

第十一章 RNA 的生物合成(转录)

制作：何涛 审校：李洪

(2009年4月)

一、内容提示：

本章主要介绍 RNA 生物合成的主要方式——转录的基本过程，并对参与此过程的酶及其它因子作相应的介绍。

(一) 转录的概念：

DNA 是遗传信息的储存者，RNA 是遗传信息的传递者，蛋白质是遗传信息的表现者，由于蛋白质的活动，表现出生物体的各种性状及功能，遗传信息从 DNA 经过 RNA 传递到蛋白质的过程，称为基因表达。基因表达的第一步，即以 DNA 为模板指导 RNA 的合成，使信息从 DNA 向 RNA 的转移称为转录 (transcription)。这也是生物体内 RNA 合成的主要方式。此外也可以通过 RNA 的复制而合成 RNA，这主要在 RNA 病毒中进行。

(二) 原核生物 RNA 的转录体系：

RNA 的转录体系包括：DNA 模板 (template)、作为原料的四种核糖核苷酸(NTPs)、RNA 聚合酶、某些蛋白质因子(如 ρ 因子)及无机离子等。

在细胞内，DNA 双链的某一基因节段中只有一条链具有转录功能，能被转录的 DNA 链称为模板链 (template strand)，而与之相对应的不具有转录功能的链称为编码链 (coding strand)，因此转录是不对称的。

在 DNA 模板上还存在着一些特殊的核苷酸序列，参与转录的调控。其中位于结构基因上游与 RNA 聚合酶结合并起始转录有关的序列称为启动子 (promoter)；能通过影响启动子而提高结构基因转录速率的序列称为增强子 (enhancer)；而能终止转录的信号序列称为终止子 (terminator)。

RNA 聚合酶是转录过程中主要的酶，它需以 DNA 作为模板，催化 NTP 的聚合，故称为 DNA 依赖的 RNA 聚合酶(DNA-dependent RNA polymerase, DDRP)。原核生物的 RNA 聚合酶由 5 个亚基($\alpha_2\beta\beta'\sigma$)组成，其中 σ 亚基极易脱落，与转录起始有关；而 $\alpha_2\beta\beta'$ 称为核心酶 (core enzyme)，催化 RNA 链的延长。

ρ 因子是由 rho 基因编码的六聚体蛋白质，能特异地和单链 RNA 结合，诱发转录终止或增加转录终止的效率。

(三) 原核生物 RNA 的转录过程：

RNA 的转录过程大致可分为三个阶段：① 起始阶段——RNA 聚合酶与模板辨认结合，在起始部位催化生成第一个磷酸二酯键，并形成 RNA 聚合酶全酶-DNA-pppGpN-OH 起始复合物；② 延长阶段——由核心酶单独催化 NTP 按模板要求，沿 5'→3'方向聚合成新生的 RNA，直至终止信号出现；③ 终

泸州医学院

生物化学与分子生物学精品课程

止阶段——RNA 链延伸停止，新生 RNA 的释放及 RNA 聚合酶与模板的解离。

与复制一样，RNA 转录合成的方向也是从 5'→3'方向进行，模板 DNA 的方向为 3'→5'，转录出的 RNA 与 DNA 呈反向平行互补。通过转录，DNA 的遗传信息传递至 RNA 分子中。

(四) 真核生物 RNA 的转录过程：

真核生物中有三种 RNA 聚合酶，能选择性地转录不同的基因，产生不同的 RNA 产物。

真核生物转录起始需要启动子、RNA 聚合酶和多种转录因子参与，首先装配成转录起始前复合体，然后转变成转录起始复合体才能起始转录过程。转录延长过程中，需使核小体结构的解聚。转录终止过程则与 Poly(A)的添加相偶联。

(五) 真核生物 RNA 的转录后加工：

在大多数情况下，真核生物转录生成的是 RNA 的前体，必须通过加工修饰才能成为具有生物功能的 RNA，这一过程称为转录后加工。RNA 转录后加工的主要方式有：剪切、剪接、编辑、戴帽、添尾、连接、碱基修饰等。

不同 RNA 的加工过程不同，真核生物 mRNA 加工的方式有戴帽(在 5'-端形成特殊的 m⁷GTP 帽子结构)、添尾(在 3'-端加上 polyA 的尾部结构)、剪接(切除由内含子转录而来的序列)及内部序列甲基化。其中，剪接是真核生物 mRNA 成熟的重要过程，因为真核生物的结构基因是断裂基因，即基因一般由几个外显子(编码区)和内含子(非编码区)相互间隔、连续镶嵌而成，因此转录后产生的 hnRNA 中也含有内含子转录而来的插入序列，必须通过剪切而除去，使含有遗传信息的由外显子转录而来的部分拼接起来，这一过程是在含多种小核 RNA(snRNA)的核蛋白颗粒(snRNP)上进行的，其机理涉及内含子形成套索结构而被释放。snRNP 正常情况下不透出核膜，以保证 mRNA 在核内加工完成。某些自身免疫性疾病，如系统性红斑狼疮、类风湿关节炎等，病人血清中会出现抗 snRNP 抗体，与其发病机制密切相关。

tRNA 前体的加工包括内含子剪切、碱基修饰(甲基化、还原、转位、脱氨)、添加 3'-CCA 末端等。rRNA 前体的加工方式有剪切及甲基化修饰。某些内含子的切除不需酶及蛋白质的参与，而是通过自我催化剪接完成的，这种具有催化活性的 RNA 称为核酶(ribozyme)。

二、重点解析：

本章着重要求掌握转录的特点和过程、主要的酶及蛋白质因子的作用以及真核生物转录后的加工方式。

(一) RNA 转录合成的特点：

1. 转录的不对称性：

与 DNA 复制所不同的是，转录只需以 DNA 双链中的一条链作为模板，这条链称为模板链，相对应的那条非转录的互补 DNA 链称为编码链。编码链的碱基序列与转录产物 RNA 的序列基本相同(只是

泸州医学院

生物化学与分子生物学精品课程

T 代替 U)，可以代表多肽链中的氨基酸顺序。由于转录时仅以双链 DNA 分子中的模板链为模板进行转录，故转录具有不对称性 (asymmetric transcription)。

需要注意的是，在一个包含若干基因的双链 DNA 分子中，不同基因的模板链并不一定都在同一条 DNA 链上，在某些节段内以某一条链作为转录模板，而在另一些节段内则可以另一条链为转录模板，故模板链是一相对概念。

2. 转录的连续性:

由于 RNA 聚合酶可直接起始转录过程，故转录不需引物。转录全过程是从特定的起始点开始直至特定的终止点为止，其产物即为一完整的 RNA 链，无需先合成短的核苷酸片段，因而是一连续的过程。

3. 转录的单向性:

转录合成时，模板 DNA 链的方向为 $3' \rightarrow 5'$ ，而 RNA 链转录合成的方向为 $5' \rightarrow 3'$ ，且在转录全过程中，仅以此方向进行合成，故转录具有单向性。

(二) RNA 聚合酶的种类、作用特点和功能:

RNA 聚合酶是转录过程中最重要的酶，广泛存在于原核及真核生物中，但二者有所不同。

1. 原核生物 RNA 聚合酶:

在原核生物如大肠杆菌中 RNA 聚合酶只有一种，可催化不同 RNA 产物的生成。该酶由 σ 因子与核心酶($\alpha_2\beta\beta'$)组成全酶 (holoenzyme)，即全酶由 $\alpha_2\beta\beta'\sigma$ 五个亚基构成。

全酶中的 σ 因子易脱落，其功能是识别转录起始部位(启动子)，并与 DNA 形成稳定的复合物。 σ 因子与核心酶结合后，可使核心酶构象发生变化，结果使全酶与启动子的结合力大大提高，且寿命延长。核心酶则参与转录时 RNA 链的延长，其中的 α 亚基可能决定基因转录的特异性，即被转录基因的类型； β 亚基可能参与转录的起始、酶与底物的结合及磷酸二酯键的形成； β' 亚基可能参与酶与 DNA 模板的结合。

原核生物的 RNA 聚合酶受利福平 (rifampicin) 或利福霉素 (rifamycin) 的特异性抑制，它可通过与 β 亚基以非共价键结合，阻止第一个 NTP 的进入，从而抑制 RNA 合成的起始。

2. 真核生物 RNA 聚合酶:

真核生物 RNA 聚合酶有三种(I、II、III)，它们选择性地转录不同的基因，产生不同的产物，该酶受 α -鹅膏蕈碱 (amanitin) 的特异性抑制，但其反应性不同。RNA 聚合酶 I 定位于核仁，转录产生 45S rRNA，对 α -鹅膏蕈碱较为耐受；RNA 聚合酶 II 与 RNA 聚合酶 III 均位于核质中，前者转录生成 hnRNA，对 α -鹅膏蕈碱极度敏感，后者转录生成 5S rRNA、tRNA 和 snRNA，对 α -鹅膏蕈碱中度敏感。由于 mRNA (由 hnRNA 加工成熟而成) 在功能上承上启下，且寿命最短，最不稳定，需经常合成，故 RNA 聚合酶 II 是真核生物中最重要的 RNA 聚合酶。

(三) 原核生物 RNA 转录的基本过程:

原核生物 RNA 转录合成主要包括起始、延长和终止三个基本步骤。

泸州医学院

生物化学与分子生物学精品课程

1. 转录的起始:

由 σ 因子辨认转录的起始点,并以 RNA 聚合酶全酶的形式与启动子紧密结合形成复合物,使 DNA 局部构象变化而解链。然后,在 RNA 聚合酶的作用下使第 1、2 个 NTP 按碱基配对原则以氢键结合于 DNA 模板上并催化第一个磷酸二酯键的形成,但第 1 个核苷酸通常为嘌呤核苷酸。当新生 RNA 链加入 6~9 个核苷酸后,才能形成稳定的酶-DNA-RNA 三元复合物,然后 σ 因子从复合物中释放出来,标志着起始完成。

2. 转录的延长:

由核心酶沿 DNA 模板从 3'→5'方向移动,单独催化新生 RNA 链(5'→3')的合成,直至转录终止处。在此过程中, RNA 聚合酶所到之处,模板 DNA 解链,产生一个长约 17bp 的转录泡,使模板暴露,合成的 RNA 暂时与 DNA 模板链形成 DNA-RNA 杂交链,但此杂交链不如 DNA 双链相互结合那样牢固和稳定,因此分开的 DNA 双链趋于重新组合成原来的双螺旋形式,并使新生 RNA 链与模板脱离,从 5'-端开始游离出来。

3. 转录的终止:

包括依赖 ρ 因子和非依赖 ρ 因子的转录终止两种形式。在 DNA 模板上靠近转录终止点前有一些特殊的核苷酸序列(连续 A-T 区域及其上游的富含 G-C 的回文结构,称为终止子),使转录出的 RNA 形成发夹结构,该结构可阻止 RNA 聚合酶继续沿 DNA 模板向前移动,从而终止转录。有的终止信号可被 RNA 聚合酶本身直接识别,无需 ρ 因子参与,称为自动终止。另一种情况需一种称为 ρ 因子的蛋白质作为辅助因子,帮助 RNA 聚合酶识别转录终止信号,停止转录。 ρ 因子具有依赖 RNA 的 NTPase 活性,可借助水解 NTP 获得的能量沿 RNA 移动,在终止子处与 RNA 聚合酶相互作用,造成 RNA 释放,并和 RNA 聚合酶一起从模板上脱落。

三、知识扩展:

(一) RNA 聚合酶与模板的辨认结合:

www.med126.com

RNA 聚合酶与模板形成复合物,是转录过程中最复杂、最关键的一步。DNA 模板上的启动子是 RNA 聚合酶辨认、结合并启动转录的部位,它和其后的结构基因共同组成转录单位。通常人们将 DNA 分子上开始转录的第一个核苷酸定为 +1,其上游区用负值表示,下游区用正值表示。启动子就位于转录起始点的上游区,在原核生物中长约 40~60bp,它通常至少包含以下几个功能区:① 识别部位——位于-35bp 附近,具有 TGTTGACA 序列,为 RNA 聚合酶全酶中的 σ 因子识别并结合的位点;② 结合部位——位于-10bp 左右,具有 TATAAT 的保守序列,由 Pribnow 发现,故称为 Pribnow Box,是 RNA 聚合酶牢固结合的位点,由于此区的碱基对均为 A=T,缺少 G≡C,故 T_m 较低,因而此处 DNA 双链易于解开,使 RNA 聚合酶容易挤入双链之间而有利于转录的起始;③ 起始部位——此处是转录开始的起点,即合成 RNA 链中第一个核苷酸的位点,一般为 A 或 G。真核生物的启动子不如原核生物典型,

泸州医学院

生物化学与分子生物学精品课程

通常在-30bp 处有 TATA Box (Hogness Box) 的保守序列, 为转录因子的结合位点。

在 RNA 聚合酶与启动子相互作用的过程中, 先形成酶-闭链启动子复合物, 然后经解链, 得到酶-开链启动子复合物, 其具体过程和机制未完全明了, 很可能 RNA 聚合酶本身就具有解链酶功能, 使启动子中-9 到+2 区域发生解链, 形成一长 11bp 的开链复合物, 后者的形成是按照 DNA 模板顺序正确引入核苷酸底物进行基因转录的必要条件。

(二) RNA 前体的加工方式:

1. RNA 的剪接:

不同 RNA 剪接的方式不尽相同, 可归纳为三种类型: 第一类是自我剪接型, 依靠内含子的特殊结构进行自发剪接, 在体外不需蛋白质和酶的参与, 这类内含子存在于多数真菌线粒体、四膜虫和绒胞菌 rRNA、一些叶绿体和噬菌体 RNA 前体中。第二类是蛋白质(酶)促剪接, 这类内含子主要存在于 tRNA 前体的剪接。第三类是 snRNP 剪接, snRNP 是由数种 snRNA 和几十种蛋白质构成的细胞核小分子核糖核蛋白颗粒, 真核生物 mRNA 的剪接就是这种方式。

(1) mRNA 前体的剪接: ① 剪接体的形成。剪接体是包括 mRNA 前体(hnRNA)在内的多组分复合物, 至少由五种 snRNA 和几十种蛋白质构成。真核生物 mRNA 前体的内含子中存在三个保守的剪接识别位点。内含子 5'-端及其上游外显子衔接处的“5'-剪接点”(GUA (G) AGU)可被 U₁ snRNP 识别并与之互补结合; 内含子 3'-端与其外显子衔接处的 AG, 可被 U₅snRNP 识别并与之结合, 称为“3'-剪接点”; 位于内含子内部距其 3'-端 18~38 个核苷酸处的一段含特定 A 的序列(酵母为 UACUAAC, 哺乳动物为 YNCURAY)能被 U₂ snRNP 识别, 故称“分支点”。剪接开始前, 由 U₁ snRNP、U₂ snRNP 识别 mRNA 前体上的剪接位点, 通过碱基配对与 mRNA 前体结合, 继而与其它 snRNP (U₄、U₅、U₆) 形成一个巨大的 60S 复合物。② 剪接过程的套索机制。第一步是内含子分支点序列中 A 上的 2'-OH 攻击内含子 5'-端与外显子 1 之间相连的磷酸二酯键, 剪下外显子, 同时在 A 与内含子 5'-P 间生成 2',5'-磷酸二酯键, 使内含子形成套索结构。第二步反应是已被切下的外显子 1 的 3'-OH 末端攻击内含子 3'-端与外显子 2 之间连接的磷酸二酯键并使之断裂, 结果内含子以套索形式剪切下来, 同时两个外显子连接起来。

(2) tRNA 前体的剪接: tRNA 前体的剪接分两步进行, 分别由不同的酶催化。第一步是由一个特殊的核酸内切酶断裂磷酸二酯键, 切去插入序列, 反应不需 ATP; 第二步由 RNA 连接酶催化, 使切开的 tRNA 两部分共价连接, 此过程需 ATP。

(3) rRNA 的剪接: 原核生物 rRNA 前体为 30S rRNA, 经各种 RNA 酶剪切后产生 16S、23S 和 5S rRNA。真核生物 rRNA 前体为 45S rRNA, 长约 7000 核苷酸。加工的第一步是在 rRNA 序列上近 100 个核苷酸位点发生甲基化, 产生 O²-甲基核糖、N⁶,N⁶-二甲基腺苷酸和 2-甲基鸟苷酸, 这些甲基化位点可能是加工酶识别标志, 在加工酶的作用下, 切除 5'-端间隔序列后, 分开形成 18 S、5.8S 和 28S rRNA。

2. RNA 的自我催化加工:

1981 年, 美国人 Thomas Cech 在研究四膜虫 rRNA 前体的剪接加工时, 发现其 rRNA 前体能自动

切除 413 个核苷酸的内含子，这一过程完全没有蛋白质参加，称之为自我剪接，并首次提出了 **ribozyme** 的概念，用以指具有催化功能的 RNA。这一惊人的发现动摇了所有生物催化剂都是酶的传统观念。几乎与此同时，加拿大的 Sidney Altman 等发现 RNase P 分子中的 RNA 组份，也象 RNase P 的全分子一样能单独催化 tRNA 5'-端前导序列的切除，而其中的蛋白质组份却没有这种催化活性。Cech 和 Altman 二者的研究可谓殊途同归，这些创造性的发现使他们分享了 1989 年 Nobel 化学奖。至今已发现的 **ribozyme** 有数十种，按其作用方式可分为两大类：一类为剪切型，此类 **ribozyme** 可催化自身 RNA 或其它异体 RNA 分子剪掉一小断或切除一大段寡聚核苷酸序列，其催化功能相当于核酸内切酶的作用。如催化 tRNA 前体 5'-端成熟的 RNaseP。另一类为剪接型，此类 **ribozyme** 的作用主要是催化自身 RNA 进行化学反应，它们的作用是既剪又接，相当于核酸内切酶及连接酶这两种酶的联合作用，至今已发现十几种，都是催化一些低等真核生物的细胞核 rRNA 前体及其线粒体中某些 mRNA 前体和 rRNA 前体的自我成熟过程。各种 **ribozyme** 的一级结构中都有进化上高度保守的序列，这些序列与其催化活性有关，如大多已知的剪切型 **ribozyme** 分子能形成“锤头”状的二级结构，这是其发挥自我剪切作用的关键部位。

Ribozyme 的发现表明 RNA 是一种既携带遗传信息又有催化功能的分子，因此 RNA 很可能是生命起源中首先出现的生物大分子，而一些有酶活性的内含子可能是生命进化过程中残存的“分子化石”，有助于分子水平上的生命起源的研究。根据 **ribozyme** 结构和功能关系的研究，有可能设计合成出各种人们所需的人工 **ribozyme** 或其基因，用以剪切破坏人类和动植物有害基因转录出的 mRNA 或其前体，从而抑制细胞内肿瘤基因、遗传缺陷基因及病毒基因等不良基因的表达，为基因治疗提供一种可能的途径和美好的前景。

3. RNA 的选择性剪接：

来自于同一个基因的 mRNA 前体可因不同的剪接方式(内含子或外显子被切除的顺序和数目不同)，而产生多种 mRNA，翻译出各自的蛋白质，形成一组相似的蛋白质家族，称为“蛋白质同源体”。这些蛋白质可出现于个体不同的发育阶段、不同的组织或不同的亚细胞结构中并发挥其功能。通过这种方式可使一个基因所携带的遗传信息在转录后大大地扩展。

4. RNA 的反式剪接：

指发生在两个不同 mRNA 前体分子间的剪接过程，产生的成熟 mRNA 系由两个不同的转录单位产生的片段连接而成。这种加工方式在锥虫、线虫和牛痘病毒中均有发现，它可克服基因所携带遗传信息的限制，提高遗传信息的使用效率。

5. RNA 的编辑：

指有些基因的转录产物（RNA 前体）因一些核苷酸的插入、缺失或替代而改变了其原来的编码特性，翻译出多种氨基酸序列不同的蛋白质。具体加工方式有“插入编辑”、“删去编辑”、“取代编辑”。结果可能为：① 增加密码子数目，扩大遗传信息量；② 改变编码性质；③ 出现新的起始密码或终止密码，从而使生物能更好地适应生存环境。