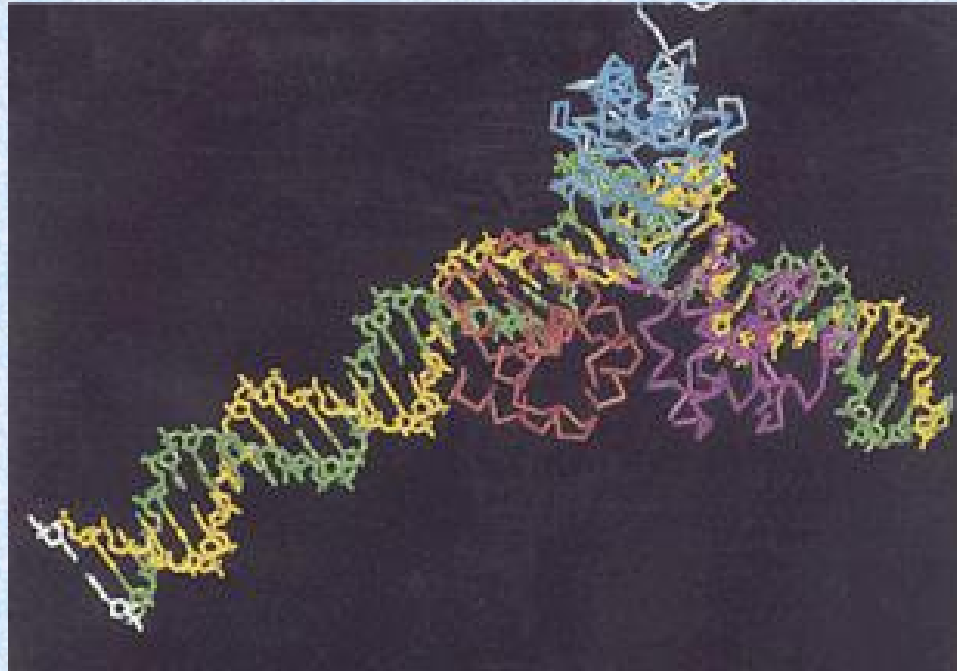




第五章 RNA转录 (RNA transcription)





第一节 概述

第二节 原核生物**RNA**转录的起始

第三节 真核生物**RNA**转录的起始

第四节 转录的延伸

第五节 转录的终止

第六节 原核生物转录产物的后加工

第七节 真核生物转录产物的后加工

第八节 真核生物转录产物中内元的去除

第九节 不连续转录，反式拼接和RNA编辑

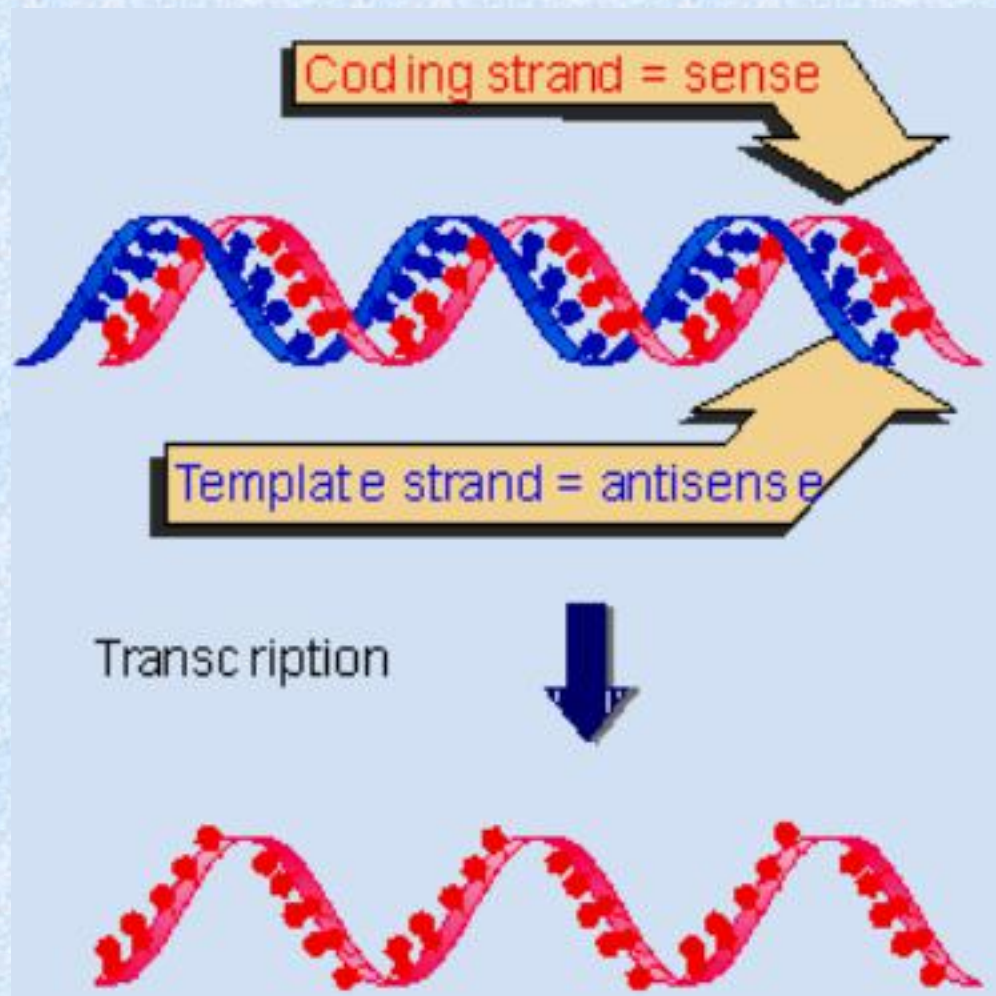


5.1 概述

转录(transcription):是指以**DNA**为模板，在依赖于**DNA**的**RNA**聚和酶催化下，以4种**NTP**（**ATP**、**CTP**、**GTP**和**UTP**）为原料，合成**RNA**的过程。

在有些病毒中，**RNA**也可以指导合成**RNA**。

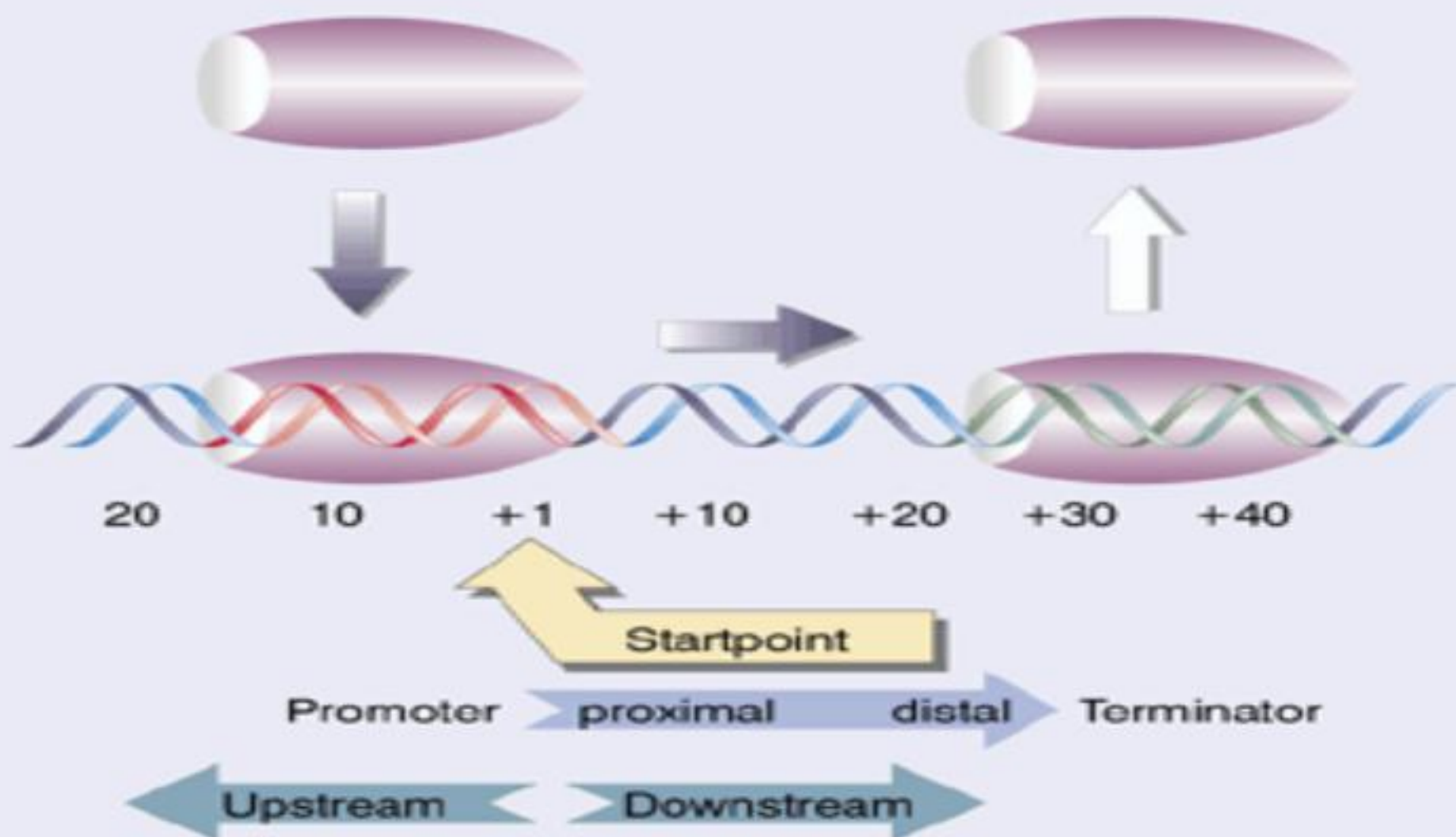
- 有义链 (sense strand)
[编码链 coding strand]:
指不作模板的**DNA**单链
- 反义链 (antisense strand)
[模板链 template strand]:
指作为模板进行**RNA**转录的链





- ◆ 在依赖**DNA**的**RNA**聚合酶作用下进行转录
- ◆ **A=U**、**C≡G** 合成**RNA**分子
- ◆ 转录合成**RNA**链的方向为**5'→3'**，模板单链**DNA**的极性方向为**3'→5'**，而非模板单链的极性方向与**RNA**链相同，均为**5'→3'**。（书写）
- ◆ 基因转录方式为不对称转录(一条单链**DNA** 为模板,**RNA**聚合酶的结合)

Figure 9.2 Overview: a transcription unit is a sequence of DNA transcribed into a single RNA, starting at the promoter and ending at the terminator.





本节小结

- 四个概念：转录、有义链、反义链、转录单元。
- 三个步骤：起始、延伸和终止
- 二个特点：转录方向，不对称转录
- 一个区别：单顺反子和多顺反子



5.2 原核生物RNA转录的起始

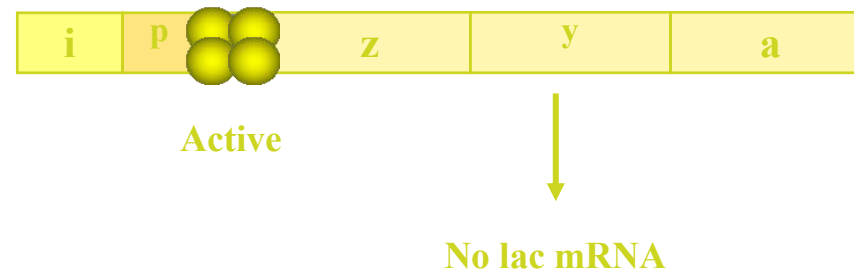
(RNA Transcription promotion in prokaryotes)

两个相关概念:

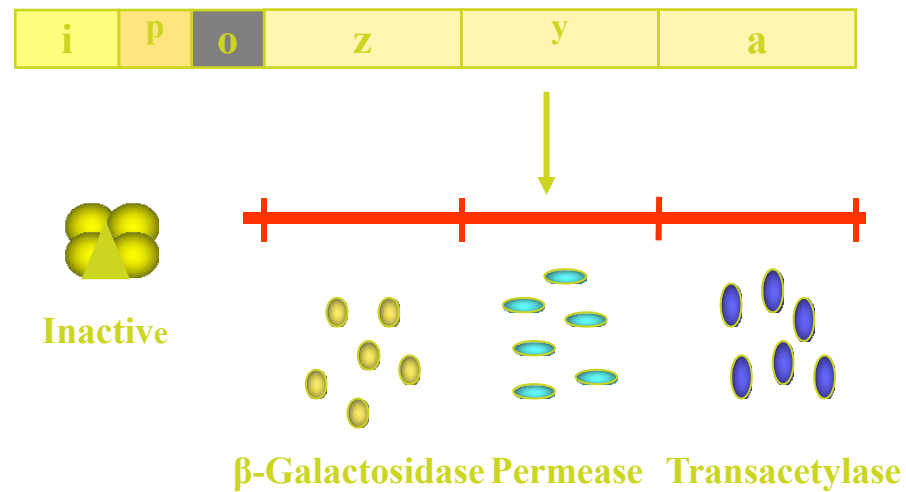
* 操纵元(**operon**): 是原核生物基因表达调控的一个完整单元, 其中包括结构基因、调节基因、操作子和启动子



Absence of lactose



Presence of lactose



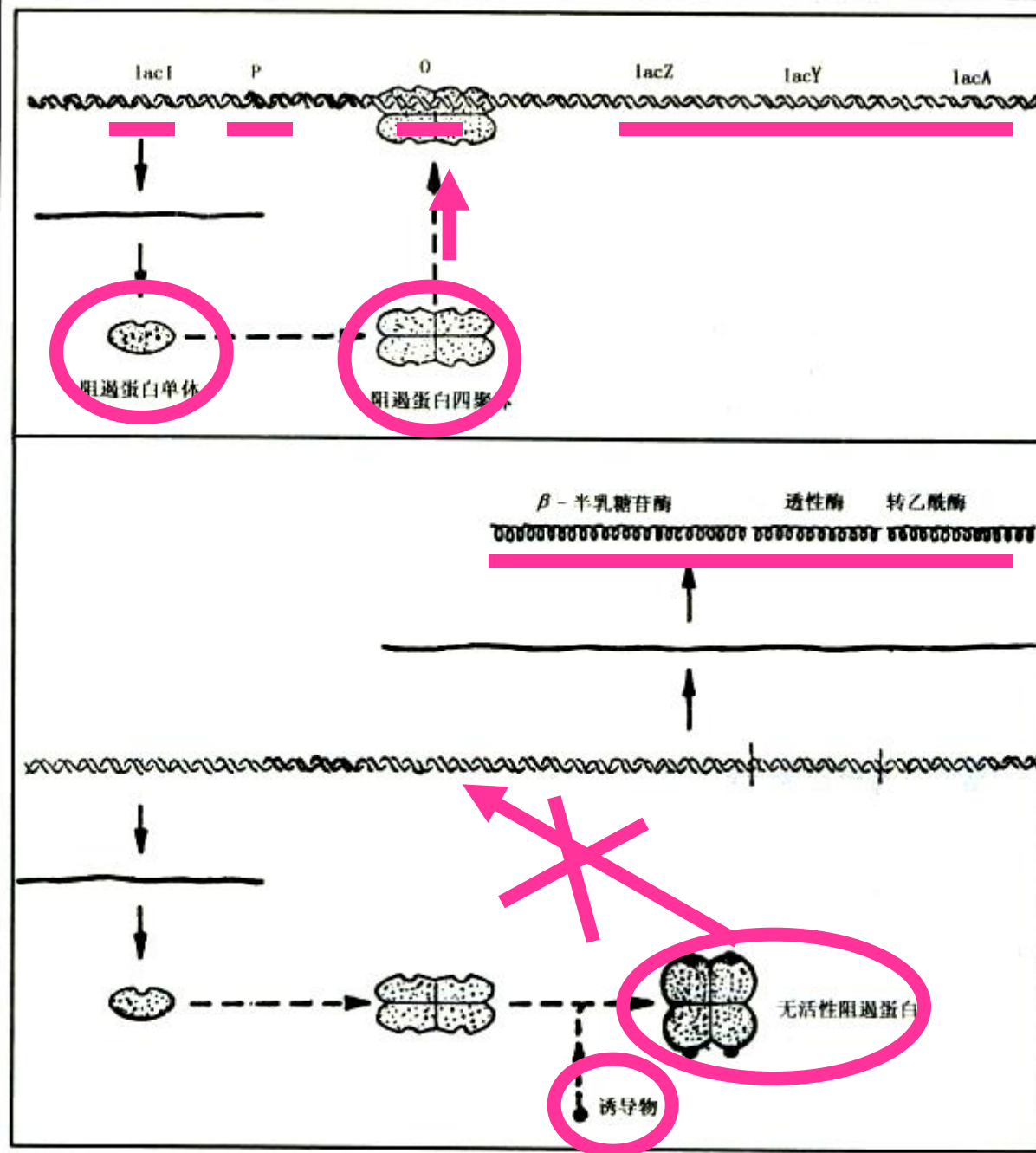


图 8-3 *lac* 操纵元被诱导物开启



- 启动子(promoter): 是指DNA分子上被RNA聚合酶识别并结合形成起始转录复合物的区域, 它还包括一些调节蛋白因子的结合位点 (频率、效率)

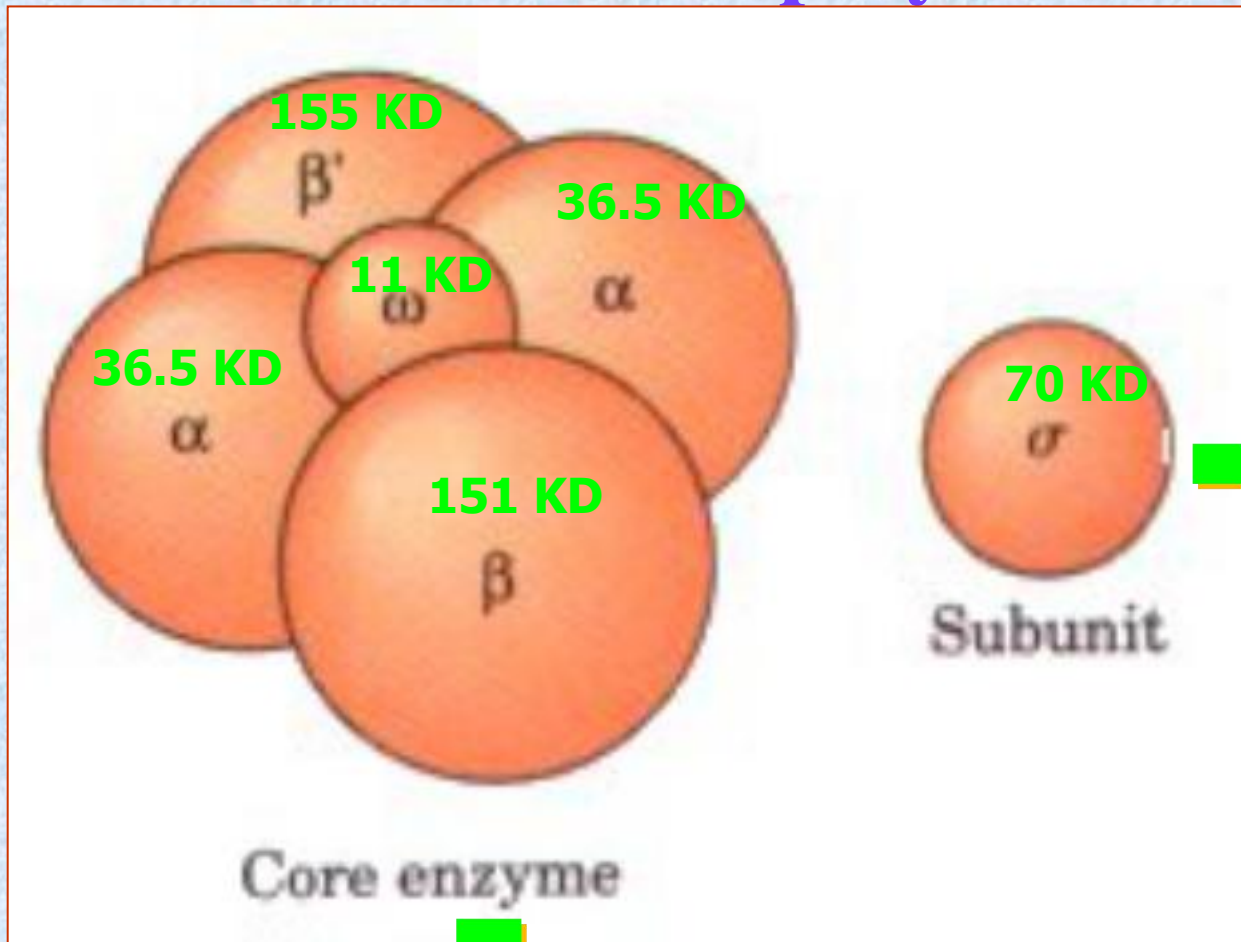
一、原核生物的RNA polymerase (E. coli)

全酶 (Holo Enzyme)和核心酶(Core Enzyme)





E. coli RNA polymerase



只用于起始

用于起始和延伸



由于各亚基的功能，使全酶本身含有五个功能位点

- 有义DNA链结合位点（ β' 亚基提供）
- DNA/RNA杂交链结合位点（ β 亚基提供）
- 双链DNA解链位点（前端 α 亚基提供）
- 单链DNA重旋位点（后端 α 亚基提供）
- σ 因子作用位点



二、启动子（promoter）的结构与功能（Prok.E.coli）

1、启动子由两个部分组成

（1）上游部分 — CAP-cAMP结合位点

（基因表达调控的正控制位点）

CAP（catabolite gene Activator Protein）

降解物基因活化蛋白，环腺苷酸（cAMP）的受体蛋白

（2）下游部分 — RNAPol的进入（结合）位点

—35 ~ —10

包括识别位点和结合位点（R B位点）



2、RNA聚合酶的进入位点

(1) Sextama 框 (Sextama Box)

§ -35序列, RNA聚合酶的松弛 (初始) 结合位点,

§ RNA聚合酶依靠其 σ 亚基识别该位点

—识别位点 (R位点)

§ 大多数启动子中共有序列为 $T_{82}T_{84}G_{78}A_{65}C_{54}A_{45}$

§ 重要性:很大程度上决定了启动子的强度



(2) Pribonow 框 (Pribonow Box)

§ -10序列, RNA聚合酶的牢固结合位点

结合位点 (B 位点)

§ 一致序列: $T_{80}A_{95}T_{45}A_{60}A_{50}T_{96}$ (TATP_UAT)

因此又称TATA Box

保守T



§ 位置范围 -4 到 -13

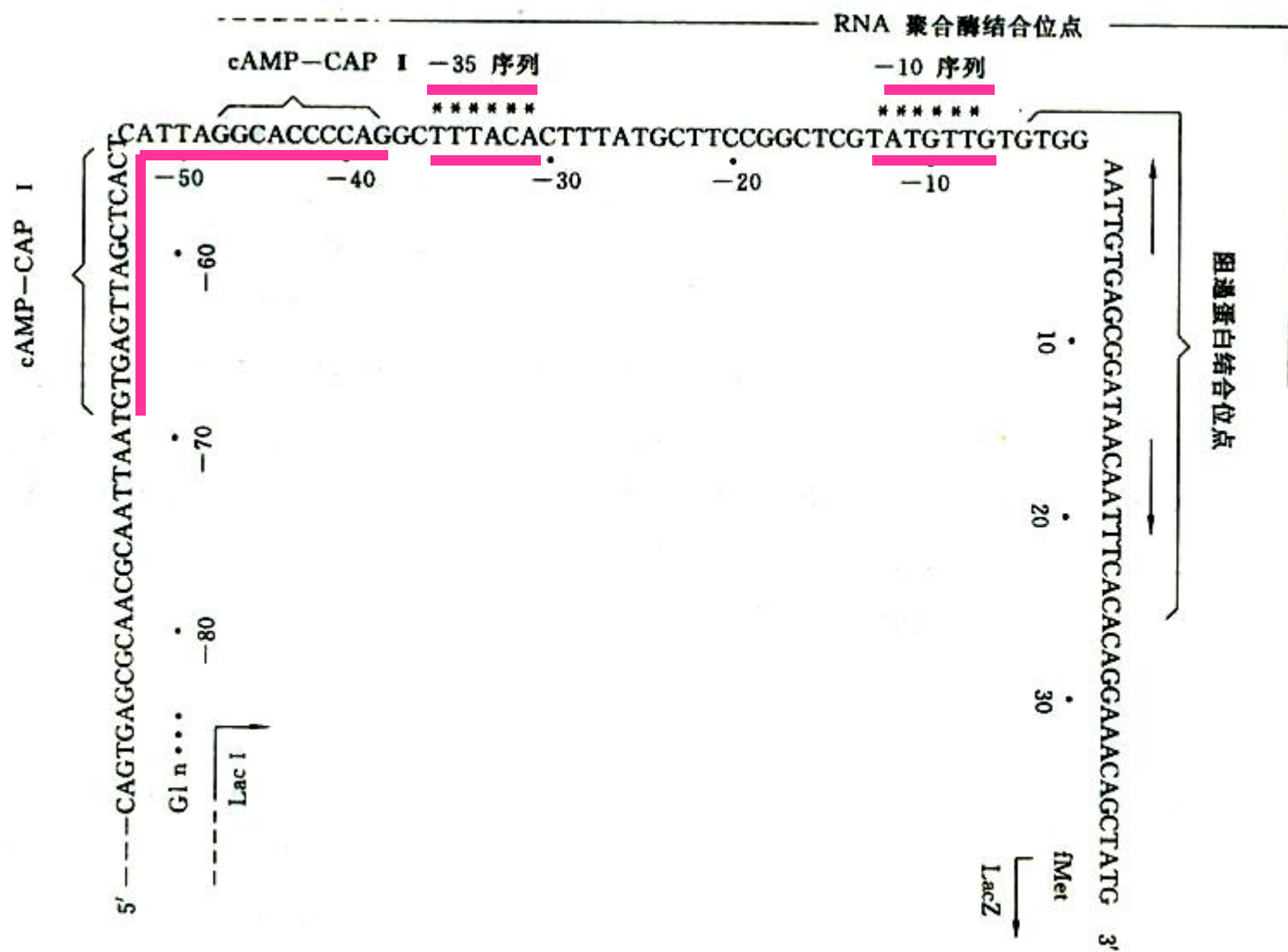


图 6-1 大肠杆菌乳糖操纵元的启动子和操作子的结构及其核苷酸序列(非模板链)



(3) 起始位点 (initiation site) : +1位点

RNA聚合酶的转录起始位点

起始NTP多为ATP或GTP

Figure 9.15 A typical promoter has three components, consisting of consensus sequences at -35 and -10, and the startpoint.





起始过程：

- a. 全酶与启动子结合的封闭型启动子复合物的形成
(R位点被 σ 因子发现并结合)

Figure 9.10 RNA polymerase passes through several steps prior to elongation. A closed binary complex is converted to an open form and then into a ternary complex.





b、 开放型启动子复合物的形成

- § RNAPol的一个适合位点到达-10序列区域，诱导富含A·T的Pribnow 框的“熔解”， 形成12—17bp的泡状物，同时酶分子向-10序列转移并与之牢固结合
- § 开放型启动子复合物使RNAPol聚合酶定向
- § 两种复合物均为二元复合物（全酶和DNA）



DNA melting

Rate constant
 $k_2 = 10^3 \text{ } 10^1 \text{ sec}^{-1}$



Open
binary
complex



Abortive
initiation

Rate constant
 $k_i \sim 10^3 \text{ sec}^{-1}$



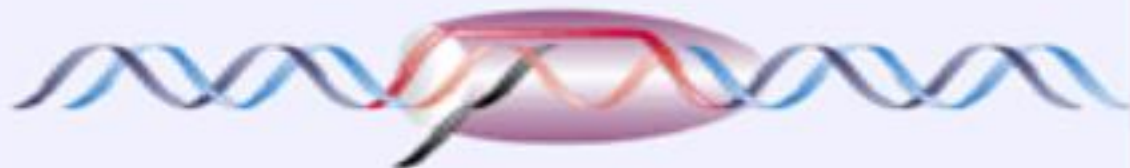
Ternary
complex

12~17bp



Release of
sigma

Promoter clearance
>1 2 sec



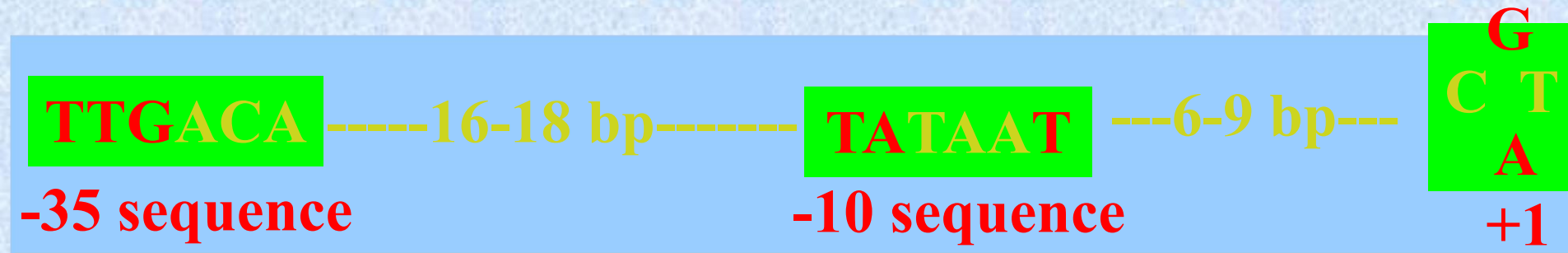
RNA
synthesis
begins



c. 在开放型的启动子复合物中，RNApol的I位点和E位点的核苷酸前体间形成第一个磷酸二酯键（ β 亚基）

三元复合物形成

+1位多为CAT模式,位于离开保守T 6~9 个核苷酸处

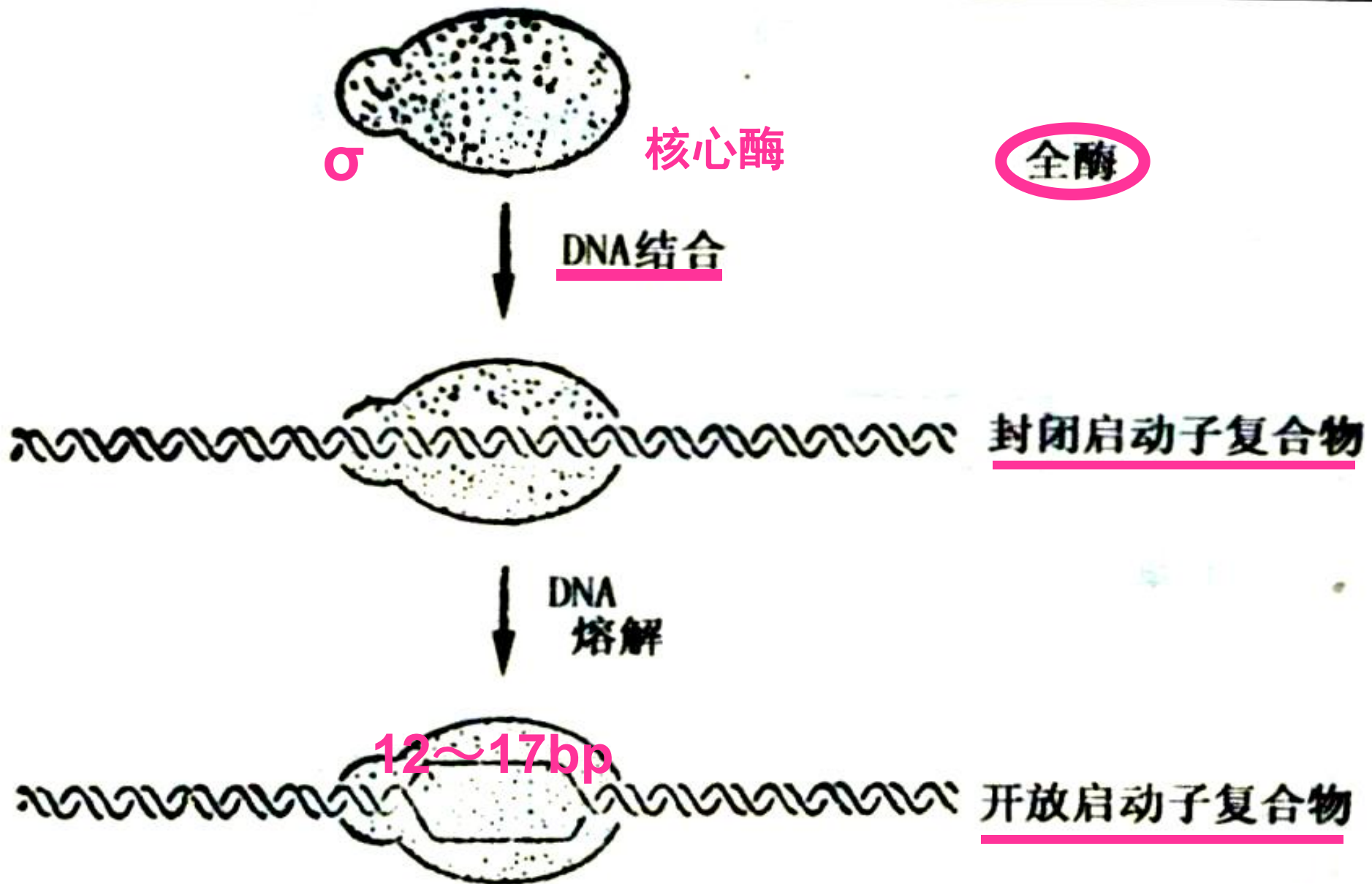


d. σ 因子解离 → 核心酶与DNA的亲合力下降

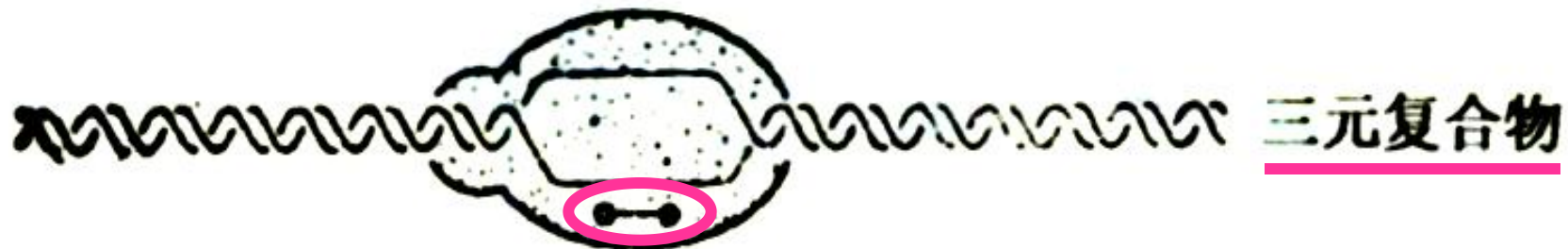
起始过程结束 → 核心酶移动进入延伸过程



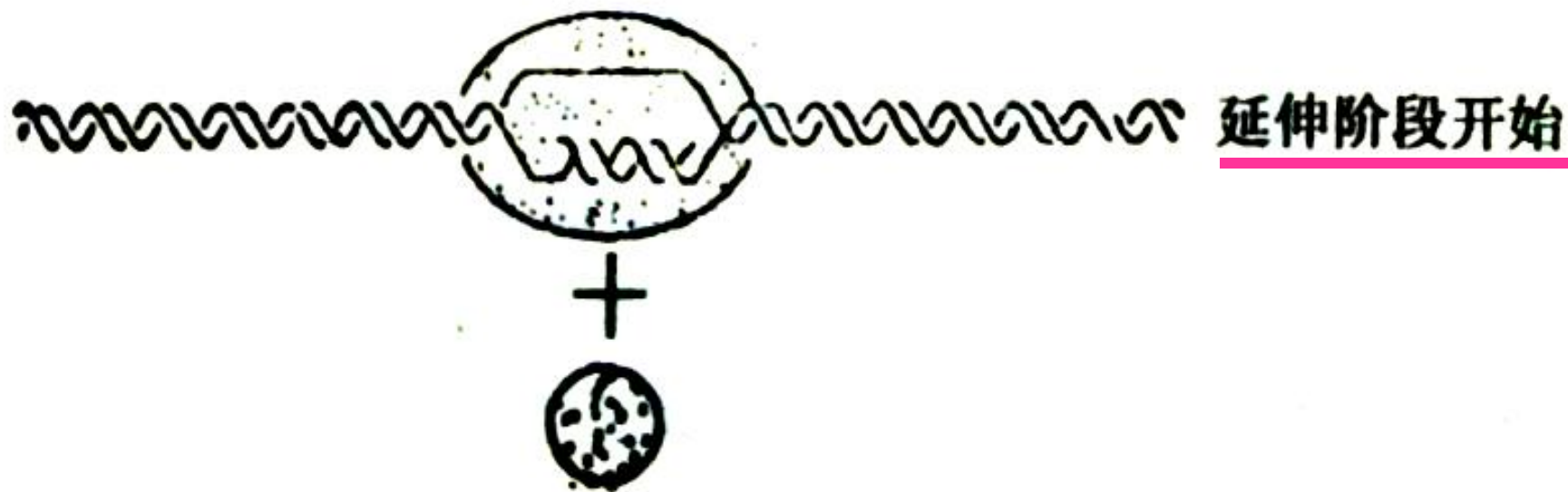
转录的起始过程



第一个磷酸二酯键形成
(β 亚基)



σ 亚基脱落





本节小结

- 操纵元(操纵子)。
- 启动子
- 启动子的结构
- 转录的起始



5.3 真核生物RNA转录的启动

RNA Transcription promotion in Eukaryots

一、真核生物的RNAPol

1、三种RNAPol:

根据对 α - 鹅膏蕈碱的敏感性不同而分类

RNAPol I 最不敏感 (动、植、昆)

RNAPol II 最敏感

RNAPol III 不同种类的敏感性不同



2、位置和转录产物

RNApol I 核仁 转录rRNA (5.8S、18S、28S)

RNApol II 核质 主要负责 hnRNA、snRNA 的转录

RNApol III 核质 负责tRNA、5SrRNA、Alu序列、部分snRNA

- 目前在线粒体和叶绿体内发现少数 RNApol (活性较低)

3、RNApol II的亚基组成:

分子量500KDa,含两个大亚基和 8~14 个小亚基



二、真核生物的启动子

1、RNApol II 的启动子

- 结构最复杂
- 位于转录起始点的上游,有多个短序列元件组成

(1) 帽子位点 (cap site) : 转录起始位点

(2) TATA框 (Hogness 框或 Goldberg-Hogness 框)

- 位于-30处
- 定位转录起始点的功能
- TATA是绝大多数真核基因的正确表达所必需的



(3) CAAT框 (CAAT box)

- 位于-75bp处
- 一致序列为GGC/TCAATCT
- 前两个 G 的作用十分重要(转录效率)
- 增强启动子的效率、频率，不影响启动子的特异性

以上三个保守序列在绝大多数启动子中都存在



(4) 增强子 (enhancer, 又称远上游序列)

- 在-100以上
- 该增强子的特点如下:

- ♪ 对依赖于TATA框的转录的增强效应高于不依赖的情况
- ♪ 距离效应: 离72bp越近的开始转录
- ♪ 转录方向离开72bp的起始序列优先转录
- ♪ 细胞类型的选择: 不同类型中作用有差异
表明其作用具有细胞或组织特异性 (调节蛋白)



(5) GC框 (GC box)

- 位于-90附近，较常见的成分
- 核心序列为GGGCGG
- 可有多拷贝，也可以正反两方向排列



小结:

- ★ 不同启动子中每种元件与转录起始点的距离不同
- ★ 不同启动子中的相应元件互相交换,形成的杂交启动子功能没有变化
- ★ 各种元件将相应的蛋白因子结合到启动子上,组成起始复合物,蛋白因子间的相互作用决定了转录的起始



2、 RNAPol III启动子结构

(1) 分为三类，每种识别方式不同

a、 下游启动子（内部启动子）

位于转录起始点的下游

5SRNA 和 tRNA基因

b、 上游启动子

snRNA

c、 混合启动子



三、真核生物转录的起始

- ♪ 三种RNAPol均没有对启动子特异序列的识别能力
- ♪ 转录起始过程需要很多的辅助因子(转录因子)参与,并且按一定顺序与DNA形成复合物,协助RNAPol定位于转录起始点



本节小结

- 真核生物的**RNA**聚合酶。
- 真核生物的启动子结构
- 增强子
- 真核生物转录的起始



5.4 转录延伸(Transcription Elongation)

一、起始到延伸的转变

★ 始于第一个磷酸二酯键的形成

★ 伴随着DNA分子和酶分子构象的变化

1、Prok.: 起始时, σ 因子有利于 β 和 β' 亚基形成与DNA专一性结合所要求的构象; 起始后, σ 因子解离, β 和 β' 亚基构象发生变化。

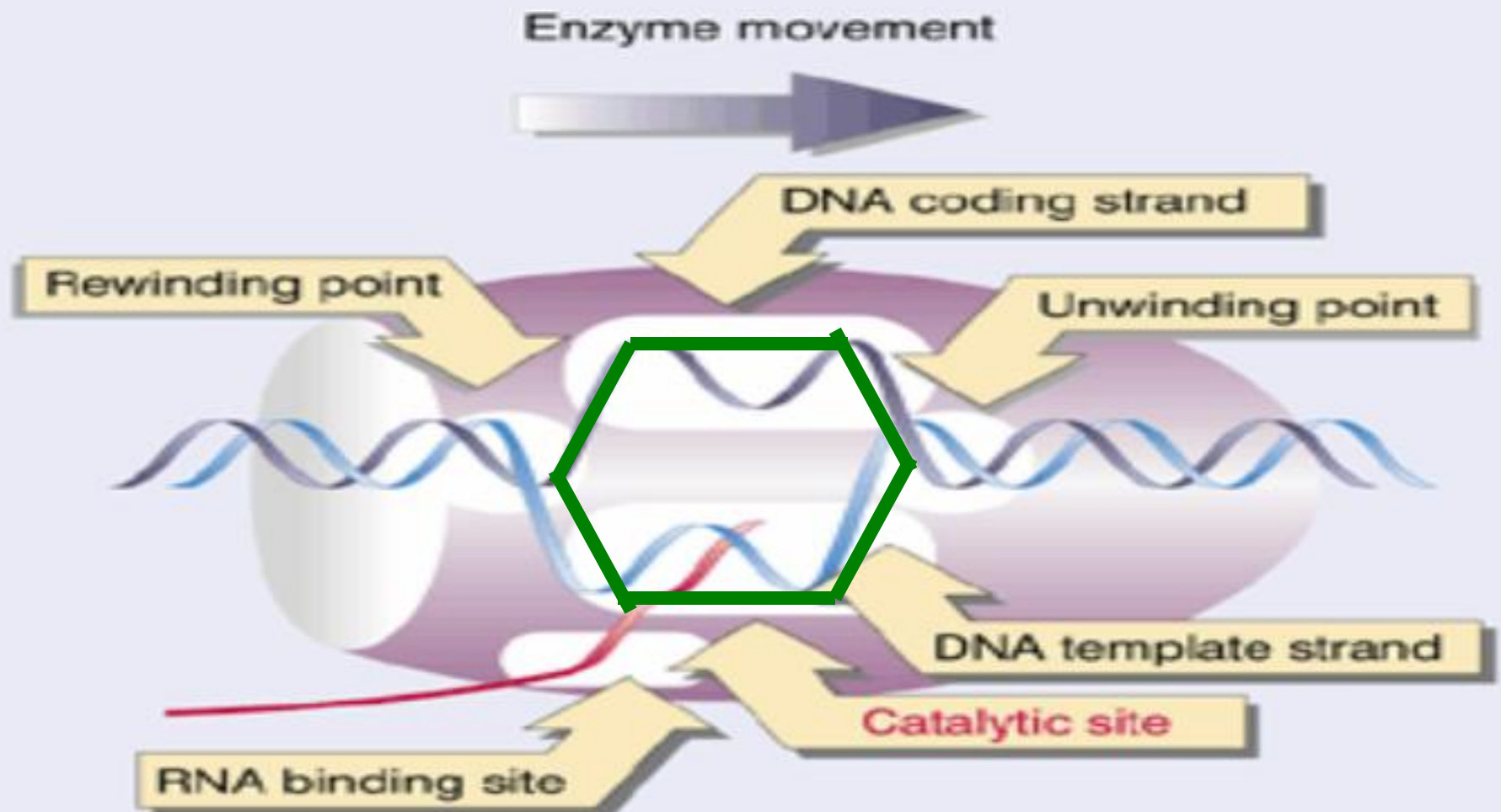
2、Euk.: 多种辅助因子的共同作用来保证这一转变



二、延伸过程 (Prok)

- ★ 酶与产物RNA不解离
- ★ 底物NTP不断加到RNA链的 3'-OH 端
- ★ 形成一个磷酸二酯键后，核心酶向前滑动
- ★ 延伸位点不断地接受新的NTP，RNA链不断延伸
但始终保持三元复合物的结构

Figure 9.4 During transcription, the bubble is maintained within bacterial RNA polymerase, which unwinds and rewinds DNA, maintains the conditions of the partner and template DNA strands, and synthesizes RNA.





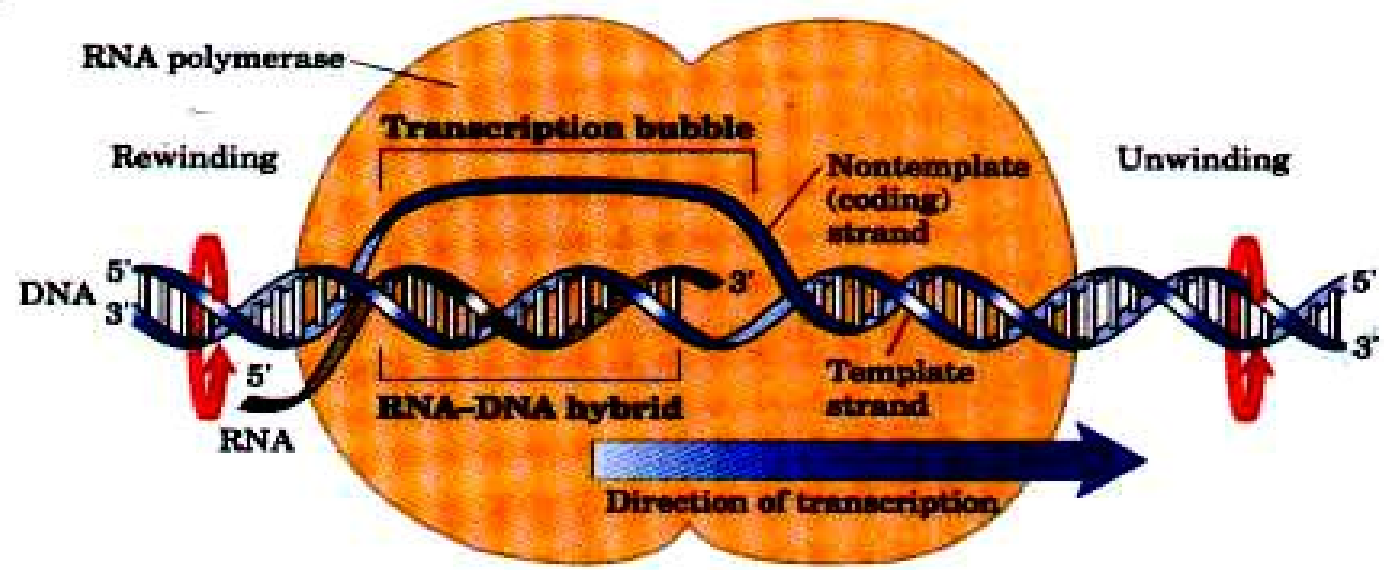
1、 转录泡

★RNApol 结合和转录的DNA模板区域，约17bp形成解链区

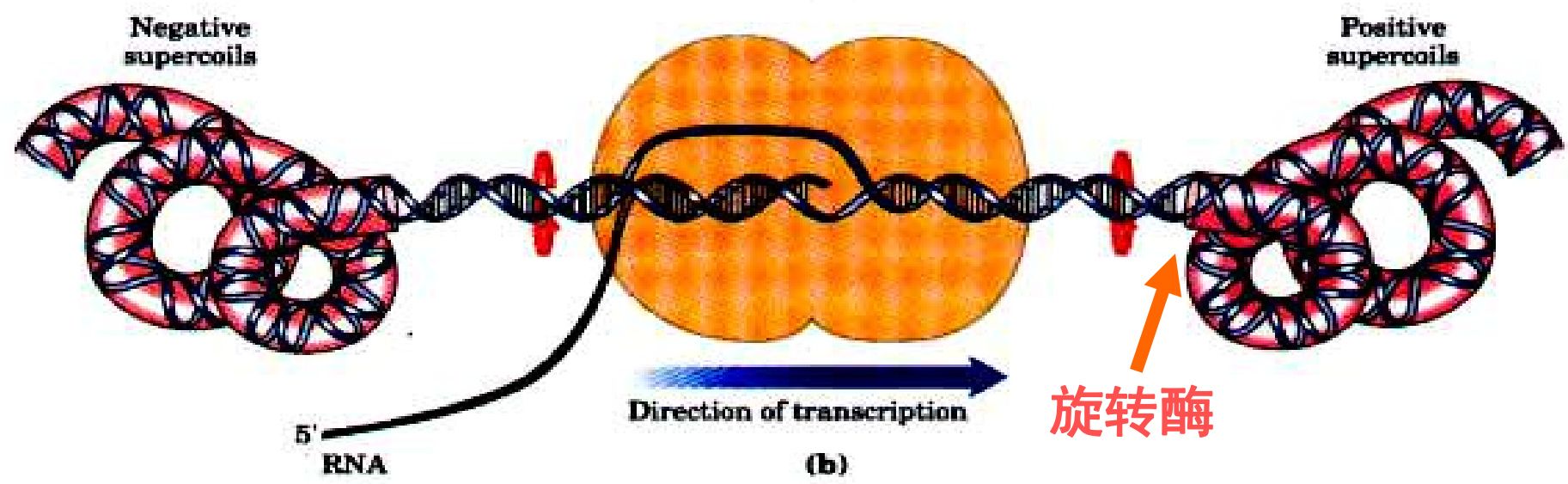
2、 拓扑学问题

- Φ RNA合成过程中，转录泡两端要发生拓扑转变
 - RNApol 的前沿..... 解螺旋作用
 - RNApol 后端..... DNA的螺旋化
- Φ 超缠问题的解决靠DNA旋转酶
- Φ RNA-DNA杂交链也要求作旋转运动

recoils form behind.



(a)



(b)

旋转酶



3、 转录过程中的延宕

- (1) RNA的合成速度大约 30 ~ 50 个核苷酸 / 秒,与蛋白质的合成速度相近 (15个AA / sec)
- (2) 模板DNA中G / C 的存在
(G / C后的 8~10 个核苷酸)
延宕作用在RNA链的终止和释放中起重要作用



本节小结

- 转录延伸的特点
- 转录泡
- 转录的延宕



5.5 转录的终止(Transcription termination)

- ☆ **终止过程：** 酶停止添加底物→→释放RNA链→→酶解离→→重新形成双螺旋。
- ☆ **终止子 (terminator)：** 在转录的过程中，提供转录终止信号的DNA序列

但真正起终止作用的是RNA序列——与启动子不同

- ☆ **Prok.和Euk. 都具有——一种基因表达调控的手段**



一、原核生物的终止子

1、终止子的种类

(1) 内在终止子（不依赖 ρ 因子的终止子）

体外实验中，只有核心酶和终止子就足以使转录终止

(2) 依赖 ρ 因子的终止子

蛋白质辅助因子—— ρ 因子存在时，核心酶终止转录



2、不依赖 ρ 因子的终止子

结构特征:

☺ 一是形成一个发夹结构

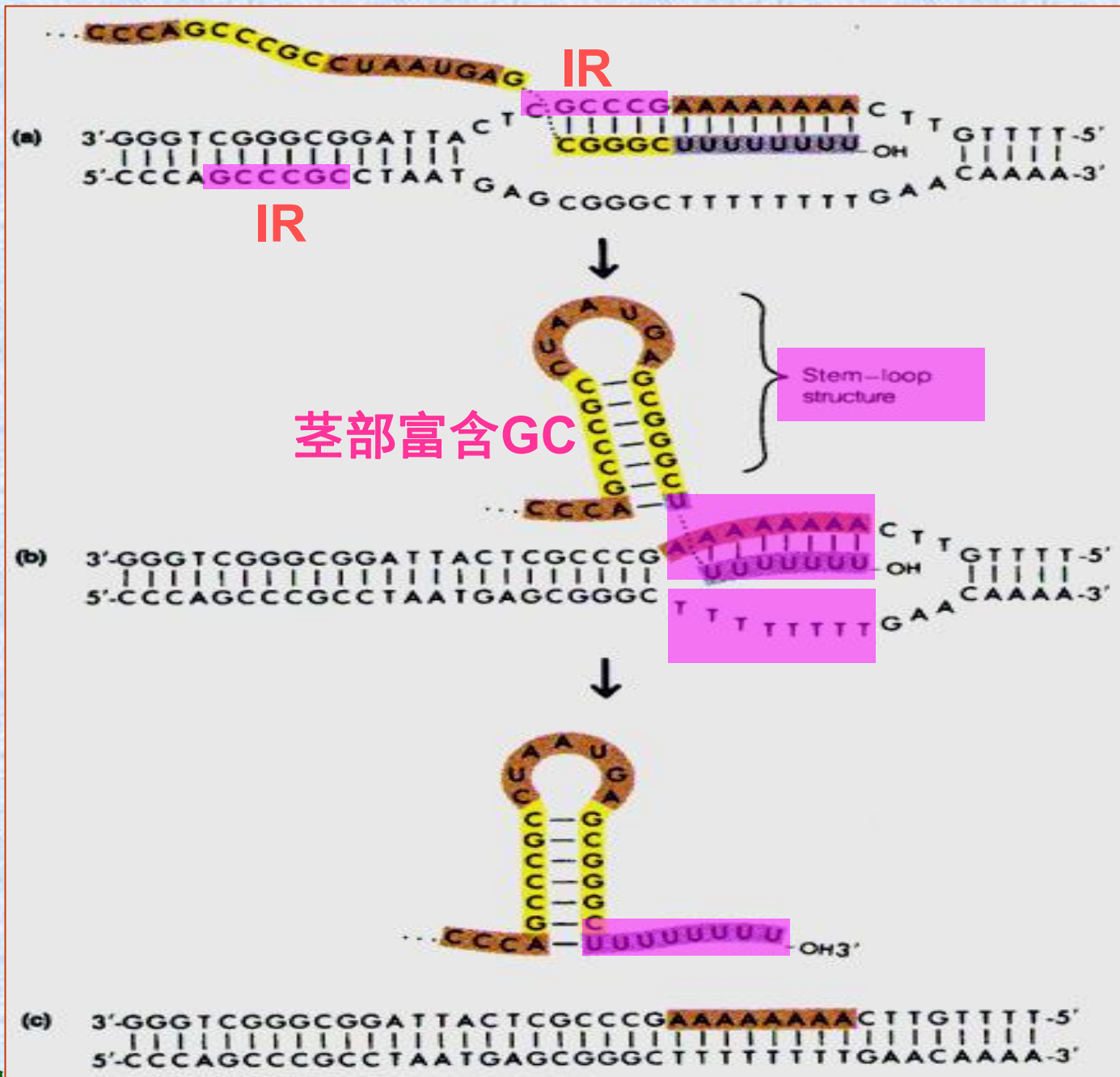
茎.... 7~20 bp的IR序列形成（富含G/C）

环....中间不重复序列形成

发夹结构的突变可阻止转录的终止

☺ 二是6 ~ 8 个连续的U串（发夹结构末端）

不依赖 ρ 终止子结构





3、依赖 ρ 因子的终止子

(1) 结构

IR序列中的 G / C 对含量较少

发夹结构末端没有固定特征

(2) 靠与 ρ 的共同作用而实现终止

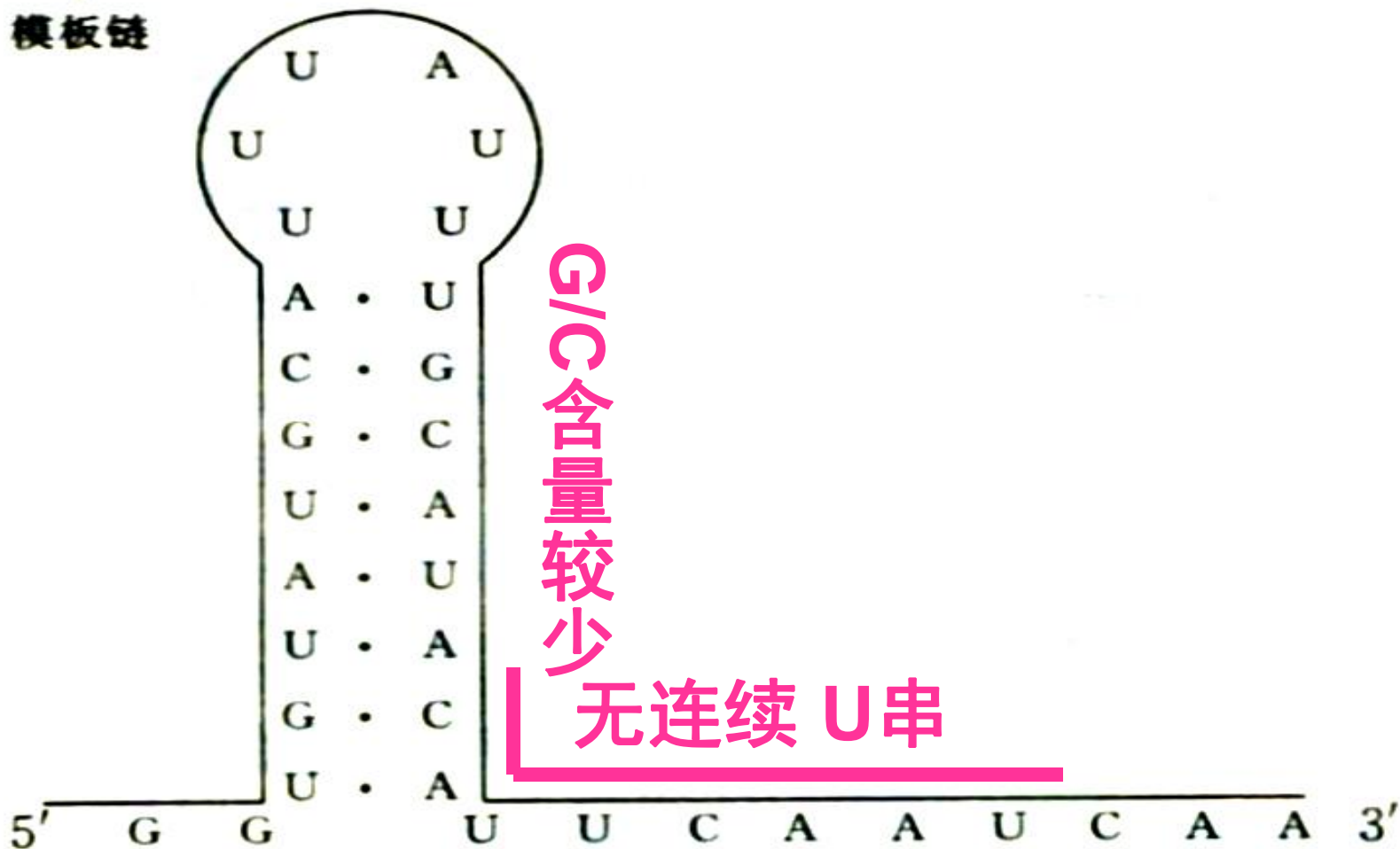
反向重复序列

不重复节段



转录

模板链





二、 原核生物转录的终止

1、不依赖 ρ 因子的终止子终止转录

(1) 新生RNA链发夹结构形成 

与RNAPol发生作用 

阻止RNA链的释放



造成高度延宕（典型的有60秒左右）

(2) RNAPol暂停为终止提供了机会，6 ~ 8个连续的U

串可能为RNAPol与模板的解离提供了信号

RNA—DNA之间的 rU—dA 结合力较弱



于是： RNA—DNA解离 三元复合体解体
RNApol解离 转录终止

(3) 真正的终止点不固定，在 U串中的任何一处

(4) IR序列和U串同等重要

IR中的G / C对含量的减少

U串的缩短或缺失

(5) DNA上与U串对应的为富含A / T的区域

说明：AT富含区在转录的终止和起始中均起重要的作用



2、依赖 ρ 因子的终止子终止转录

(1) 通读 (read through)：在依赖 ρ 因子的转录终止过程中，RNAPol 转录了 IR 序列之后，虽发生一定时间的延宕，但如果没有 ρ 因子存在，则 RNAPol 会继续转录

(2) ρ 因子

a、活性形式为六聚体

促进转录终止的活性，NTPase 活性



b、 RNA长度大于50nt时，依赖RNA的NTPase活性最大

说明： ρ 因子识别和结合的是RNA

(3) ρ 因子对终止子的作用

a、 ρ 因子与RNA结合（终止子上游的某一处，RNA的5'端）

b、 ρ 因子沿RNA从5'→3'移动（NTP水解供能）

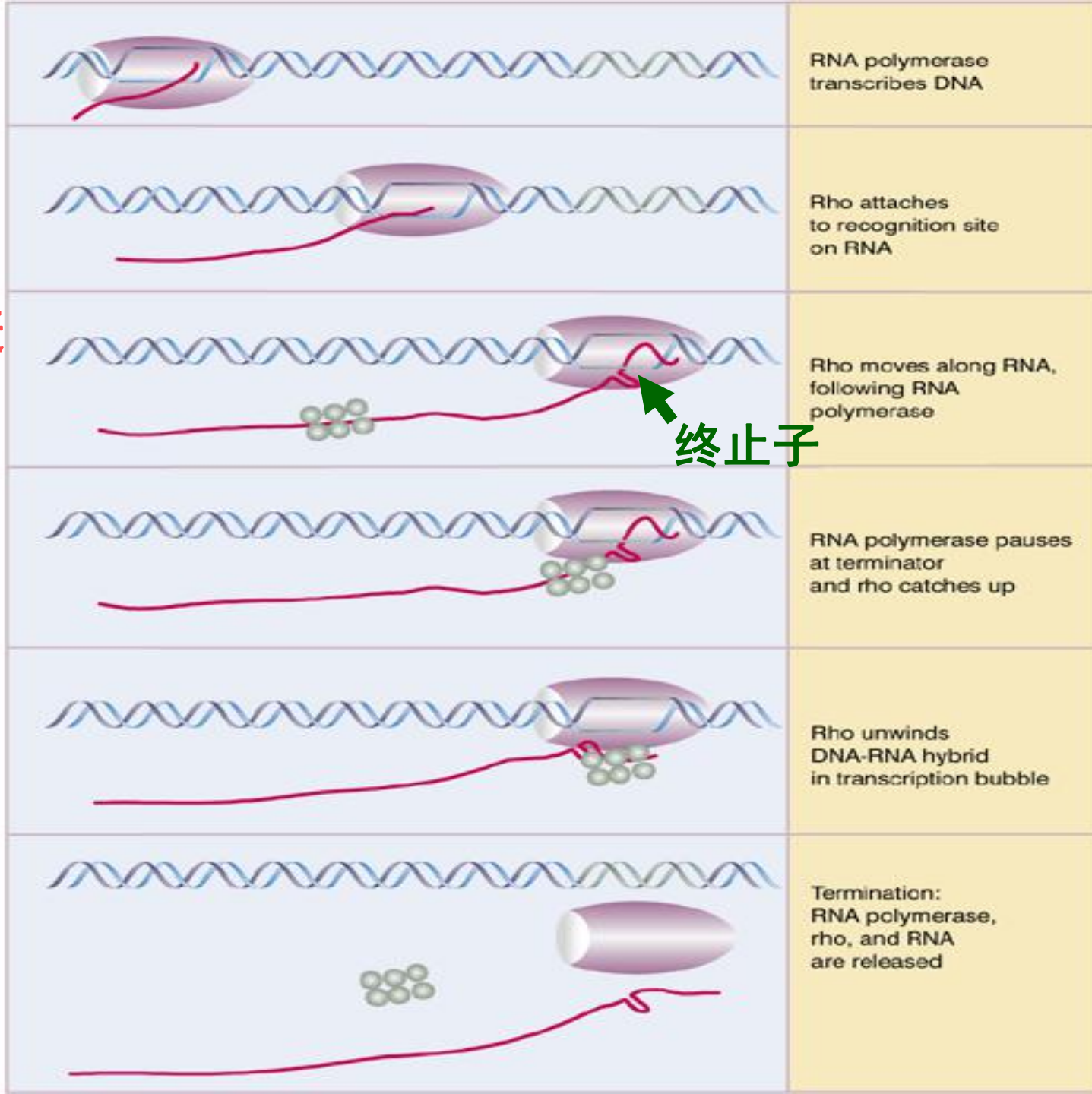
（终止子处的较长时间的延宕给 ρ 因子追赶的机会）

c、 ρ 因子与 RNAPol 相互作用而造成转录的终止

ρ 结合上来追赶
RNAPol

ρ 追赶上来
(暂停)

ρ 与RNAPol相
互作用使杂交链
解链

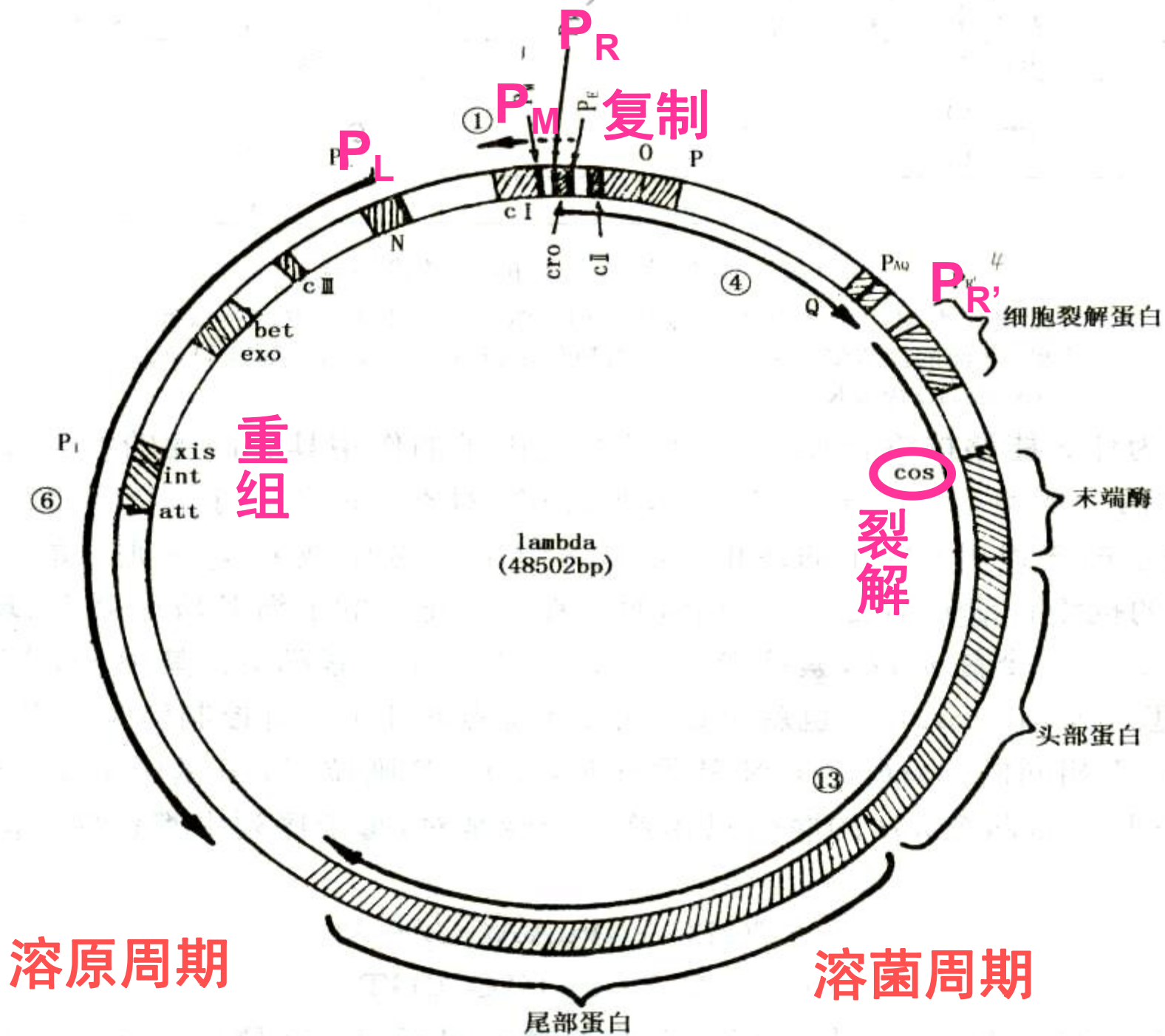




三、终止与抗终止及抗终止因子

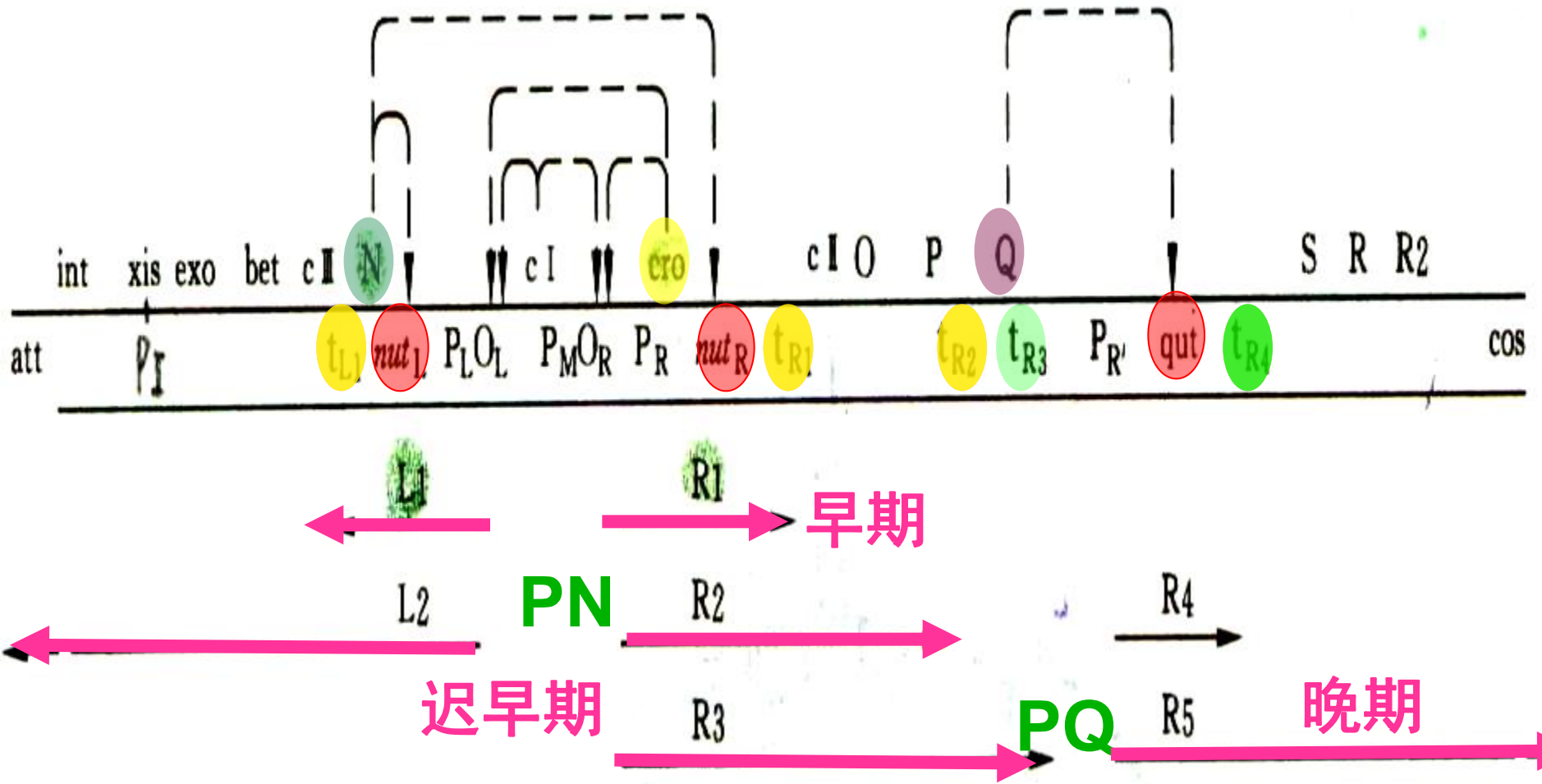
- ◆ 各种生物采用不同的手段控制不同发育阶段的基因表达
 - * 枯草杆菌-----更替 σ 因子
 - * T7噬菌体-----更换RNAPol
 - * λ 噬菌体采用依赖于 ρ 因子的终止以及通过抗终止因子的抗终止作用

λ Phage 的操纵元组织情况





抗终止作用的过程





抗终止的机制

- 依赖于噬菌体本身的依赖 ρ 因子的终止子
- 依赖 ρ 因子的终止子上游有抗终止信号(靠近PL的nutL, 靠近tR1的nutR nut—PN utilization)
- 抗终止蛋白和nut位点的结合, 等待RNAPol经过时修饰RNAPol的构象, 拮抗寄主编码的终止蛋白 ρ 的活性,使之通过那些依赖 ρ 的终止子



四、真核生物的终止子及转录终止(了解很少)

1、RNApol II 的终止子类似原核生物不依赖 ρ 因子终止子,

终止可能靠RNApol II 本身完成

- SV40的终止子: 发夹结构 U串

2、RNApol III的终止子类似原核生物 (发夹结构 U串)

- U串位于发夹结构的顶端
- 且保守性很强 (酵母→人)
- 环和柄对转录的终止同等重要



本节小结

- 终止子的概念
- 原核生物的终止子介绍
 - ◇ 依赖rho因子的终止子
 - ◇ 不依赖rho因子的终止子
- 原核生物的转录的终止过程
- 抗终止与抗终止因子
- 真核生物转录的终止



5.6 原核生物转录产物的后加工

Pre-RNA processing in Prokaryotes

一、 rRNA 后加工

1、 基因排列方式

★ 三种 rRNA 基因（5S、16S、23S）与tRNA
的基因形成操纵元（E. coli 七个）

★ 每个操纵元中 tRNA 基因无固定模式
（种类、数量、位置）



★ 三个rRNA基因的相对位置有一定规律

...16S rDNA.....间隔 tDNA.....23S
rDNA.....5S rDNA.....收尾 tDNA...

加工过程主要是RNaseIII等酶的作用

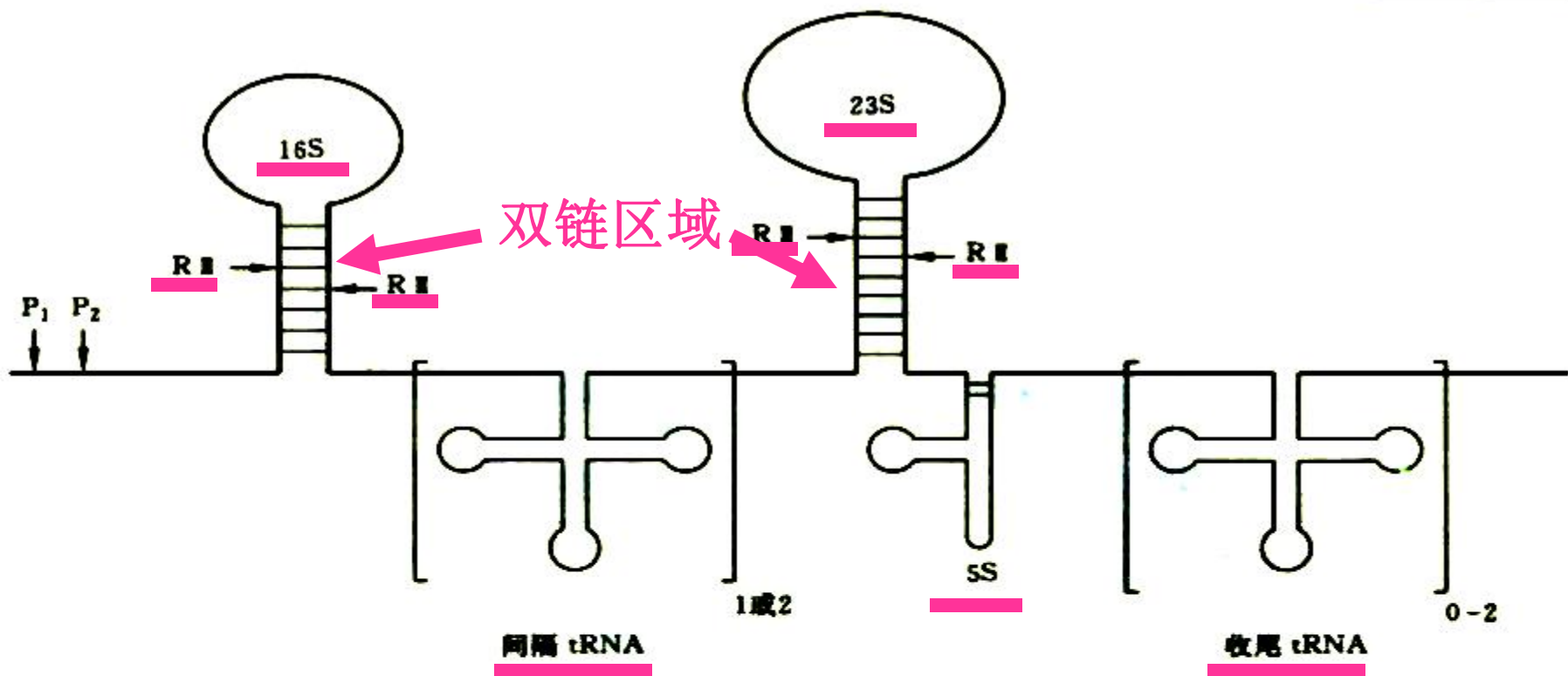


图6-22 *E. coli* K12的七个 *rrn* 操纵元。细线部分代表成熟的 rRNA 或 tRNA 的序列, R ■ 代表 RNAase ■ 的切点, P₁, P₂代表两个相距约100个核苷酸的转录起点。

操纵元	间隔 tDNA	收尾 tDNA	染色体上位置(分)
<i>rrnA</i>	Ile1, Ala ₁ B	—	86
<i>rrnB</i>	Glu ₂	—	89
<i>rrnC</i>	Glu ₂	Asp1, Trp1	84
<i>rrnD</i>	Ile1, Ala ₁ B	Thr	71
<i>rrnE</i>	Glu ₂	—	90
<i>rrnG</i>	Glu ₂	—	56
<i>rrnH</i>	Ile1, Ala ₁ B	Asp1	5



二、 tRNA的转录后加工

1、 tRNA 基因

(1) 转录单元大多是多基因的同一个小tRNA基因、不同tRNA基因、与rRNA基因

(2) 有两种类型的 tRNA 基因：

I 型 具有3'端的CCA序列

II 型 没有3'端的CCA序列



(3) I 型需在酶的作用下切除**CCA**下游一段序列

(**Prok.** 的**tRNA**多为 I 型)

II 型需要在酶的作用下添加**CCA**序列

(少数 **Phage** 、 **Euk.**)



2、参与 tRNA后加工的酶

(1) **RNAaseP:** 内切核酸酶, 核蛋白

使 **tRNA**产生成熟的 **5'端**

识别**tRNA**的空间构象

(2) **RNAaseD:** 外切核酸酶, 使 I 型 **tRNA**暴露出**CCA**端

a、**RNAaseP** 存在时 **RNAaseD**可达最大活性

b、**RNAaseQ**、**RNAaseY**、**RNAaseP₃**与此酶功能相同



(3) **tRNA核苷酸转移酶 (tRNA nucleotidyl transferase)**

以**ATP**和**CTP**为前体，催化 **tRNA (II型)** 的**3'端**生成**CCA**

a、 **E.coli**中该酶基因突变后，会影响菌株生长
(**CCA**末端常丢失)

b、 识别**tRNA**的空间结构，无种属特异性

(4) **RNAase III**: 与**RNAase O**、**RNAase P₂**的功能相似，负责切
开间隔序列



3、E.coli 的 tRNA^{Tyr}₁分子的修饰过程

编码基因的原始转录物

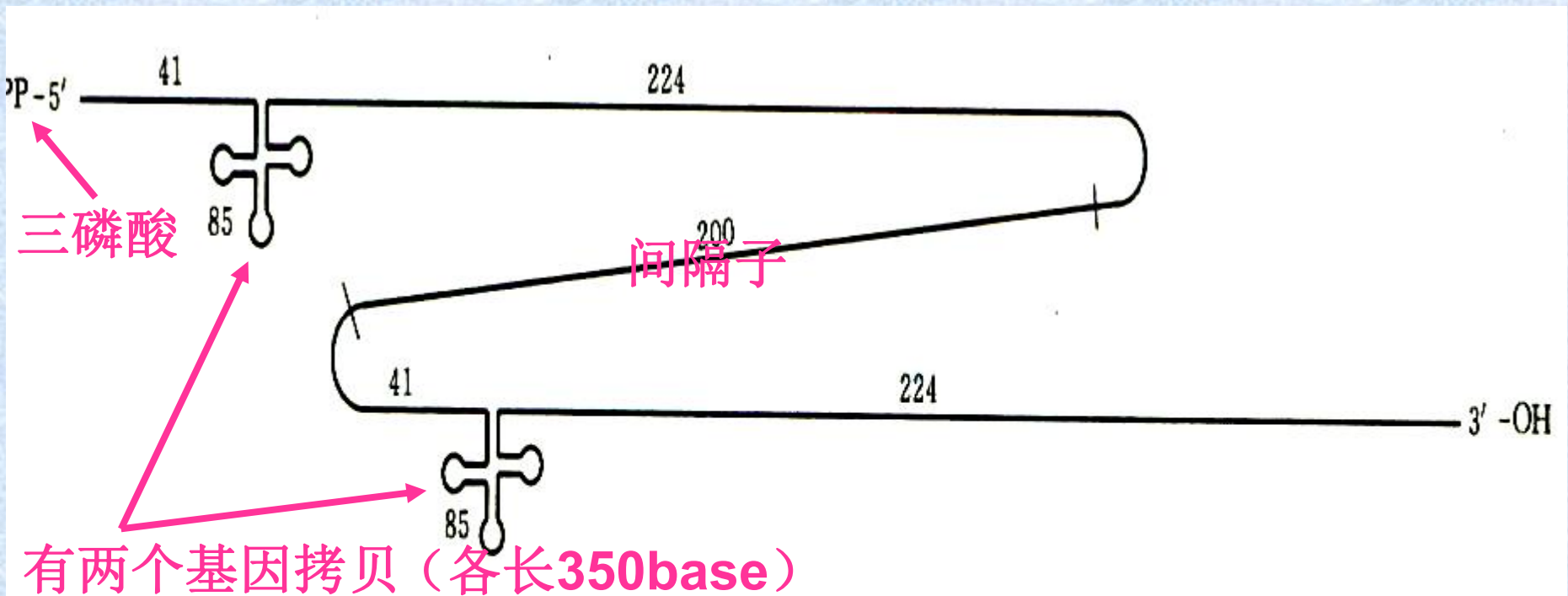
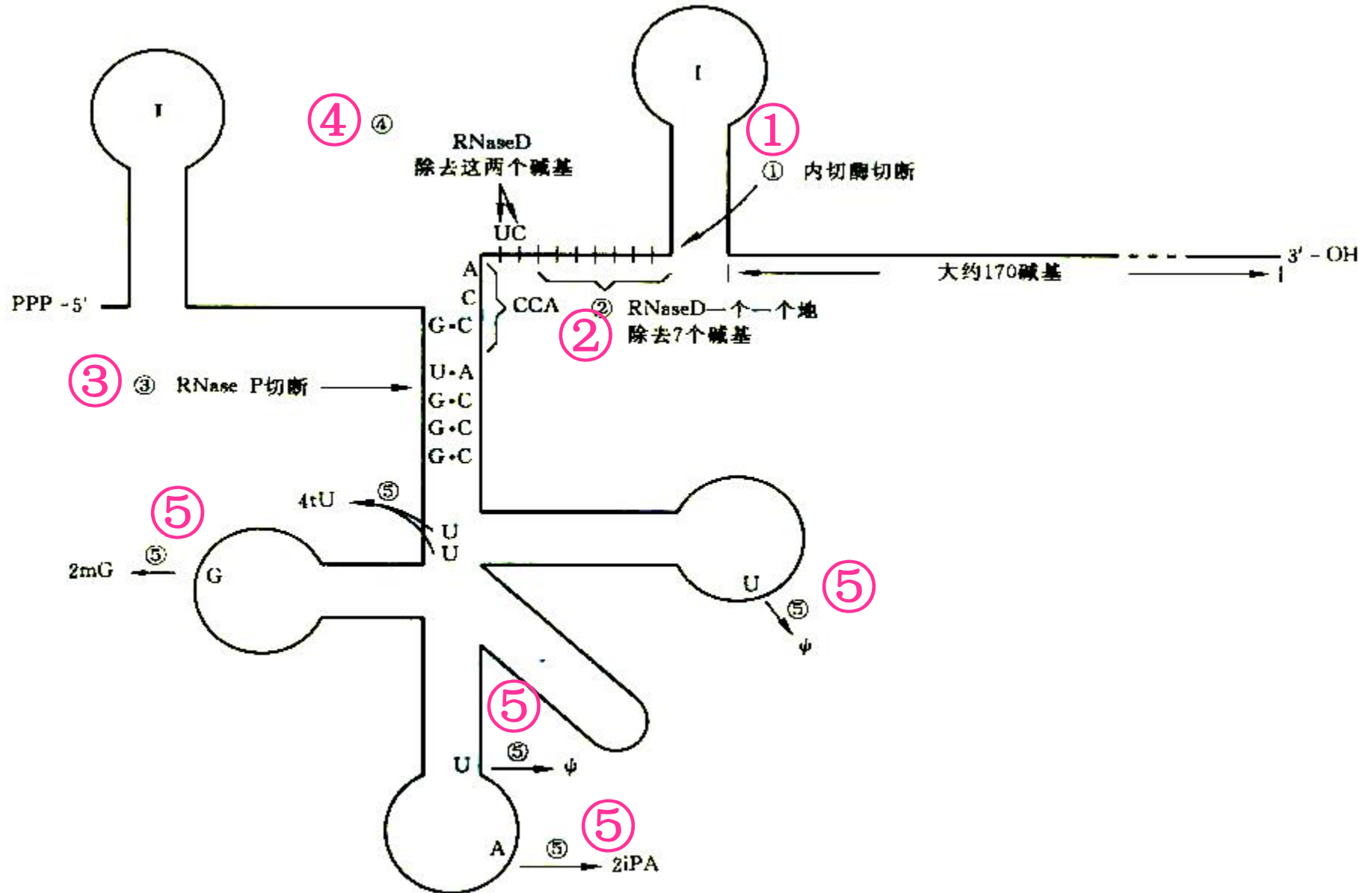


图6-25 两个 tRNA^{Tyr}₁基因的原始转录产物

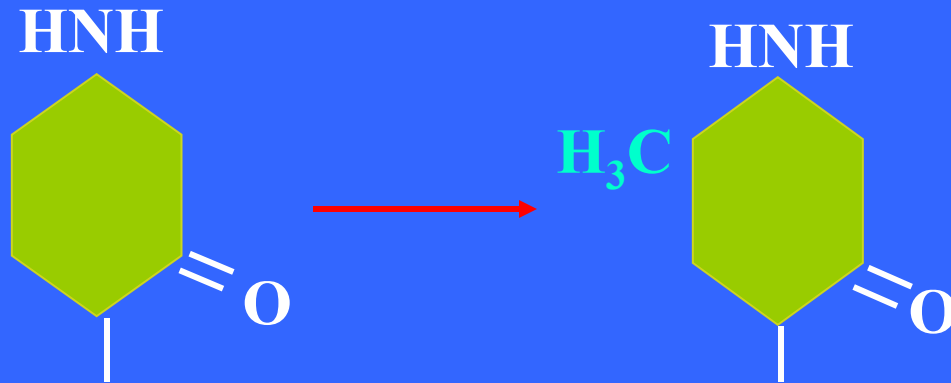
原始转录物的修饰过程



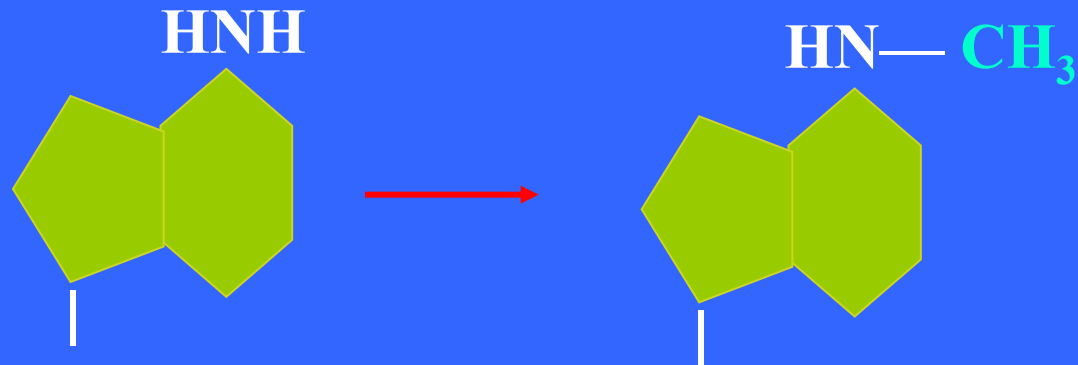


三、RNA中的甲基化及常见的修饰核苷酸

m^5C



m^6A



★ Prok.中主要是碱基的修饰

Euk.——核糖、碱基

共103页 第70页



目录



常见tRNA中的修饰核苷酸

Xo5U	(5-羟基尿苷)
Cmnm ⁵ U	(5-羧甲基氨甲基尿苷)
mCm ⁵ U	(5-甲氧基羧甲基尿苷)
Xm ⁵ s ² U	(5-甲基-2-硫代尿苷)
K ² C	(2-赖氨酸胞苷)
Com ⁵ U	(5(2)-羟羧甲基尿苷)
I	(Inosine次黄嘌呤)
m ⁷ G	(7-甲基尿苷)
m ⁵ C	(5-甲基胞苷)
m ⁶ A	(6-甲基腺苷)
s ² C	(2-硫代胞苷)
ψ	(假尿苷)
Um	(2'-O-甲基尿苷)



5.7 真核生物转录产物的后加工

Pre-RNA processing in Eukaryotes

一、rRNA的转录后加工

主体rRNA基因（5.8S、18S、28SrDNA）组成一个转录单元

—————→ 47S前体 —————→ 45S前体

a、甲基化位点可能是酶识别的标志

b、加工的对象是一种核蛋白



二、mRNA的转录后修饰-----帽子

1、帽子的种类

帽子0 (Cap-0) $m^7GpppXpYp$ ----- (共有)

m^7G N^7 —甲基鸟苷

帽子1 (Cap-1) $m^7GpppXmpYp$ -----

第一个核苷酸的 2'-O 位上产生甲基
化 (A N^6 位甲基化)

帽子2 (Cap-2) $m^7GpppXmpYmp$

第二个核苷酸的 2'-O 位上产生甲基
化 (A、G、C、U)

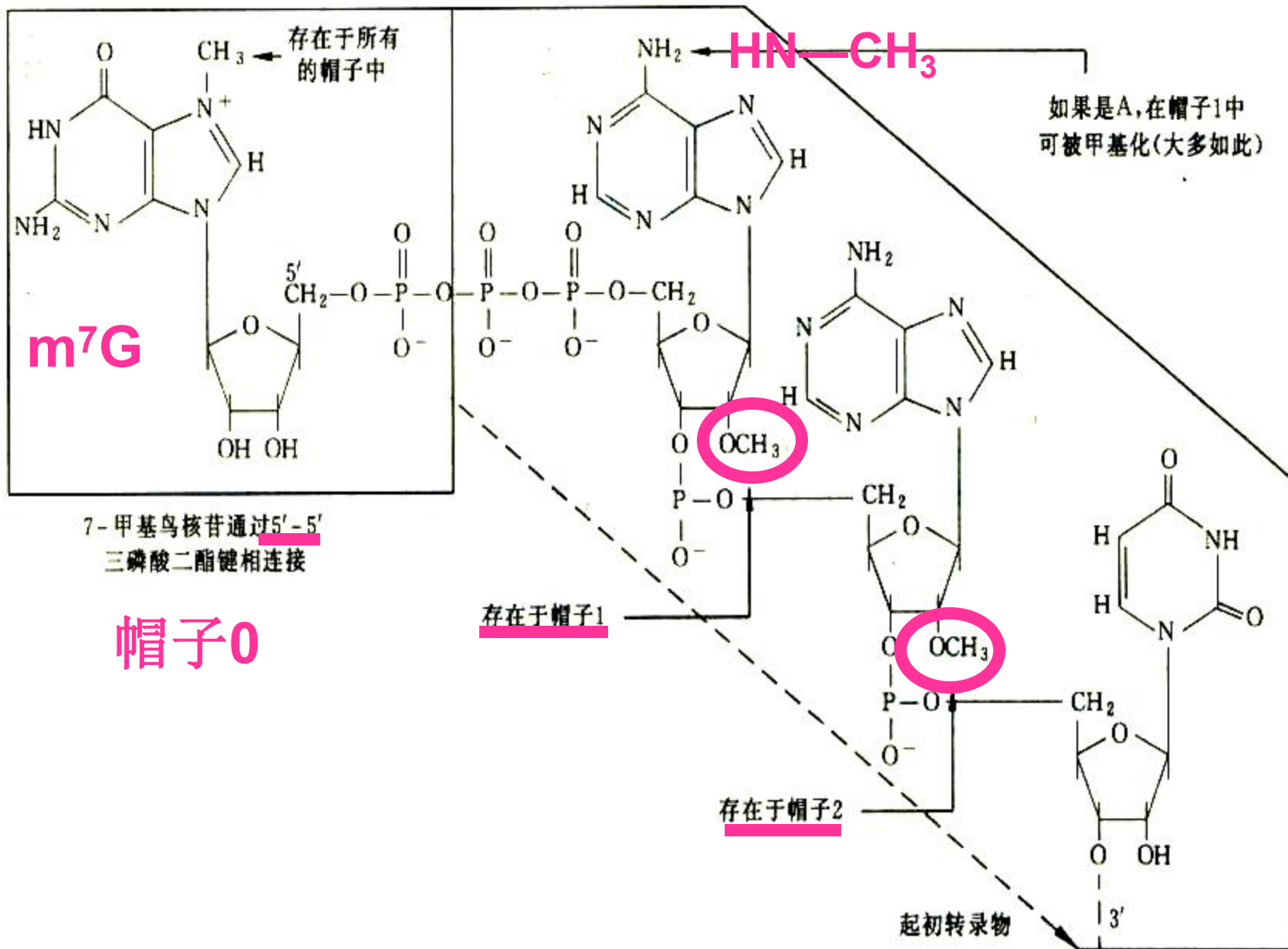
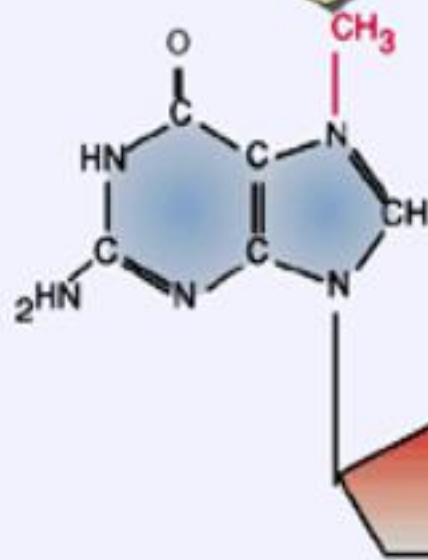
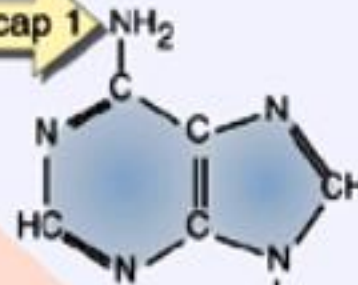


图6-19 真核生物 mRNA 5'端的三种不同的帽子结构

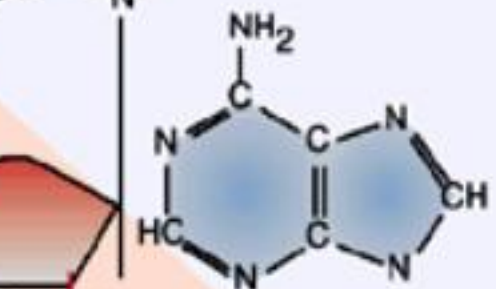
Present in all caps



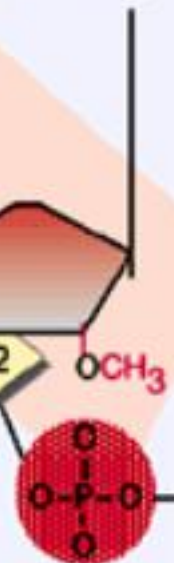
Can be methylated in cap 1



Present in cap 1



Present in cap 2





其中:

- ☆ 单细胞真核生物只有 **Cap—0**
- ☆ **Cap—1** 是其余真核生物的主要帽子形式
- ☆ **Cap—2** 存在于某些真核生物中

2、帽子结构的生成

- ☆ 甲基供体都为**S—腺苷甲硫氨酸 (SAM)**
- ☆ **RNA鸟苷酸转移酶-----戴帽酶 (capping enzyme)**



3、帽子结构的功能

- (1) 对翻译起识别作用-----为核糖体识别**RNA**提供信号
Cap—0 的全部都是识别的重要信号
Cap—1,2 的甲基化能增进识别
- (2) 增加**mRNA** 的稳定性, 使**5'**端免遭外切核酸酶的攻击
- (3) 与某些**RNA**病毒的正链合成有关
(**Cap—1**、 **Cap—2**)

除帽子结构外的**Euk.mRNA**内部甲基化———**m⁶A**形式



三、mRNA的转录后修饰二----- 多聚（A）尾巴

1、 3'端-----约长200bp （大多数Euk.的mRNA）

（poly(A)⁺ poly(A)⁻）

最近研究发现，原核生物的RNA转录后也有3'添加
poly(A) 的现象

2、 poly(A) 的生成

a、 RNA末端腺苷酸转移酶（poly(A) 聚合酶）催化

前体——ATP



反应如下：



b、添加位点

内切酶(360KDa)切除一段序列 $\longrightarrow$ 由poly(A) 聚合酶
催化添加poly(A)

内切酶的识别位点（有其它因子参与）

切点上游 13—20bp处的 AAUAAA

切点下游的 GUGUGUG （单细胞Euk.除外）



3、 poly(A) 的功能

(1) 可能与核质转运有关

(2) 与mRNA的寿命有关

(3) 与翻译有关

a、 缺失可抑制体外翻译的起始

b、 胚胎发育中， poly(A) 对其mRNA的翻译有影响（非poly(A) 化的为储藏形式）

c、 对含 poly(A) 的mRNA 失去 poly(A) 可减弱其翻译



(4) poly(A) 在分子生物学实验中有很大大应用价值

a、 也可将 oligo (dT) 与载体相连，从总体RNA中分离纯化mRNA

b、 用寡聚dT (oligo (dT)) 为引物，反转录合成 cDNA



本节小结

1、Prok.转录产物的后加工

rRNA tRNA

2、Euk.转录产物的后加工

主体rRNA

帽子结构

尾巴的生成



5.8 Euk.转录产物中内元的去除

Intron removing in Eukaryote

一、概述

1、概念

割裂基因 (split gene)：指编码某一RNA的基因中有些序列并不出现在成熟的RNA序列中，成熟RNA 的序列在基因中被其他的序列隔开

内元 (intron)：原初转录物中通过RNA拼接反应而被去除的RNA序列或基因中与这些RNA序列相应的DNA序列。

外元 (excon)：RNA拼接 (RNA splicing)：一个基因的外元和内元共同转录在一条转录产物中，将内元去除而把外元连接起来形成成熟RNA分子的过程。



2、内元的分类

1982 Davies等人

中部核心结构 (central core structure): 在有些内元中, 含有4个重复的保守序列, 长度为10 ~ 20bp, 4个保守序列构成一种二级结构, 在拼接中起重要作用

由于并非所有的内元都有中部核心结构, 所以有了内元的分类



- ★ I 类内元 (group I) :含有中部核心结构的
细胞器基因 核基因
- ★ II 类内元 (group II) :不含有中部核心结构
细胞器线粒体基因内 核基因
- ★ III类内元 (group III) :具有 **GU—AG** 特征的边界序列
核基因mRNA前体
- ★ tRNA基因的内元
均位于 tRNA 的反密码环上



四种内元的边界序列各有一定共同的特征

表6-1 各种内元的边界序列

(带底线的表示相当保守的序列,箭头表示拼接点,Y代表嘧啶核苷酸)

内 元 类 型	5'拼 接 点	内 元	3'拼 接 点
酵母核 tRAN 内元	无保守序列	富含 A、U	无保守序列
第 I 类内元(线粒体、核)	<u>U</u> ↓		<u>G</u> ↓
第 II 类内元(线粒体)	↓ <u>GUG</u> <u>CG</u>		Y <u>AU</u> ↓
核 mRNA 内元	$\begin{smallmatrix} C \\ A \end{smallmatrix}AG \downarrow \begin{smallmatrix} A \\ G \end{smallmatrix}GU \begin{smallmatrix} A \\ G \end{smallmatrix}AGU$		Y <u>AG</u> ↓
酵母核 mRNA 内元	↓ <u>GUAUGU</u>		Y <u>AG</u> ↓
眼虫叶绿体 mRNA 内元	↓ <u>GUG</u> $\begin{smallmatrix} C \\ U \end{smallmatrix}G$		Yn $\begin{smallmatrix} U \\ C \end{smallmatrix}A$ ↓



3、拼接方式

方式一：由拼接装置完成（核**mRNA**内元）

可供识别的特异序列

拼接装置由多种蛋白质和核蛋白组成

方式二：自我拼接（两类内元 I 、 II ）

形成特定的二级结构

RNA具有催化拼接的能力

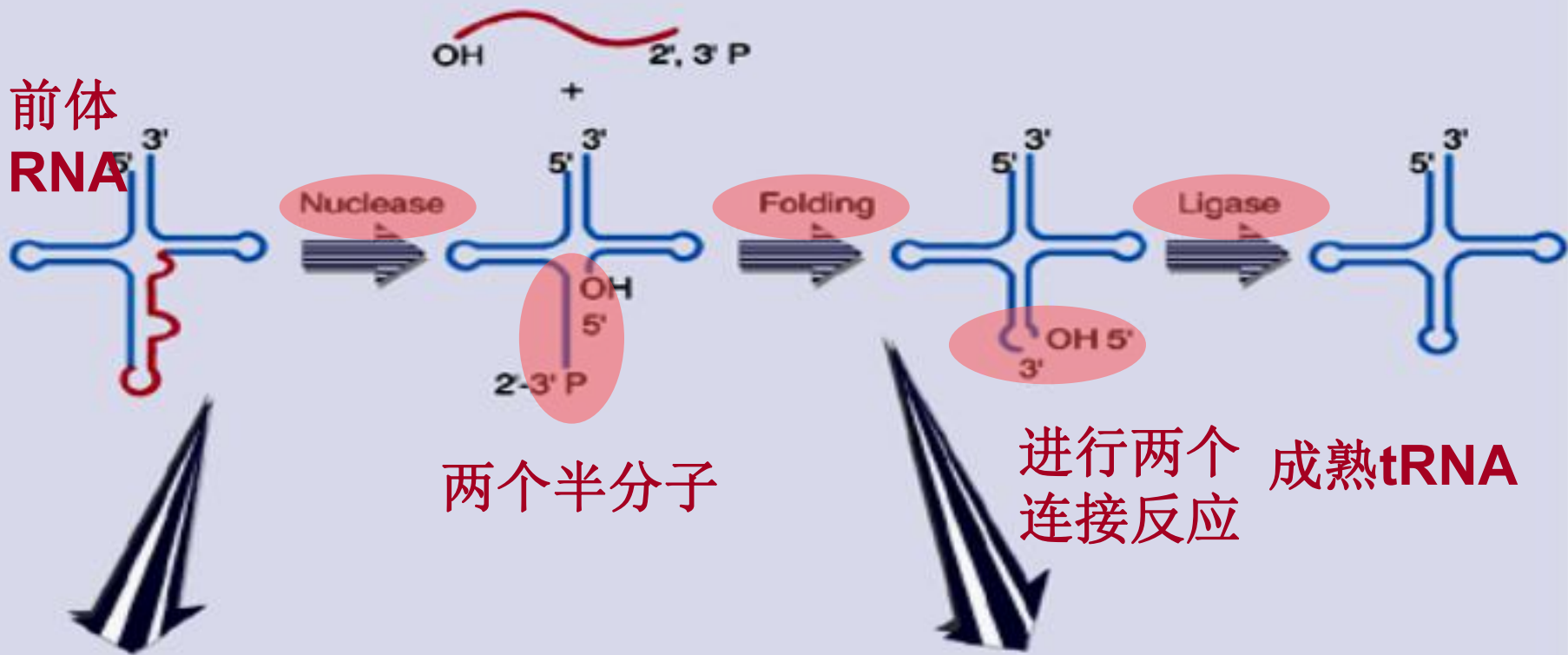
方式三：需要蛋白质酶参与的拼接（酵母**tRNA**）



二、tRNA的拼接（酵母为例）

- 1、链的断裂和连接是两个独立的过程
- 2、tRNA的内元均位于反密码环的3'端，与反密码子相距一个Nt，长14-16bp，其中含一段与反密码环互补的序列，反密码环处形成一个与成熟tRNA不同的构象。
- 3、拼接酶系识别的是二级结构

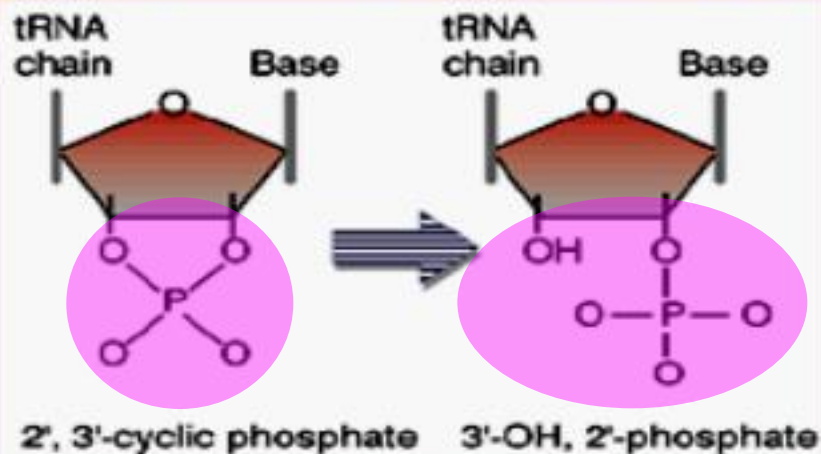
前体
RNA



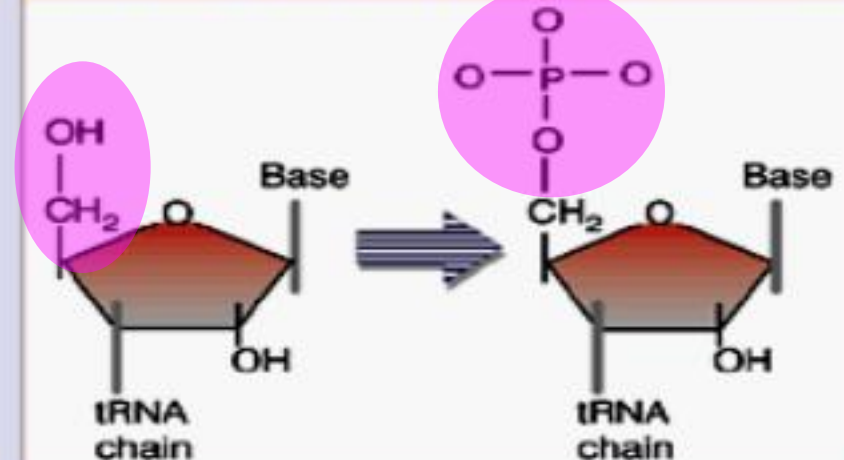
两个半分子

进行两个 成熟tRNA
连接反应

Phosphodiesterase opens phosphate ring



Kinase phosphorylates 5'-OH terminus





三、第 I 类内元的拼接

特点:

- ∅ 拼接属于自我拼接
- ∅ 形成明显的二级结构

1、 结构特点:

(1) 5' 拼接点和3' 拼接点-----U↓... ...G ↓



5'exon.....U.....intron.....G.....exon.....3'





(2) 有由保守序列形成的二级结构

保守序列为 $5' - P - Q - R - S - 3'$

距拼接点很远，各 10~12bp

P与Q互补、R与S互补而形成中部核心结构

2、自我拼接过程主要由转酯反应构成，且完全由内元自身完成-----自我拼接的最大特点

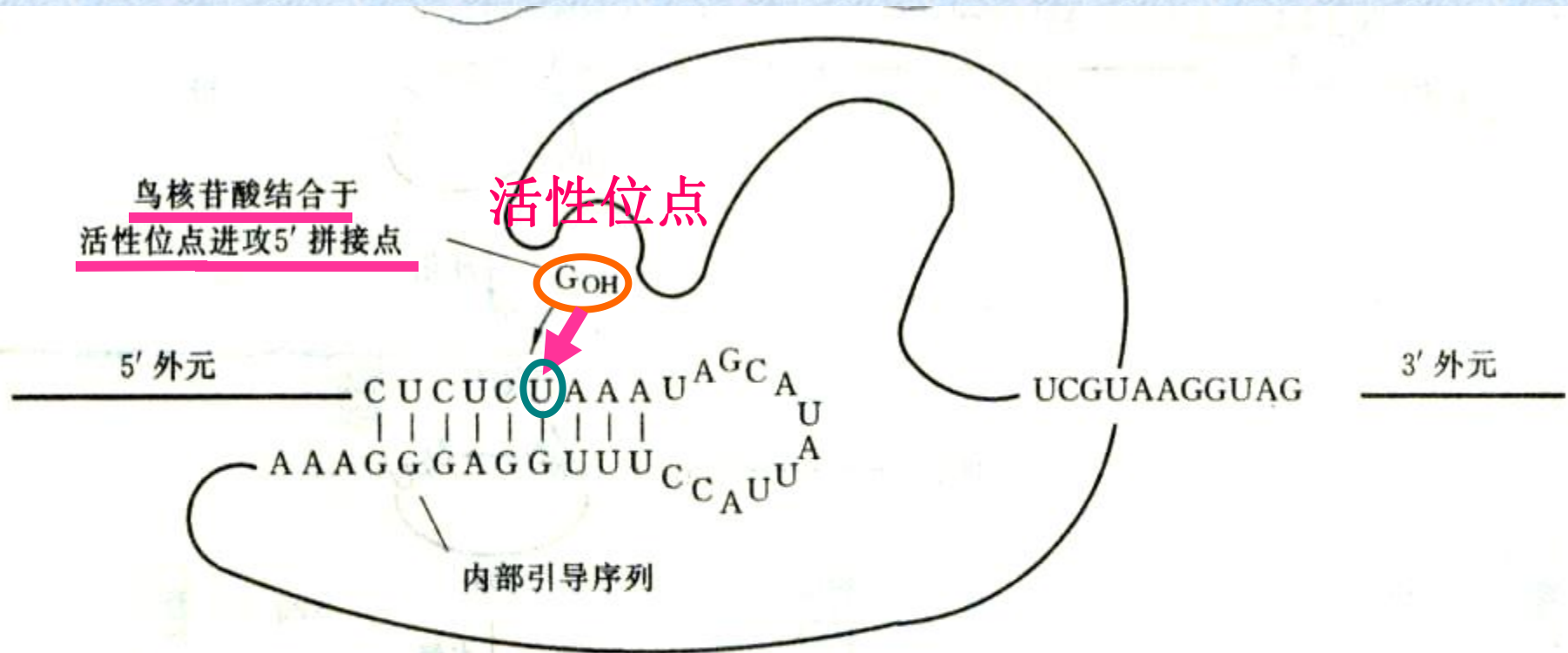


图6-37 四膜虫35S RNA 的内元采取一定的空间构象,内部引导序列与边界序列配对使得转酯反应能够顺利而正确地进行。图中只显示鸟核苷的3'-OH 对于5' 拼接点的进攻态势



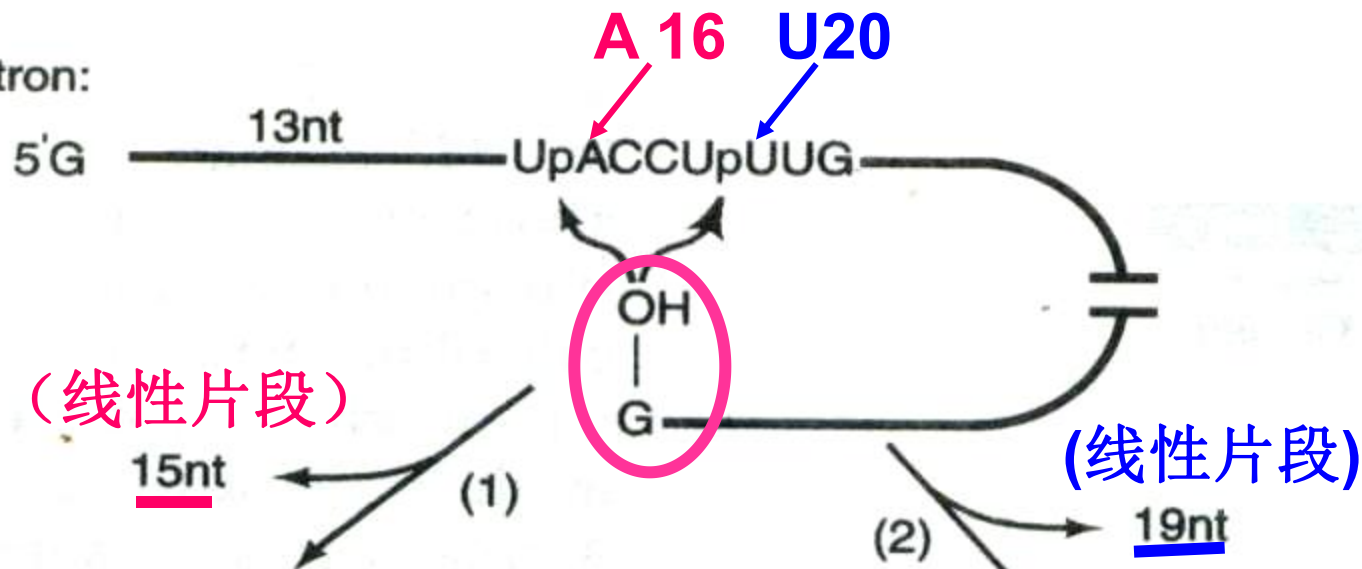
3、内元的催化功能

35SRNA前体拼接释放的内元（414base）进行的自身转酯反应

（1）线状分子自身环化能力及环化后的逆环化

（2）L—19 的 polyC 聚合酶活性

Linear intron:



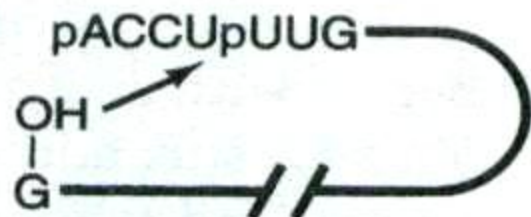
C-15



逆环化

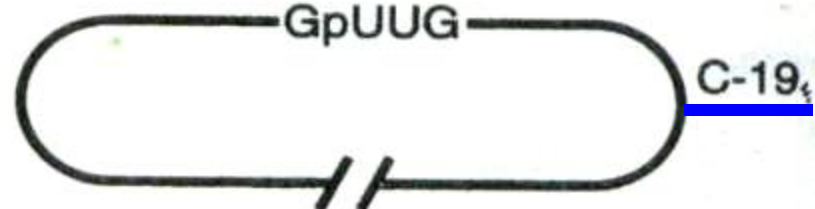


L-15



(4)

pACCU



逆环化



pUUG

L-19





(3) 总结:

a、 四膜虫35SRNA的内元有自身催化的性质，将一处已有的磷酸二酯键转变成另一处新的磷酸二酯键，不需要额外的能量

因此:

内元可以看作是 **RNA重排酶 (RNA rearrangease)**

或 **RNA异构酶 (RNA isomerase)**

其中:

拼接反应中，“酶”和底物是同一个分子，且反应后变成了不同的分子



b、L—19的 polyC 聚合酶活性进一步表明 L—19 具有酶的主要特征：

专一性强

加快反应速度

反应前后酶分子保持不变

人们称这种由RNA构成的酶为----

核糖核酸质酶 (ribozyme) , 可简称 R酶



本节小结

- 断裂基因、内元、外元和RNA的拼接
- 内元的分类：I类、II类、III类内元以及tRNA的内元
- 三种拼接方式
- 内元的催化功能



5.9 不连续转录、反式拼接和RNA编辑

Discontinuous—transcription and Trans-splicing

一、不连续转录的发现

1982 Vander Ploeg等人

研究锥虫的可变表面糖蛋白基因时发现

在其mRNA的 5'端有35个 Nt 是其基因中所没有的

锥虫的全部mRNA都含有这个 序列

称其为前导序列（**leader sequence**）



前导序列

- 由位于基因组其它区域的连续重复序列转录而来
- **200 copies**左右
- 每个重复单位的 **3'端**还有**100Nt**的一段序列（内元）

因此

一种完整 **mRNA** 的前导序列及特异基因编码的 **mRNA**序列
部分的转录是不连续的



- ♪ 每个重复单位的前导序列后面存在一个真核生物典型的
5'拼接点 **GU**
- ♪ 而完整 **mRNA** 的特异基因编码的 **mRNA** 序列的前面都
有一个保守的 3'拼接点 **AG**,以及分支点 A



二、反式拼接

顺式拼接： 通过拼接将一个RNA分子的内元拼接掉，使外元连接在一起（cis-splicing）

反式拼接： 发生在两个RNA分子之间的拼接（trans-splicing）

前导序列与特异基因编码的 mRNA 序列部分形成成熟的mRNA 的拼接方式属反式拼接，前导序列的 3' 区和 mRNA的 5'区各相当于一个内元 的一半

可变拼接： 抗体分子的多样性。



三、RNA编辑

RNA编辑:RNA分子水平上的一种转录后加工过程, 包括核苷酸的插入, 缺失或替换等形式。

对非编码RNA如rRNA, tRNA, snRNA等来说, 影响的只是RNA本身的结构特性。但是对mRNA来说, 可能改变密码子的含义, 甚至整个阅读框架都发生变化, 最终导致蛋白质氨基酸序列的改变。



本节小结

- 不连续转录
- 反式拼接
- RNA的编辑

