

# 二、RNA的生物合成和加工

DNA是信息的携带者,蛋白质则是信息的展现者。由于 蛋白质的活动才表现出生命体的各种性状和功能。这 种信息由DNA传到蛋白质的过程称之为"基因的表 达"。DNA的信息首先要转录到RNA上,以DNA为模 板,以碱基配对的原则合成三种RNA。催化这个过程 的酶是DNA指导的RNA聚合酶完成的。在没有DNA的 生物体中,RNA就是遗传物质。有些RNA可以指导 DNA的合成,称为逆转录。另外,RNA具有酶催化活 性。因此RNA也是目前研究的热点。

- 一、RNA的合成
- 二、RNA的转录后加工
- 三、RNA复制和逆转录

提要

### 一、RNA的合成

- (一) RNA聚合酶
- (二) 转录过程
- (三)转录的调节控制
- (四) RNA生物合成的抑制剂

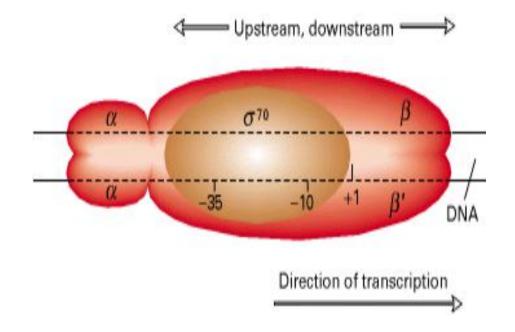
• RNA链的转录起始于DNA模板的一个特 定起点,由DNA的启动子控制:并有一 定的终点,有终止子控制。一个转录区 域称为转录单位。一个转录单位可以是 一个基因, 也可以有多个基因。转录的 酶是RNA聚合酶。

### (一) RNA聚合酶

- 1959年S.B.Wiess,J.Hurwitz和A.Stevens分别报告找到一种酶能催化核苷三磷酸聚合生成RNA,这一酶的性质与DNA聚合酶相似。
- 1、反应必须有核苷三磷酸(XTP)
- · 2、需DNA模板、Mg+,产物取决于模板的性质。
- 3、反应方向为5-3'进行。

·目前研究最清楚的是E.Coli的RNA聚合酶。

Mt.465000。含有2个Zn原子,5个亚基组成ααββ'σ(称为全酶)。没有σ亚基的酶称为核心酶,只能是正在转录的RNA延长,不具有合成起始功能。σ亚基是起始因子。



### (二) RNA的转录过程

- 1、有意义链(信息链)与无意义链(模板链)
- · 体外无细胞体系实验中,DNA的两条链多可进行转录,但在活细胞中经研究只有一条可以转录。与mRNA碱基序列相同的DNA链称为模板链。另一条为信息链。

### 2、酶的种类

- 1)细菌RNA聚合酶是复杂的多亚基结构,如 E.Coli等。
- 2) 噬菌体RNA聚合酶较简单,只有一条多肽 链,Mt.11000左右。每秒合成200个Np。
- 3) 真核生物的RNA聚合酶,分子量大约在 500000,含有Zn, 亚基在8-14个, 其功能如下表:

表 36-2 真核生物 RNA 聚合酶的种类和性质

酶的种类	功能	对抑制物的敏感性
RNA 聚合酶 I	转录 45S rRNA 前体,经加工产生 5.8S	对 α - 鹅膏蕈碱不敏感
	rRNA、18S rRNA 和 28S rRNA	
RNA 聚合酶 Ⅱ	转录所有编码蛋白质的基因和大多数核内	对 α - 鹅膏蕈碱敏感
	小 RNA	
RNA 聚合酶Ⅲ	转录小 RNA 的基因,包括 tRNA、5S rRNA、U6	对 α - 鹅膏蕈碱中等敏感
	snRNA 和 scRNA	

### 3、启动子和转录因子

- 1) 启动子是指RNA聚合酶识别、结合和开始转录的一段DNA序列。
- 2) RNA聚合酶起始转录需要的辅助因子或称为转录因子,它的作用是识别DNA的顺式作用位点,或是识别其他因子,或是识别RNA聚合酶。
- 3)转录单位的起点(start point):

起点核苷酸定为十1,从转录的近端向远端计数。 转录起点的左侧为上游(upsteam),用负的数 码来表示,起点前一个核苷酸为一1。起点后为 下游(downstream),即转录区。 当 RNA聚合酶全酶最初与 DNA相结合时,它占据的长度约 75-80 bp,从启动子的一55至十20。RNA聚合酶全酶的长径为 16 urn(160A),只能盖一50 bp的 DNA,这表明全酶结合的 DNA必有某种程度的弯曲。在转录起始阶段结束时,。因子被释放,RNA聚合酶形状发生改变,失去与DNA-55至一35区域间的接触,此时核心酶覆盖的长度约为 60 bp。

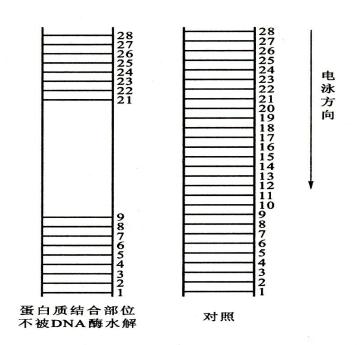


图 36-4 足迹法测定 DNA 上蛋白质的 结合部位

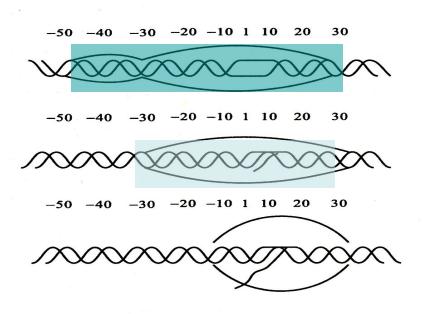


图 36-5 大肠杆菌 RNA 聚合酶在转录起始阶段 缩短覆盖 DNA 的长度

• 4) Pribnow box: 在离起始点—10处,有一个特殊结构6bp保守序列TATAAT (Pribnow box),称为—10序列或聚合酶识别的起始位点。光有—10序列仍不能开始转录,发现在上游—35位上有一个保守序列TTGACA,称为识别区或—35序列,—10序列和—35序列构成RNA聚合酶的的起始识别。由于起始点的不对称,使合成有了方向性。σ因子能直接和启动子的—35序列以及—10序列相互作用。

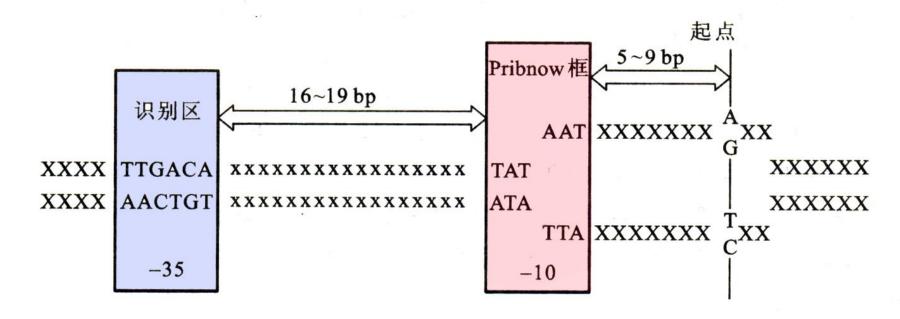
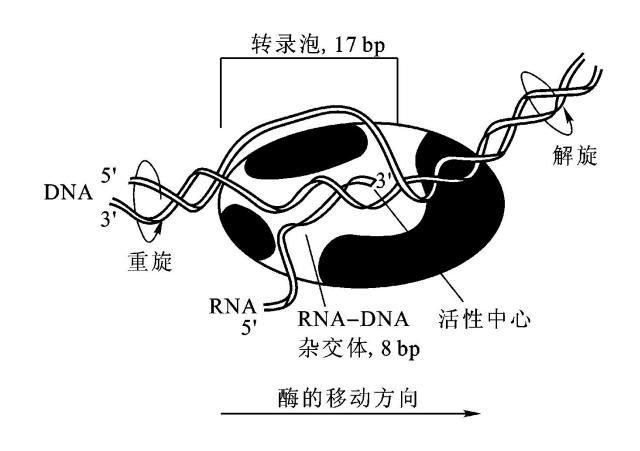


图 36-6 启动子共有序列的功能

### 4、RNA聚合酶的作用方式

• 1)以双链DNA为模板,天然双螺旋DNA为模板要比单链DNA更有效。以全保留方式转录,已合成的RNA离开DNA链。



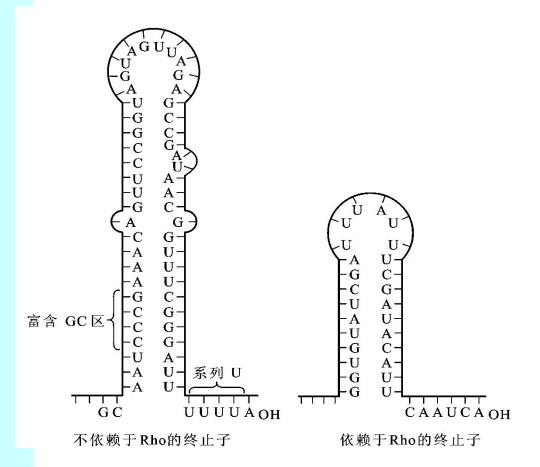
### 5、终止子和终止因子

• 1) 细菌和真核生物转录一旦起始,通常都能 继续下去,直至转录完成而终止。但在转录的 延伸阶段RNA聚合酶遇到障碍会停顿和受阻, 酶脱离模板即终止。转录结束,RNA聚合酶和 RNA转录产物即被释放。提供转录停止信号的 DNA序列称为终止子,协助RNA聚合酶识别终止 信号的辅助因子则称为终止因子 p 因子。

 DNA的转录终止信号可被RAN聚合酶所识别。 在转录过程中,RNA聚合酶沿着模板链向前移 动。所有原核生物的终止子在终止点之前均有 一个回文结构,其产生的RNA可形成由茎环构 成的发夹结构。该结构可使聚合酶减慢移动或 暂停RNA的合成。 大肠杆菌E. coli存在两类终止子:

一类称为不依赖于 (ρ)的终止子或简 单的终止子;

· 另一类称为依赖于 (ρ)的终止子。



#### 具体转录过程: 分为四步

### 1) 酶与模板的结合:

转录开始时,酶与模板启动子位点(Pribnow框)结合。酶中的σ因子能与启动子结合,对其它位置结合力很小,这样RNA聚合酶可沿DNA链漂移,遇到启动子就紧密结合,开始转录。无σ因子核心酶也能转录,但无辨认起始点功能,转录出的RNA无意义。

### 2) 转录的起始:

按照碱基配对的原则,选择适合的核苷三磷酸合成RNA。σ因子完成使命,从聚合酶上脱落。RNA的延长只需核心酶完成。RNA合成不需引物,但新合成的RNA5'端是A或G,说明第一个底物是A或G开始。

### 3) 链的延长:

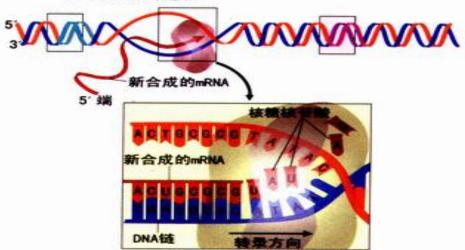
RNA合成方向是5'-3'端,速度40-100N/S。

### 4) 链的终止:

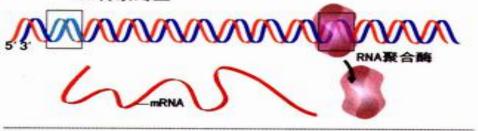
DNA分子上有由特殊核苷酸序列构成的终止信号(迴文结构GTTCAGTGTGAAC),当进行到终止信号时,p因子识别并结合终止序列,阻止转录进行,RNA脱落。

## 1. 转录单位 转录单位 5/3 启动子 基因DNA 終止子 2. 转录起始

3. mRNA链的延长



4. 转录终止

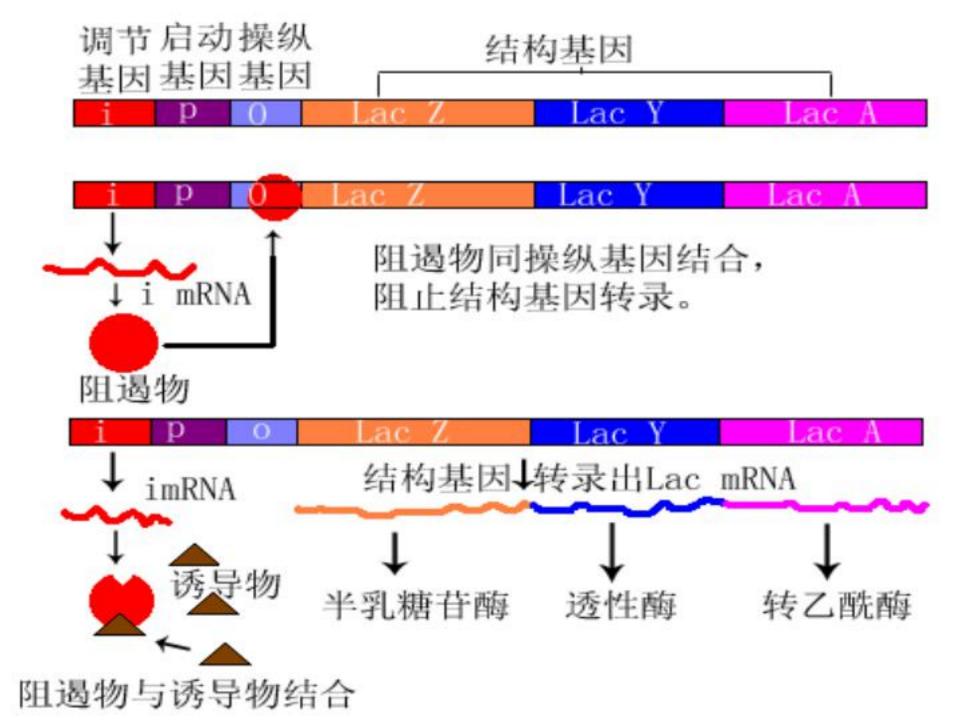


## (三)转录的调节控制

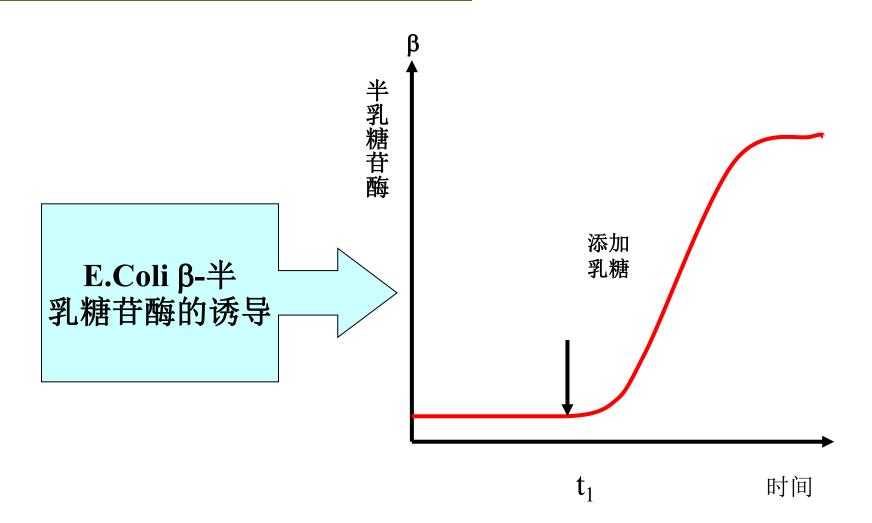
 DNA转录成RNA再翻译成蛋白质的过程,是 受到严格的调节控制的。在细胞的生长、发育 和分化过程中,遗传信息的表达可按一定时间 程序发生变化。在转录过程中具有调控机制。 1、原核生物转录水平调控一一操纵子学说

法国分子生物学家Monod和Jocob对大肠杆菌酶产生的诱导和阻遏现象进行深人研究后,提出了操纵子结构模型(operon structutal modol)。

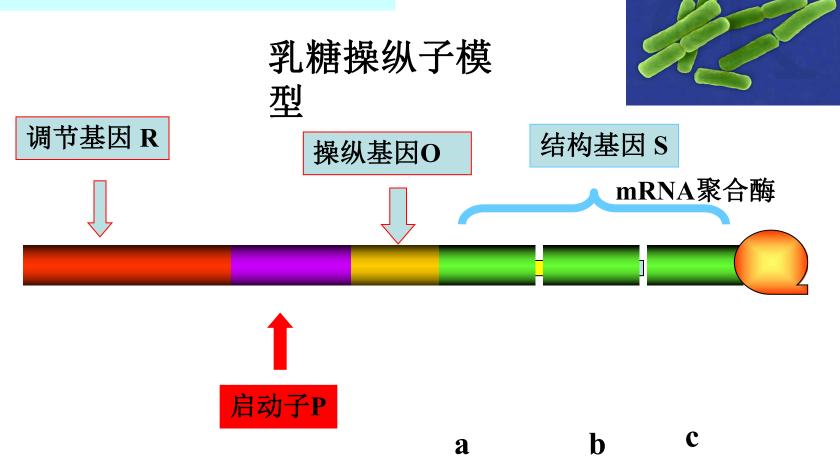
- 所谓操纵子即是指细菌基因表达和调控的单位,它包括结构基因、调节基因(regulatory gene)和由调节基因产物所识别的控制序列。通常在功能上彼此有关的编码基因串联在一起,有共同的启动子并受操纵基因(operator)的控制。
- 当调节基因的产物阻遏蛋白(repressor protein)与 操纵基因结合后,即可阻止其邻近启动子起始转录。 阻遏蛋白的作用属于负调控。但调节基因的产物可以 是负调节因子(例如阻遏蛋白),也可以是正调节因 子。



## 酶合成诱导的现象

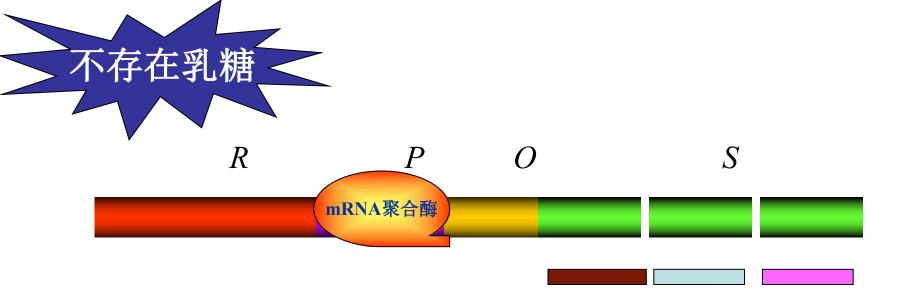


## 酶合成的诱导机制



a:β半乳糖苷酶

b:β半乳糖苷透性酶 c:β半乳糖苷转乙酰酶



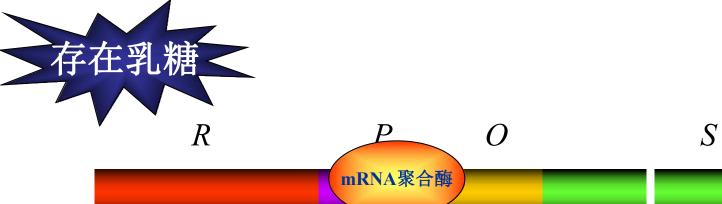








不产生乳糖分解利用相关三种酶











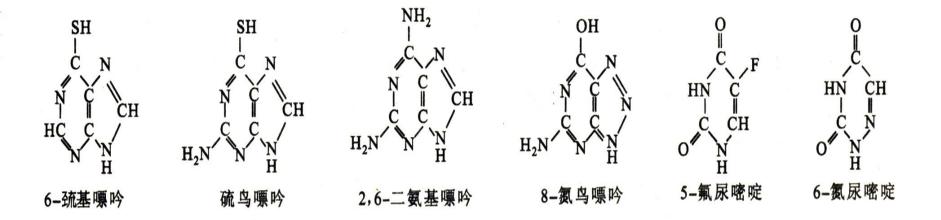
产生乳糖分解利用相关三种酶

## (四) RNA生物合成的抑制剂

某些核酸代谢的拮抗物和抗生素能抑制核苷酸或核酸的生物合成,因而被用作治疗疾病,特别是抗病毒和抗肿瘤药物,而在临床上得到广泛应用。在实验室中研究核酸的代谢也常要用到这些抑制剂。

## 1、嘌呤和嘧啶的类似物

人工可以合成某些碱基的类似物,用来抑制和酸生物合成的酶类,以达到抑制和酸生物合成的目的。常用于治疗癌症。所谓化疗药物。



## 2、DNA模板功能抑制剂:

有些化合物能与DNA模板结合,使之失去模板功能。

### (1) 烷化剂;

使DNA烷基化,主要在鸟嘌呤的N7上烷基化。 烷化剂具有较大的毒性可引起癌变和细胞毒性。 有些也可作为癌症的治疗药物。如环磷酰胺、 苯丁酸氮芥等。

### (2) 放线菌素D:

能抑制DNA转录RNA但不影响DNA的复制

### (3) 嵌入染料:

能嵌入DNA分子中连个碱基之间,引起移码突变,抑制复制和转录。

## 各种嵌入染料

$$\underset{H_2N}{ } \overbrace{ \hspace{1cm} N \hspace{1cm} } \underset{NH_2}{ }$$

原黄素

## 3、RNA聚合酶抑制物:

有些化合物可以抑制RNA聚合酶酶的活性。

### 1)利福霉素(rifamycin)

不作用DNA,特异性抑制细菌RNA聚合酶,抑制RNA合成。

### 2) 利链霉素(streptolydigin)

与细菌的RNA聚合酶B亚基结合抑制链的延长。

### 3)α一鹅膏蕈碱

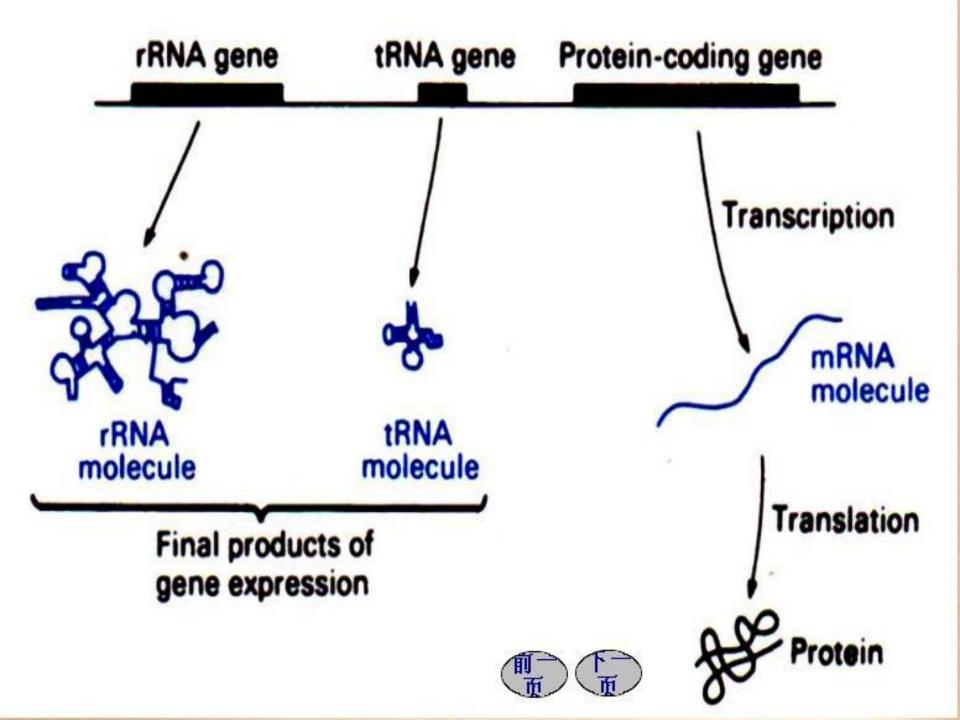
特异性抑制真核生物RNA聚合酶,而对细菌RNA聚合酶无作用。

α-鹅膏蕈碱

### 二、RNA的转录后加工

- (一)原核生物中RNA的加工
- (二) RNA的拼接、编辑和再编码
- (三) RNA生物功能的多样性

- 转录后加工。
- · 经转录出的 RNA往往需要经过一系列的变 化,包括链的裂解、5′端与3′端的切除 和特殊结构的形成、核苷的修饰和糖苷键 的改变、以及拼接和编辑等过程,才能转 变为成熟的RNA分子。此过程总称之为RNA 的成熟或转录后加工。



## (一)原核生物中RNA的加工

## 1、原核生物rRNA前体的加工

• 转录出的rRNA前体常与tRNA在一起,经甲基化,RNaseIII加工将两端多余的部分切掉,得到16S、5S、23S的rRNA以及一些tRNA。

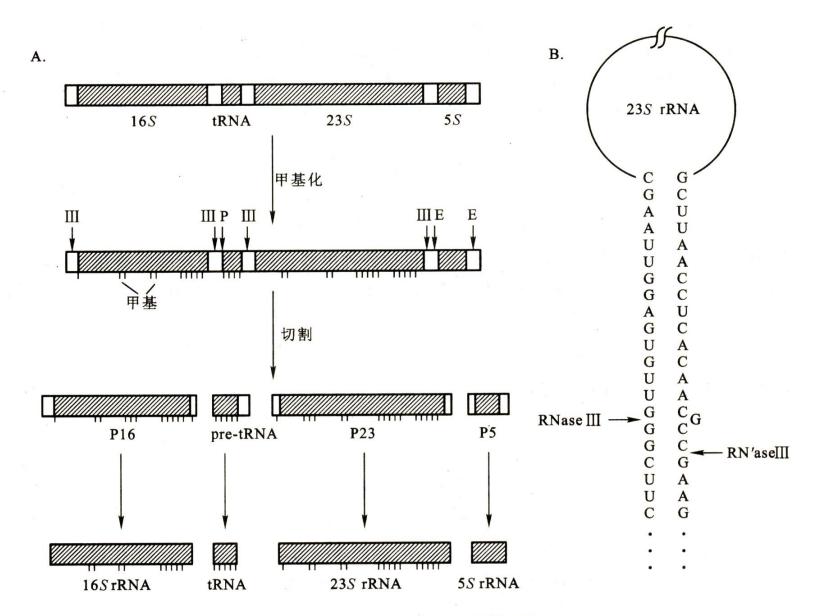
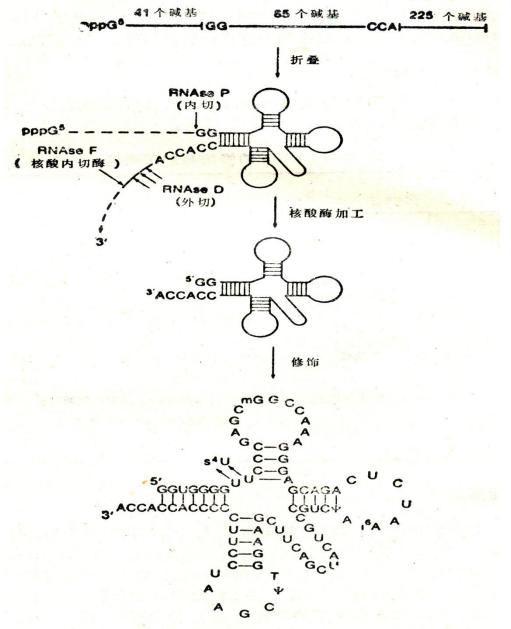


图 36 - 13 大肠杆菌 rRNA 前体的加工 A. rRNA 前体的加工过程; B. RNaseⅢ的切割位点

## 2、tRNA的前体加工:

- · 在RNaseD作用下,tRNA的前体经过酶作用成熟为tRNA分子有四个步骤:
  - (1) 有特异性内切酶在tRNA两端切断;
  - (2) 由外切酶将3'端切去附加核苷酸序列
  - (3)在3'端加上CCA-OH结构
  - (4)核苷酸修饰及异构化。



成熟大肠杆菌酪氨酸 tRNA1

图 21-12 大肠杆菌酪氨酸  $tRNA_1$  的加工和修饰。缩写符号如下:核糖胸苷(T),假尿苷( $\phi$ ),异戊基腺苷( $i^6A$ ),甲基鸟苷(mG),硫尿苷( $S^4U$ )。

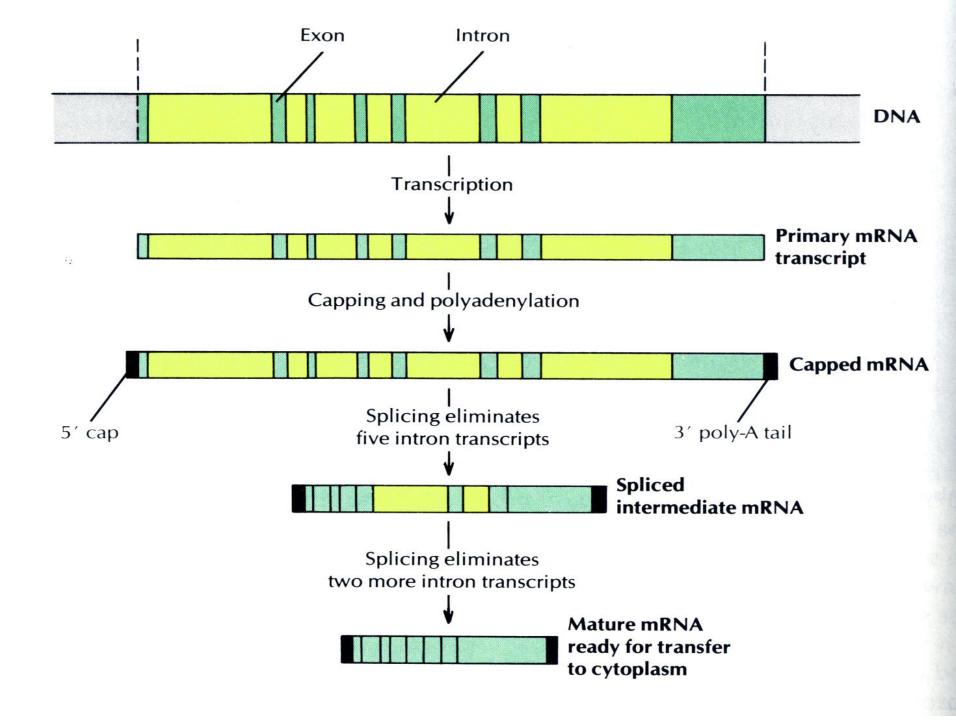
## 3、原核生物mRNA的加工

细菌中mRNA合成后不需进一步加工,直接翻译蛋白质,但也有少数多顺反子的mRNA需要酶切成小段mRNA。

### 3、真核生物mRNA前体的加工

• 真核生物编码蛋白质的基因以单个基因作为转 录单位,mRNA的原初转录物是相对分子质量 极大的前体,在核内加工过程中形成分子大小 不等的中间物,它们被称为核内不均一 RNA (heterogeneous nuclear RNA,缩写为 hnRNA),经过复杂的剪接后形成成熟的 mRNA。hnRNA分子大小为mRNA的5倍,粗略计 算有25%的hnRNA经加工转变成mRNA。

- 由hnRNA转变成mRNA的加工过程包括:
- ①5'端形成特殊的帽子结构,
- ②在链的 3'端切断并加上poly A尾巴,
- ③通过拼接除去由内含子转录来的序列
- ④链内部核苷被甲基化。



## (四) RNA生物功能的多样性

- · 1、RNA在遗传信息的翻译中起着决定的作用。
- · 2、RNA具有重要的催化功能和其他持家功能。
- 3、RNA转录后加工和修饰依赖于各类小RNA和 其蛋白质复合物。
- 4、RNA对基因表达和细胞功能具有重要调节作用。
- 5、RNA在生物的进化中起重要作用。RNA进化的研究一直是一个十分活跃的领域。核酶的发现表明RNA既是信息分子,又是功能分子,生命起源早期可能首先出现的是 RNA。

## 三、RNA复制和逆转录

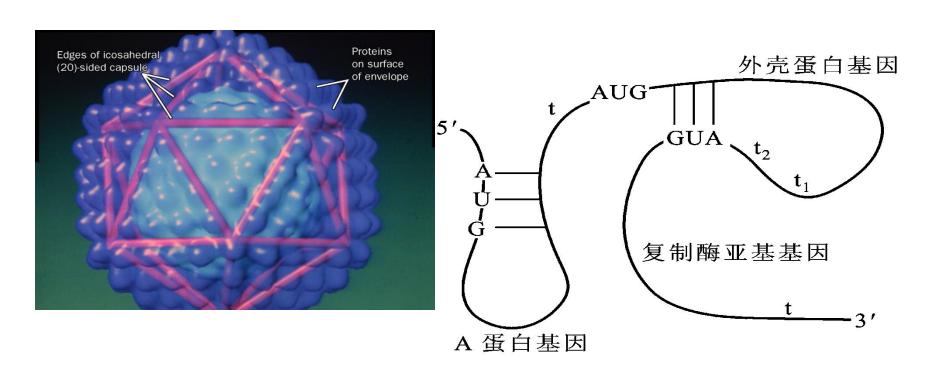
- (一) RNA的复制
- (二) RNA的逆转录

## (一) RNA的复制

- RNA的复制:在没有DNA的病毒分子中,RNA 也能进行复制,以RNA为模板,在四种核苷三 磷酸及Mg+存在下,由RNA指导的RNA聚合酶 催化合成RNA的过程。
- 1、噬菌体QβRNA的复制: 噬菌体Qβ含单链 RNA,约4500N,含有3-4个编码基因。

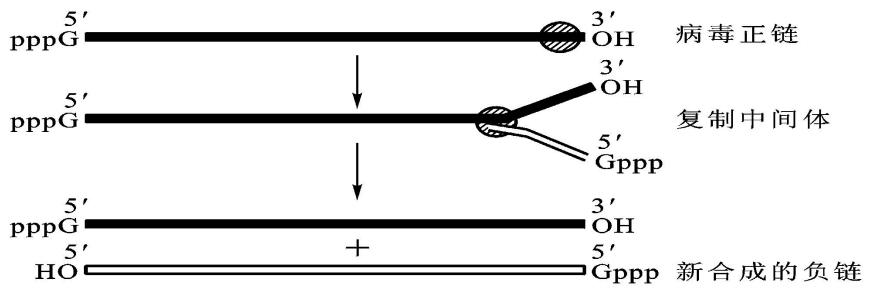
5'一成熟蛋白 外壳蛋白或A1 复制酶ß亚基 一3'

## 噬菌体Qβ的基因二级结构

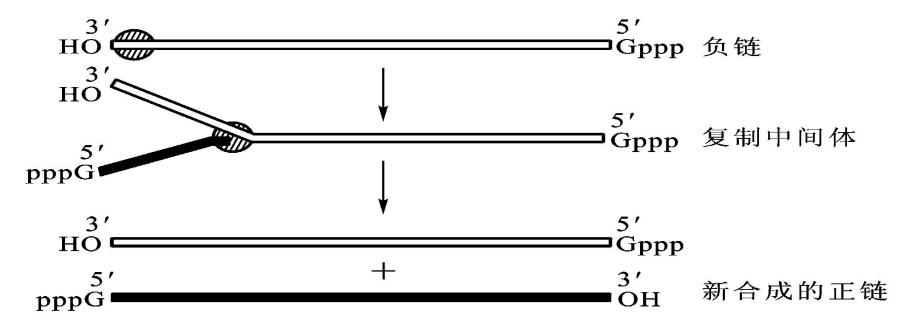


正二十面体噬菌体

#### A. 负链的合成:



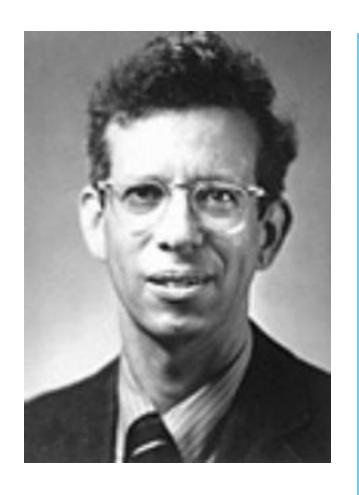
### B. 正链的合成:



## (二) RNA的逆转录

· 逆转录:以RNA为模板,按照RNA的核苷酸序列合成DNA的过程。催化逆转录的酶是RNA指导的DNA聚合酶。

- 1、逆转录酶的发现
- · 有很多RNA病毒在敏感动物里引起癌变。它们 包括Rose病毒、鸟类成髓细胞过多症病毒 (AMV),还有些病毒可引起啮齿类及哺乳类 动物中产生乳腺癌、白血病、肉瘤等。Temin 注意到这些致癌的RNA与一般RNA病毒不同, 用放线菌素D能够抑制致癌病毒的复制,说明 这种RNA病毒复制时一定涉及到DNA。于是 他于1964年提出了前病毒的假设,认为致癌 RNA病毒的复制需经过一个DNA中间体(即 前病毒),此DNA中间体可部分或全部整合 (integration)到细胞DNA中,并随细胞增 殖而传递至子代细胞。细胞的恶性转化就是由 前病毒引起的。



发现反转录酶, Temin . H. 1975诺贝尔奖

当时这一观点违背了中心法则,在 很多年内不被承认,而且遭到严厉 的指责。如果证明这个假设是正确 的,最直接的证据就是要在病毒中 找到逆转录酶。Bader用嘌呤霉素 (Puromycin) 抑制细胞的蛋白质 合成,发现这种细胞仍能感染上 Rose病毒。这说明催化的酶不是在 细胞中合成的,而是由病毒带进来 的。这一发现对Temin等人是极大 地鼓舞,它们以Rose病毒为材料, 终于在71年提纯了逆转录酶。假说 得到证实,因而获得1975年的诺贝 尔奖。

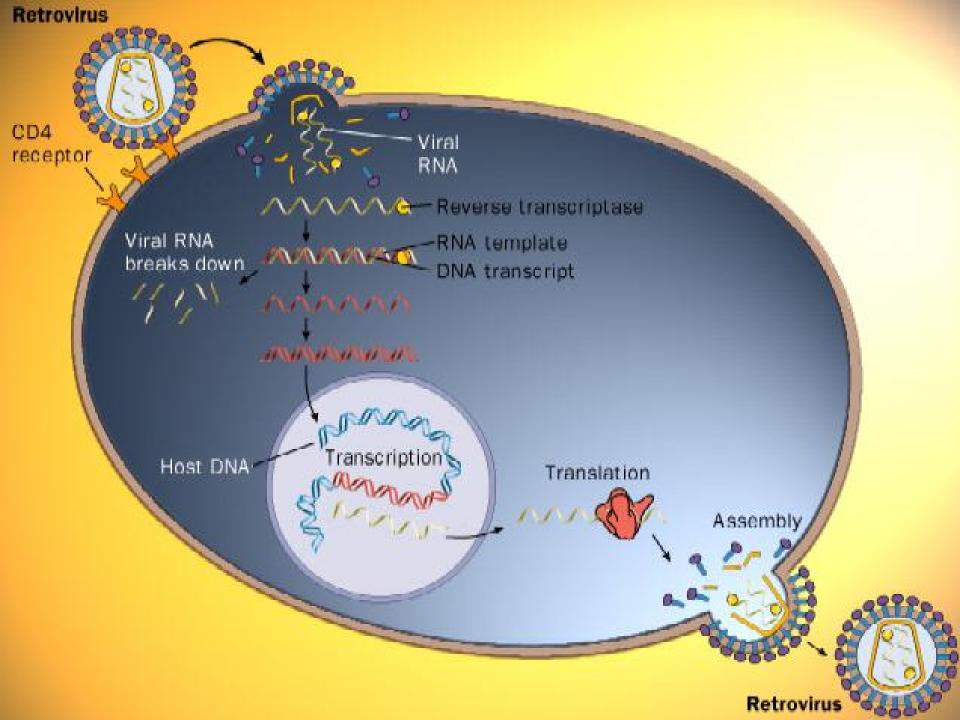
- 2、逆转录酶的性质
- · 禽类成髓细胞瘤病毒的逆转录酶由一个a亚基和一个B亚基所组成。鼠类白血病病毒的逆转录酶由一条多肽链组成。正如所有 DNA和 RNA聚合酶一样,逆转录酶也含有 Zn+。
- 1) DNA合成反应要求有模板和引物
- 2) 4种脱氧核苷三磷酸作为底物, 需Mg+。
- 3)有RNA指导DNA聚合酶作用并有DNA指导DNA 聚合酶作用。
- 4) 合成方向5'一3', 具有核酸酶作用。

### • 4、逆转录过程

病毒颗粒所携带的基因组RNA以及逆转录所需要酶 (逆转录酶、整合酶)进入宿主细胞内。

在细胞质内发生病毒RNA的逆转录。

合成的cDNA进入细胞核, 病毒的 cDNA整合到宿主染色体DNA内,成为前病毒(provirus)。前病毒可随行主染色体DNA一起复制和转录。只有整合的前病毒DNA转录的mRNA才能翻译产生病毒蛋白质。



病毒的反转录cDNA整合到宿主染色体上,转录出病毒RNA,由RNA翻译出病毒的外壳蛋白,再组装成病毒颗粒。

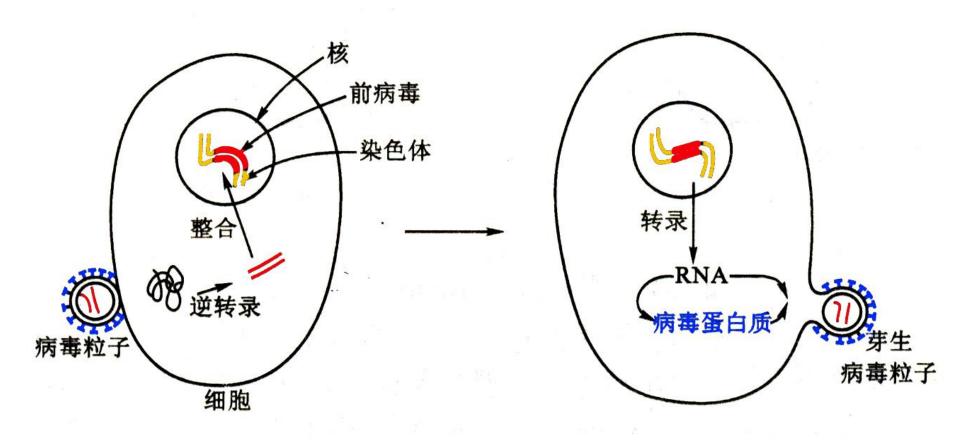


图 36-37 逆转录病毒的生活周期

- 5. 逆转录的生物学意义
- 逆转录病毒能够使遗传信息从RNA传递给DNA。逆转录过程的发现,对中心法则是一次冲击,并且还修改了其内容。DNA和RNA之间遗传信息流虽以双向箭头来表示。它们之间的相互关系正是遗传、发育和进化的核心问题之一。

# 提要

# 思考