

Chapter 11

RNA的生物合成 RNA Biosynthesis

生化与分子生物学教研室

蚌埠医学院

Major Object

[教学时数] 4学时

[掌握内容]: 不对称转录的概念。转录的模板，原料，RNA聚合酶（原核），转录与复制的区别，模板链和编码链，模板与酶的辨认结合。

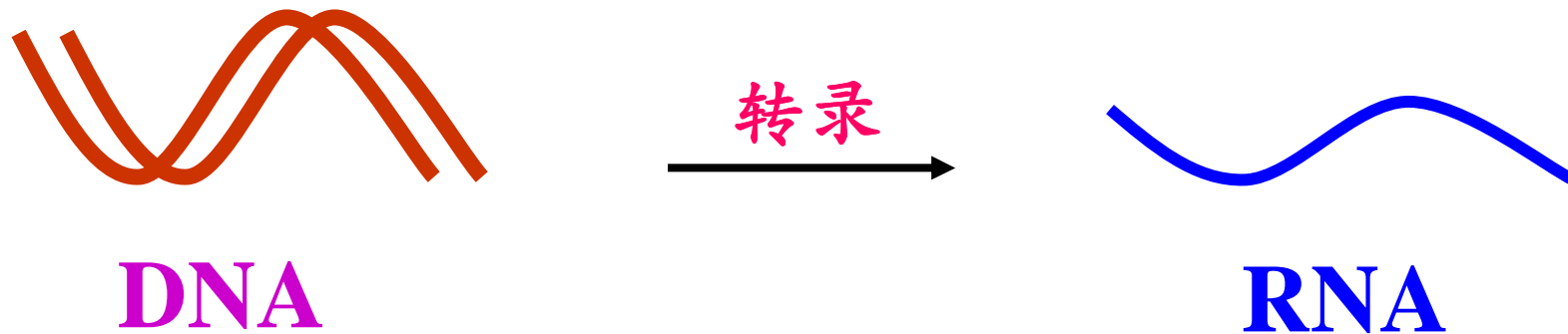
[熟悉内容]: 转录过程，真核生物的转录后修饰。

[了解内容]: 真核生物的RNA聚合酶。

[自学内容]: 核酶。

转录 (transcription)

生物体以DNA为模板合成RNA的过程。



第一节 转录的模板和酶

第二节 转录过程

第三节 真核生物的转录后修饰

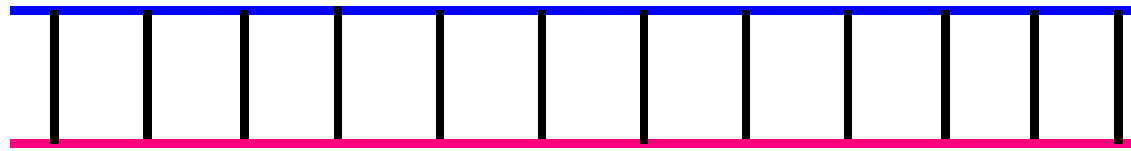
(p244)

* **转录(Transcription) :**

生物体以**DNA**为模板合成**RNA**的过程称为**转录**。即把**DNA**的碱基序列抄录成**RNA**的碱基序列。

* **原始模板和直接模板:**

DNA分子上决定蛋白质氨基酸序列的遗传信息称为蛋白质合成的**原始模板**。指导蛋白质生物合成的**mRNA**称为蛋白质合成的**直接模板**。



DNA (原始模板)



转录



mRNA (直接模板)



翻译



蛋白质

* 参与RNA转录的主要物质:

1、模板：DNA的模板链

2、底物：4种核糖核苷三磷酸

(NTP: ATP、GTP、CTP、UTP)

3、酶：RNA聚合酶 (DDRP)

4、其他蛋白质因子

(p244)

第一节 转录的模板和酶

一、转录模板

(p244)

能转录出RNA的DNA区段，称为结构基因 (structural gene)。

DNA双链中按碱基配对规律，能指导转录生成RNA的一股链称为模板链（也称作有意义链或Watson链）。与模板链对应不能指导转录生成RNA的另一股链称为编码链（也称为反义链或Crick链），它与转录出的RNA碱基序列比较，除了U代替T外，其余都是一致的。

DNA分子上模板链指导RNA转录，与模板链互补的另一条链不转录，这种转录方式叫做不对称转录。在一个多基因的DNA双链分子中，模板链并非都在同一DNA单链上。

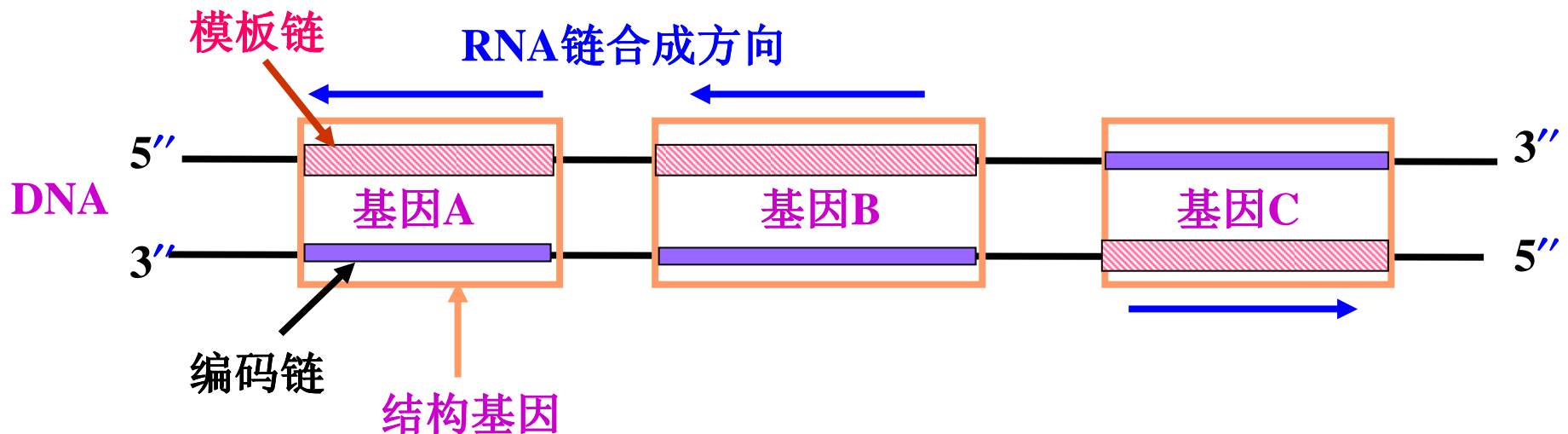


图11-1 不对称转录

(p245)

编码链

5''.....GCA**TTAGCTAGCT**AC...3''

3''.....**cgtaatcgatcgatg**...5''

} DNA

模板链

转录

5''.....GCA**UUAGCUAGCU**AC...3''

mRNA

翻译

N.....Ala • Leu • Ala • Ser • Tyr... C

肽

图11-2 转录和翻译过程

(p245)

不对称转录的含义:

(1) DNA分子上**模板链**指导RNA转录，**编码链**不转录。

(2) 在一个多基因的DNA双链分子中，模板链并非都在同一DNA单链上。

RNA新链合成的方向: $5'' \rightarrow 3''$ 。

文献上刊出的DNA单链，一般均指**编码链**。

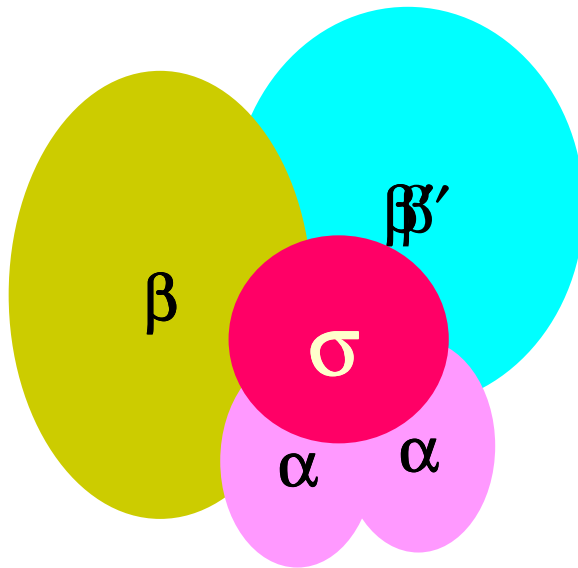
二、RNA聚合酶 (RNA-pol)

(DNA-dependent RNA polymerase, **DDRP**)

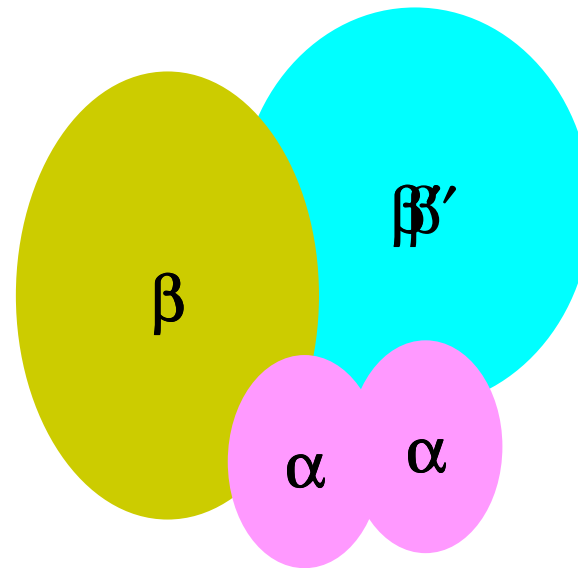
(一) 原核生物的RNA聚合酶(以大肠杆菌为例)

组成及功能:

原核生物的RNA聚合酶分子量480kD，为四种亚基组成的五聚体。

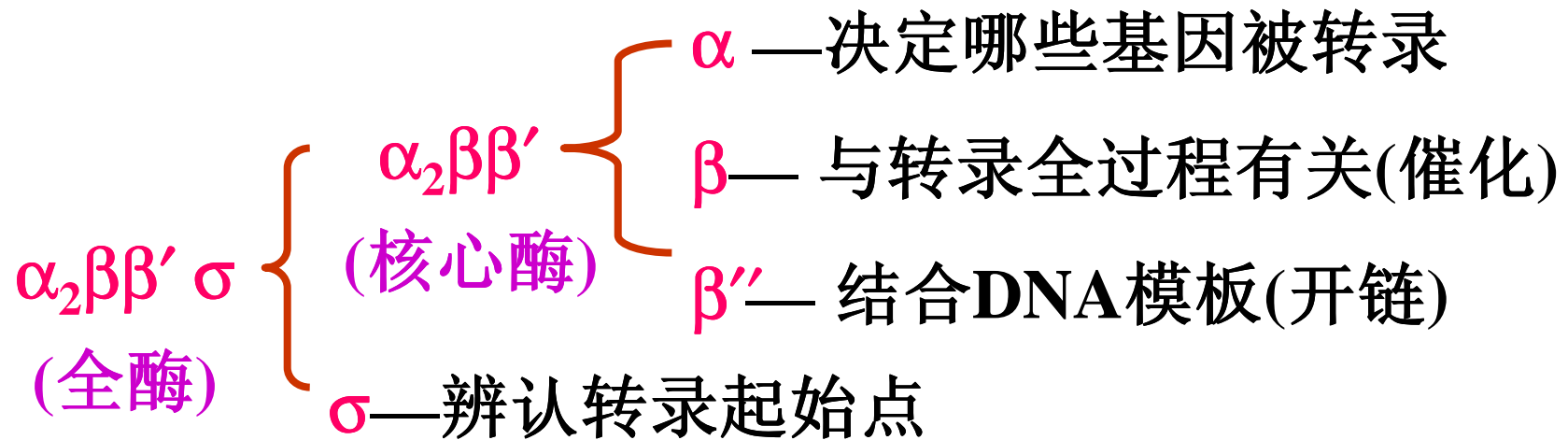


全酶



核心酶

(p245)
12



全酶 ($\alpha_2\beta\beta'\sigma$): 在起始阶段发挥作用。

核心酶($\alpha_2\beta\beta'$): 参与整个转录过程。主要在转录延长阶段起作用, 但不能在特定的起始点上开始转录。

σ : 辨认起始点。

(p245)

(二) 真核生物的RNA聚合酶

(p246)

表11-3 真核生物的RNA聚合酶

种类	pol I	pol II	pol III
转录产物	45S-rRNA	hnRNA	5S-rRNA, tRNA, snRNA
对鹅膏蕈碱 的反应	耐受	极敏感	中度敏感

pol II被认为是真核生物中最活跃的RNA聚合酶，RNA pol I、II和III均由多个亚基组成。

三、模板与酶的辨认结合

(p247)

原核生物模板与酶的辨认

1、操纵子(operon):

- 转录是不连续、分区段进行。每一转录区段称为一个转录单位，称为**操纵子**。
- **操纵子**包括若干结构基因及其上游的调控序列，调控序列中的**启动子**是RNA聚合酶结合DNA模板的部位，也是控制转录的关键部位。

2、启动子 (promotor)

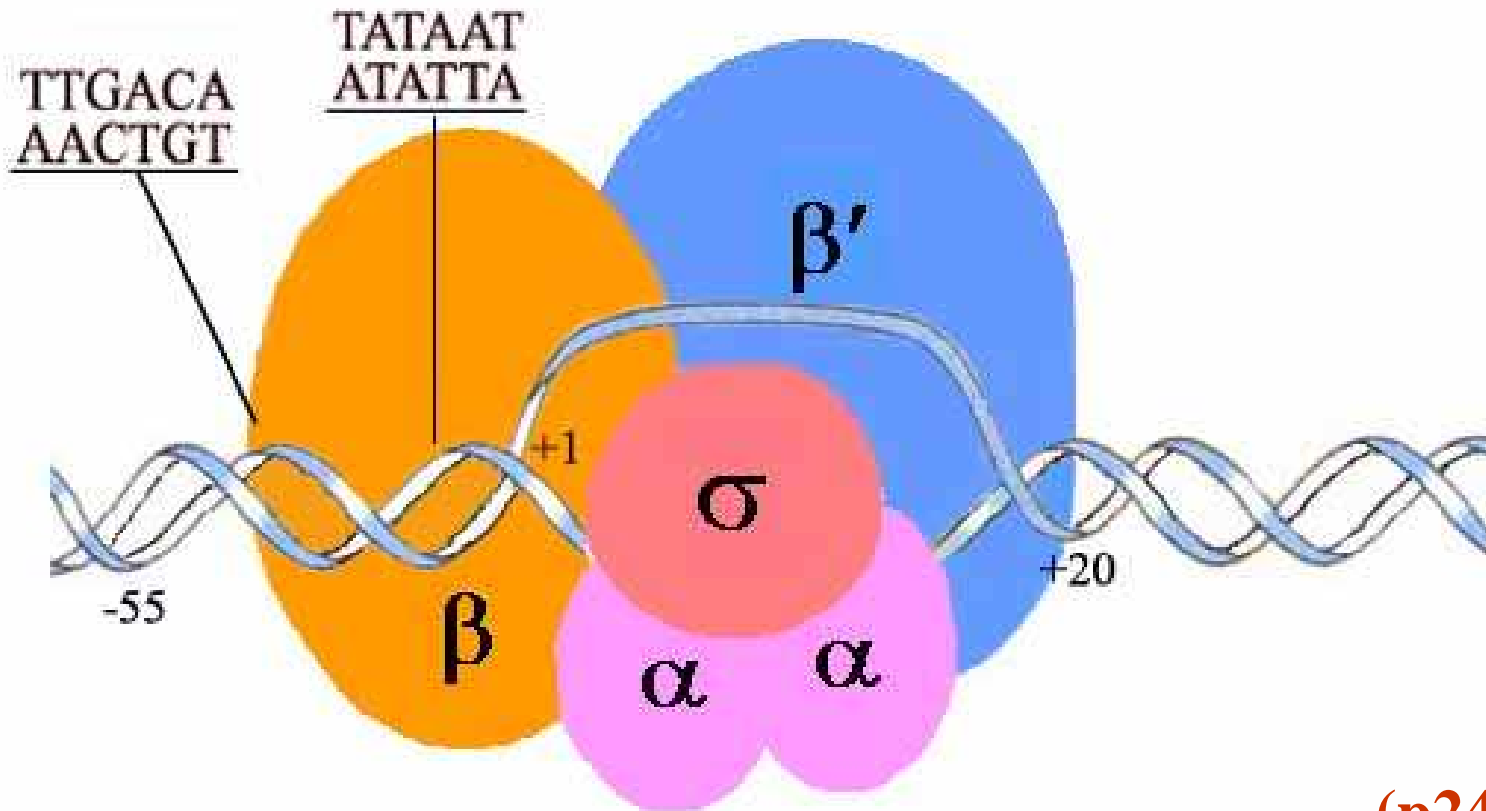
(p247)

(1) **定义**: 模板DNA分子上与RNA聚合酶结合并使转录起始的部位, 称为**启动子**。它是一段DNA的碱基排列顺序, 位于结构基因上游约**40~60bp**, 是操纵子的组成成分。

(2) **结构特点**(含A-T配对较多的保守序列)

启动子 { 辨认位点: -35bp区 5'-**TTGACA**-3''
转录起始点: -10bp区 5'-**TATAAT**-3''
(Pribnow盒)

RNA聚合酶全酶在转录起始区的结合



(p246)

图11-3 原核生物的RNA聚合酶全酶及其在转录起始区的结合

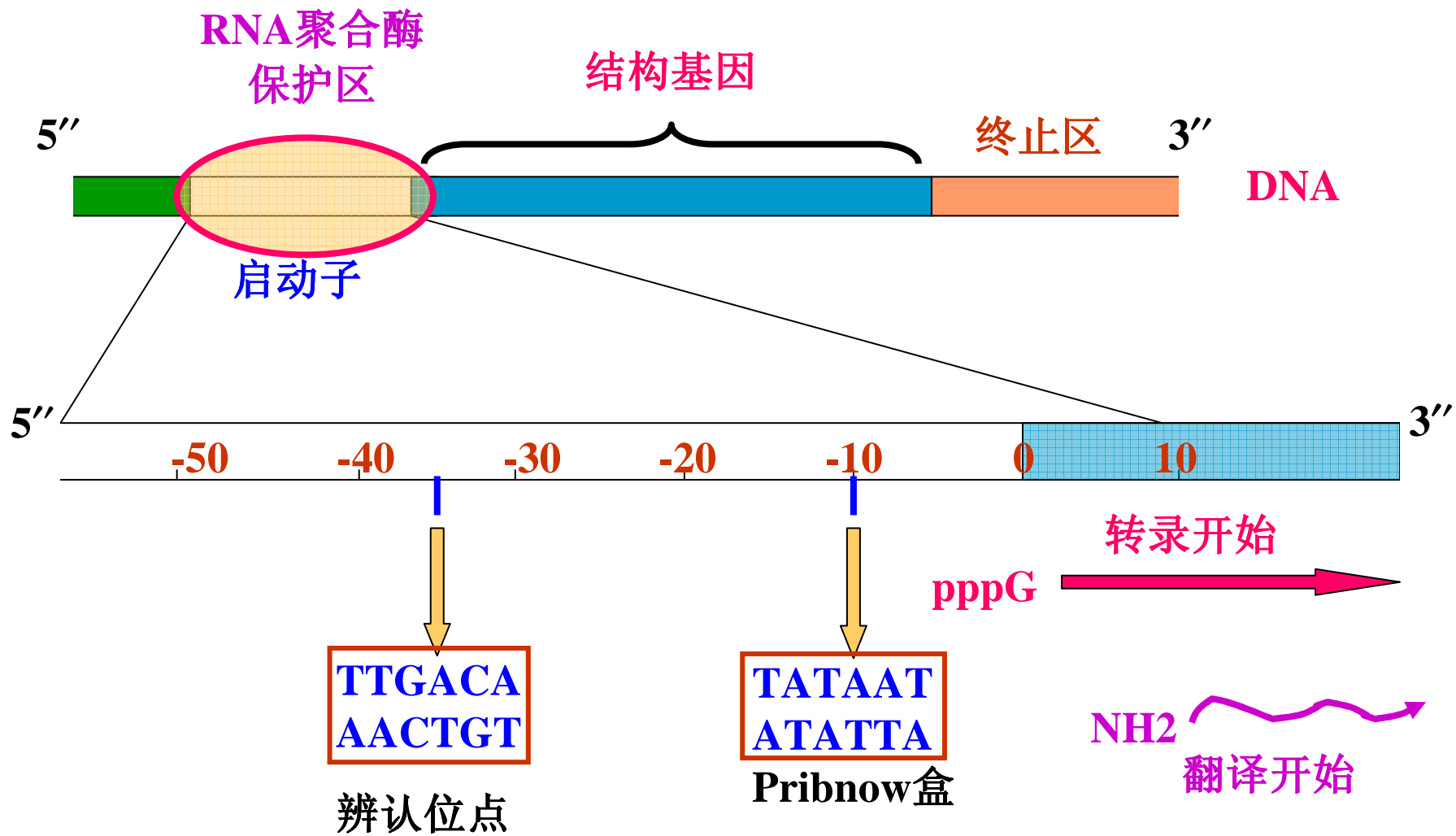


图11-5 转录起始区的结构

第二节 转录过程

一、原核生物的转录过程

(p249)

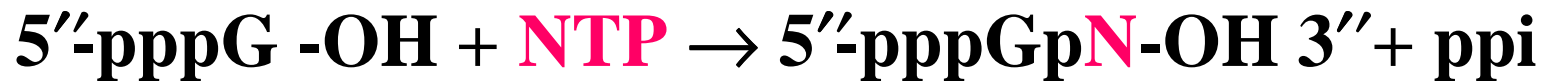
(一) 转录起始

1. RNA聚合酶必须准确地结合在转录模板的起始区域。
2. 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:

(p249)

1. RNA聚合酶全酶($\alpha 2\beta\beta' \sigma$)与模板结合, σ 因子辨认转录起始点;
2. DNA双链解开(约10~20个核苷酸)。
3. 在RNA聚合酶作用下发生第一次聚合反应, 形成四磷酸二核苷酸(5''-pppGpN-OH 3'')的复合物(转录生成RNA 5''第一位多是GTP或ATP)。

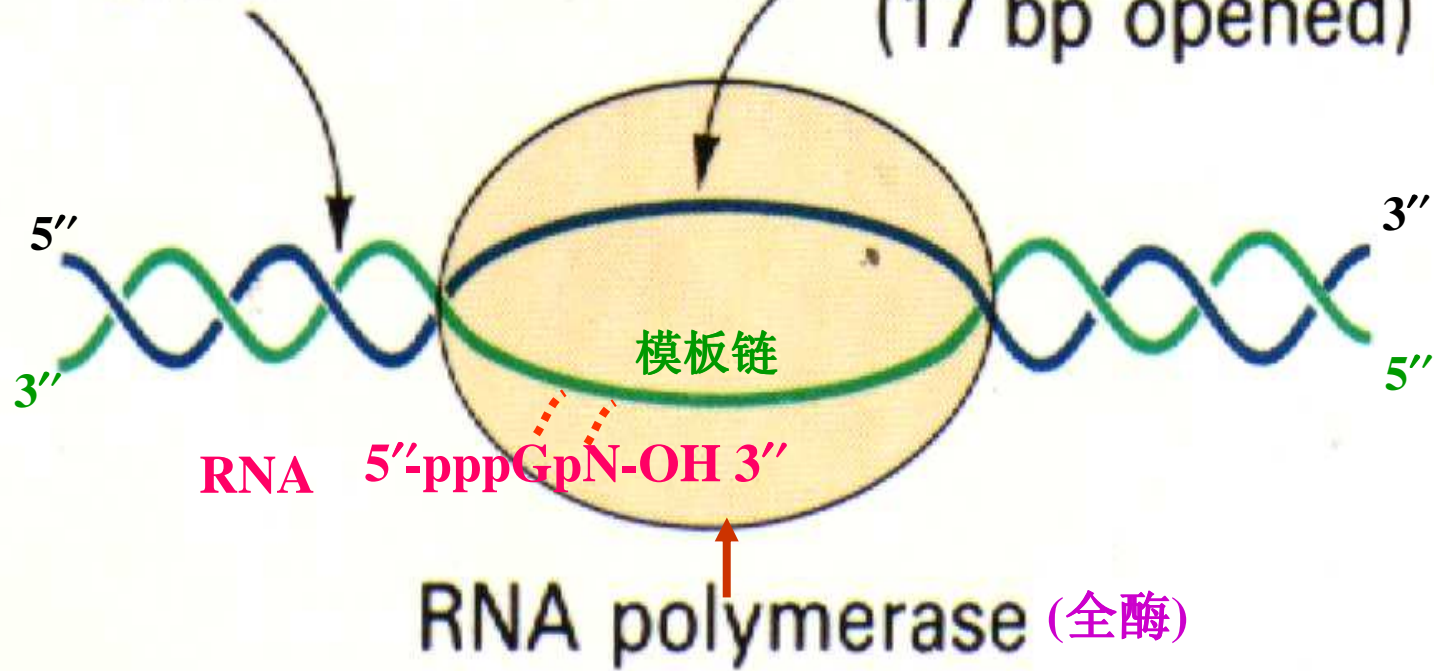


转录起始复合物:

RNApol 全酶-DNA-pppGpN-OH 3''

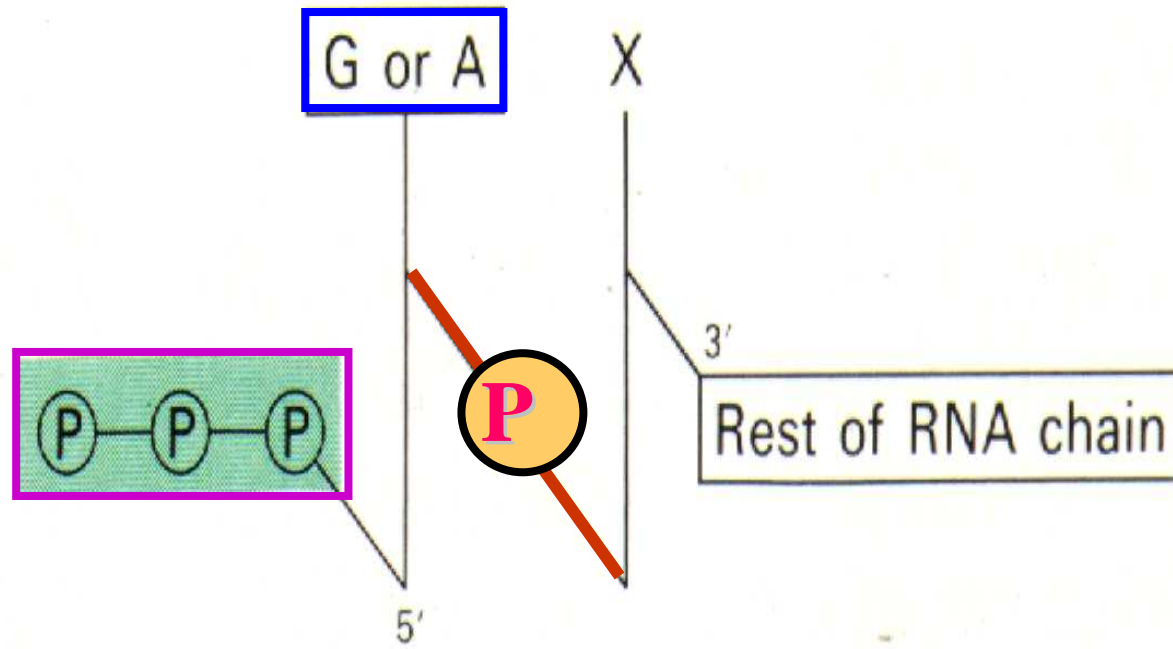
Double-helical
DNA

Unwound DNA
(17 bp opened)



原核生物转录起始复合物

参照(p250)₂₁

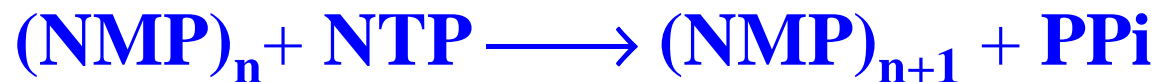


(二) 转录延长

1. 第一个磷酸二酯键形成后， σ 因子从转录起始复合物中脱落下来，**RNA-pol 核心酶**变构，与模板结合松弛，沿着DNA模板前移；

2. 在**RNA-pol 核心酶**作用下，NTP不断聚合，RNA链不断延长。**RNA转录的延长方向是从5''→3''。**

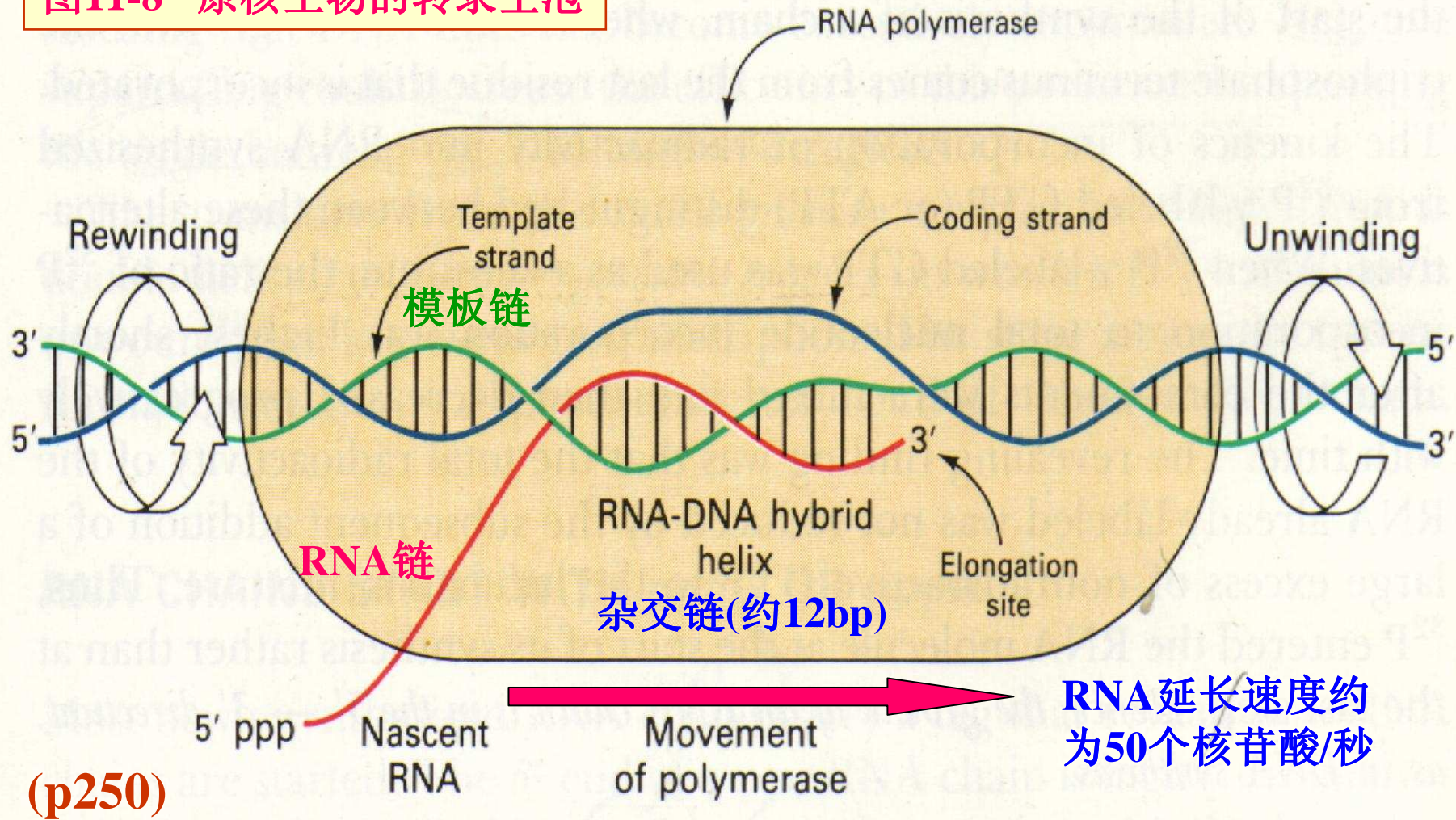
3. 此时形成**转录复合物**：**RNApol核心酶-DNA-RNA**



4. 转录完成部分的DNA重新形成双链。

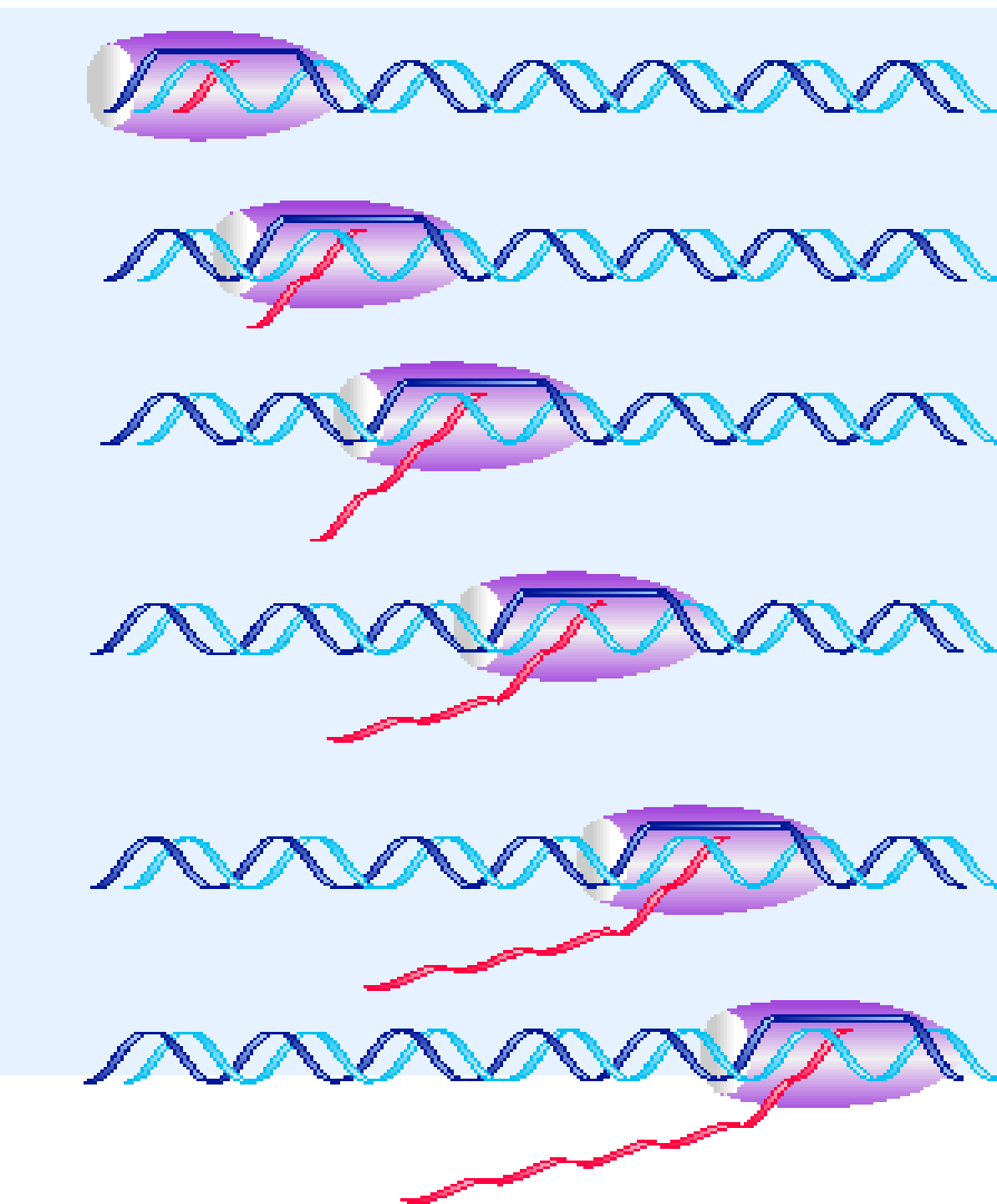
5. 原核生物转录出较长的RNA链上有核糖体结合，说明在某些情况下，转录的同时，翻译已经开始进行了。

图11-8 原核生物的转录空泡



转录空泡(transcription bubble):

RNA-pol (核心酶)—DNA—RNA



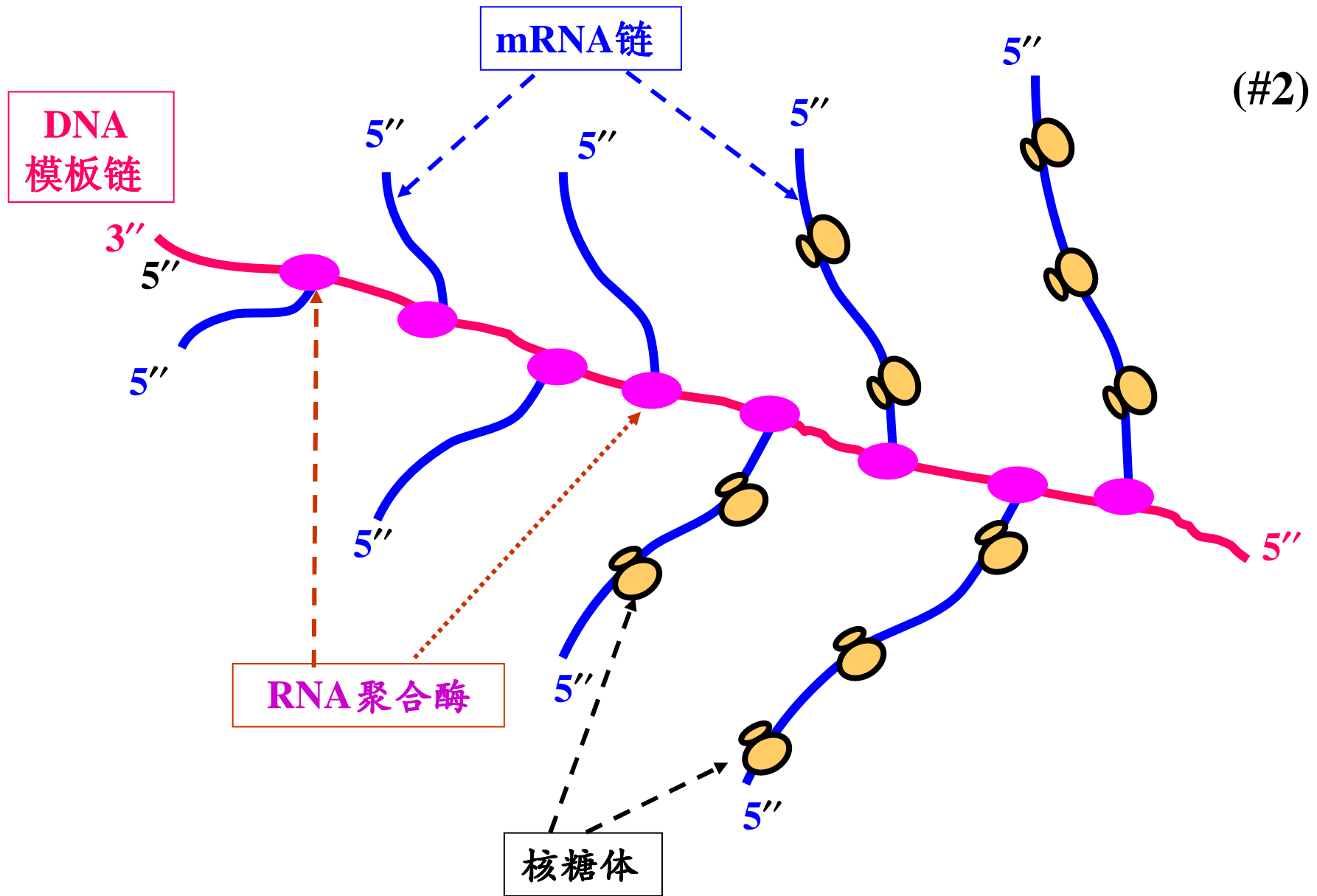


图11-9 电子显微镜下原核生物的转录现象（羽毛状）

(三) 转录的终止

(p251)

指RNA聚合酶在DNA模板上停顿下来不再前进，转录产物RNA链从转录复合物上脱离出来。

原核生物转录终止 { 依赖Rho(ρ)因子的转录终止
不依赖Rho因子的转录终止

1、依赖 ρ 因子的转录终止

ρ 因子是由相同亚基组成的六聚体,亚基的分子量是46kD。

ρ 因子的作用

与RNA结合(与polyC的亲和力最大)

ATP 酶活性

解螺旋酶活性

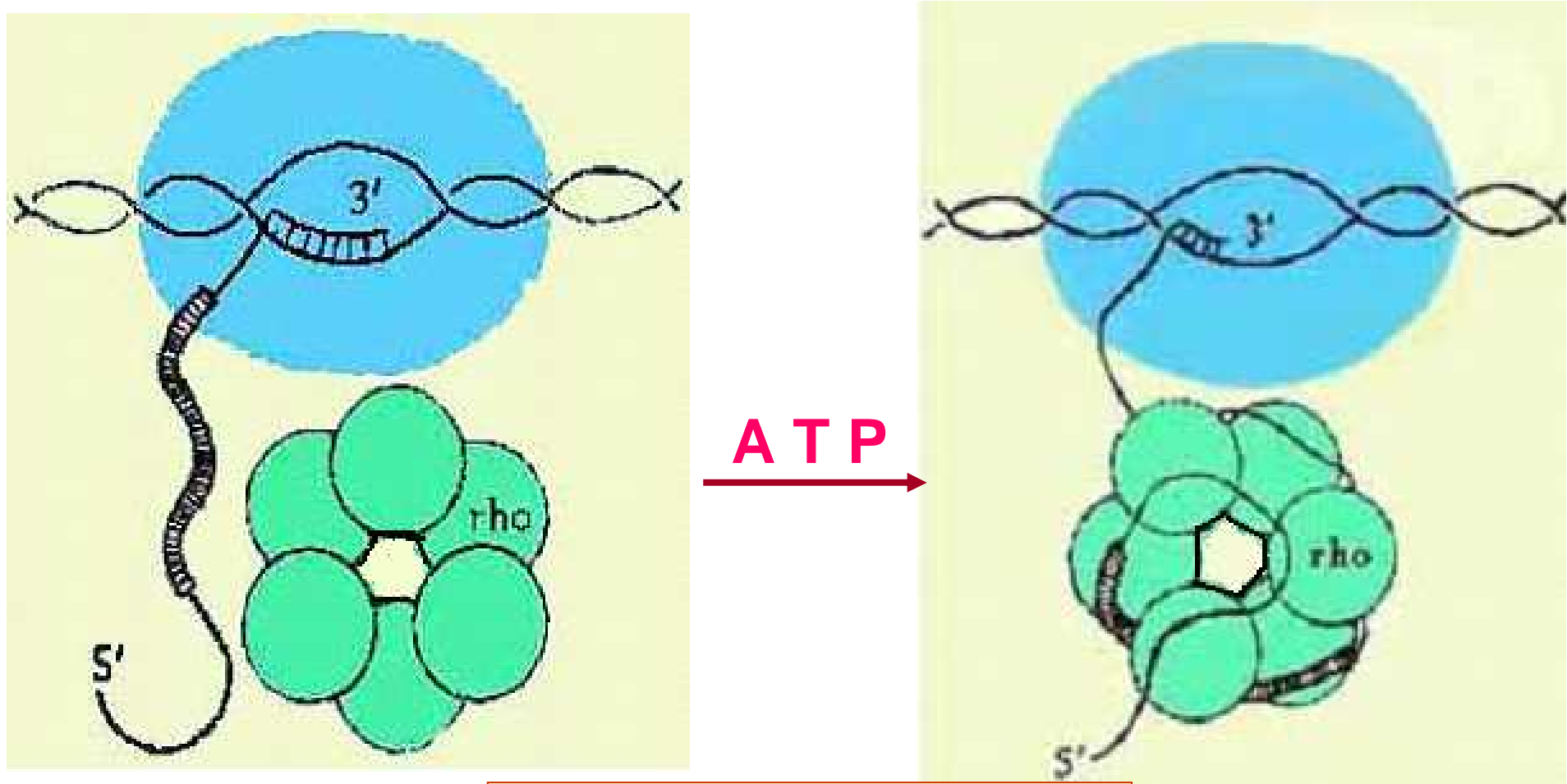


图11-10 Rho因子的作用原理

(p251)

2、非依赖 ρ 因子的转录终止

(p251)

DNA模板上靠近终止处有些特殊碱基序列（较密集的A-T配对区和G-C配对区），转录出RNA后，RNA产物形成特殊的发夹结构（反向重复序列）来终止转录，即非依赖 ρ 因子的转录终止的作用方式。

DNA

5'TTGCAGCCTGACAAATCAGGCTGATGGCTGGTGACTTTTTAGTCACCAGCCTTTTT... 3''

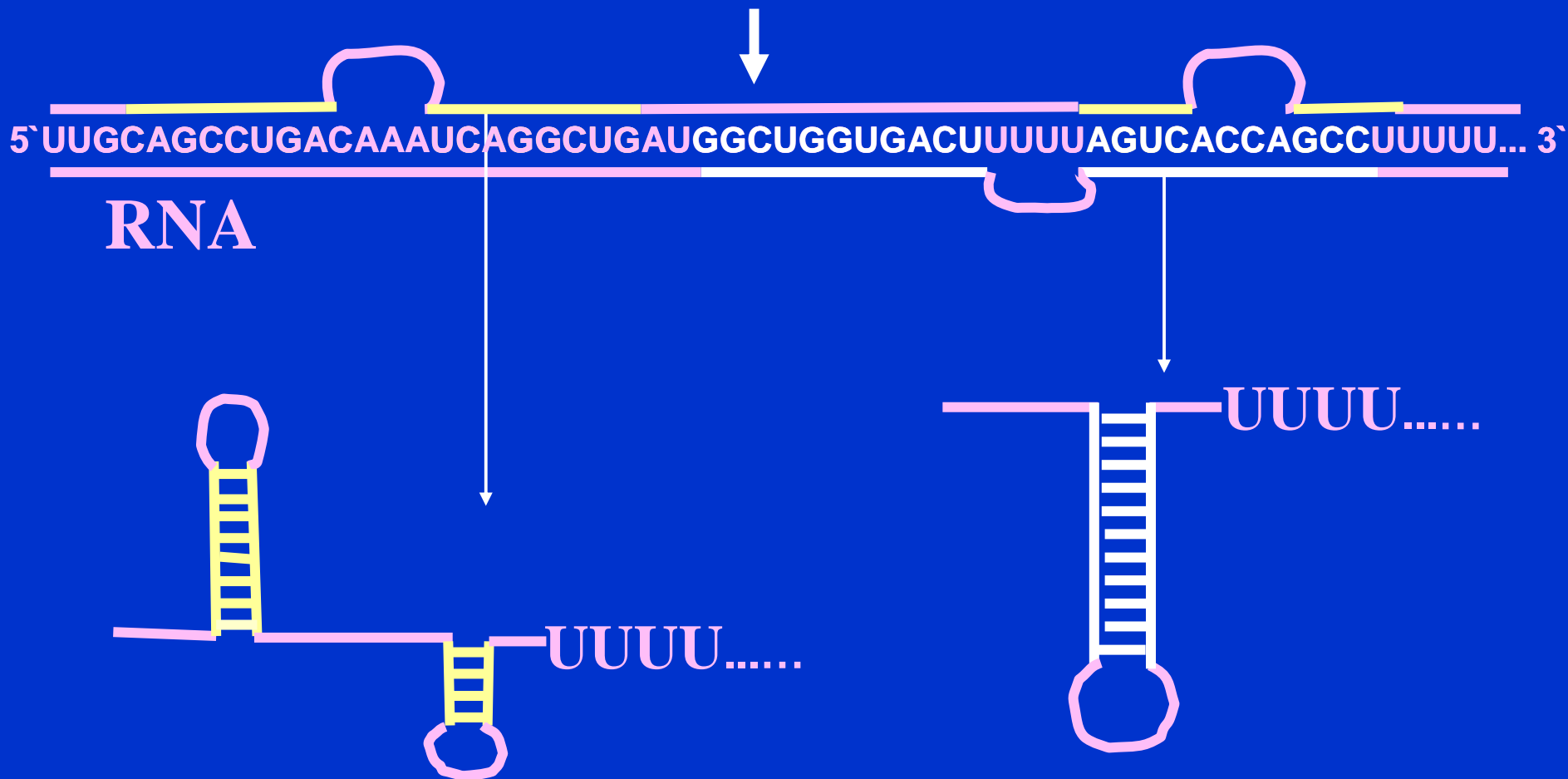
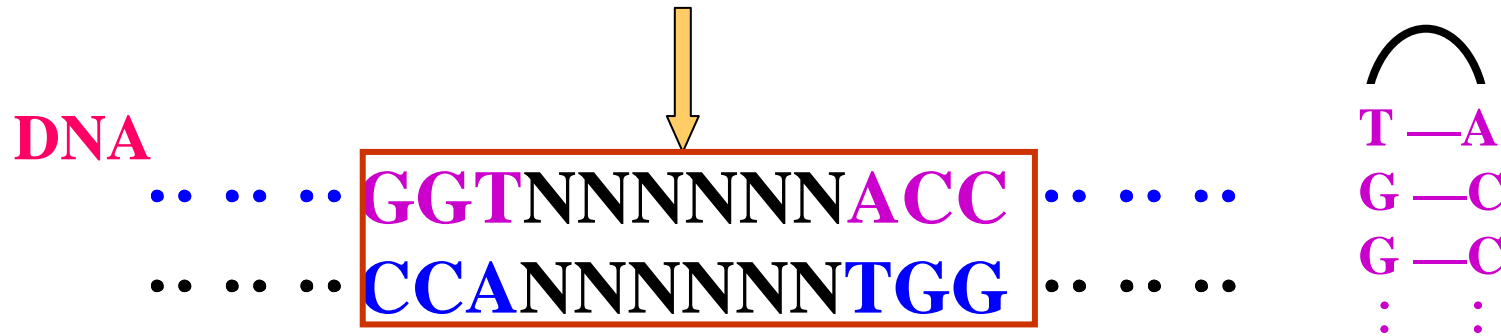


图11-11 大肠杆菌rpl-L基因的转录产物

(p252)

反向重复顺序 (inverted repeat)

(p252)



不论中间有无间隔序列，反向重复顺序经变性后退火，每一条链都能自己互补形成碱基对，使转录生成的mRNA序列为一段**发夹结构**。

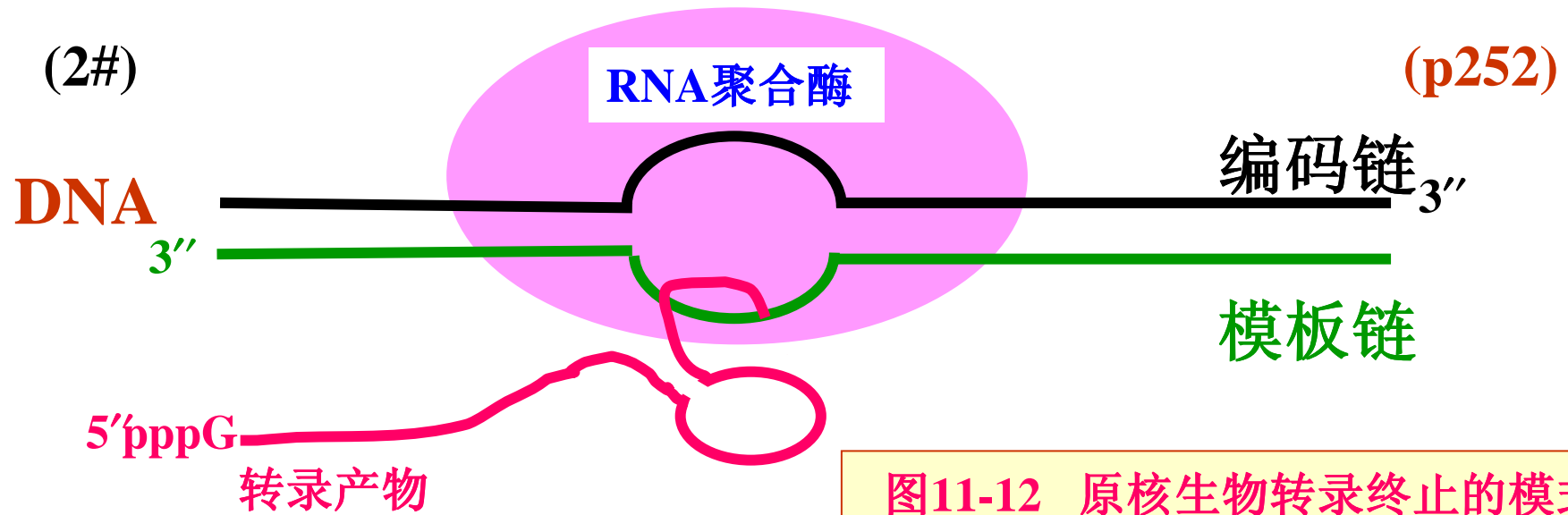


图11-12 原核生物转录终止的模式

- 1) **RNA链**出现**茎-环结构**，改变RNA聚合酶的构象，使酶不再向下移动。
- 2) DNA和RNA各自形成自己的局部双链，使**杂化链**更加**不稳定**，致使转录复合物趋于解离，RNA产物释放。
- 3) 接着的一串寡聚U，更促进RNA新链从模板上脱落。因所有的碱基配对中 **rU:dA 配对最不稳定**。³²

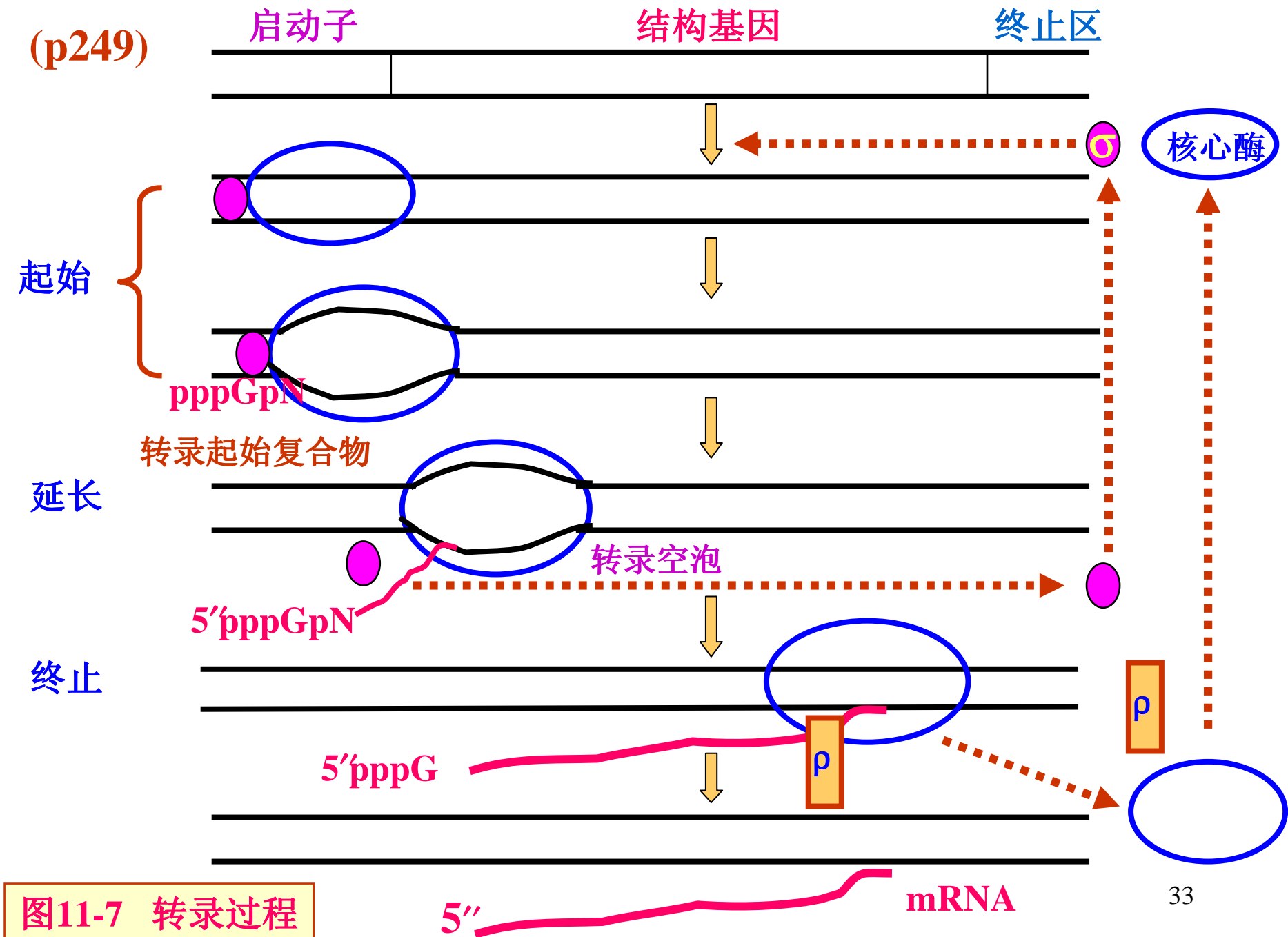


图11-7 转录过程



二、真核生物的转录过程

(p252)

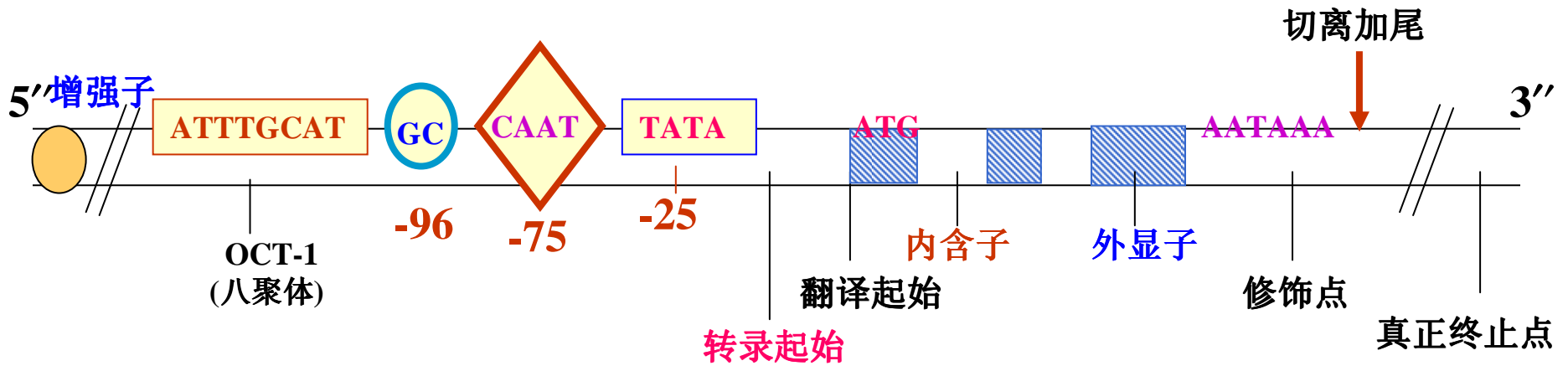
(一) 转录起始

真核生物的转录起始上游区段比原核生物多样化，转录起始时，RNA-pol不直接结合模板，其起始过程比原核生物复杂。

与结构基因处于同一分子并能调控转录的DNA序列称为**顺式作用元件 (cis-acting element)**。

1. 转录起始前的上游区段

转录起始点上游 { TATA盒 (Hogness盒, -25bp)
CAAT盒
GC盒



(启动子:位于结构基因上游长约100bp)

图11-13 RNA-pol II 转录的基因

(p253)

2. 转录因子

能直接、间接辨认和结合转录上游区段DNA的蛋白质，现已发现数百种，统称为反式作用因子(trans-acting factors)。

反式作用因子中，直接或间接结合RNA聚合酶的，则称为转录因子(transcriptional factors, TF)。

(p253)

参与RNA-pol II 转录的TF II

转录因子	亚基组成, 分子量(kD)	功 能
TF II D	TBP* 38	结合TATA盒
	TAF**	辅助TBP-DNA结合
TF II A	12, 19, 35	稳定TF II D-DNA复合物
TF II B	33	促进RNA-pol II 结合及作为其他因子结合的桥梁
TF II F	30, 74	解螺旋酶
TF II E	57 (α) 34 (β)	ATPase
TF II H		蛋白激酶活性, 使CTD磷酸化

*TPB: TATA结合蛋白

**TAF: TPB辅因子

CTD: RNA pol II大亚基羧基末端结构域

(p253)

3. 转录起始前复合物

(pre-initiation complex, PIC)

真核生物RNA pol先与相关的转录因子结合
后再与调控转录的DNA分子形成复合物。

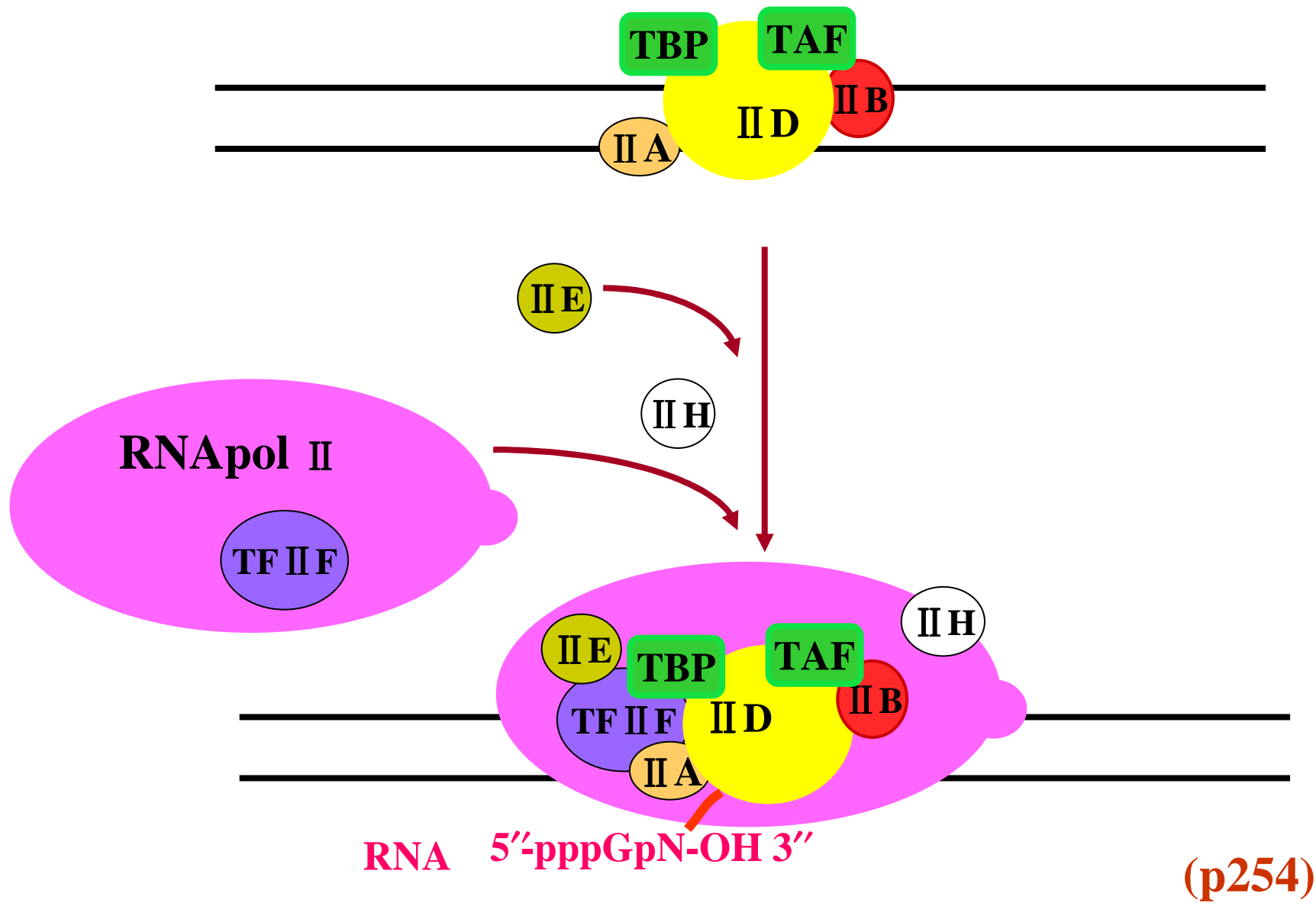


图11-14 由RNA-Pol II催化转录的PIC

4. 拼板理论

(p255)

一个真核生物基因的转录需要3~5个转录因子，转录因子可能共有300多个，通过不同的组合可满足表达不同类型基因的需要。

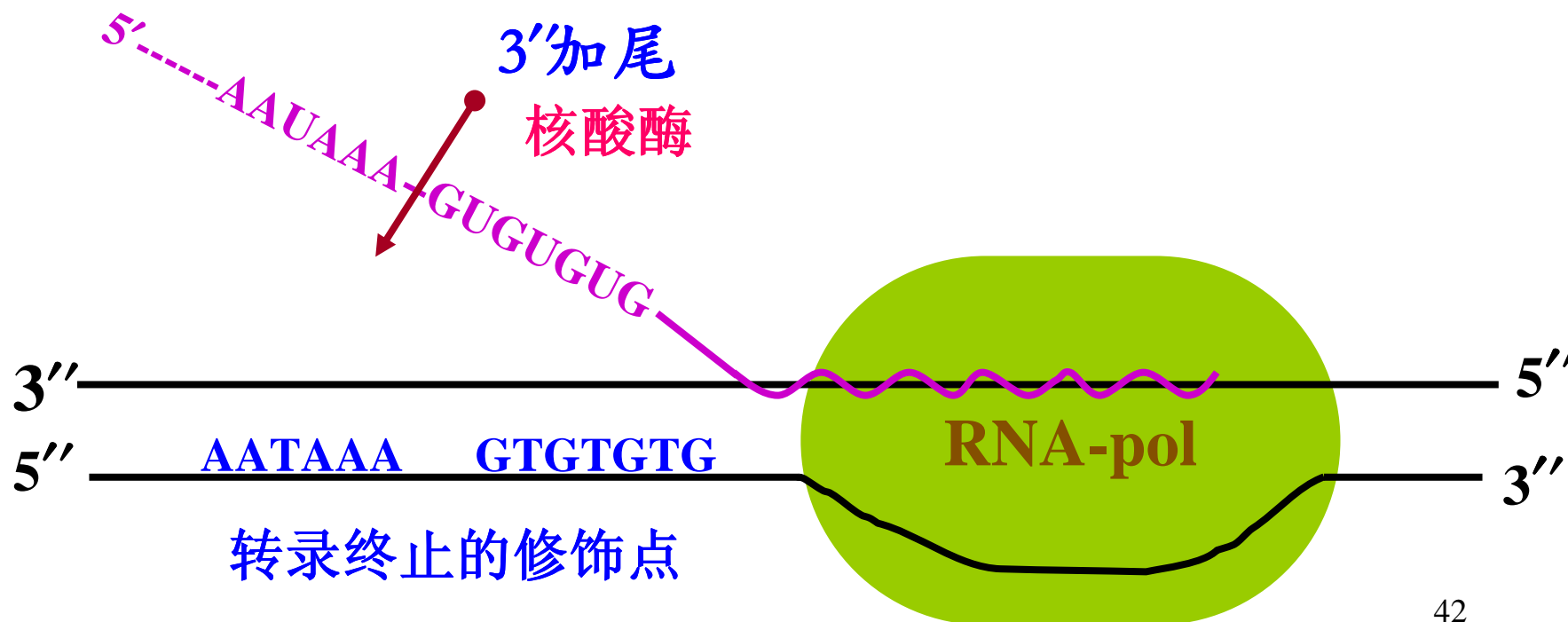
(二) 转录延长

原核生物转录和翻译同步出现，而真核生物在转录过程中可能有核小体的解聚和移位。

(三) 转录终止

(p256)

真核生物的转录终止与其转录后修饰密切相关。在读码框架的下游，常有一组共同序列**AATAAA**，再下游还有相当多的**GT**序列。这些序列称为**转录终止的修饰点**。



转录与复制的比较

(p244)

相同点

都以DNA为模板

都需依赖DNA的聚合酶

新链合成方向都是5''→3''

都遵守碱基配对规律

聚合过程都生成磷酸二酯键

产物都是很长的多核苷酸链

转录和复制的区别

(p244) (#3)

	复制	转录
模板	两股链均复制 (半保留复制)	模板链转录 (不对称转录)
原料	dNTP	NTP
碱基配对	A-T, G-C	A-U, T-A, G-C
酶	DNA聚合酶	RNA聚合酶
产物	子代双链DNA	mRNA,tRNA, rRNA等
引物	需要	不需

第三节 真核生物的 转录后修饰

- 转录生成的RNA，称为初级转录产物。
- 无论在真核生物或原核生物中，初级转录产物都经过一定程度的修饰加工，才能表现其功能。本节主要介绍真核生物转录后修饰。

(p256)

一、真核生物mRNA的转录后加工

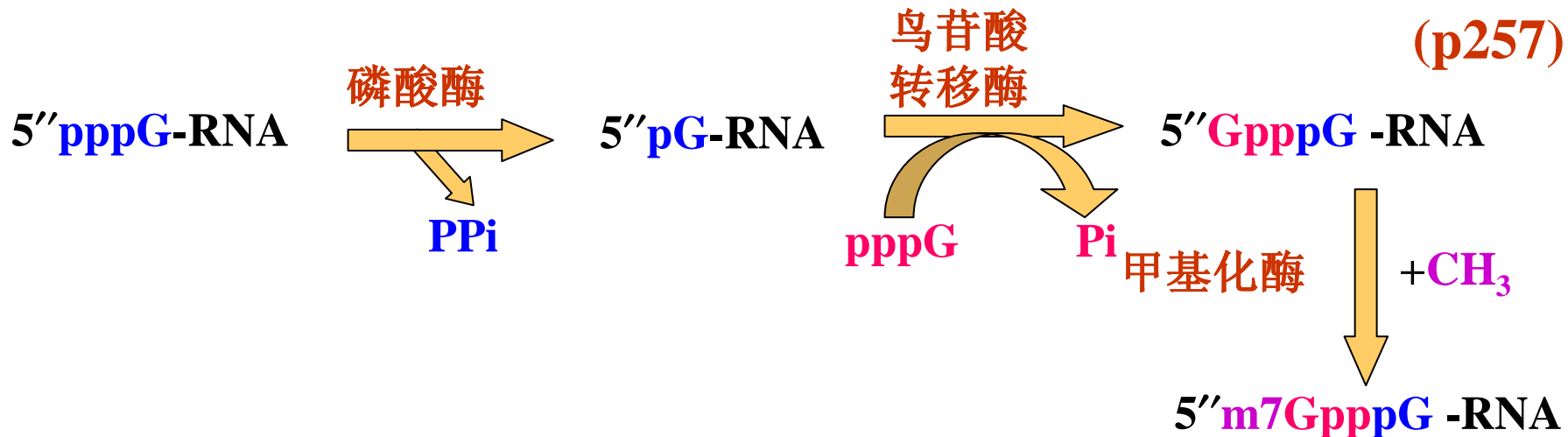
加工
修饰

- (1) 5''-端加帽： **m⁷GpppG**。
- (2) 3''-端加上聚腺苷酸尾巴： **polyA**。
- (3) **剪接**： 切除内含子， 拼接外显子。

(一)首、尾的修饰

1、5''-端加帽—**m⁷GpppG**

(p256)



The 5' cap of a eukaryotic mRNA molecule

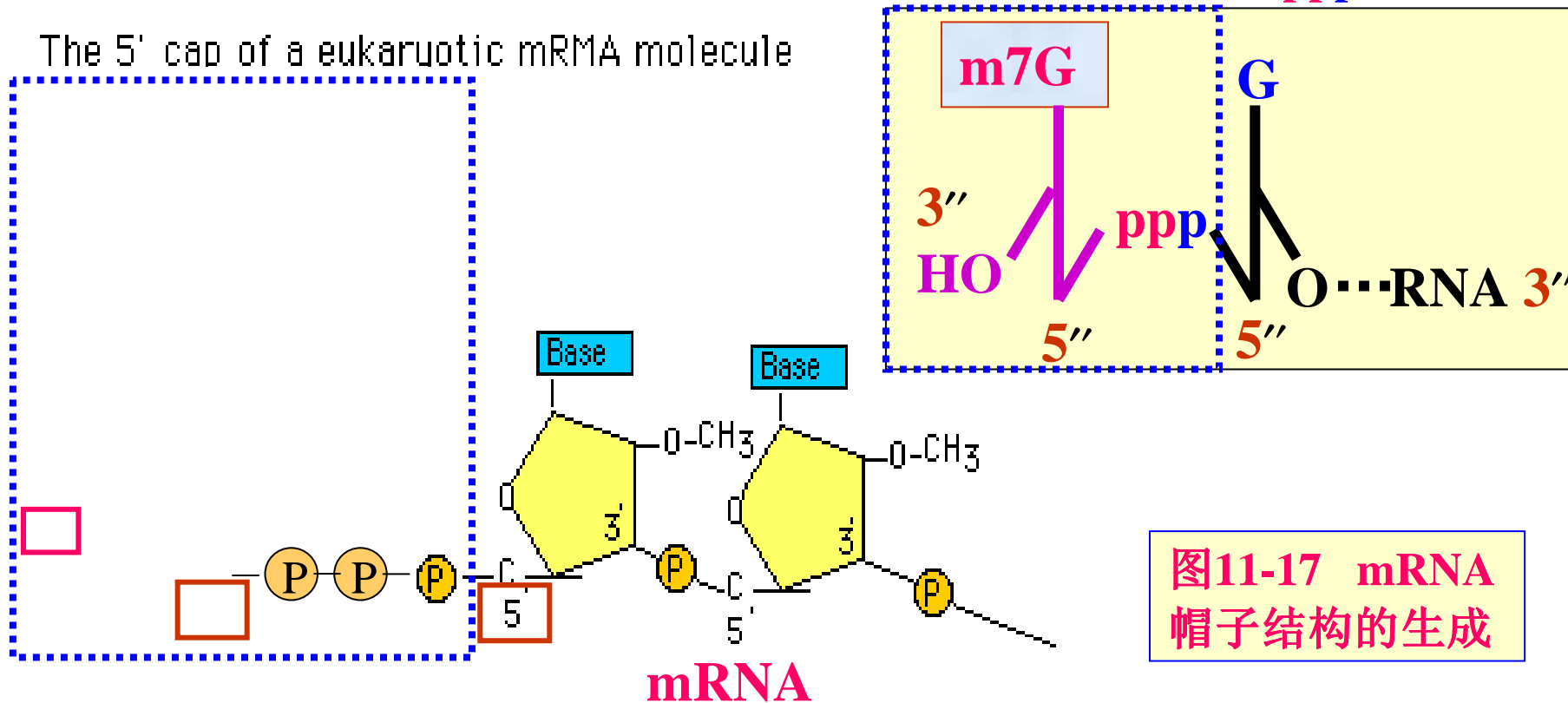


图11-17 mRNA帽子结构的生成

- 转录产物的第一个核苷酸pppG水解成5''-ppG或5''-pG。
- 与另一个三磷酸鸟苷生成三磷酸双鸟苷。
- 后加上的鸟嘌呤被甲基化。
- 加帽出现在hnRNA中，在细胞核中完成，并在剪接之前。

(p256)

2、3'端加上聚腺苷酸尾巴

(p257)

- 真核生物mRNA中poly A的生成不依赖于DNA模板。
- 加入poly A之前，先由核酸外切酶切去3'末端一些过剩的核苷酸，然后加入polyA。
- 3'端修饰也在细胞核，在剪接之前进行。
- Poly A的有无和长短，与维持mRNA作为翻译模板的活性以及增加mRNA本身的稳定性因素有关。

5' -----AAUAAA--AAAAAAAAAAAAAAAAA..... 3'' mRNA

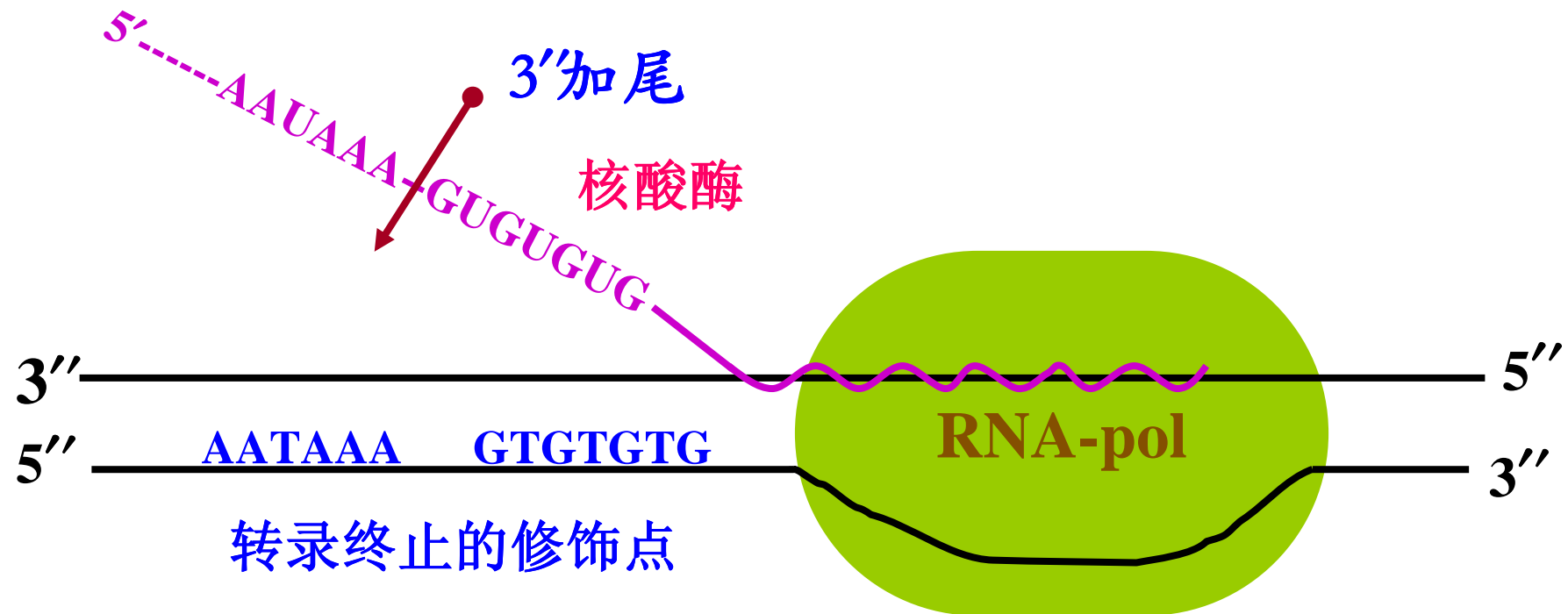
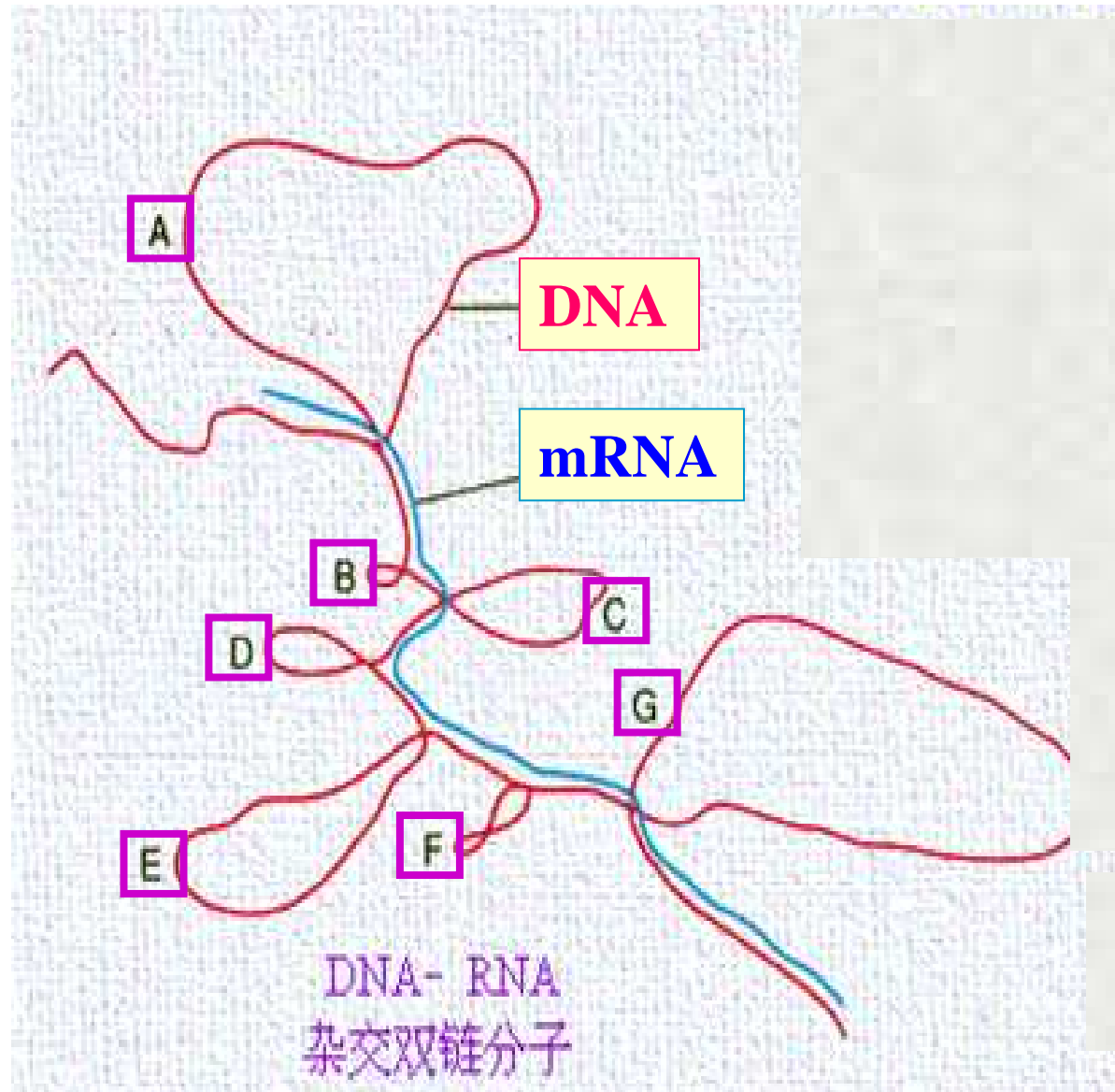


图11-16 真核生物的转录终止及加尾修饰

(p256)

(二) mRNA的剪接

- DNA模板与hnRNA是完全配对的，而成熟的mRNA与hnRNA或DNA杂交都只是部分配对。因此真核生物的基因有**断裂性**。



1、hnRNA 和snRNA

(p257)

hnRNA（核不均一RNA）是mRNA的前体。

hnRNA 分子量常为mRNA 的几倍~几十倍。

hnRNA 5'端有帽子结构，3'端有多聚腺苷酸尾巴，序列中有内含子，需经剪接等处理后才能成熟为mRNA。

- 真核生物的结构基因，有若干个编码区被非编码区相互间隔开但又连续镶嵌而成，称为断裂基因（split gene）。它为一个由连续氨基酸组成的完整蛋白质编码。
- 原核生物结构基因是连续的编码序列，不是断裂基因。

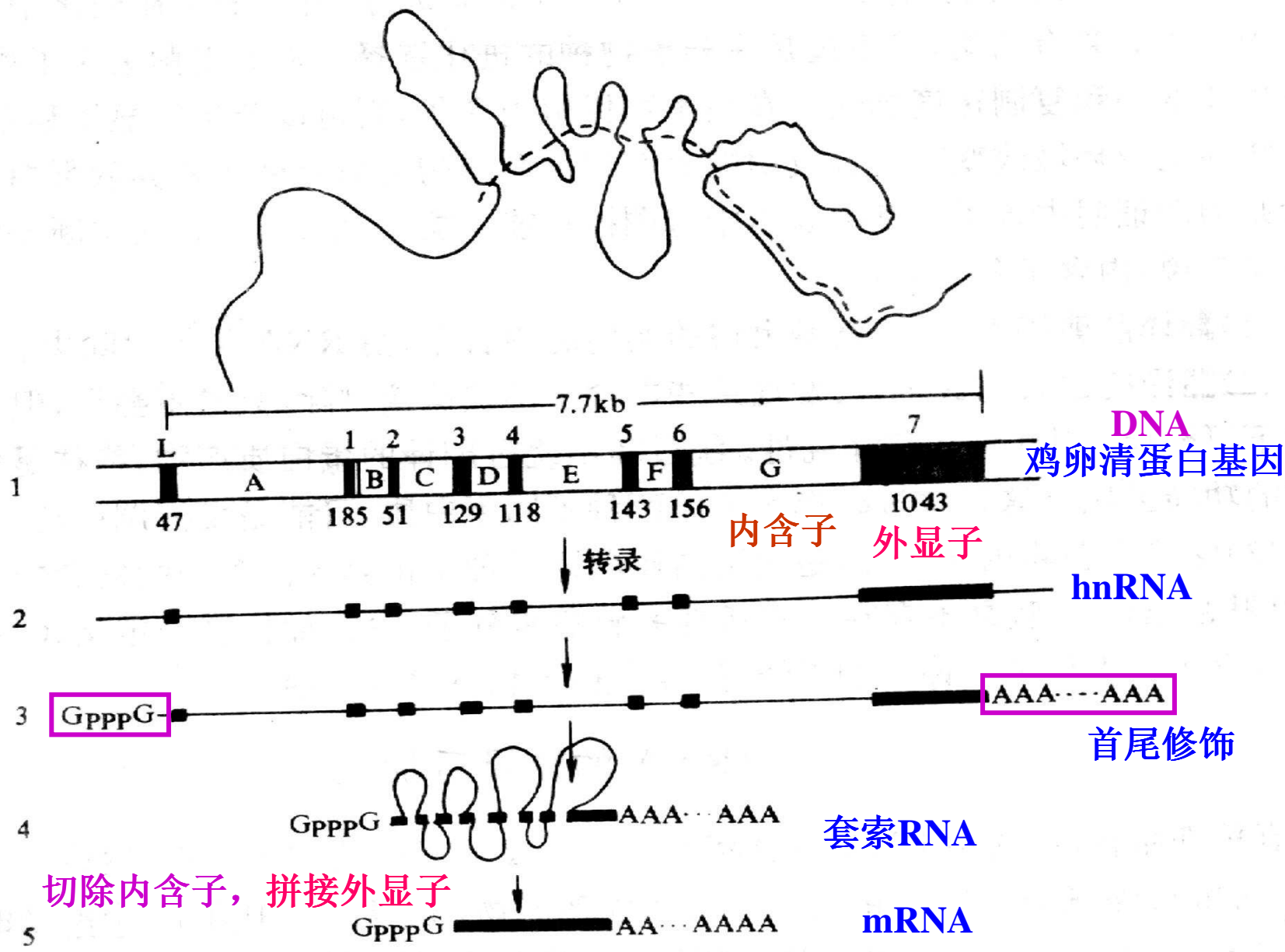


图-11-18 断裂基因及其转录、转录后的修饰

snRNA（小分子核内核糖核酸） (p257) (#4)

snRNA是发现于真核细胞内的一组小分子RNA，长度在90~300个碱基，分子中富含UMP，故以U作分类命名。如sn-U₁、U₂、U₃、U₄、U₅等类别，它们的主要作用是参与RNA的剪接、加工。snRNA与核内蛋白质组成小分子核糖核蛋白体（small nuclear ribonucleoprotein, snRNP）作为RNA剪接的场所。

(p258)

2、内含子 (intron) 和外显子 (exon)

外显子：在断裂基因及其初级转录产物上能表达为成熟 RNA 的核苷酸序列。

内含子：与外显子相对应的割断基因的线性表达而在剪接过程中被除去的核苷酸序列。

3、内含子的分类

(p258)

I类：主要存在于线粒体、叶绿体和低等真核生物的rRNA基因。

II类：发现于线粒体、叶绿体，转录产物是mRNA。

部分 I、II类内含子具有自我剪接的核酶功能。

III类：为最常见的形成套索状结构后剪接，需snRNP（snRNA和蛋白质组成）的参与，如大多数mRNA基因有此类内含子。

IV类：tRNA的基因及其转录产物中的内含子，剪接过程需酶和ATP。

4、mRNA的剪接 (mRNA splicing)

(p259)

- (1) 去除内含子，拼接外显子。
- (2) 剪接模式——先形成套索，然后剪接。该过程需要snRNP (snRNA和蛋白质组成) 参与。

大多数hnRNA的内含子具有**5'GU.....AG-OH 3'**的**剪接接口或边界序列**，剪接后GU或AG不一定被剪除。通过**2次转酯反应**，将上下游2个外显子相连而套索状的内含子被切除掉。

snRNP又称**剪接体** (splicesome) 或**并接体**，是mRNA剪接的场所，**剪接体起到酶的作用**。

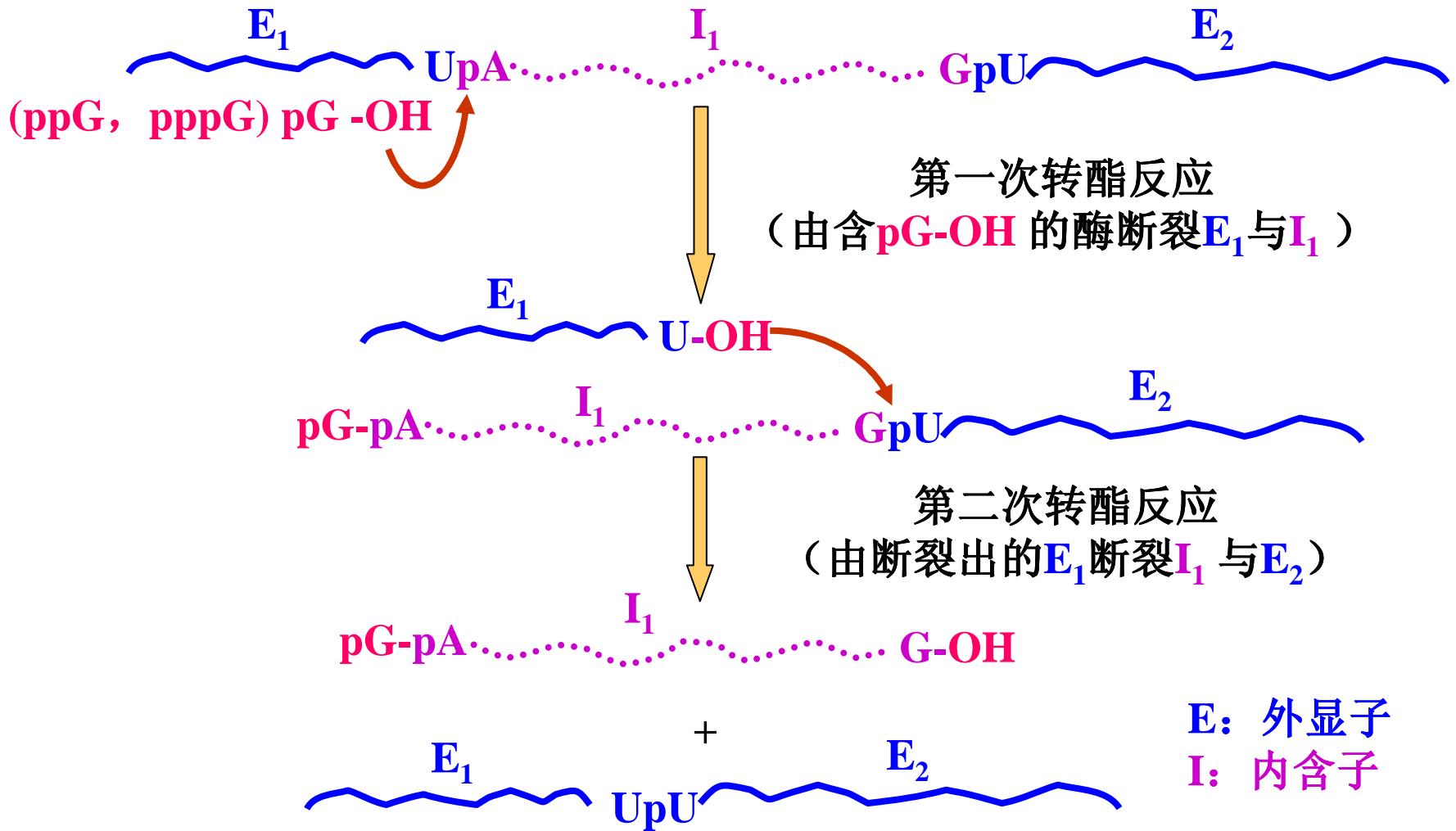
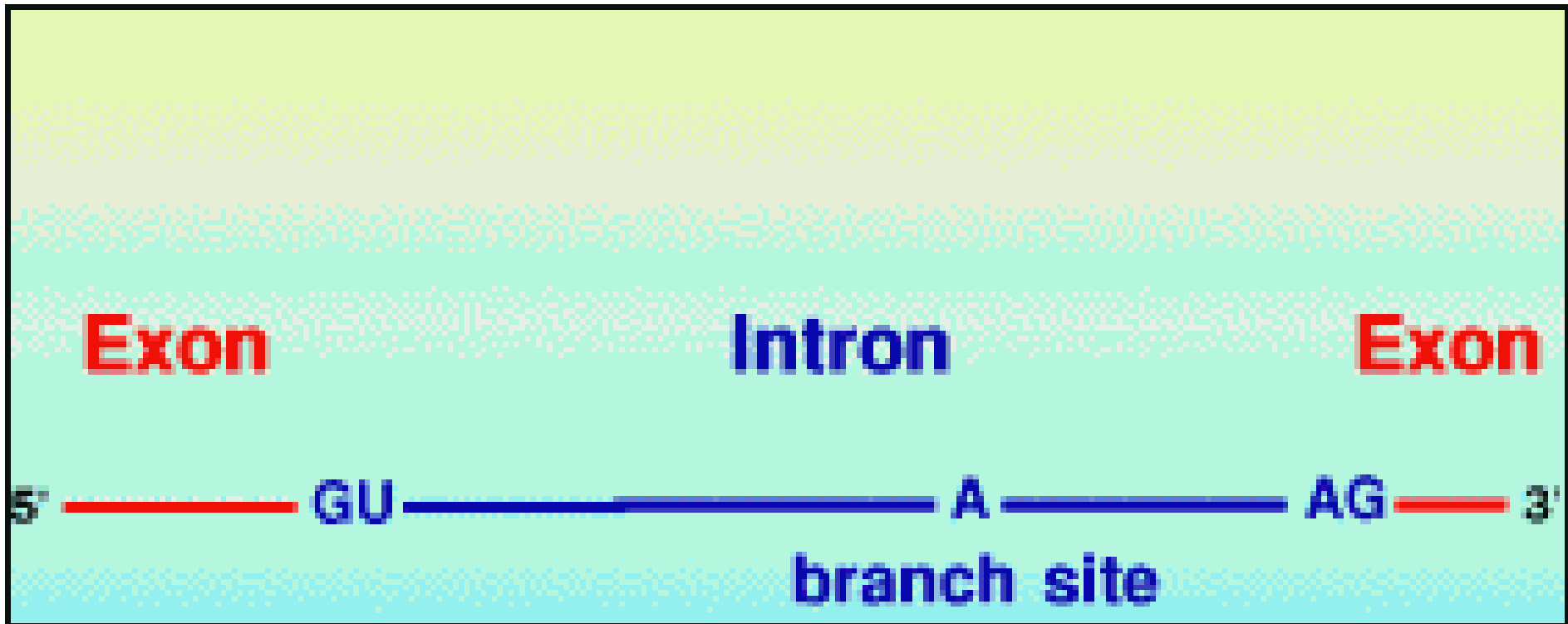


图11-12 剪接过程中的两次转酯反应

(p260)

→ 表示核糖3'-OH对磷酸二酯键的亲电子攻击



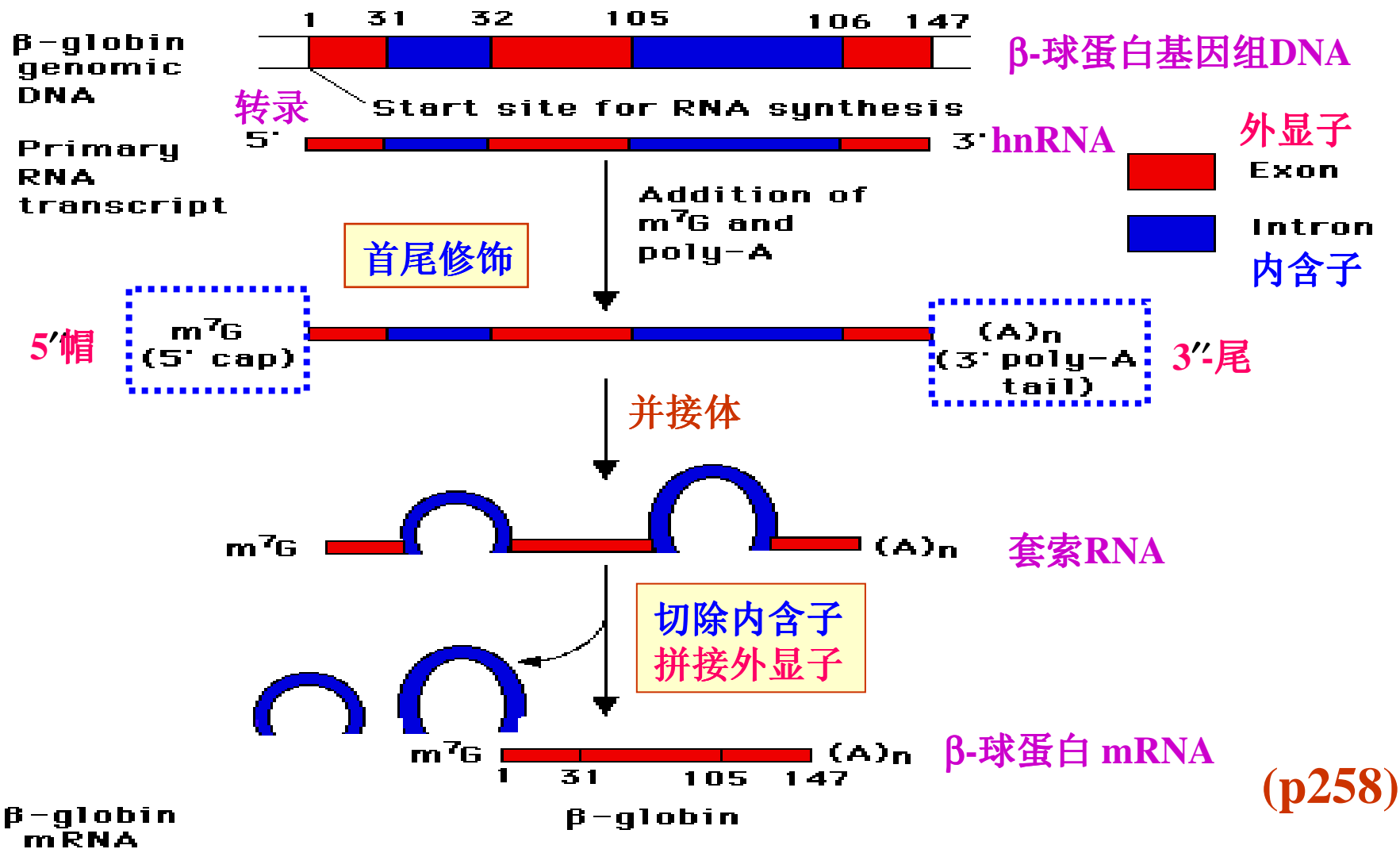
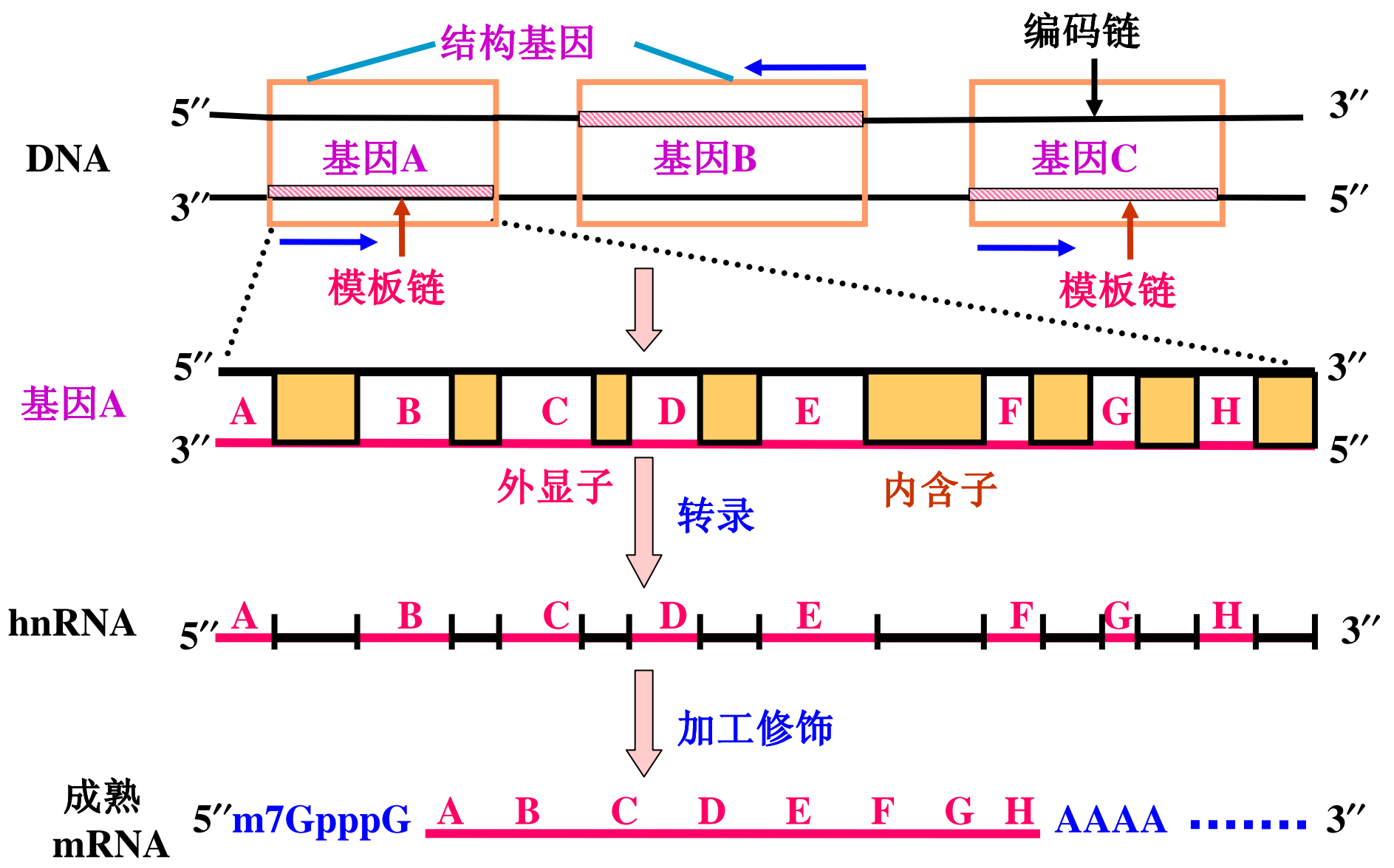


Fig. Overview of RNA processing in eukaryotes using β -globin gene as an example. The β -globin gene contains three protein-coding segments, called exons, and two intervening noncoding segments, called introns. After addition of the 5' cap and 3' poly-A tail, the introns are removed during splicing of the exons. The sequence of the resulting mRNA corresponds to that of the protein β -globin. The small numbers refer to positions in the sequence of β -globin, which contains 147 amino acids.



该 PPT 文件由 Soaiic PPT Creator 所创建! 未经授权, 未经许可, 请勿向官方网络购买一个许可: www.investintech.com



mRNA转录后加工修饰

参照 (p258)

胰岛素基因

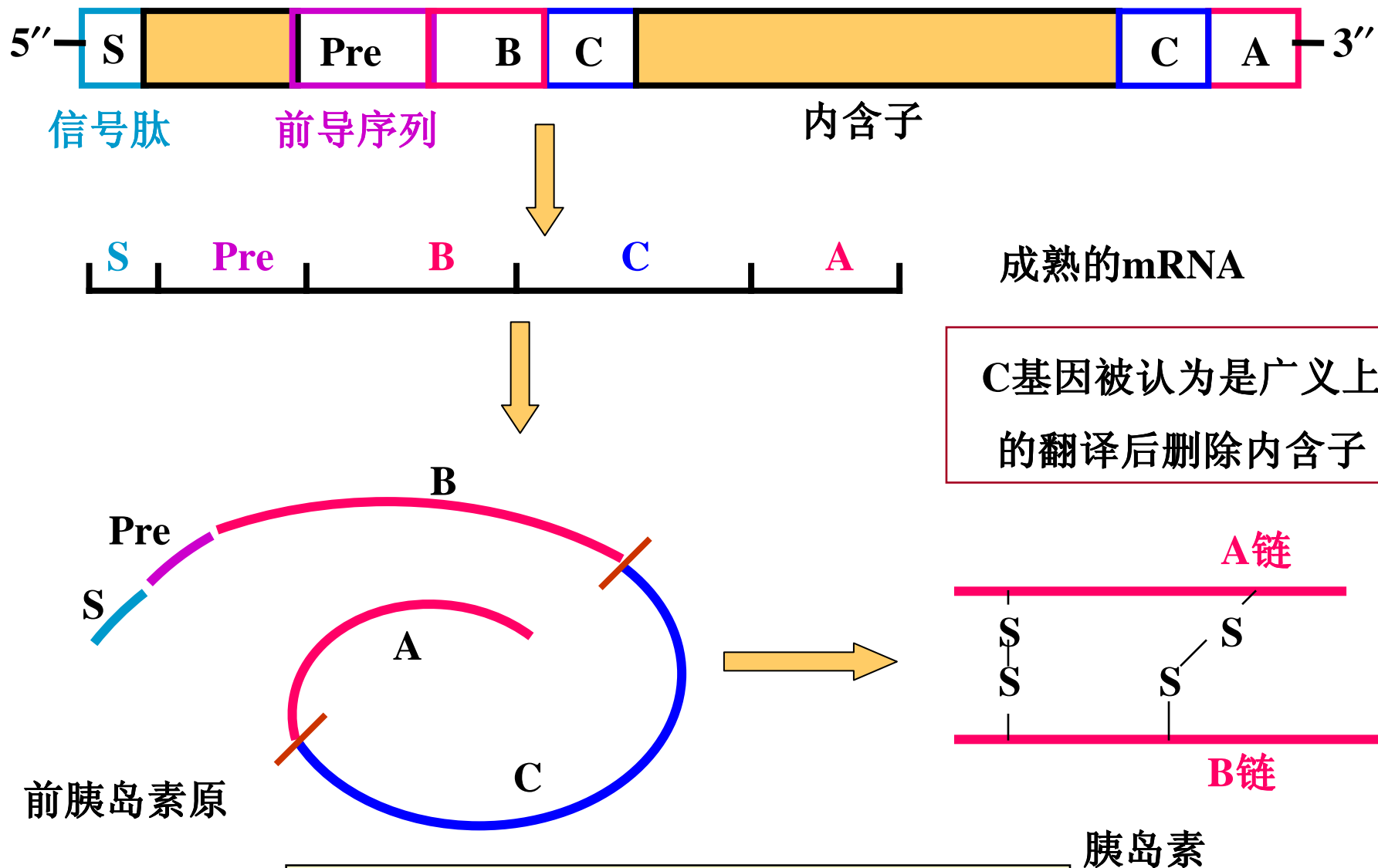
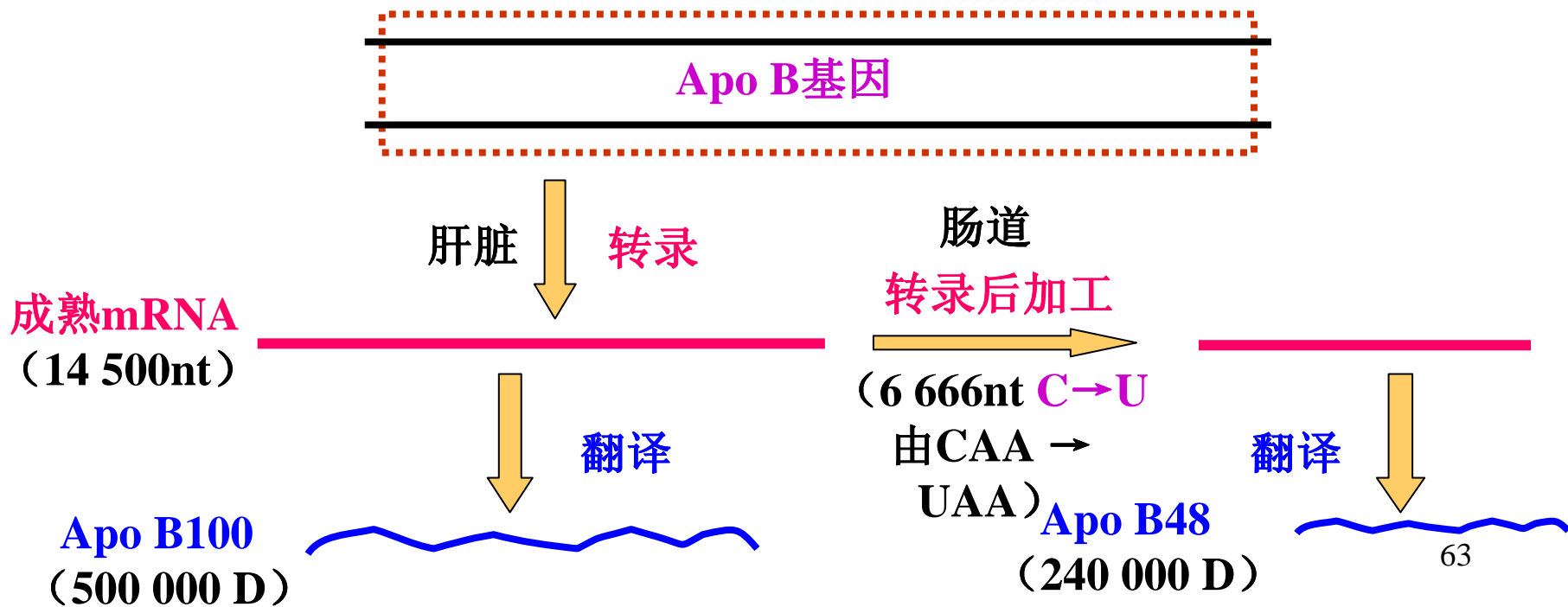


图11-19 胰岛素的基因、转录和翻译产物

胰岛素 (p259)

4、mRNA编辑 (mRNA editing) (p260)

指遗传信息在转录水平发生改变，由一个基因产生不止一种蛋白质。mRNA编辑作用说明基因的编码序列经转录后加工，可有多用途分化，也称为分化加工 (differential RNA processing) 。



二、tRNA的转录后加工

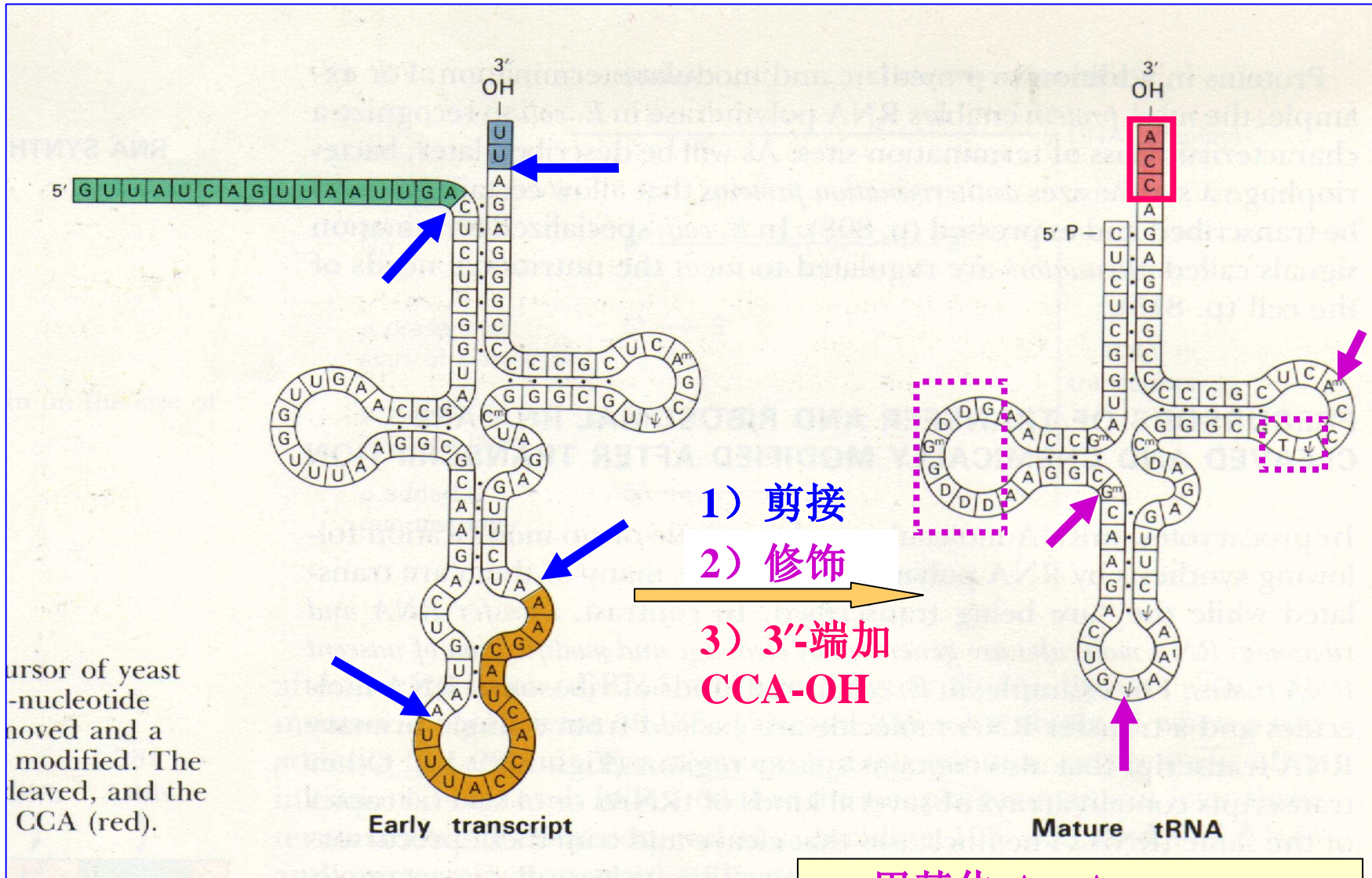
(p261)

真核生物细胞核内，先由RNApol-III催化合成tRNA的初级产物，然后加工成熟，使之具有生物活性。

tRNA的
加工修饰

1. 剪接
2. 修饰反应
3. 3'-端加上
CCA-OH

- 甲基化: $A \longrightarrow A^m$
- 还原: $U \longrightarrow DHU$
- 核苷内的转位反应:
 $U \longrightarrow \Psi$
- 脱氨反应:
 $AMP \longrightarrow IMP$



(p261)

图11-22 tRNA转录后加工

- 甲基化: $A \rightarrow A^m$
- 还原: $U \rightarrow DHU$
- 核苷内的转位反应: $U \rightarrow \psi$
- 脱氨反应: $AMP \rightarrow IMP$

三、rRNA的转录后加工

(p262)

- **丰富基因**：染色体上一些相似或完全一样的**纵列串联基因**单位的重复。
- 真核细胞的rRNA基因（rDNA）属于丰富基因。
- 45s的转录产物是三种rRNA的前体，经过剪接后形成核糖体小亚基的18S rRNA，其余形成5.8S及28S的rRNA。

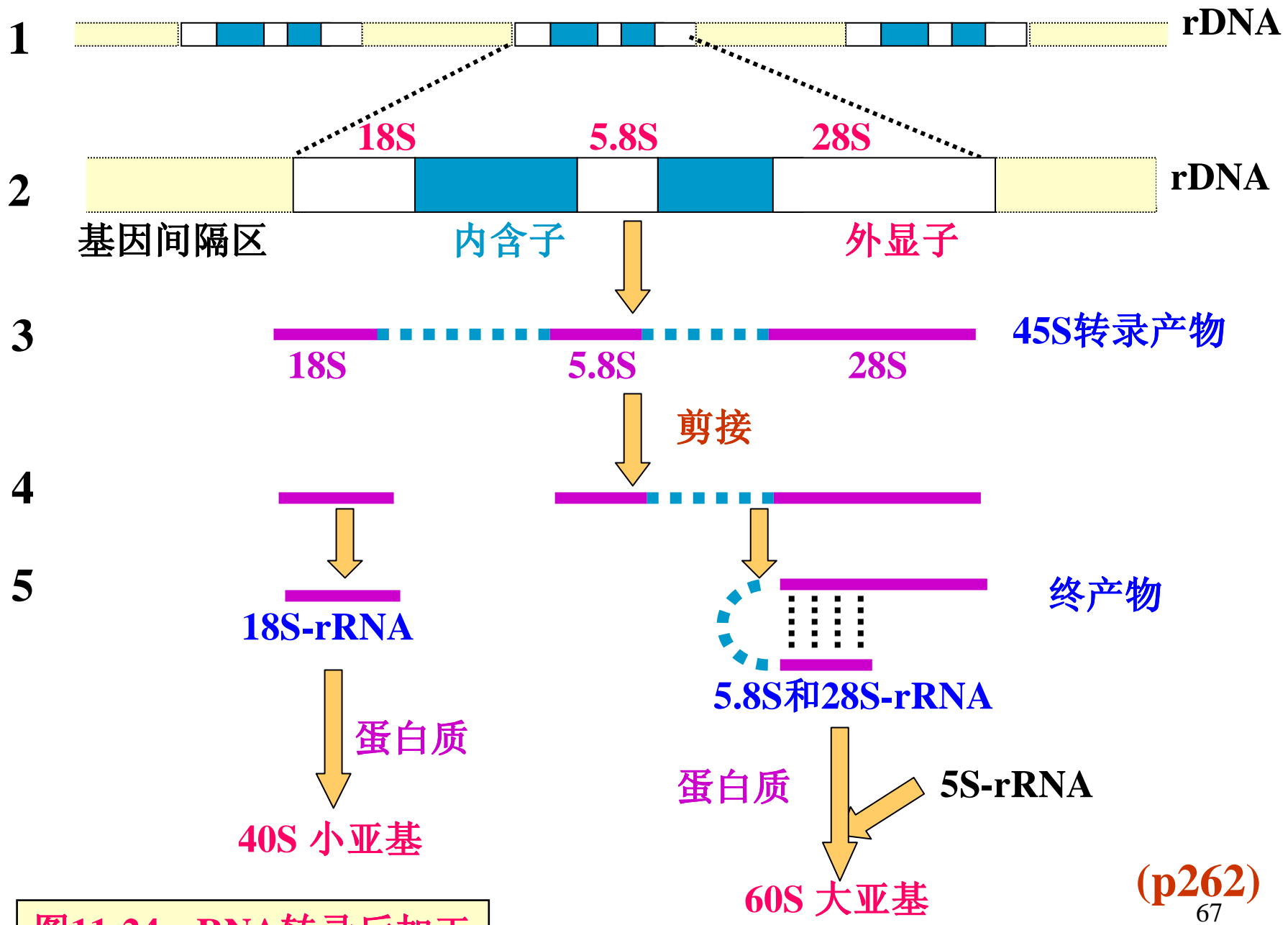


图11-24 rRNA转录后加工

SONING
该 PPT 文件由 Soinc PPT Creator 所创建! 未注册版本会有大量水印! 若要去除水印! 请到官方网站购买一个许可: www.investintech.com

四、核酶

核酶(ribozyme)：指具有催化功能的RNA。

(一) 核酶的特性

80年代初，科学家在研究四膜虫的rRNA剪接过程中发现这种RNA本身具有自我剪接功能，故将具有催化功能的RNA称为核酶。

(二) 核酶研究的意义：

1. 对传统酶学提出了挑战
2. 对进化的研究有帮助
3. 人工核酶应用于疾病的治疗。

(p262)

最简单的核酶具有锤头结构（hammerhead structure）。能进行分子内自我催化的RNA片段通常在60个核苷酸左右。同一分子上包括有催化部分和底物部分且形成锤头结构。锤头结构至少含有3个茎（stem）和1~3个环（loop），碱基至少有一致性序列。

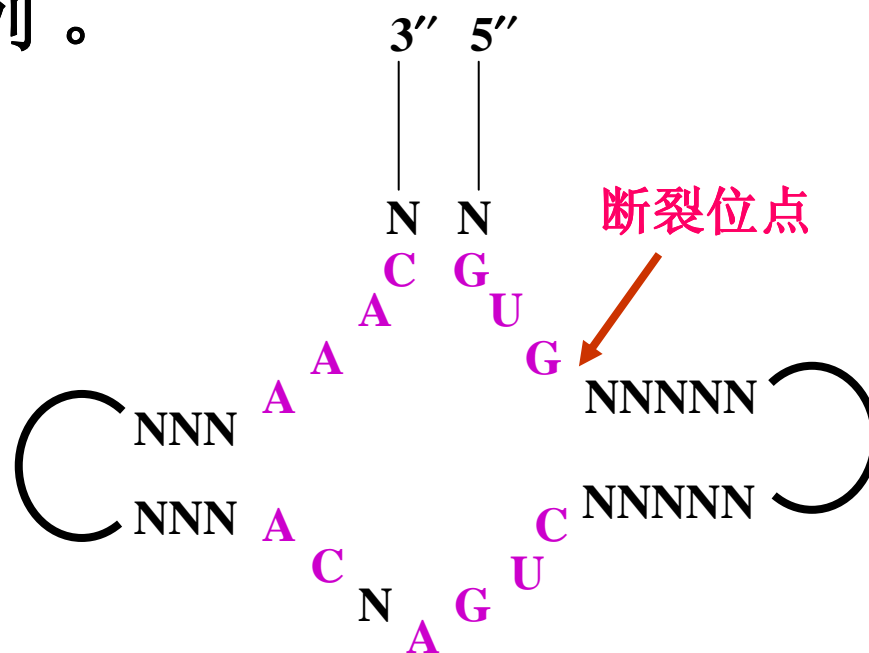


图11-26 锤头状结构,最简单的核酶

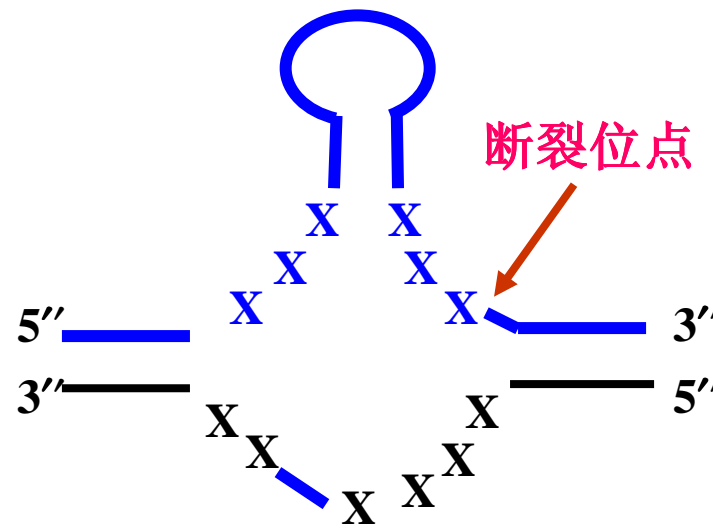
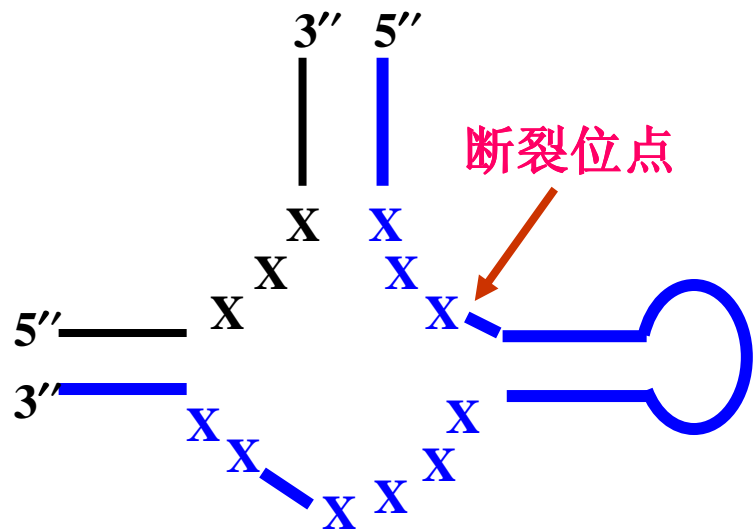


图11-27 人工设计的核酶

(#5)

Key Points

1. 转录、原始模板、直接模板、结构基因、模板链、编码链、不对称转录、启动子、断裂基因、外显子、内含子及核酶的概念。
2. 参与RNA转录的主要物质。
3. 大肠杆菌RNA聚合酶的组成及主要功能。
4. 转录的过程，转录起始复合物，转录复合物及原核生物转录的终止。
5. 转录与复制的比较。
6. 真核生物mRNA转录后加工及tRNA的修饰。