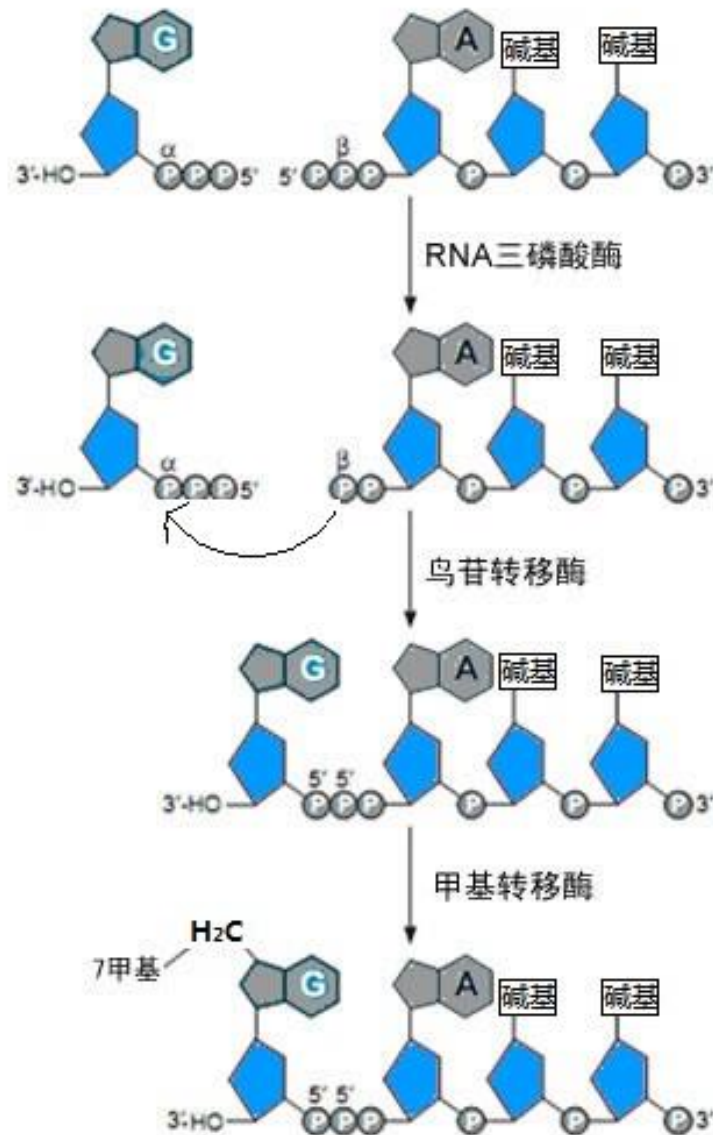


真核生物

(二) 真核生物mRNA前体的加工

- ➡ 5'-末端加帽 (5' cap)
- ➡ 3'-末端加尾 (3' polyA tail)
- ➡ 剪接作用
- ➡ 甲基化修饰
- ➡ 核苷酸编辑

1. 真核生物mRNA 5'-帽结构及加帽过程



5'-末端帽子的功能：

$m^7GpppNmp-$

- 保护新合成的mRNA免被降解
- 参与第一个内含子的剪接
- 协助mRNA转移至胞质
- 协助mRNA在核糖体的准确定位
- 增强翻译活性

2. 3'-末端加多聚A“尾”



PolyA的功能：

- 增加mRNA的稳定性
- 参与最后一个内含子的剪接
- 增强翻译活性

3. 剪接作用 (mRNA splicing)

剪切hnRNA中内含子序列，将各外显子序列连接为成熟mRNA的过程。

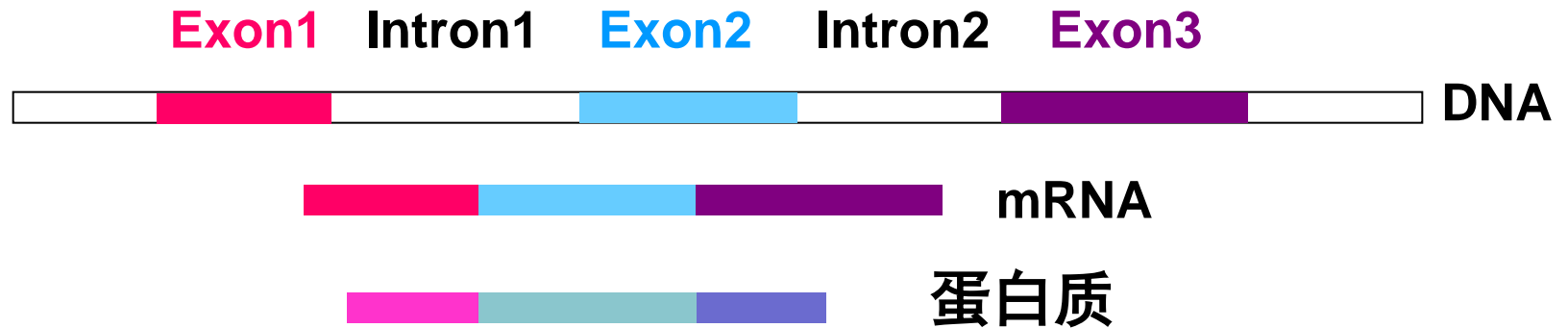
外显子 (exon) :

基因组中出现在成熟mRNA分子中的序列。

内含子 (intron) :

位于外显子之间，出现在mRNA前体分子中，剪接时被去除，不出现在成熟mRNA分子中。

真核基因的结构

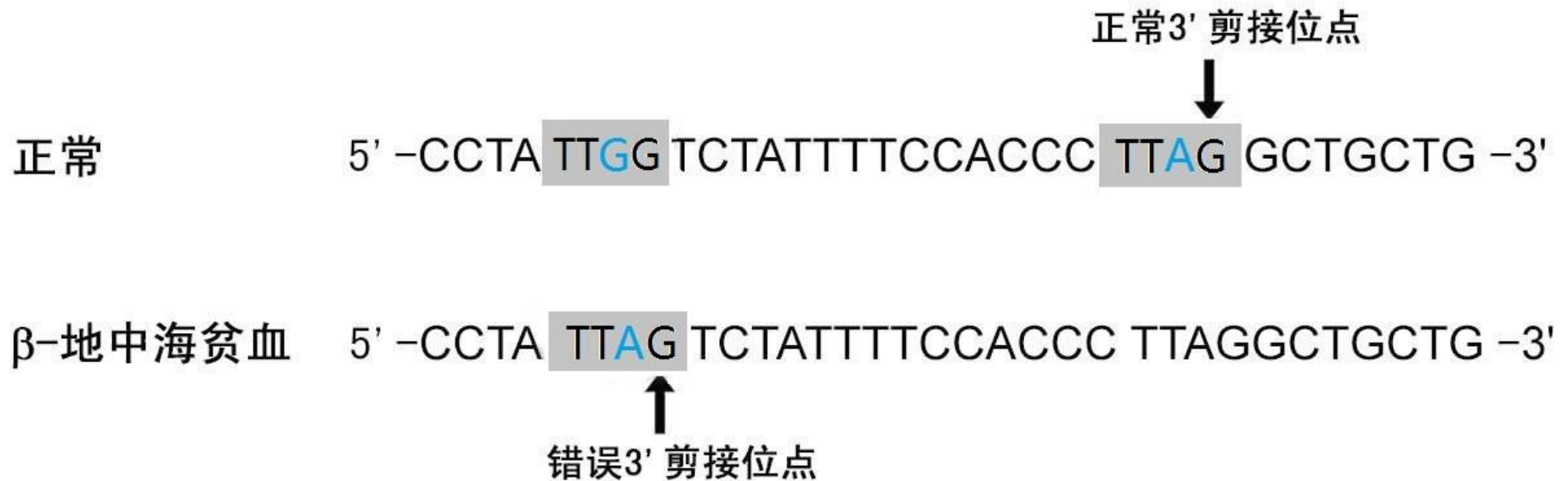


剪接部位的结构特点：

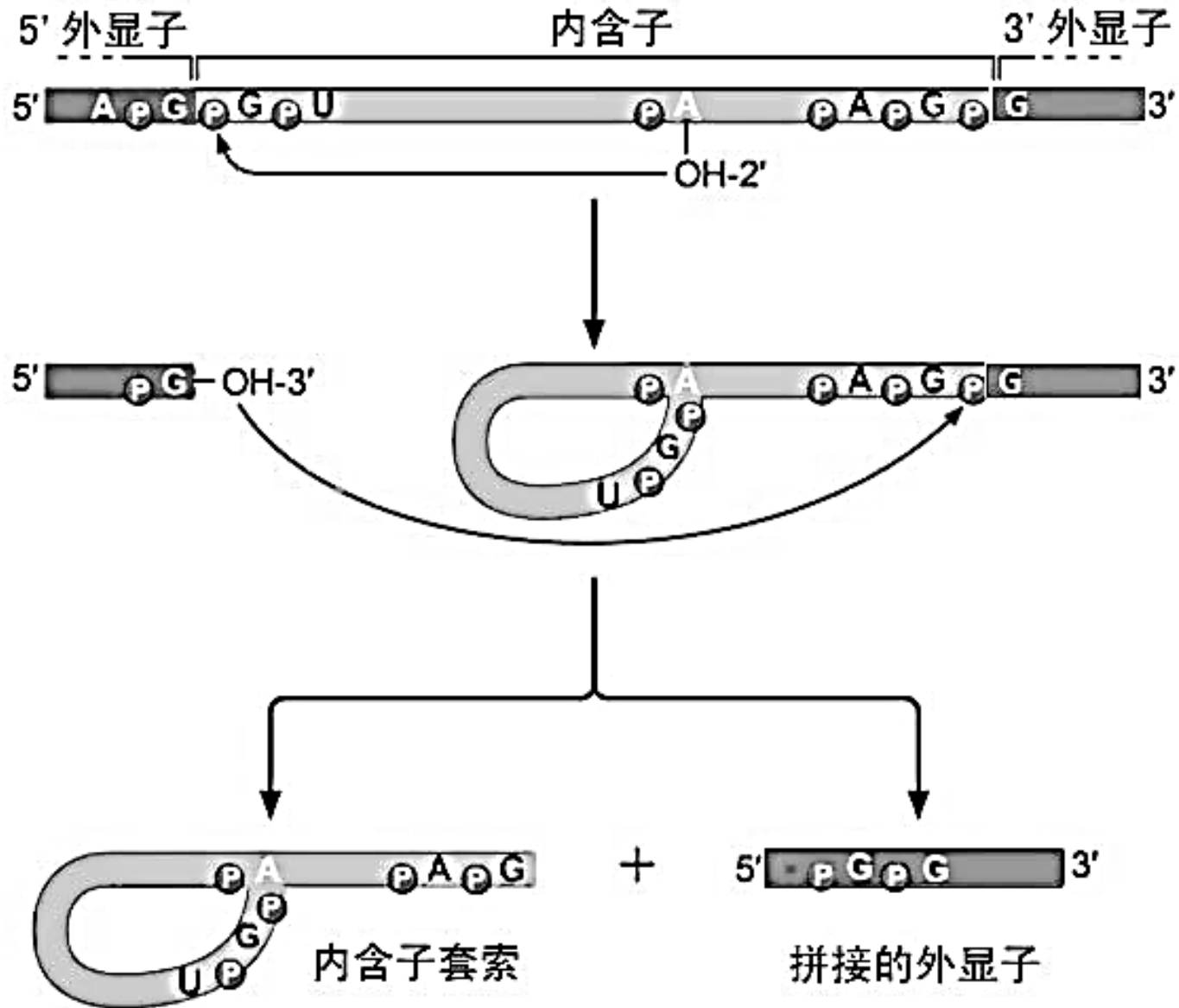
- 内含子5'端剪切点序列为： **GU**
- 内含子3'端剪切点序列为： **AG**
- 内含子3'端剪切点上游附近A序列分支点



β-地中海贫血患者β-珠蛋白mRNA的错误剪接



mRNA前体的剪接过程



剪接体参与mRNA前体的剪接 (spliceosome)

剪接体: UsnRNP与mRNA前体结合形成的复合物

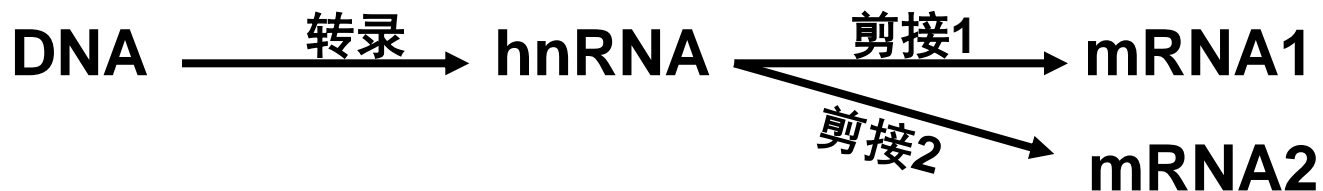
UsnRNP
Uridine-rich small nuclear
ribonucleoprotein

{ **snRNA**
核蛋白

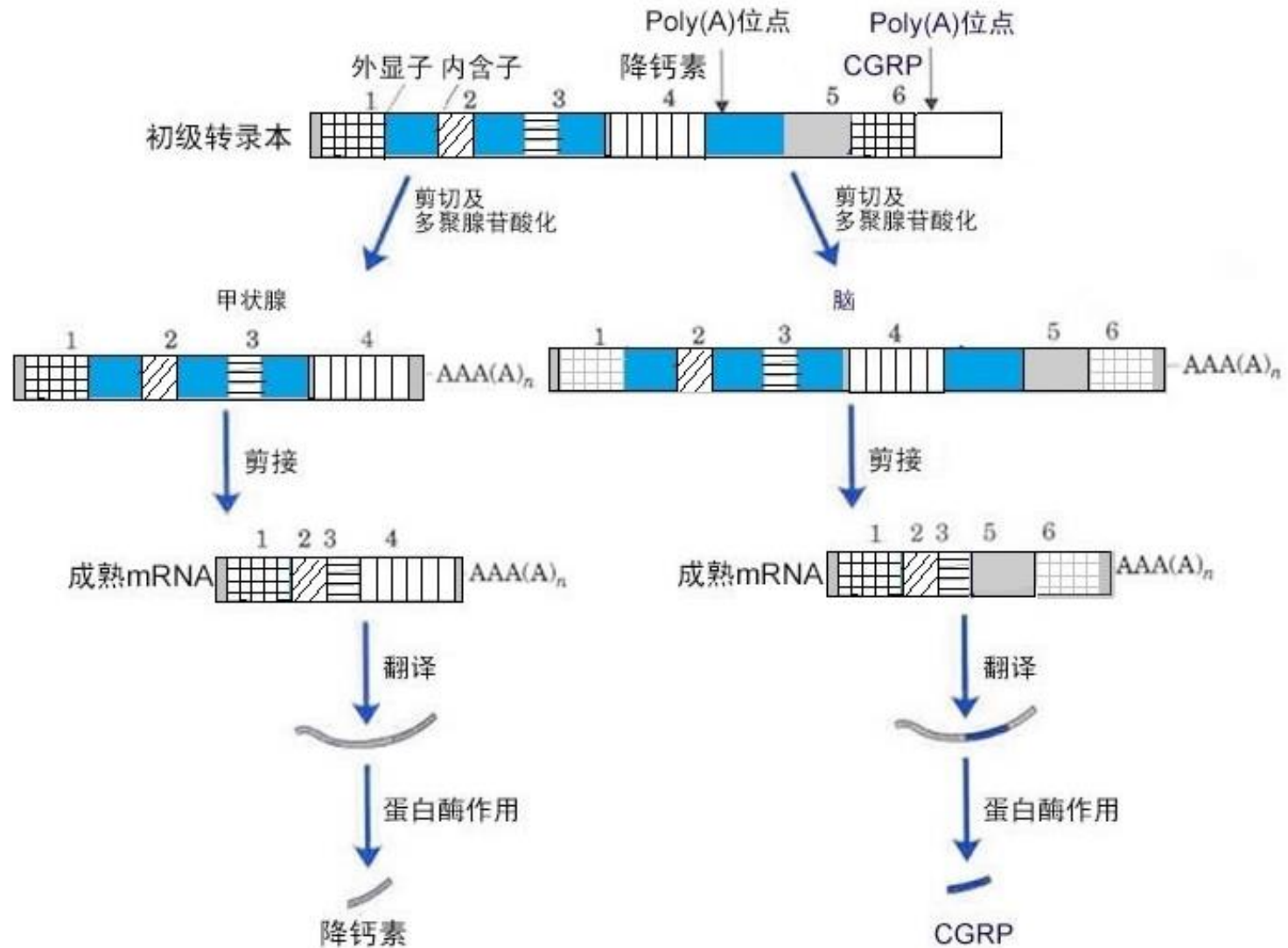
分类: U1, U2, U4, U5, U6

可变剪接 (alternate splicing of mRNA)

同一个初级转录本，在不同组织中由于剪接作用的差异，可产生不同的成熟mRNA，导致翻译生成不同的蛋白质产物。



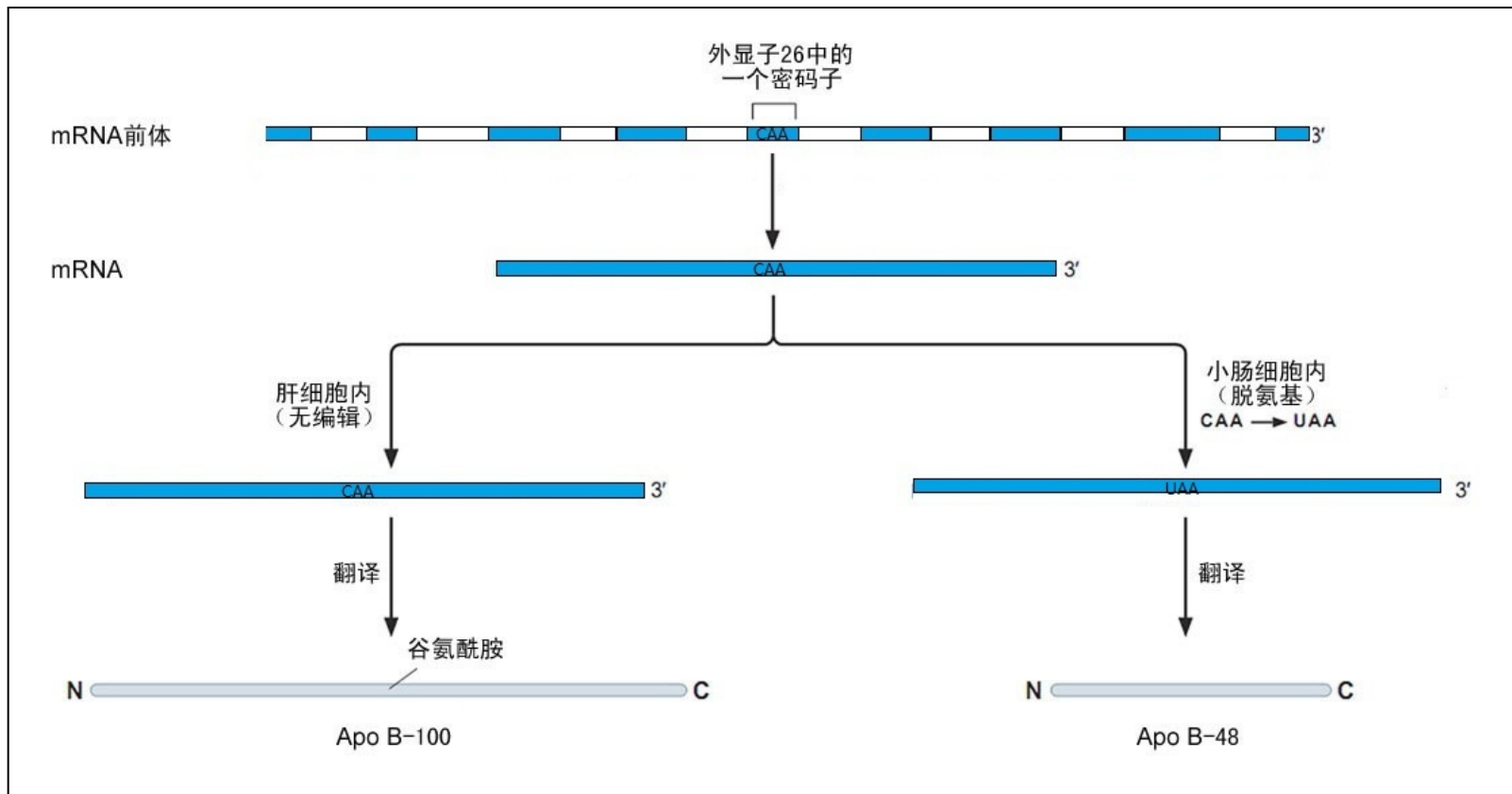
大鼠降钙素基因转录本的可变剪接



4. RNA编辑 (RNA editing)

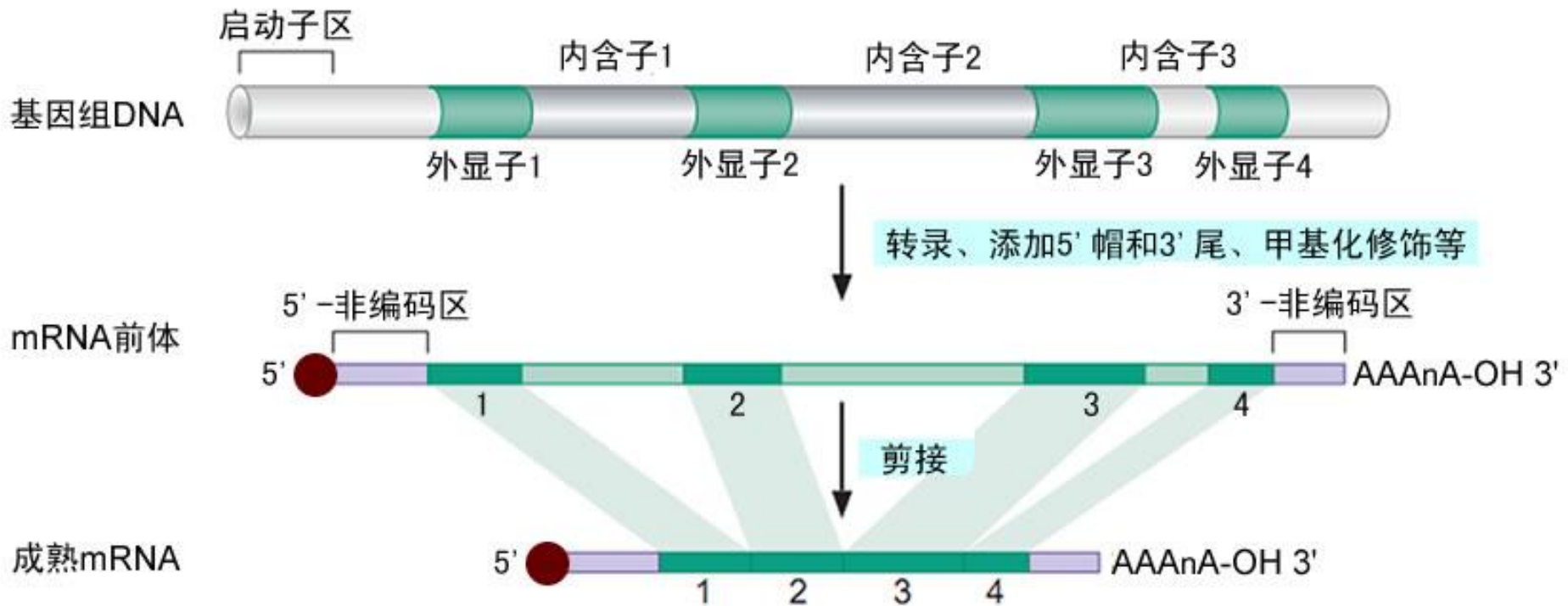
遗传信息在RNA水平发生改变，由一个基因产生不止一种蛋白质的加工方式。

核苷酸插入、删除或替换



ApoB基因的mRNA编辑

mRNA前体的加工过程



二、 tRNA前体的加工

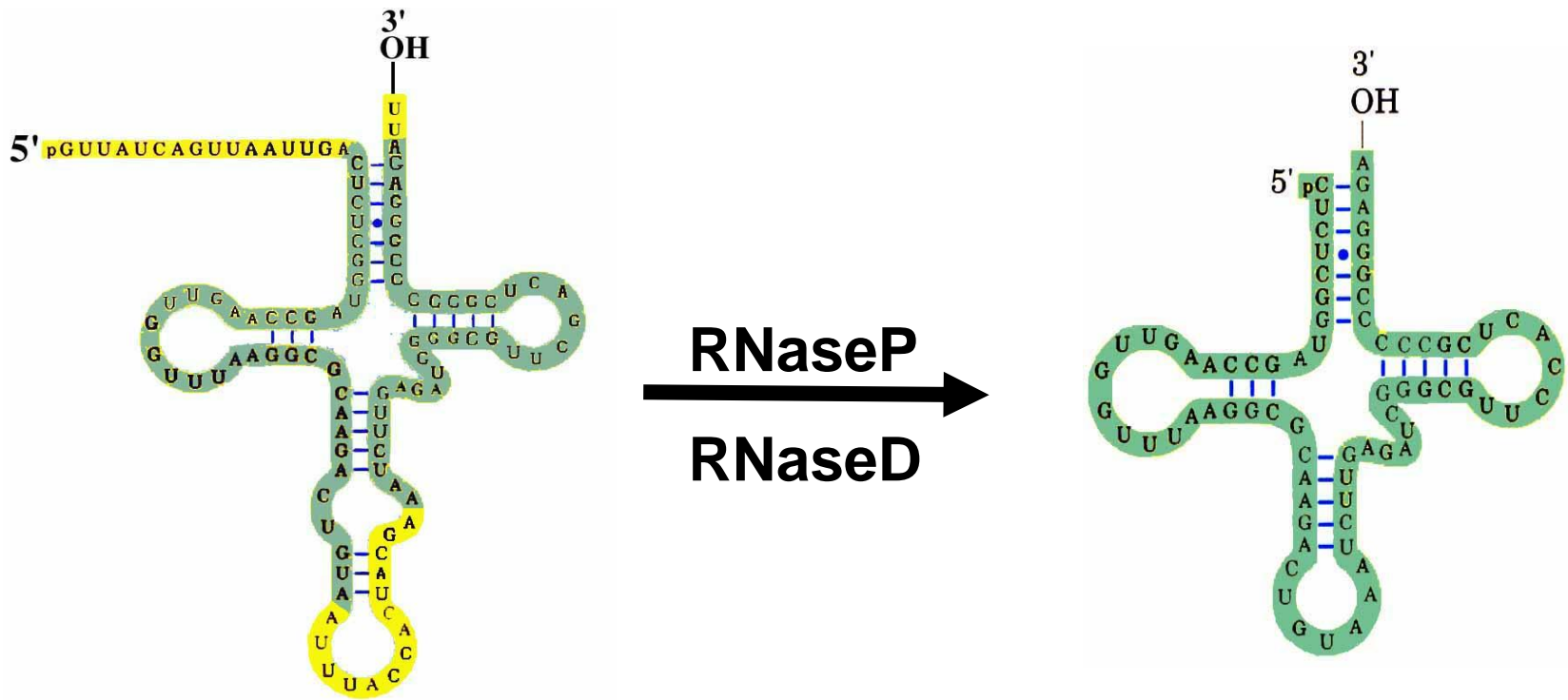
- 剪接和剪切
- 3'-末端添加-CCA
- 碱基修饰

剪切 (cleavage)

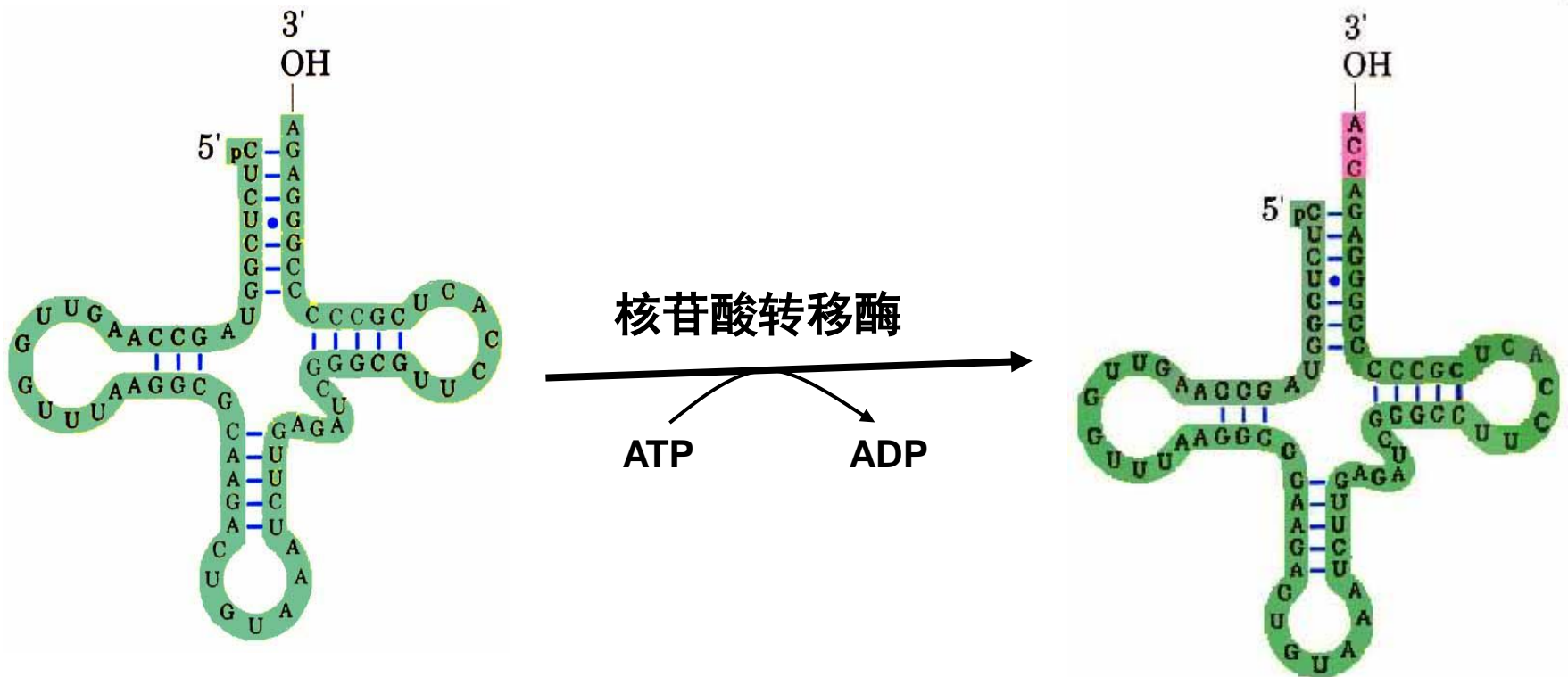
RNase P 切除5'-端多余的核苷酸

RNase D 切除3'-端多余的核苷酸

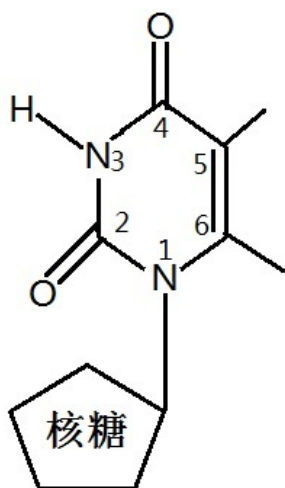
剪接 (splicing) : 去除内含子序列



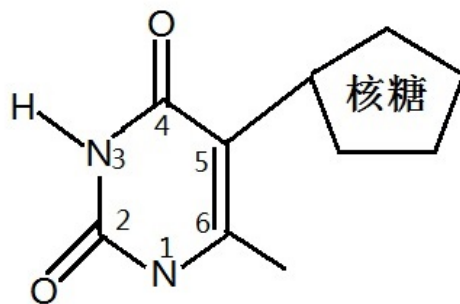
3'-末端添加-CCA



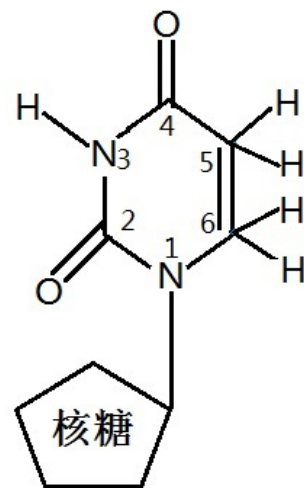
稀有碱基的生成



尿苷

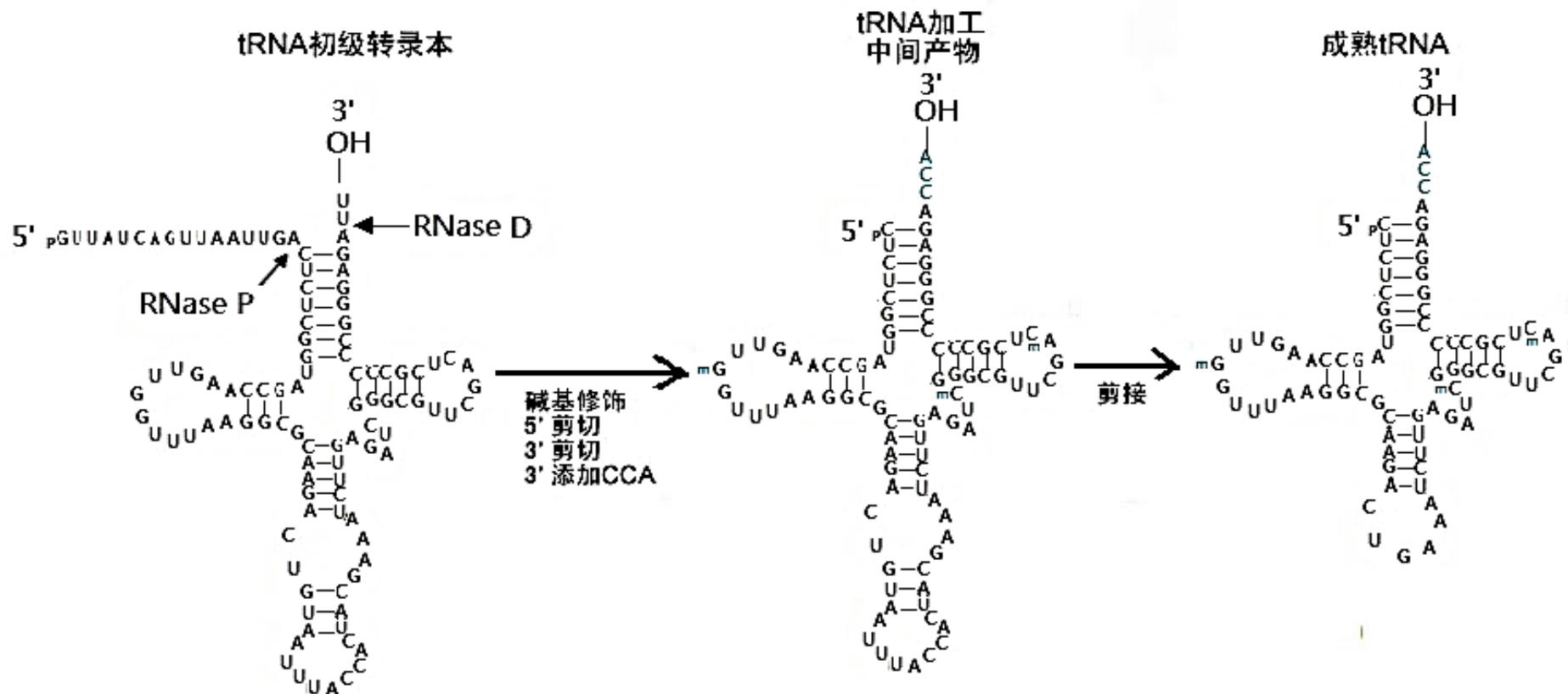


假尿苷



双氢尿苷

tRNA加工的主要形式



三、 rRNA前体的加工

rRNA基因多拷贝，串联在DNA分子中

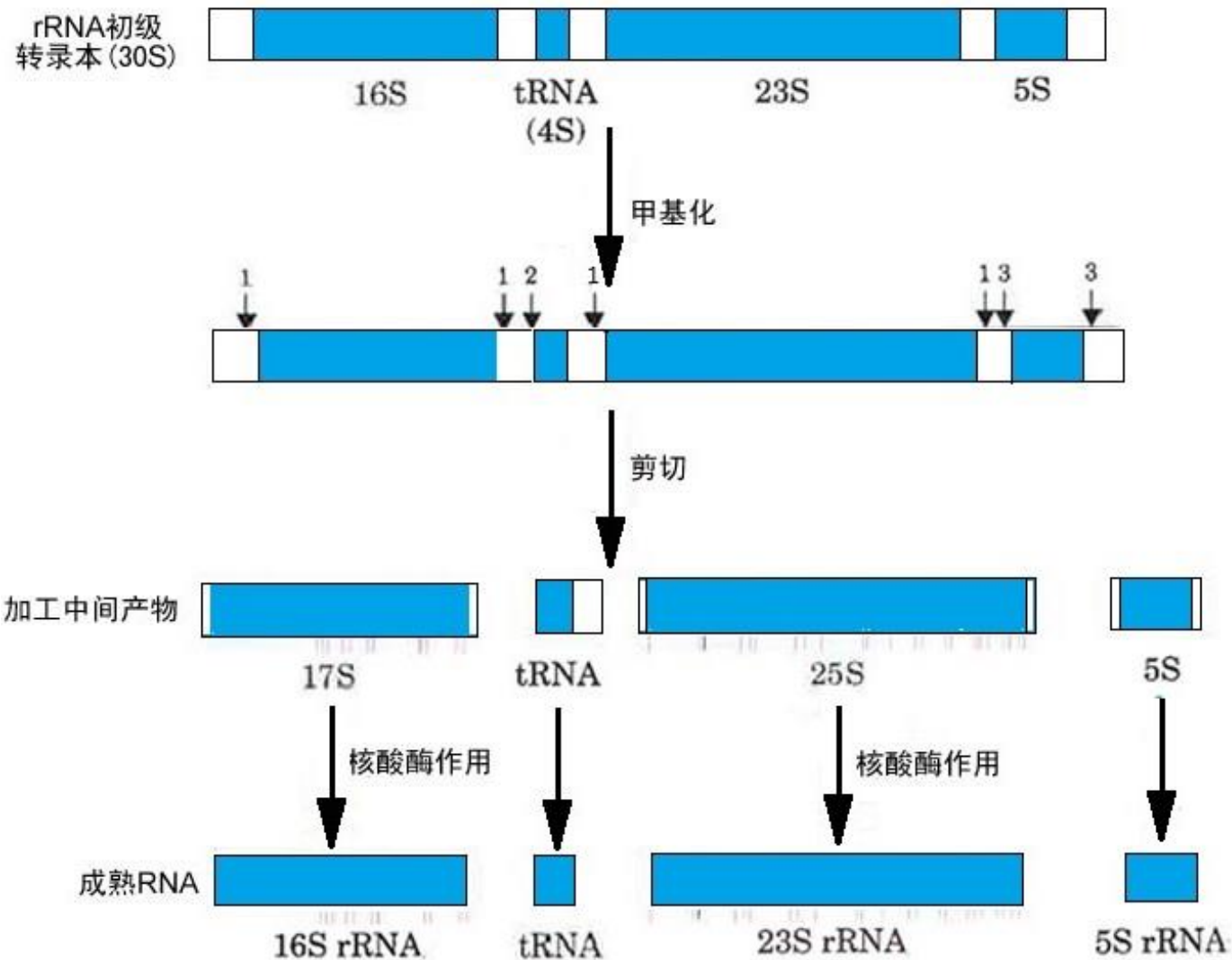
细菌： 5~10 拷贝

果蝇： 260 拷贝

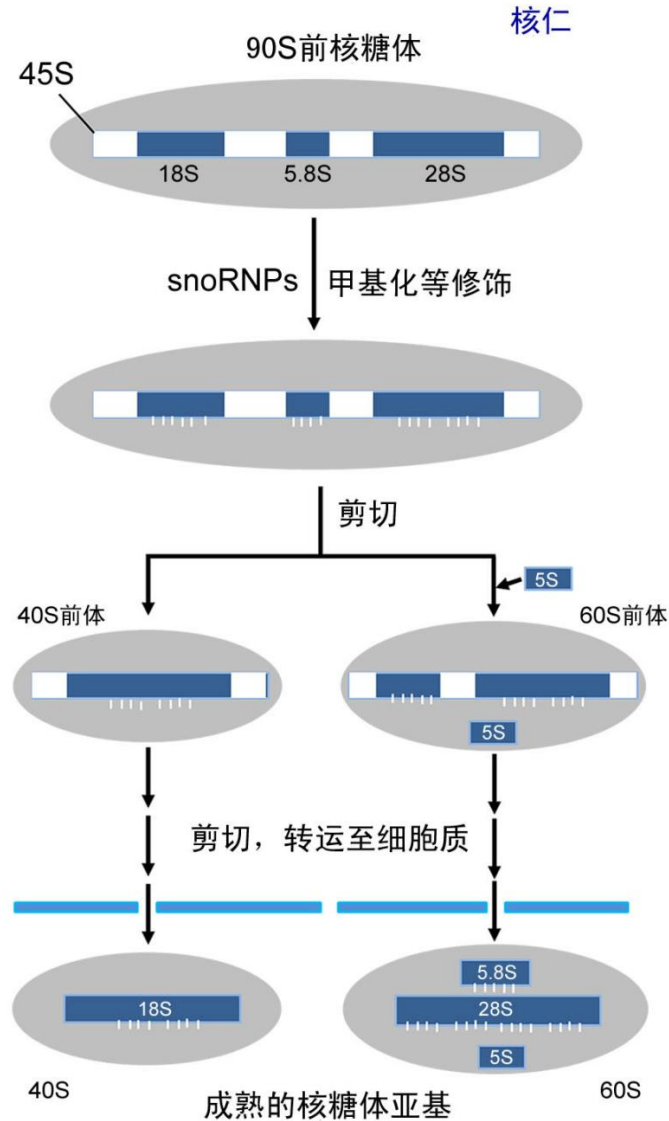
人类： 1100 拷贝

- **剪接**
- **甲基化修饰**

(一) 原核生物rRNA前体的加工



(二) 真核生物rRNA前体的加工



第四节 RNA的复制

某些生物（如RNA噬菌体和动物病毒）携带单链RNA基因组信息，进入宿主细胞后，以自身RNA为模板，4种NTP为底物，由RNA复制酶催化合成RNA。

RNA复制酶

(RNA replicase)

RNA指导的RNA聚合酶

(RNA directed RNA polymerase, RDRP)

思考题

1. 在遗传信息流动中，转录作用有何重要意义？
2. DNA复制和RNA转录过程有何异同？
3. 何谓不对称转录？有何重要意义？
4. DNA聚合酶、RNA聚合酶、逆转录酶及RNA复制酶的作用特点有何异同？
5. 原核生物与真核生物的转录作用有何异同？
6. 转录时启动子的功能是什么？原核和真核启动子的结构各有何特点？
7. 各种RNA前体的加工主要有哪些类型？
8. 真核生物mRNA前体剪接部位的结构有何特点？
mRNA前体中的内含子是如何被切除的？
9. 为什么转录生成错误RNA远没有复制产生错误DNA对细胞的影响大？