

高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

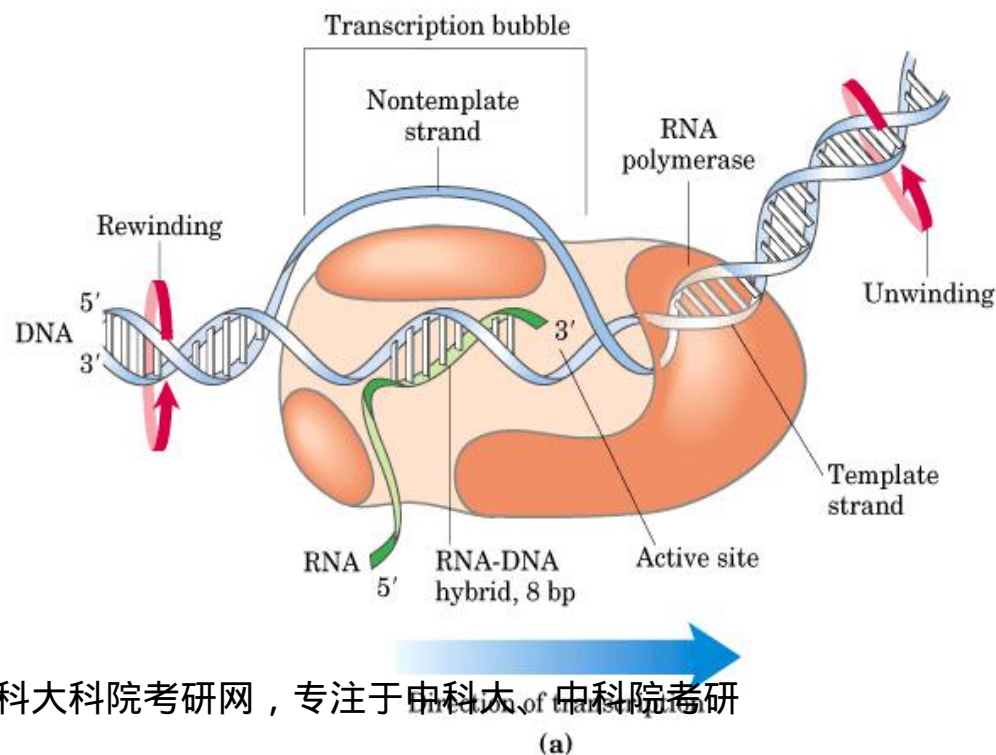
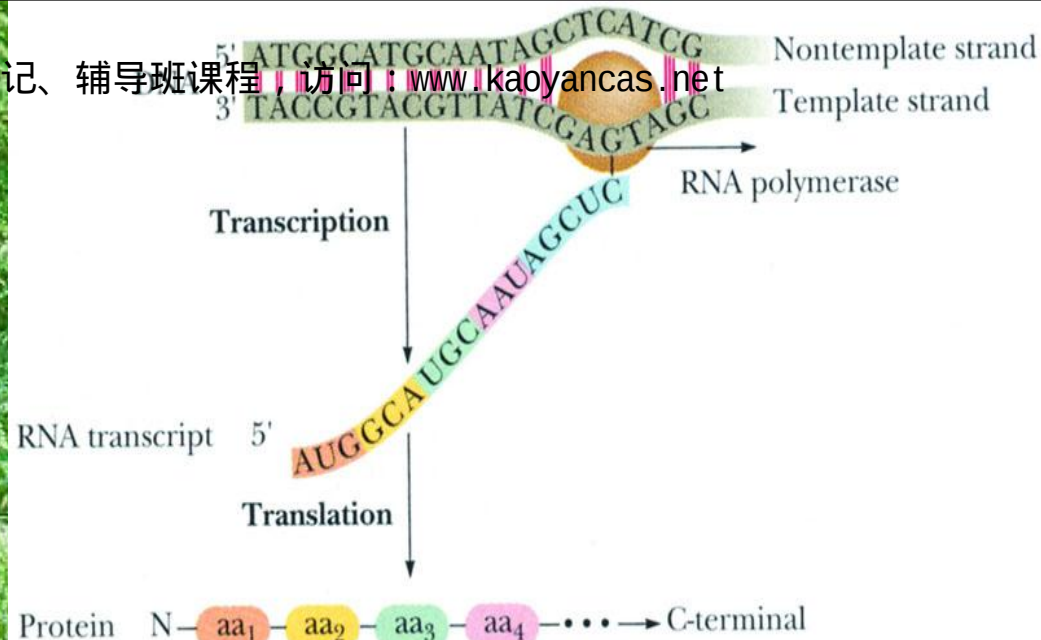
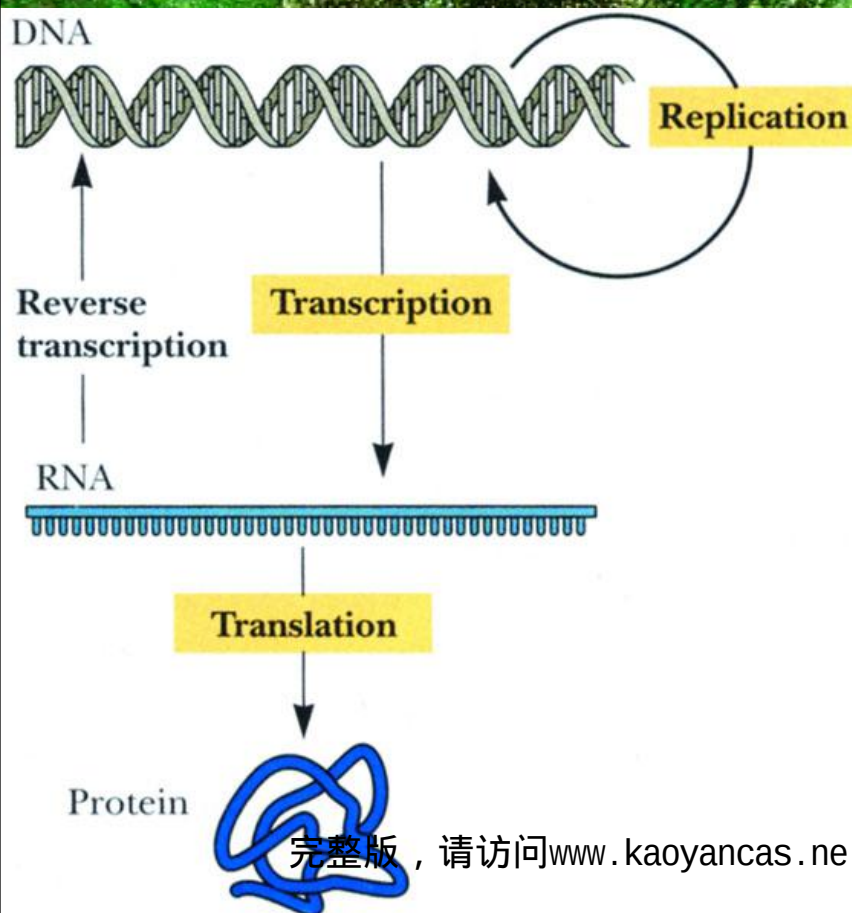
第36章

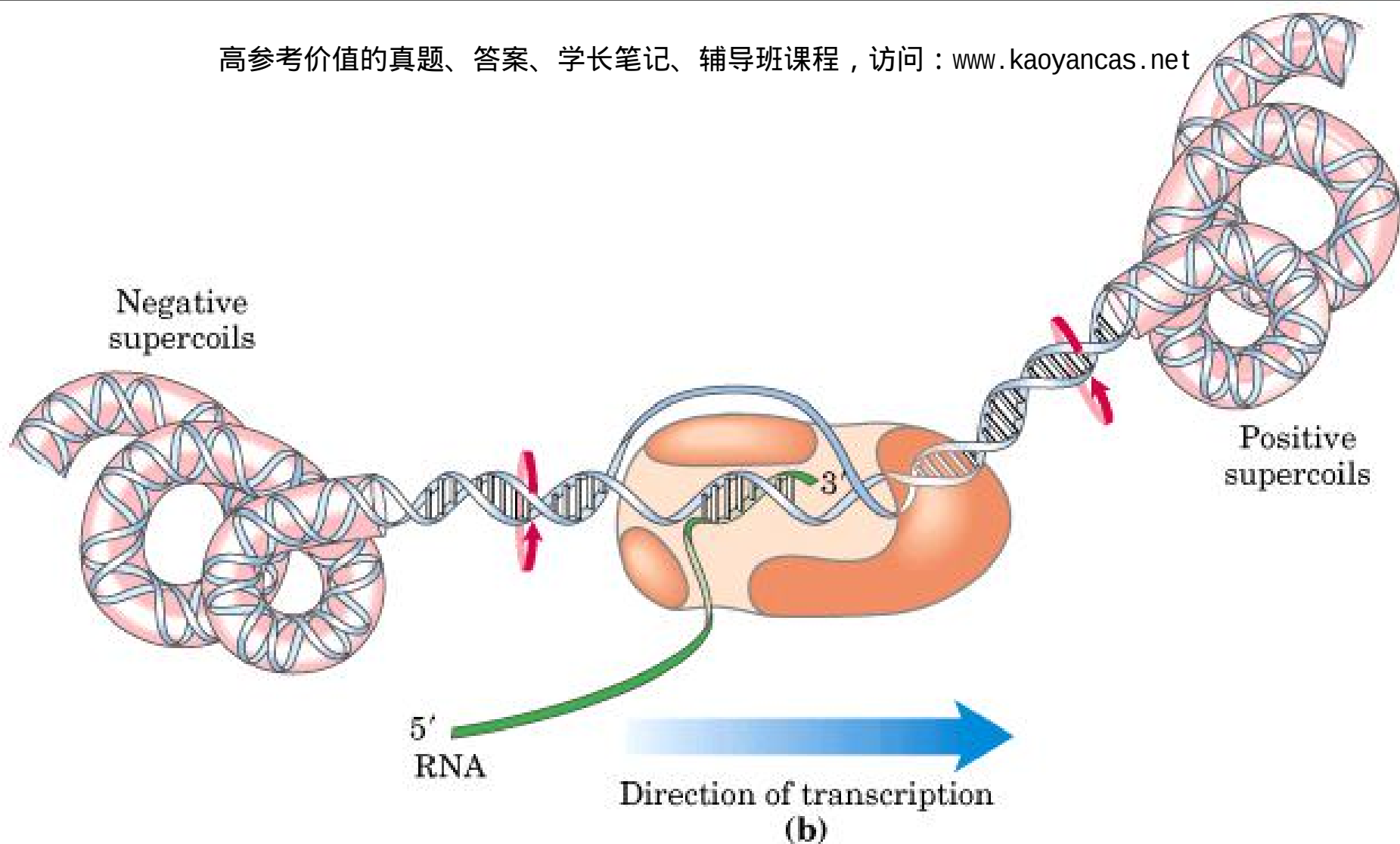
RNA的 生物合成及其调控

完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

一、DNA指导RNA的合成

1958年Crick提出的中心法则





(5') CGCTATAGCGTTT(3')

DNA nontemplate (coding) strand

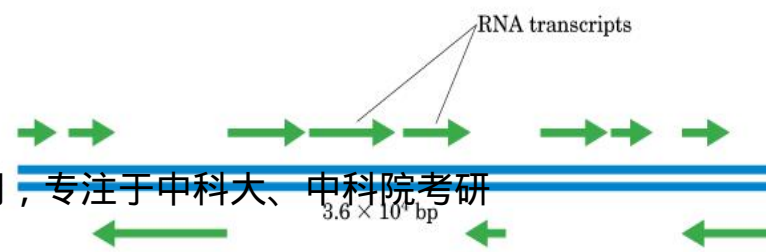
(3') GCGATATCGCAA(5')

DNA template strand

(5') CGCUAUACGCUUUA(3')

RNA transcript

完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研



(一) DNA指导的RNA聚合酶

原核生物的RNA聚合酶由 $\alpha_2\beta\beta'$ 构成核心酶， σ 为起始因子， σ 因子引导RNA聚合酶稳定地结合到DNA的启动子上，不同的菌种 σ 因子的大小差别很大，不同的 σ 因子可以识别不同的启动子， β 亚基借助疏水作用与DNA结合， β' 亚基是碱性蛋白，借助静电作用与DNA结合， $\beta\beta'$ 构成RNA聚合酶的催化中心， α 亚基与启动子上游元件和活化因子结合，促进酶的装配， ρ 因子参与某些基因转录的终止。

Subunit	M_r	Number per Enzyme Molecule	Function
α	36,500	2	Chain initiation, interaction with regulatory proteins and upstream promoter elements
β	151,000	1	Chain initiation and elongation
β'	155,000	1	DNA binding
σ	70,000 ^a	1	Promoter recognition
ω	11,000	1	Unknown

完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

^a The 70-kDa σ subunit is one of several alternative σ subunits.

真核生物的**RNA聚合酶** 对 α -鹅膏蕈碱不敏感，转录45S rRNA前体，经加工产生5.8S rRNA, 18S rRNA 和28S rRNA; **RNA聚合酶** 对 α -鹅膏蕈碱敏感，转录编码蛋白质的基因和大多数snRNA; **RNA聚合酶** 对 α -鹅膏蕈碱中等敏感，转录小RNA，包括tRNA, 5S rRNA, snRNA和scRNA。

Name	Location	Genes transcribed	Sensitive to amanitin
RNA Pol I	nucleoli	Most rRNA	Insensitive
RNA Pol II	nucleoplasm	mRNA some snRNA	Very sensitive
RNA Pol III	nucleoplasm	tRNA , 5S rRNA U6 snRNA, small RNA	Moderately sensitive

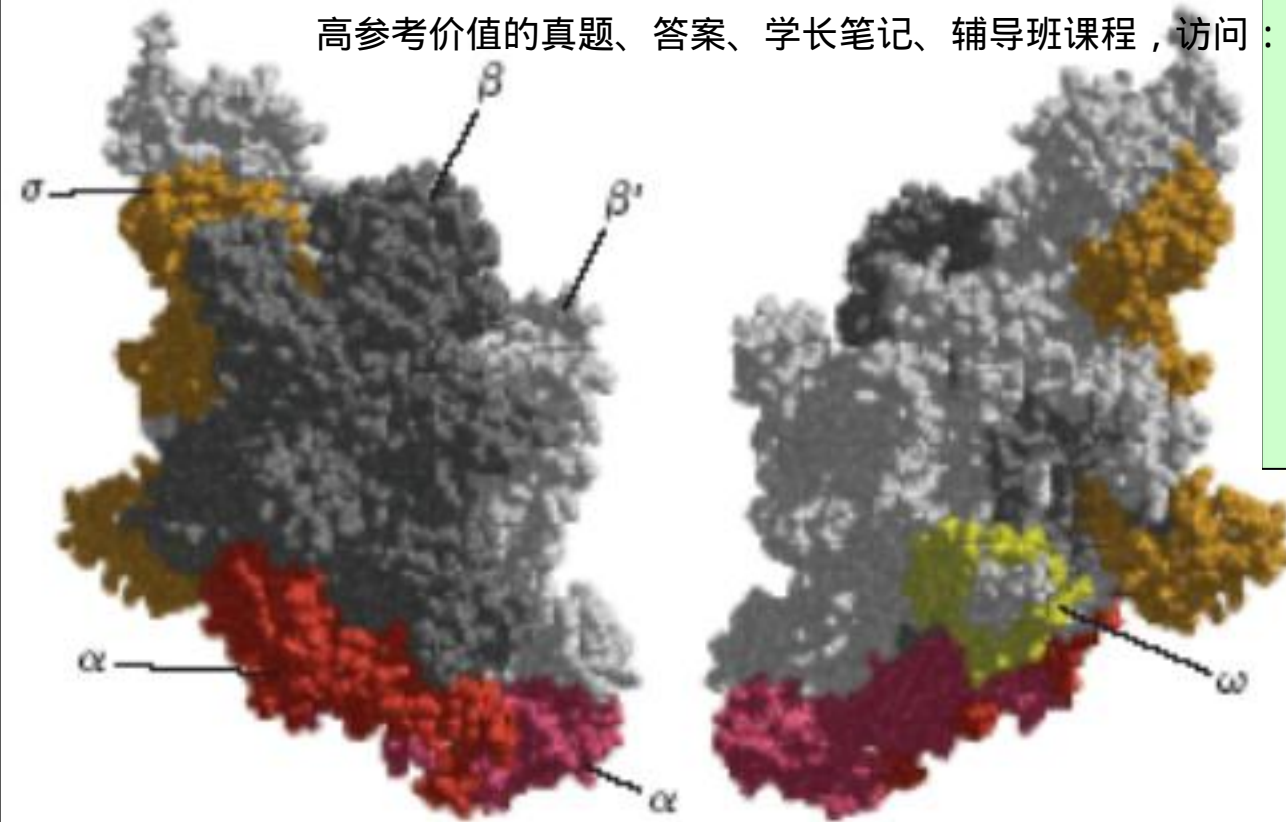


图 12-5 *E. coli* RNA 聚合酶的亚基组成

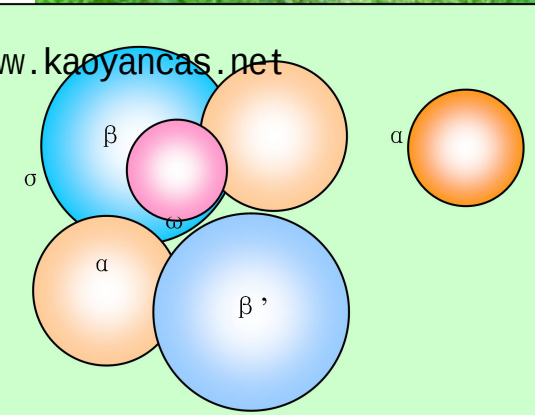
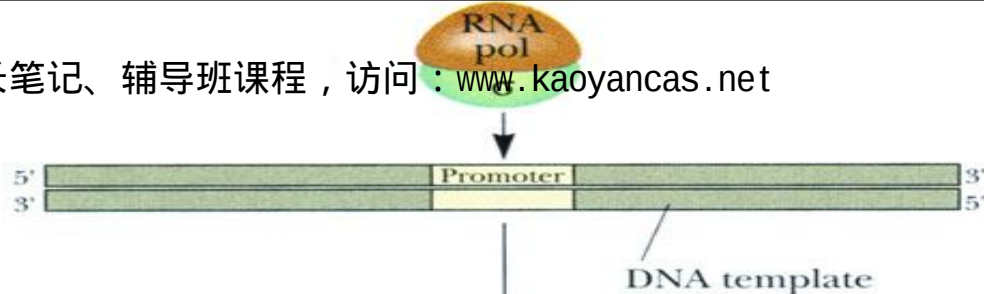
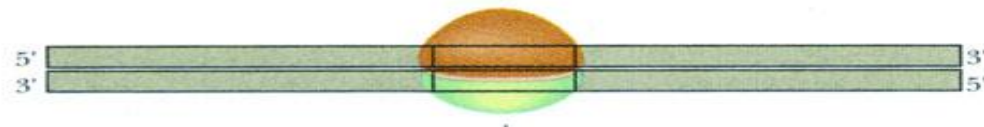


FIGURE 26-4 Structure of the RNA polymerase holoenzyme of the bacterium *Thermus aquaticus*. (Derived from PDB ID 1IW7.) The overall structure of this enzyme is very similar to that of the *E. coli* RNA polymerase; no DNA or RNA is shown here. The β subunit is in gray, the β' subunit is white; the two α subunits are different shades of red; the ω subunit is yellow; the σ subunit is orange. The image on the left is oriented as in Figure 26-6. When the structure is rotated 180° about the y axis (right), the small ω subunit is visible.

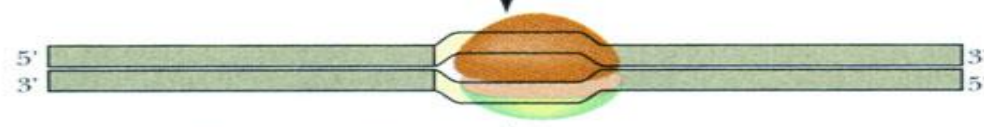
Step 1 Recognition of promoter by σ . Binding of polymerase holoenzyme to DNA; migration to promoter



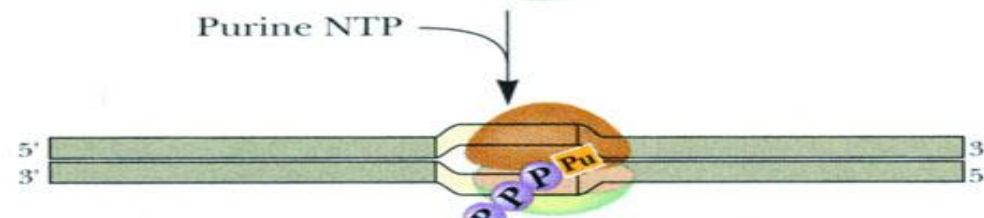
Step 2 Formation of an RNA polymerase: closed promoter complex



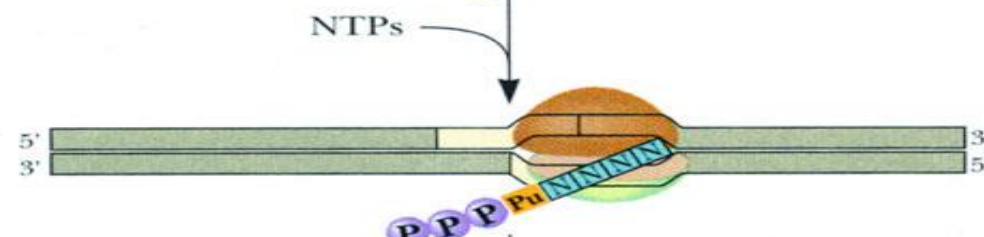
Step 3 Unwinding of DNA at promoter and formation of open promoter complex



Step 4 RNA polymerase initiates mRNA synthesis, almost always with a purine



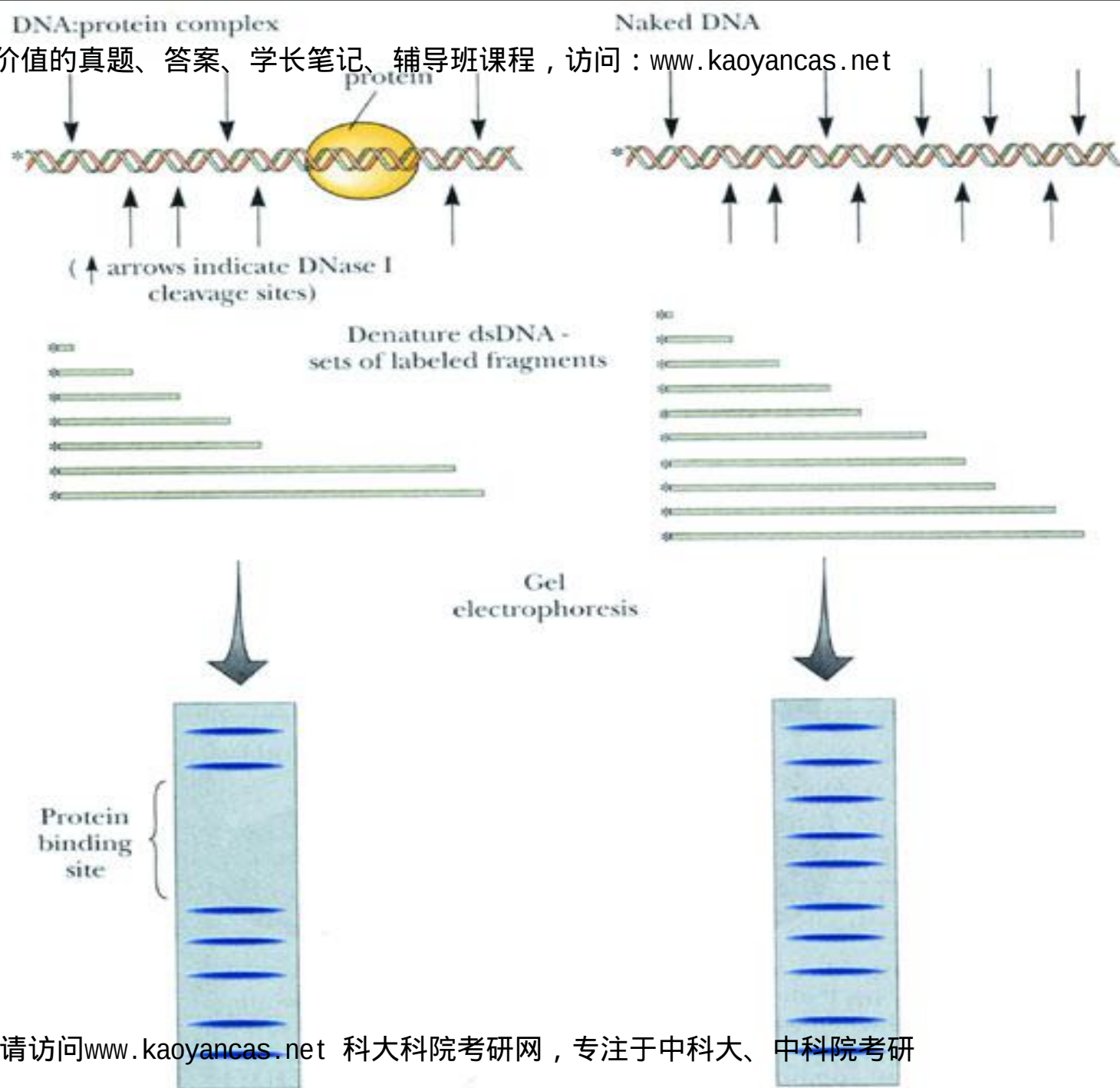
Step 5 RNA polymerase holoenzyme-catalyzed elongation of mRNA by about 4 more nucleotides



Step 6 Release of σ subunit as core RNA polymerase proceeds



研究转录
起点的方法:
足迹法



(二) 启动子和转录因子

原核生物的启动子

	UP element		-35 Region	Spacer	-10 Region	Spacer	RNA start
Consensus sequence	NNAAA ^{AA=A} _{TT-T} TTTTNNAAAANNN	N	TTGACA	N ₁₇	TATAAT	N ₆	+1
<i>rnnB</i> P1	AGAAAATTATTTTAAATTTCT	N	GTGTCA	N ₁₆	TATAAT	N ₈	A
<i>trp</i>			TTGACA	N ₁₇	TTAACT	N ₇	A
<i>lac</i>			TTTACA	N ₁₇	TATGTT	N ₆	A
<i>recA</i>			TTGATA	N ₁₆	TATAAT	N ₇	A
<i>araBAD</i>			CTGACG	N ₁₈	TACTGT	N ₆	A

不同的 σ 因子识别的启动子共有序列有所不同（表36-3）

真核生物RNA聚合酶 启动子的共有序列

RNA聚合酶 基本启动子的共有序列TATA位于-25至-30，转录起始部位有一保守序列PyPyA*NT(A)PyPy，其中的Py表示嘧啶，*表示+1位点。上游调控元件包括CAAT框，GC框和八聚体框等，位置不很确定，不同的细胞可以有不同的上游调控元件，不同的上游调控元件与不同的转录因子相互作用（表36-4）。

Adenovirus late	GGGGCTATAAAAGGGGGTGGGGGGCGCGTTCGTCCTCACTC	
Chicken ovalbumin	GAGGCTATATATTCCCCAGGGCTCAGCCAGTGTCTGTACA	
Mouse β globin major	GAGCATATAAGGTGAGGTAGGATCAGTTGCTCCTCACATTT	
Rabbit β globin	TTGGGCATAAAAGGCAGAGCAGGGCAGCTGCTGCTACACT	
		↑ +1 Transcription start site
	T A T A A A A 82 97 93 85 63 83 50 T T 37 37	

真核生物RNA聚合酶 启动子与转录因子的相互作用

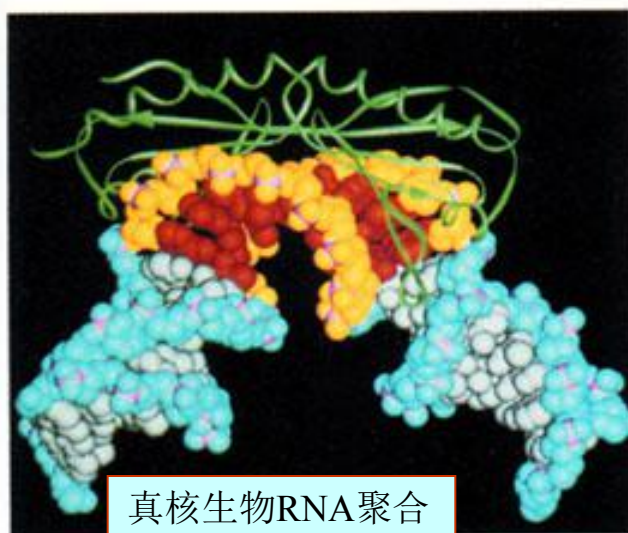
TABLE 26-1 Proteins Required for Initiation of Transcription at the RNA Polymerase II (Pol II) Promoters of Eukaryotes

<i>Transcription protein</i>	<i>Number of subunits</i>	<i>Subunit(s) M_r</i>	<i>Function(s)</i>
Initiation			
Pol II	12	10,000–220,000	Catalyzes RNA synthesis
TBP (TATA-binding protein)	1	38,000	Specifically recognizes the TATA box
TFIIA	3	12,000, 19,000, 35,000	Stabilizes binding of TFIIB and TBP to the promoter
TFIIB	1	35,000	Binds to TBP; recruits Pol II–TFIIF complex
TFIIE	2	34,000, 57,000	Recruits TFIIH; has ATPase and helicase activities
TFIIF	2	30,000, 74,000	Binds tightly to Pol II; binds to TFIIB and prevents binding of Pol II to nonspecific DNA sequences
TFIIH	12	35,000–89,000	Unwinds DNA at promoter (helicase activity); phosphorylates Pol II (within the CTD); recruits nucleotide-excision repair proteins
Elongation*			
ELL [†]	1	80,000	
p-TEFb	2	43,000, 124,000	Phosphorylates Pol II (within the CTD)
SII (TFIIS)	1	38,000	
Elongin (SIII)	3	15,000, 18,000, 110,000	

TF II D是包含TATA结合蛋白(TATA binding protein, TBP)和多种TBP联结因子(TBP-associated factor, TAF)的寡聚蛋白, 可以与RNA聚合酶 II 的C端相互作用。

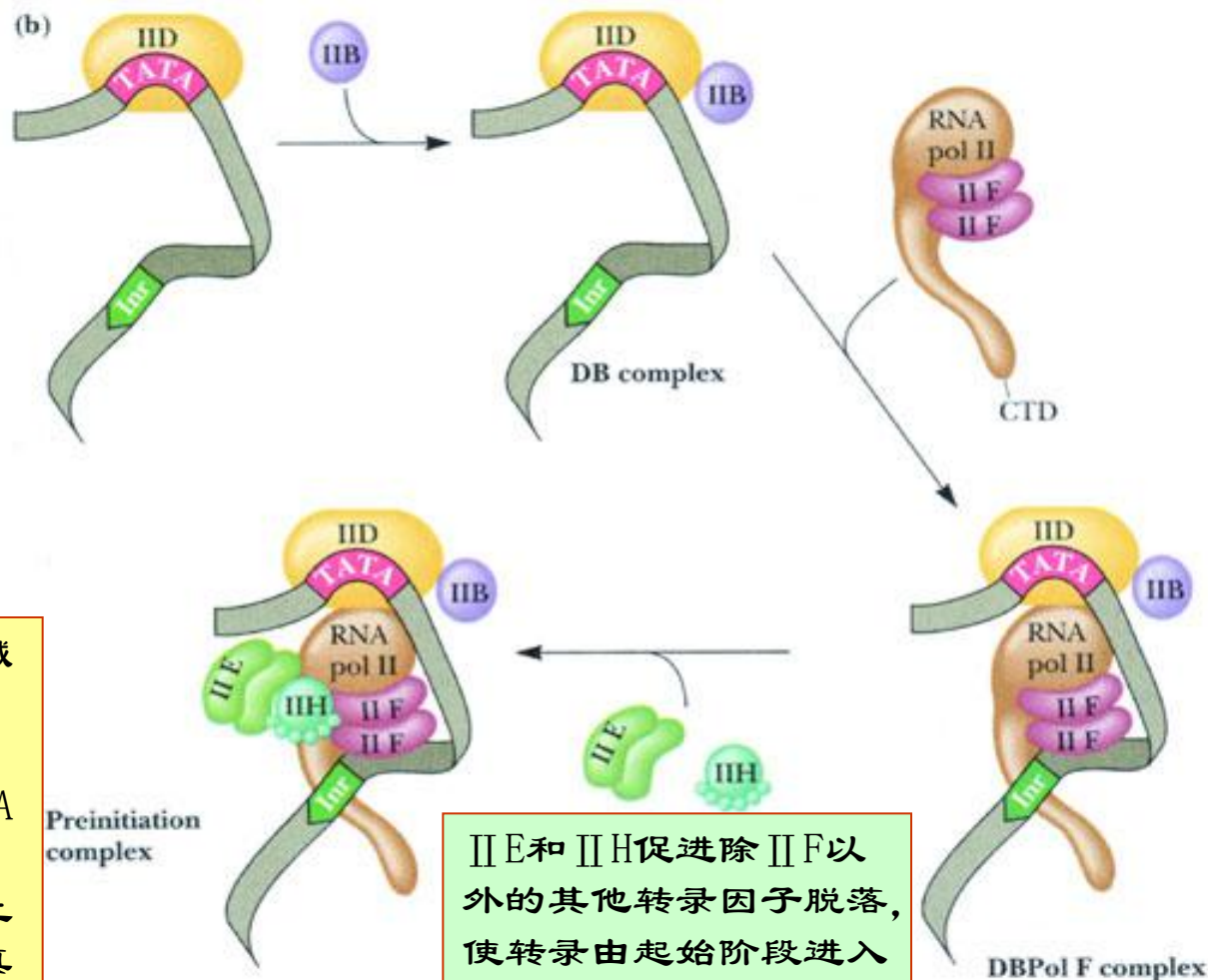
TF II B有两个结构域, 一个结合TBP。另一个可以引进TF II F/pol II 复合物

TF II F有ATP酶, 解螺旋酶, 激酶等多种活性, 可以使RNA聚合酶 II 大亚基的C端磷酸化, 引起构象变化, 促进转录。还可以参与DNA损伤的修复。

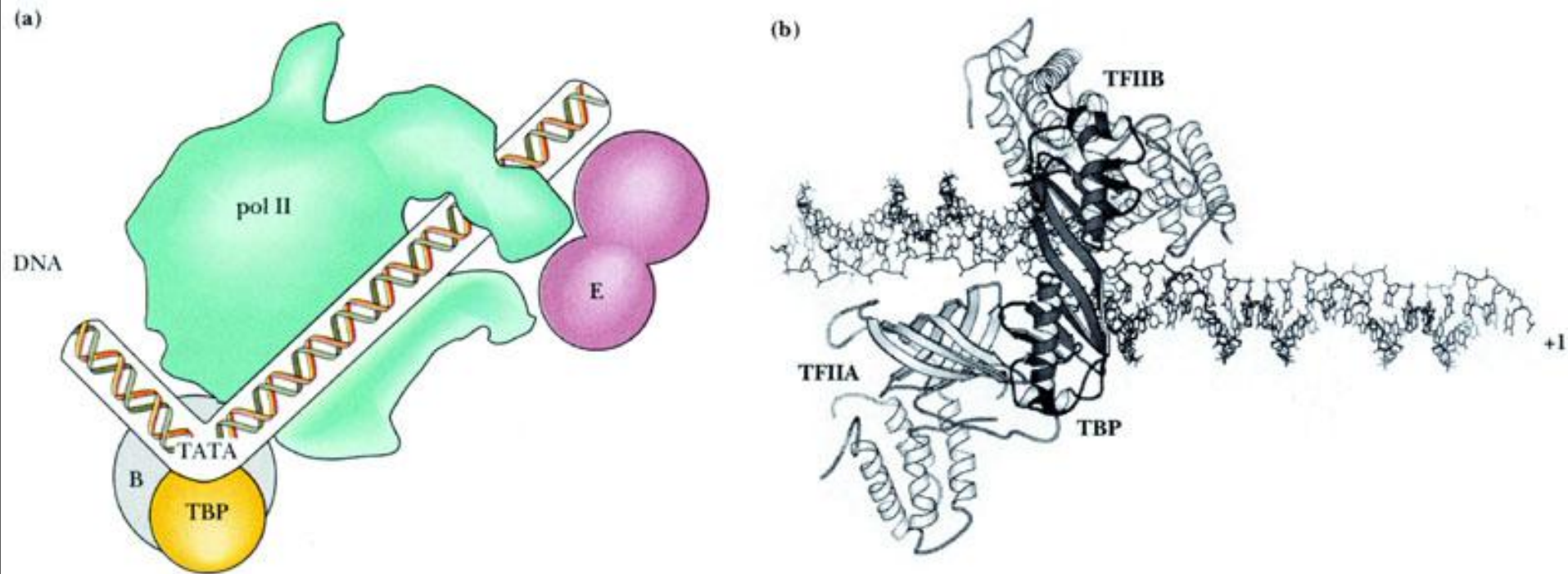


真核生物RNA聚合酶 前转录复合物

黄色为TATA box的糖磷酸骨架, 碱基对为红色, 相邻的DNA片段为蓝色, 马鞍形的TBP (绿色) 结合在DNA的小沟, 使小沟扩大, 并使DNA轴弯曲约100°, 使TATA序列解旋。TF II D杂聚体的其它组分位于TBP上方, 像骑在马鞍上的牛仔。所有真核生物的基因都依赖于TBP

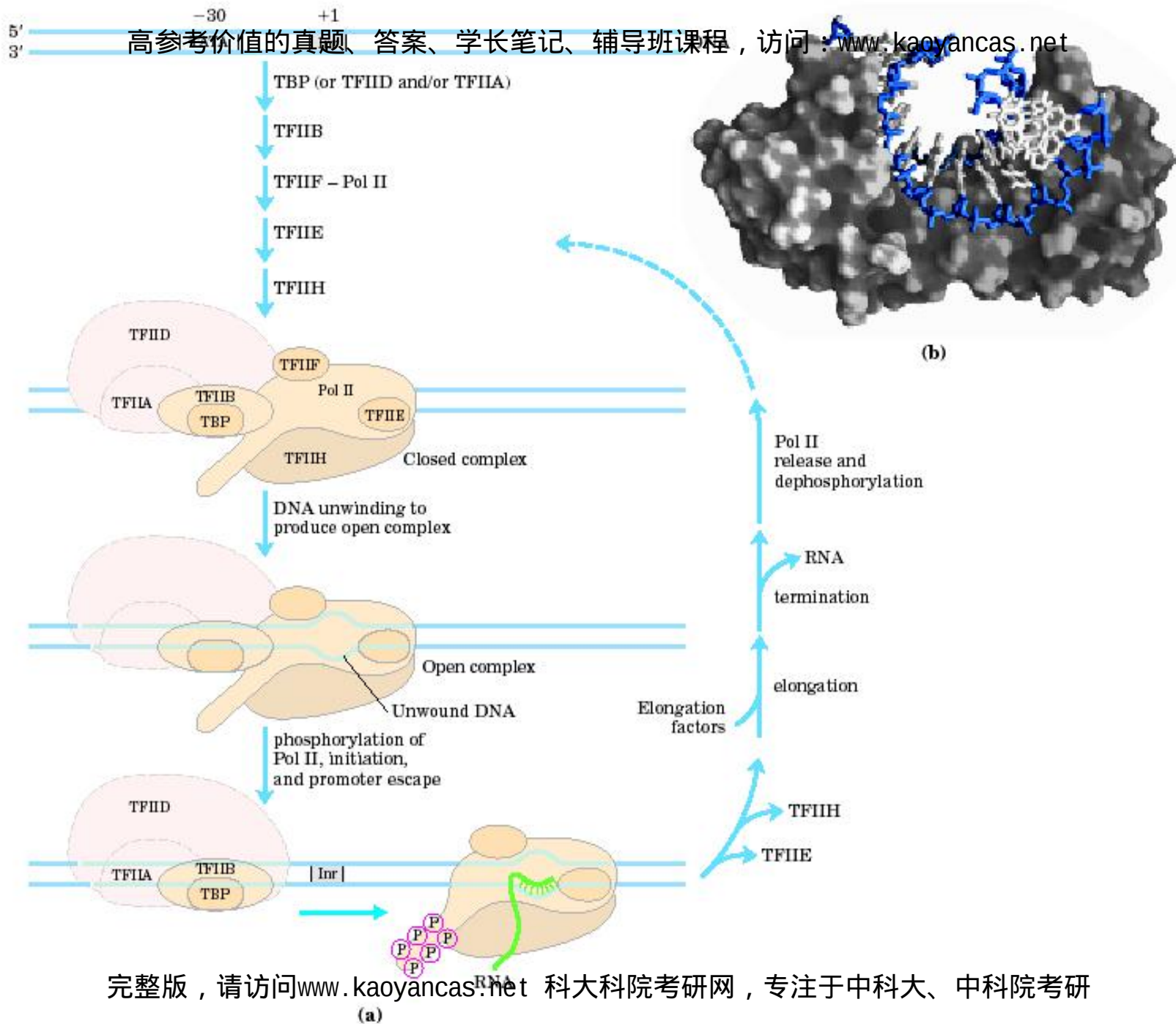


II E和 II H促进除 II F以外的其他转录因子脱落, 使转录由起始阶段进入延伸阶段



前起始复合物的结构。显示 **pol II**，**TATA box**，**TBP**，**TFII B (B)**，**TFII E (E)** 的相对位置。转录起始于 **pol II** 和 **TFII E** 环绕的区域。

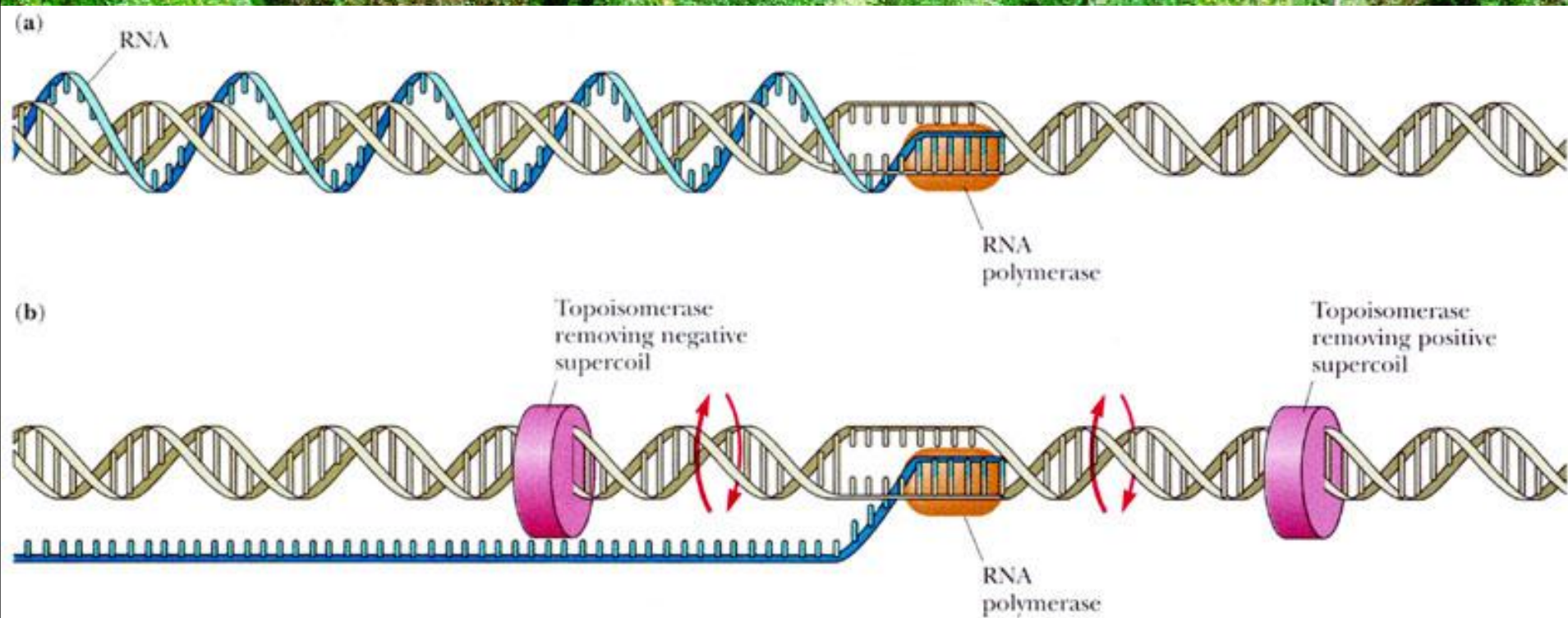
电脑构建的 **TFII A-TBP-TFII B** 复合物的结构。注意蛋白质引起的 DNA 上游和下游的错位。



RNA聚合酶 I 的核心启动子位于-45至+20，上游控制元件位于-180至-107，两部分均有富含GC的区域。转录因子**UBF1**可结合于两部分富含GC的区域，随后结合**SL1**四聚体蛋白（作用类似与原核生物的 σ 因子）。

RNA聚合酶 III 的启动子有3种类型，基因内启动子有两种，一种由boxA-中间元件-boxC组成，转录起始时，**TF IIIA**（一种锌指蛋白）结合到boxA上，然后 **TF IIIC**（至少5个亚基组成的复合物）结合，后者促进**TF IIIB**（含有TBP和另外两种蛋白质，能使RNA聚合酶正确定位）结合，并引导**RNA聚合酶**结合到起始位点上。另一种由boxA-间隔区-boxB组成，转录起始时，**TF IIIC**识别boxB，其结合区包括boxA 和boxB，然后依次引导 **TF IIIB**和**RNA聚合酶**的结合。第3类启动子位于转录起点的上游，RNA聚合酶III可以结合到其中的**TATAbox**并起始转录，但其上游的邻近序列元件（proximal sequence element, **PSE**）和**八聚体基序**（octamer motif, **OCT**）会增加转录的效率。

如果RNA缠绕在DNA双螺旋上，不会产生超螺旋，但通过这种模式解开双螺旋进行转录是不可能的。



拓扑异构酶可以解除超螺旋，使转录泡移动。

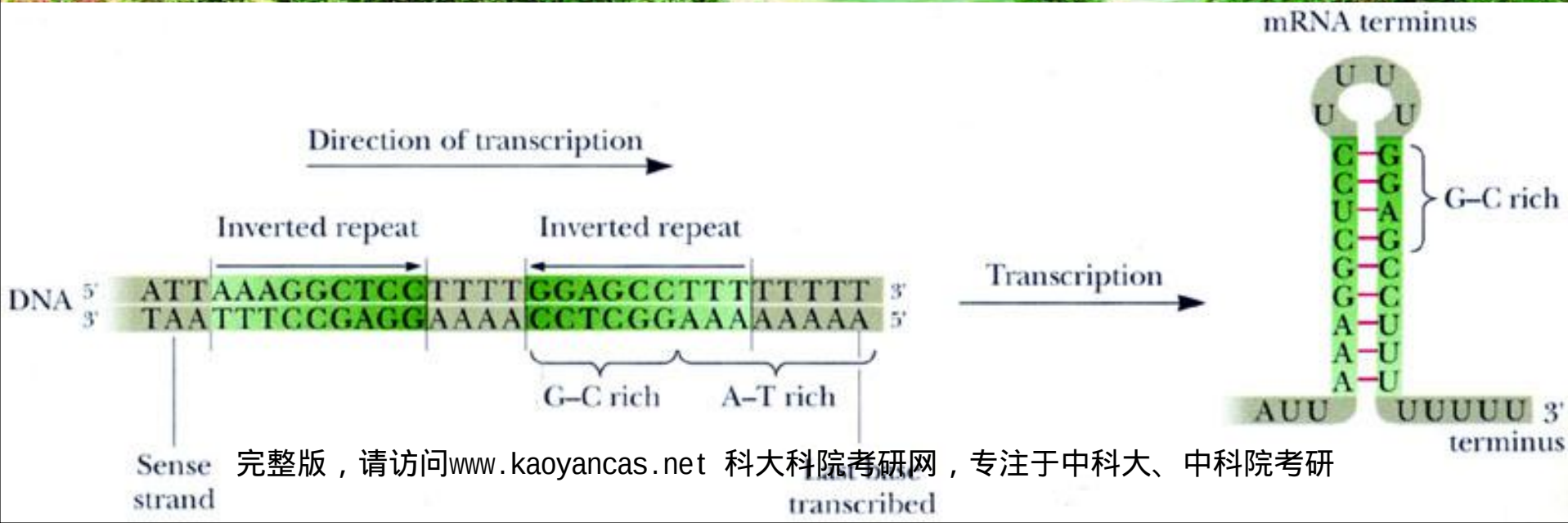
(三) 终止子和终止因子

大肠杆菌有两类终止子，**不依赖于 ρ 因子的为简单终止子**，能形成发夹区，其中常有一段富含**G-C区**，终点前有一段**寡聚U**，可能提供RNA聚合酶脱离模板的信号，同时，寡聚U容易从模板脱落。

依赖于 ρ 因子的终止子发夹区不含富G-C区，其后也无寡聚U，在细菌中少见，但在噬菌体中广泛存在。 **ρ 因子为六聚体蛋白质**，可结合在新合成的RNA链上，借助水解NTP的能量移动，RNA聚合酶遇到终止子时停止移动， **ρ 因子追上来与其结合，促进RNA聚合酶脱落，并使RNA从模板脱离。**

抗终止子可使终止子通读，促进其后的基因转录， λ 噬菌体的前早期基因的产物N蛋白是一种抗终止子，可以使终止子通读，使晚早期基因表达，晚早期基因的产物Q蛋白也是一种抗终止子，能使晚期基因得以表达。

真核生物转录的终止了解不多。



p factor

mRNA

RNA polymerase

ter site

转录的过程

(b)

(c)

(d)

识别终止子还需要NusA, NusB, NusE, NusG等因子参与，有关问题有待深入研究。

二. 转录的调节控制

(一) 原核生物转录的调节控制



François Jacob



Jacques Monod, 1910–1976

1. 操纵子的结构和调控

原核生物的不少基因在加入诱导物后mRNA迅速合成，随之酶滞后合成。当去除诱导物时mRNA的合成很快停止，但酶的合成延迟停止。

1961年 Jacob & Monod 构建部分二倍体 ($lacI^-/FlacI^+$)

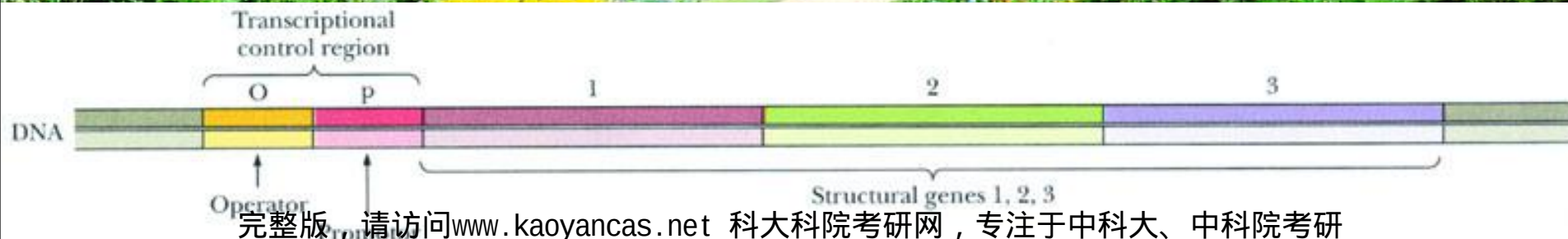
lac^s 为阻遏蛋白不可诱导性突变，其阻遏蛋白失去诱导物结合位点；

$lacI^-$ 突变的阻遏蛋白不能形成寡聚物；

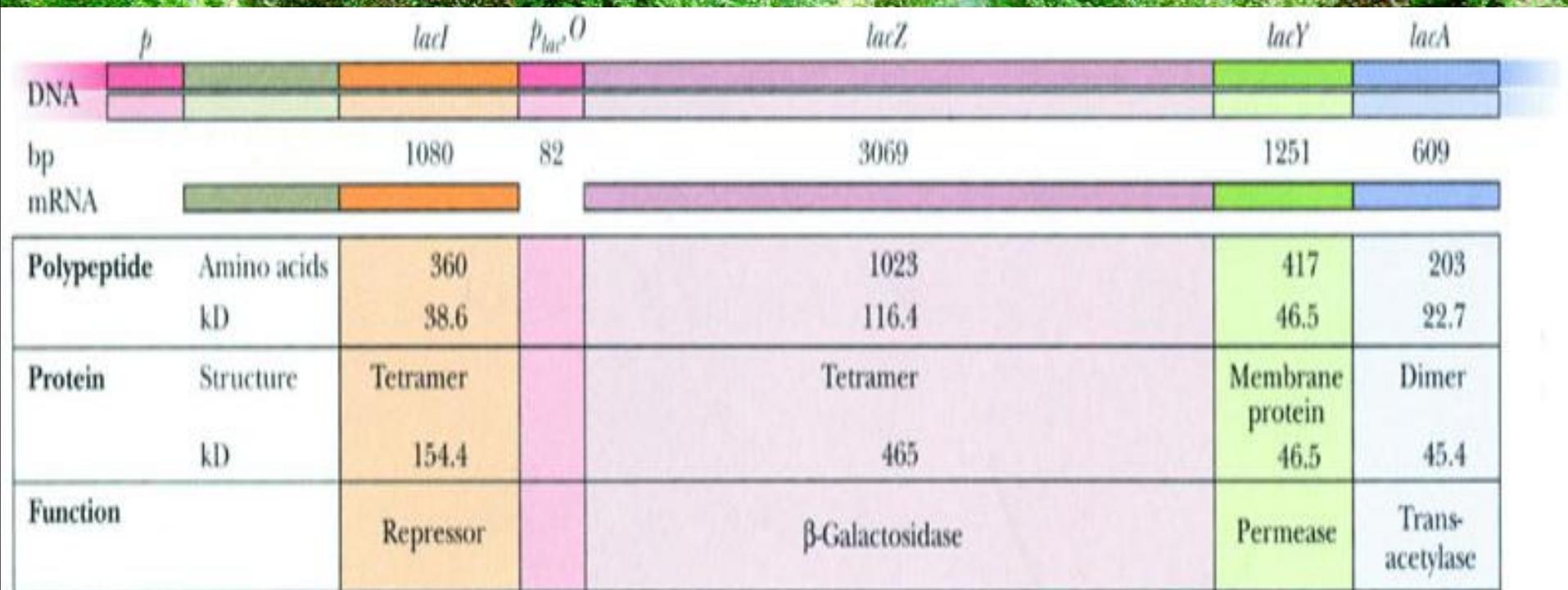
$lacI^d$ 突变的阻遏蛋白不能和DNA结合，且呈负互补 (反式显性)；

O 操纵基因的突变使结构基因组成型表达。

由此提出操纵子学说。

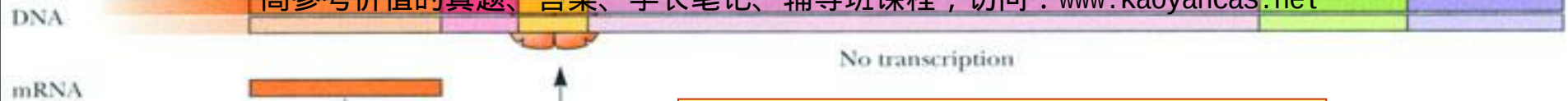


(1) 大肠杆菌乳糖操纵子的结构



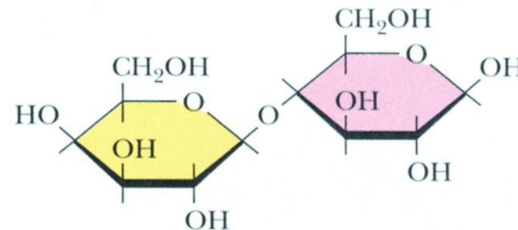
Without inducer

高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

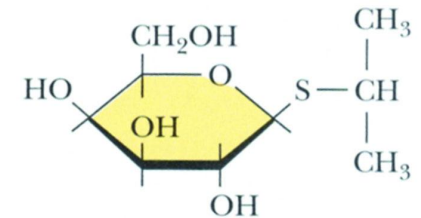


大肠杆菌乳糖操纵子的作用方式

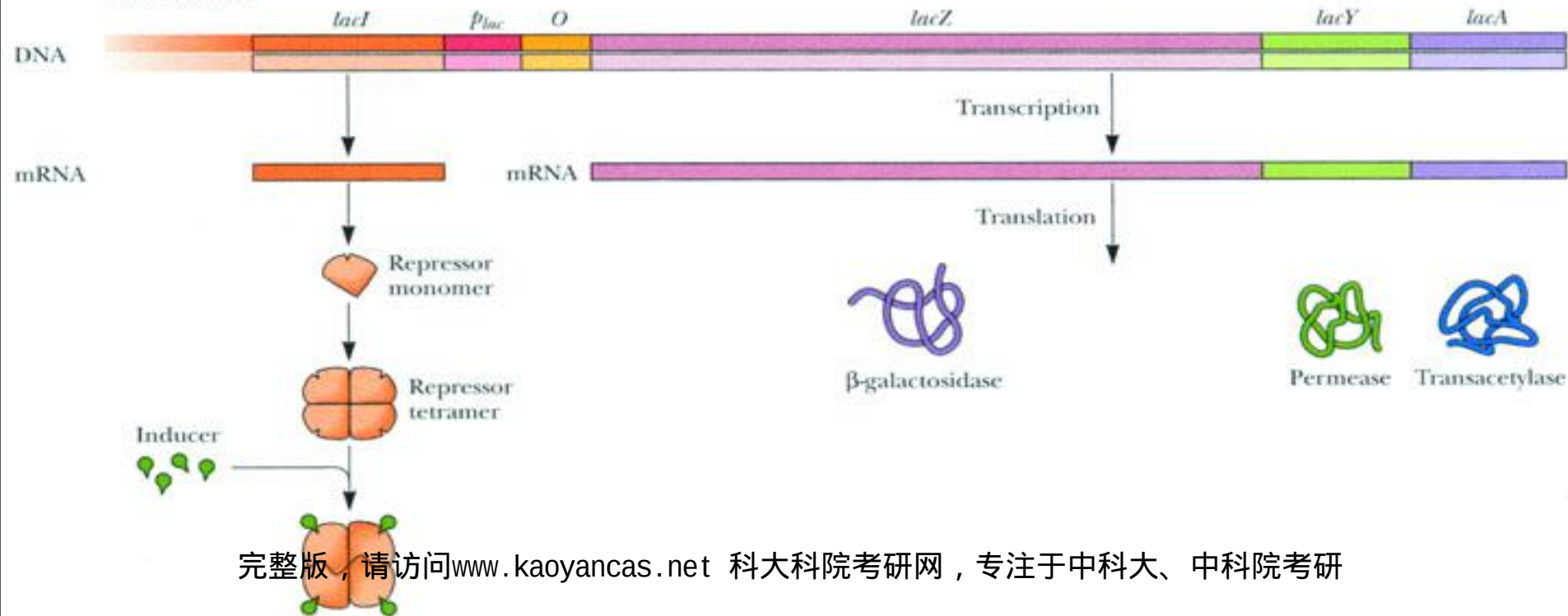
Lactose
(O- β -D-galactopyranosyl (1 $\rightarrow$ 4) β -D-glucopyranose)



Isopropyl β -thiogalactoside (IPTG)

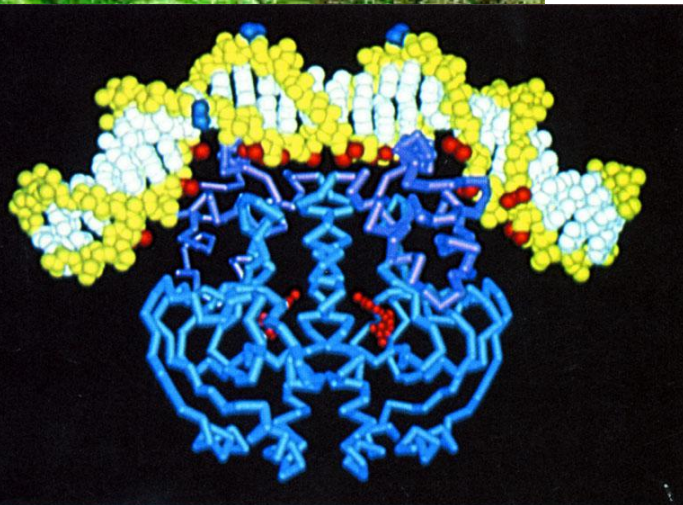


With inducer

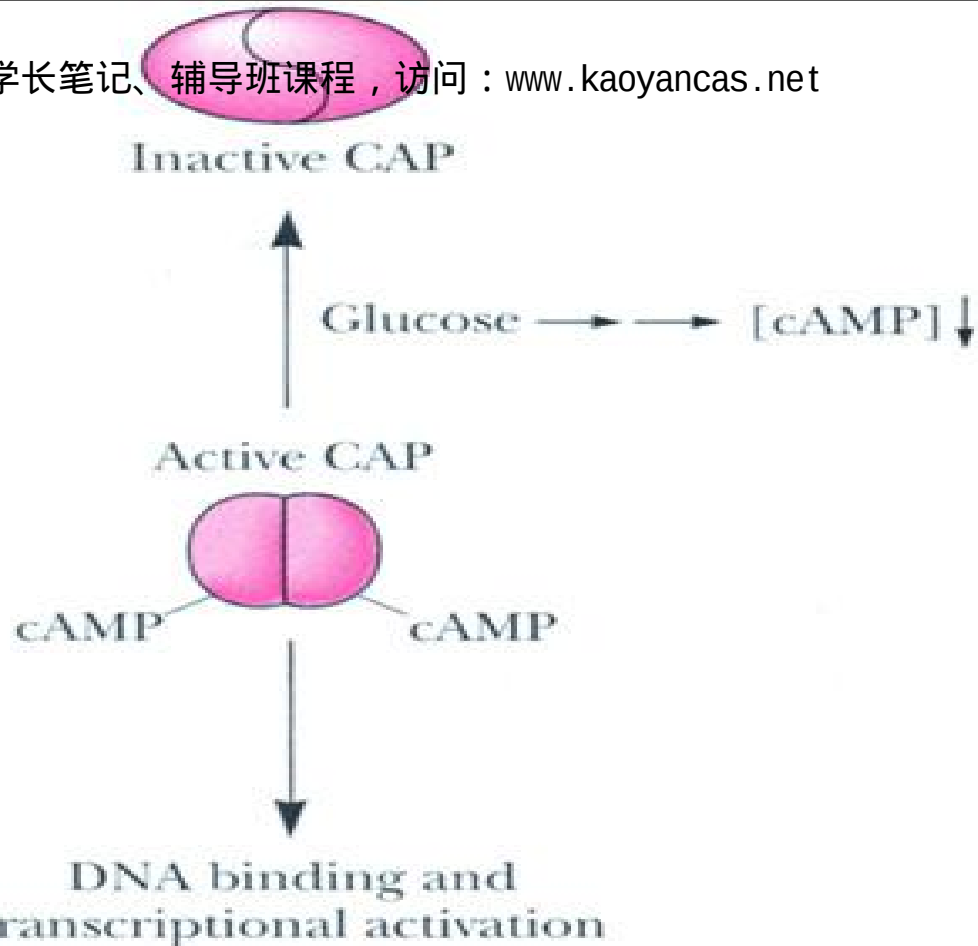


完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

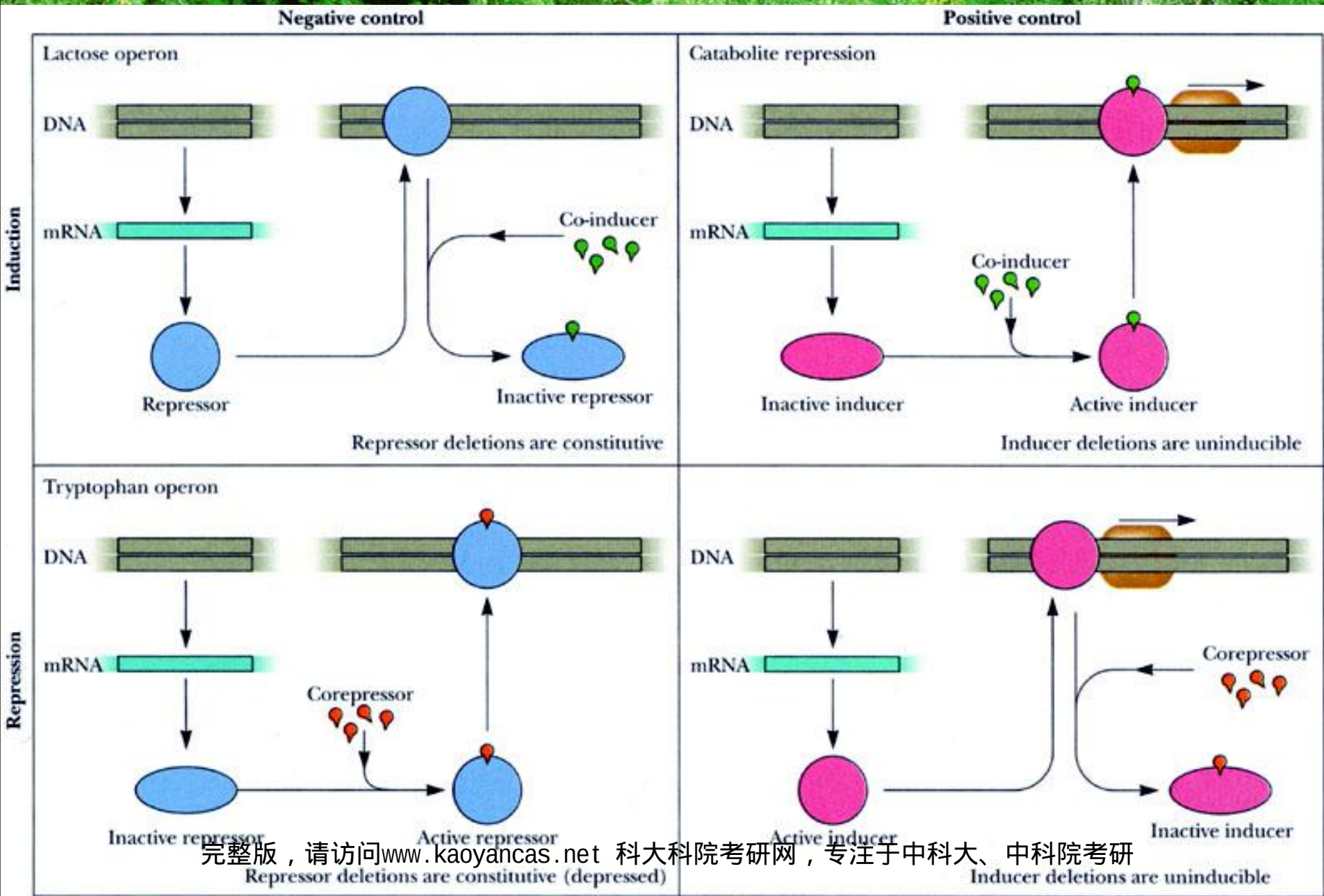
乳糖操纵子的降解物阻遏和降解物基因活化蛋白 (CAP) 的作用

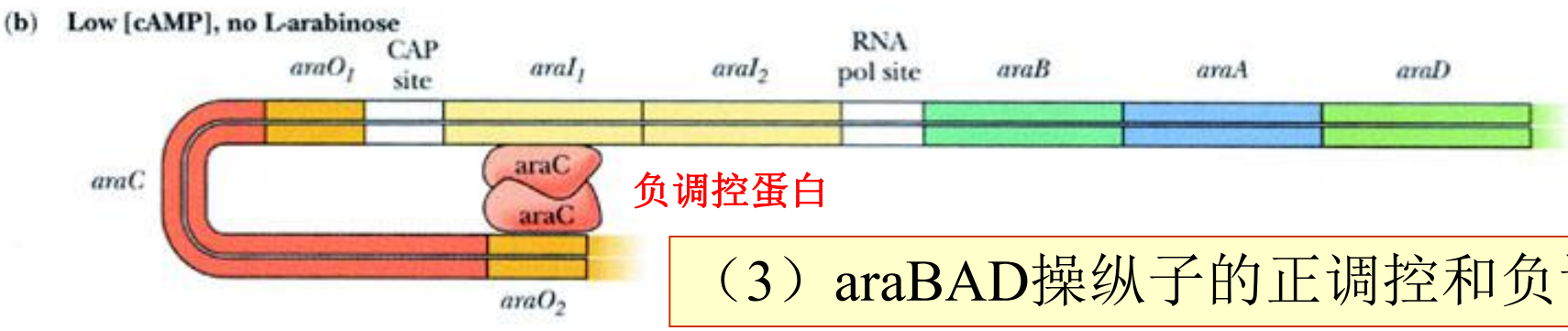
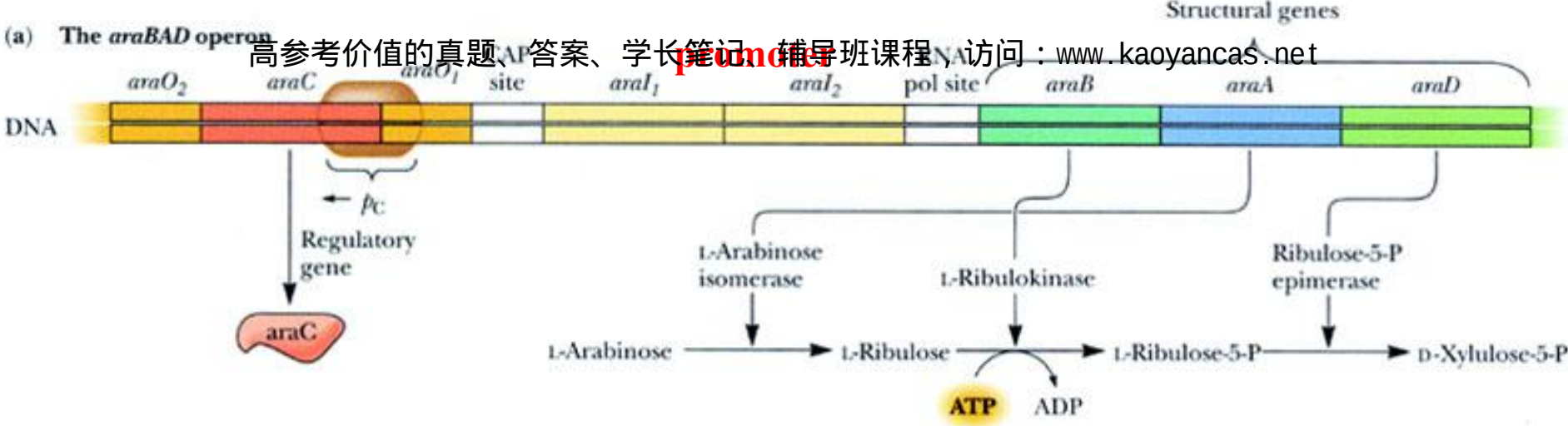


CAP二聚体与DNA的相互作用引起DNA的弯曲。红色为与CAP相互作用的磷原子，cAMP为红色。

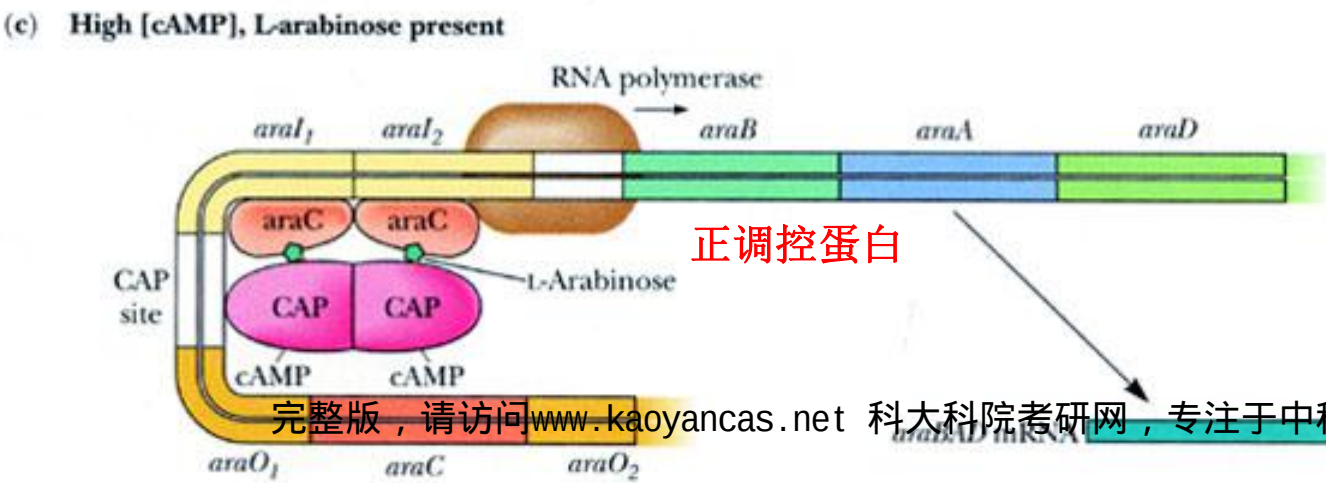


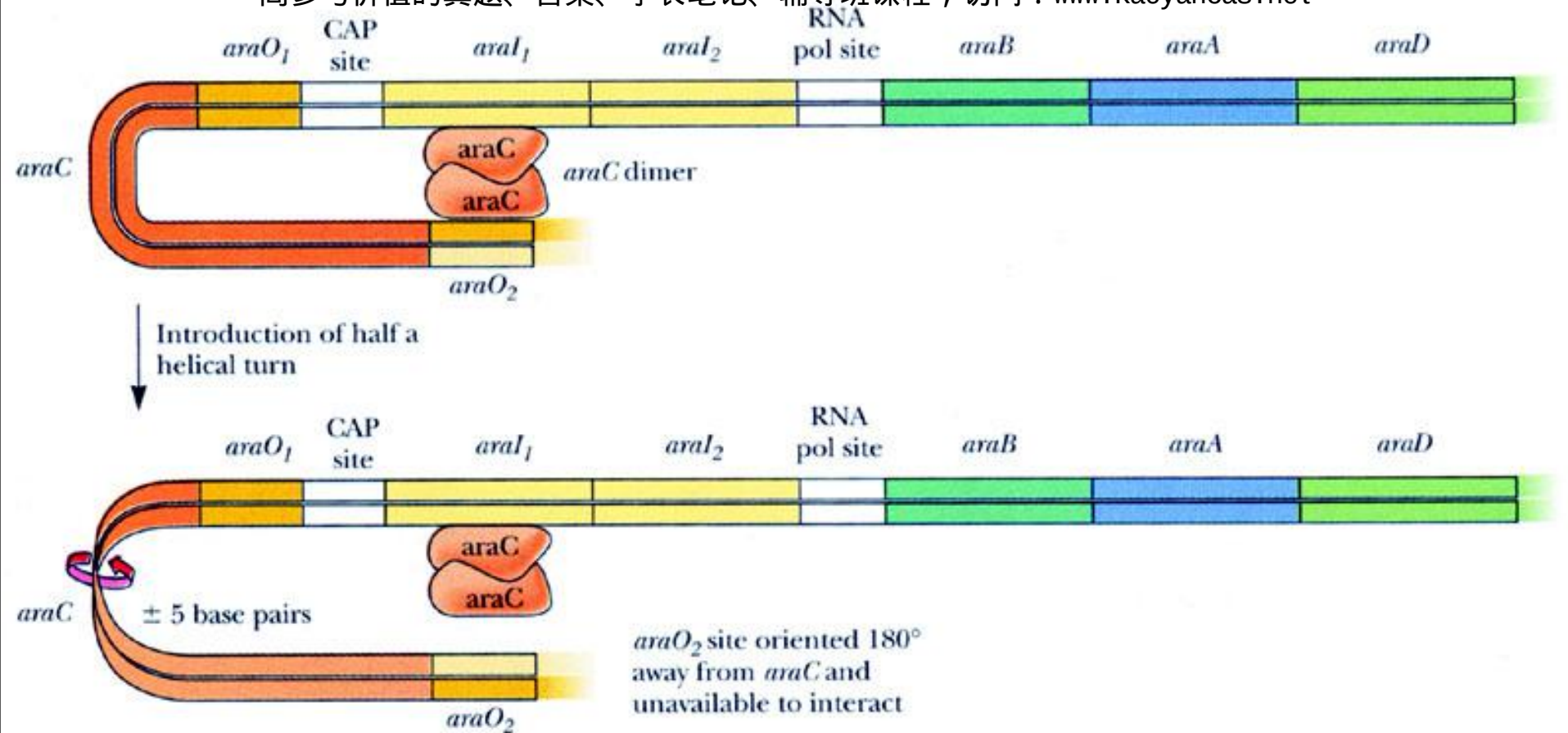
乳糖操纵子包括三个结构基因（Z、Y、A），三个调控基因（启动基因、操纵基因和CAP蛋白结合位点），以及一个调节基因。调节基因编码阻遏蛋白，阻遏蛋白与操纵基因结合可阻止RNA聚合酶对结构基因的转录。当乳糖存在时，由乳糖转化而成的别乳糖与阻遏蛋白结合，导致阻遏蛋白与操纵基因解离，诱导基因的转录。但是阻遏蛋白脱离操纵基因而解除封闭后，如果没有CAP的作用也不能启动转录。细胞内葡萄糖缺乏、cAMP水平升高时，cAMP与CAP结合形成复合物，并与CAP结合位点结合，可促进RNA聚合酶与启动基因结合并启动转录。所以，乳糖操纵子的诱导作用既需要乳糖的存在又需要葡萄糖的缺乏。当操纵基因突变后，阻遏蛋白即不能与操纵基因结合，结构基因会组成性表达。





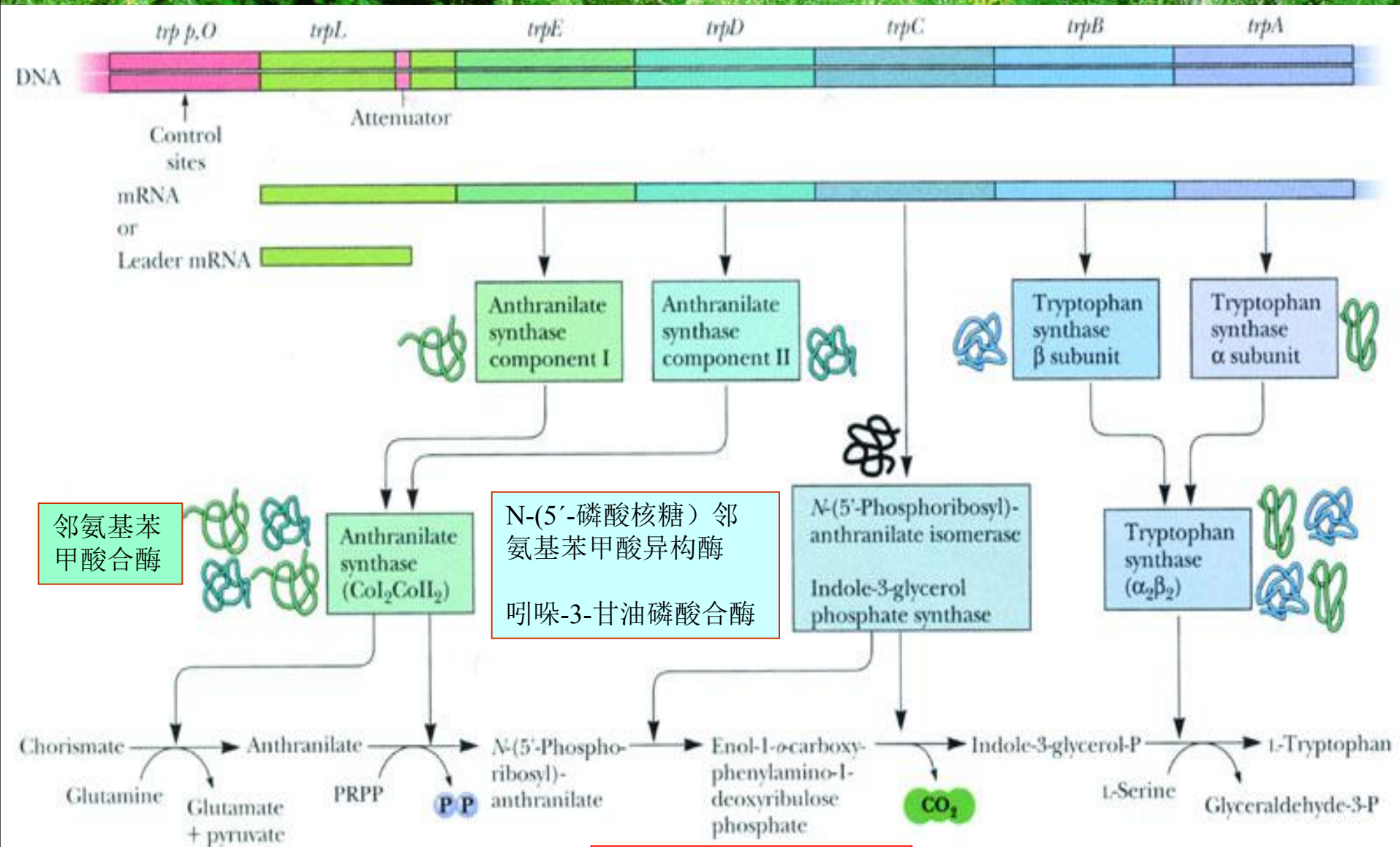
(3) *araBAD*操纵子的正调控和负调控





araBAD操纵子的作用机制

(4) 大肠杆菌的色氨酸操纵子、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net



烯醇式-L- (O-羧基苯氨
酸) L-吲哚-3-磷酸

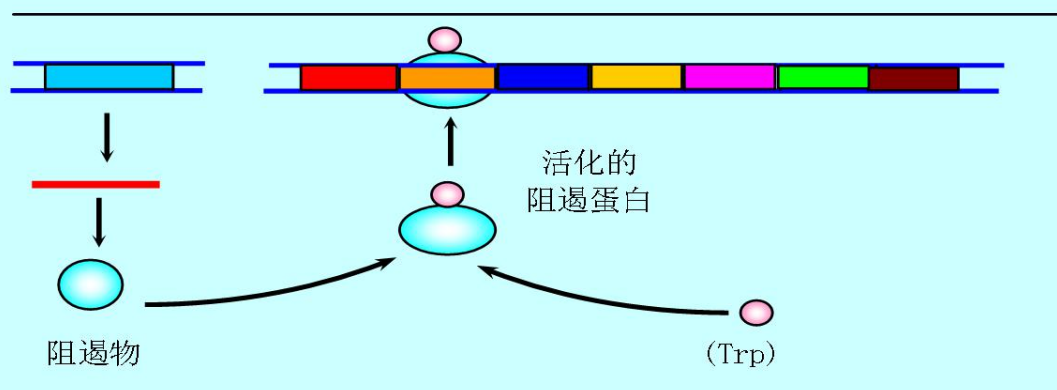
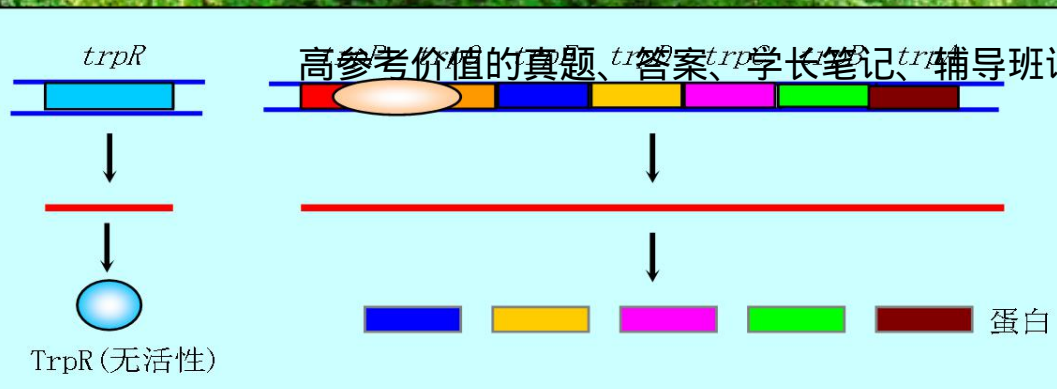


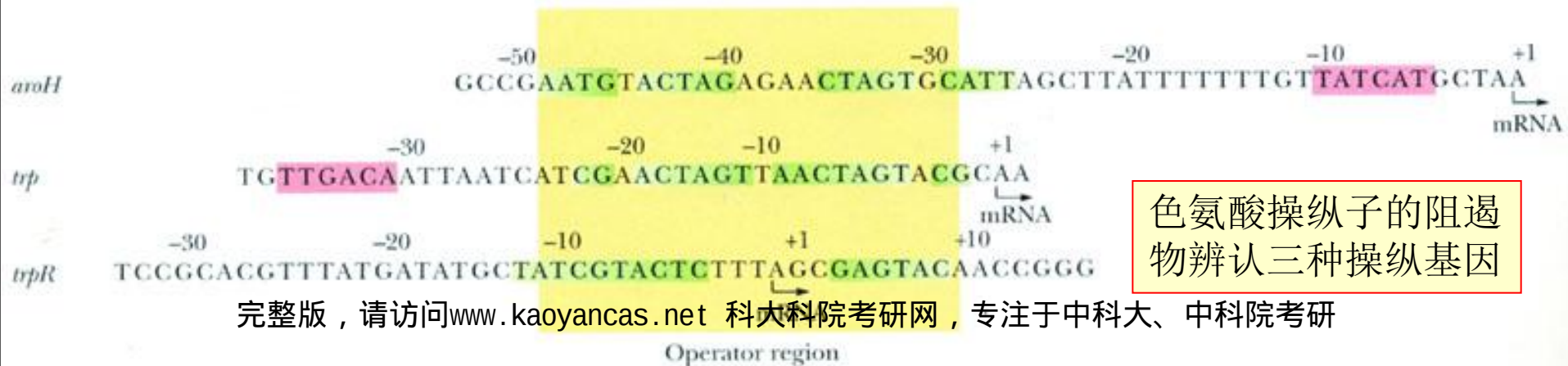
图 16-27 TrpR 被 Trp 激活后可阻遏 *trp* 操纵子的转录
(仿 B.Lewin: 《GENES》IV, 1990, Fig .13.16)

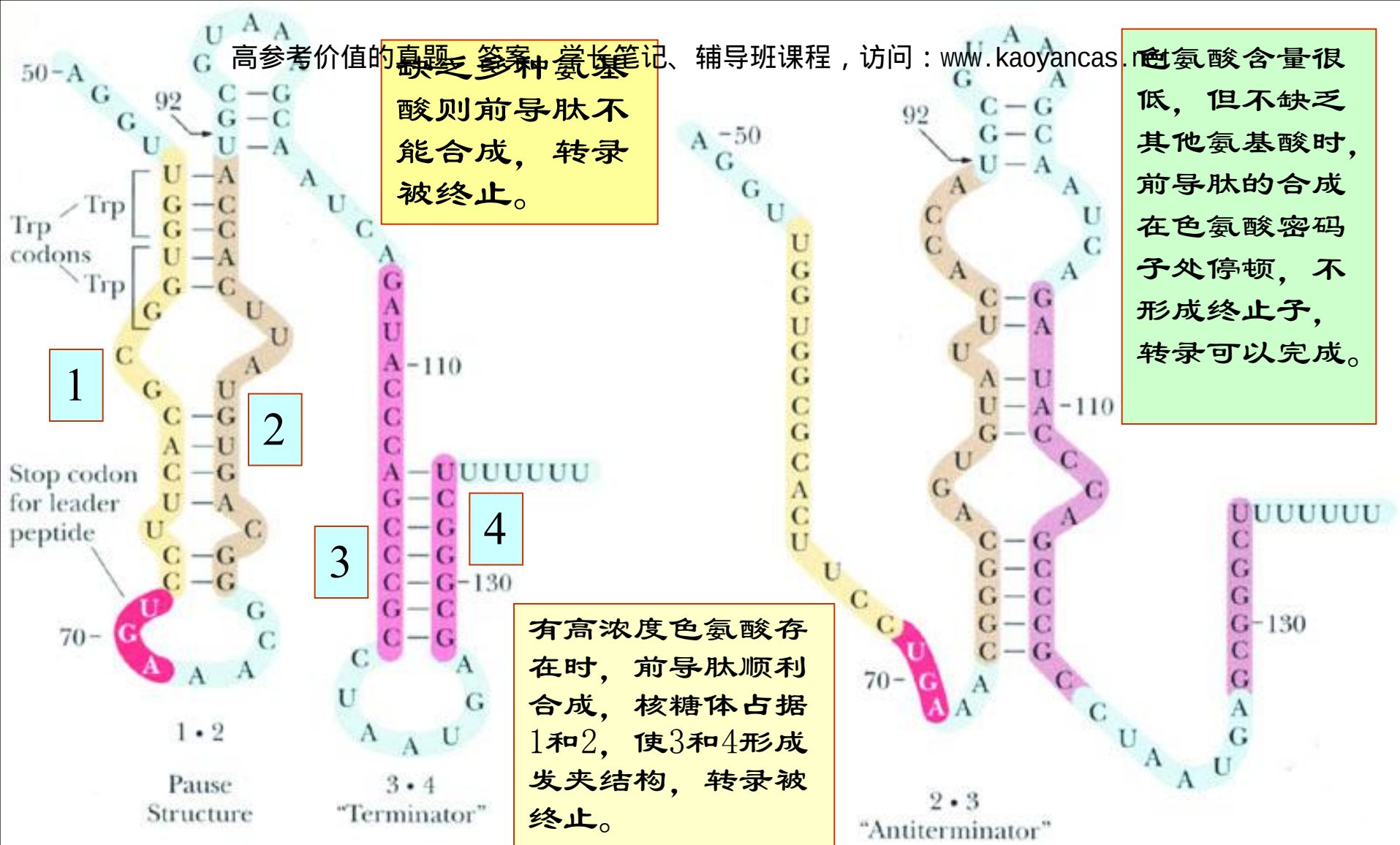
特点：www.kaoyancas.net

- (1) *trpR*(89')和*trpABCDE*(25')不连锁；
- (2) 操纵基因在启动子内
- (3) 有衰减子(attenuator)
- (4) 启动子和结构基因不直接相连，二者被前导顺序(Leader)所隔开。

调节：

- (1) Trp为辅阻遏物(corepressor)
- (2) 阻遏物和RNA pol 在P₀重叠区产生竞争性抑制；
- (3) 阻遏物的阻遏能力低，是LacR的1/1000；
- (4) *trpO*调节合成代谢，存在衰减作用。

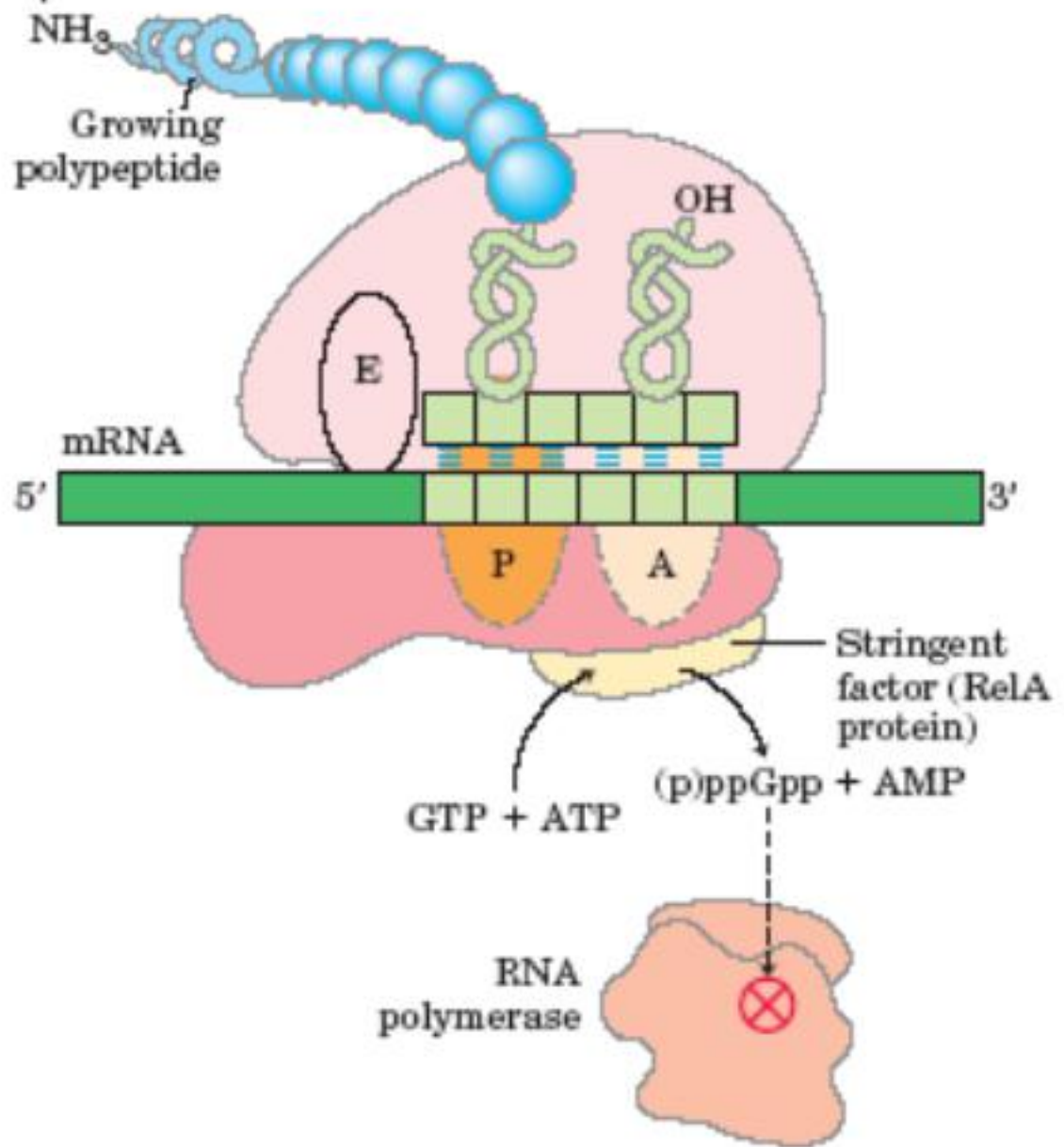




色氨酸操纵子转录本前导区二级结构的变换

2.生长速度的调控

营养丰富，温度适宜时，细菌的生长速度可以很快，在两个细胞尚未分裂的情况下，新一代的DNA已经开始合成，大肠杆菌的倍增时间为25分钟时，平均每个细胞的DNA分子为4.5个，核糖体的数目也很多。当营养严重缺乏时，细菌进入**严紧控制状态**，氨基酸的缺乏使细菌合成ppGpp或pppGpp，这一信号使细菌的大部分蛋白质合成停止，只合成对生存必不可少的少量蛋白质。



3. 基因表达的时序调控

λ 噬菌体基因表达的时序调控研究较深入，其50个基因组成4个操纵子，即阻遏蛋白操纵子，左右两个早期操纵子和晚期操纵子，左向转录的为L链，右向转录的为R链，当 λ 噬菌体侵入宿主细胞后，**前早期和后早期的基因首先表达**，随后，**若晚期基因表达**，噬菌体进入裂解循环，**若合成阻遏蛋白**，则**进入溶原状态**。右早期操纵子的调节基因cro可抑制溶原型阻遏蛋白cI的合成，使噬菌体进入裂解循环，左早期操纵子的**调节基因N**的表达产物为**抗终止子**，使前早期基因的转录越过终止信号进入后早期基因，后早期基因包括左右早期操纵子的3个调节基因，cII/cIII与建立溶原状态的阻遏蛋白的合成有关，**Q调节基因**的产物亦为**抗终止子**，使晚期基因表达，噬菌体进入裂解循环。

基因表达的时序调控是**发育生物学**的基础。

(二) 真核生物转录的调节控制

1. 顺式作用元件：

指可影响自身基因表达活性的DNA序列，包括：**核心启动子**，如 TATA 框；**上游启动子**，如 CAAT框, GC框；**远上游顺序**，如增强子，衰减子、静息子，酵母的UAS (upstream activator sequences) 等；特殊细胞中的启动子成分，如淋巴细胞中的Oct(octamer) 和 κ B。

2. 反式作用因子：

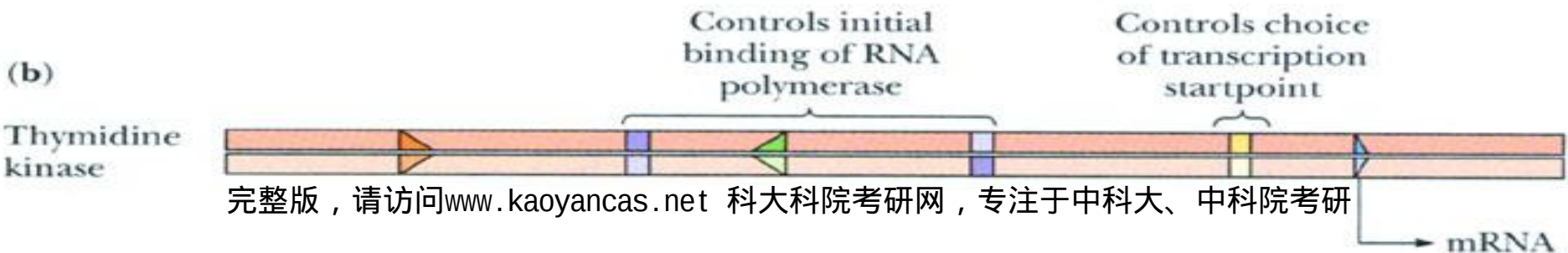
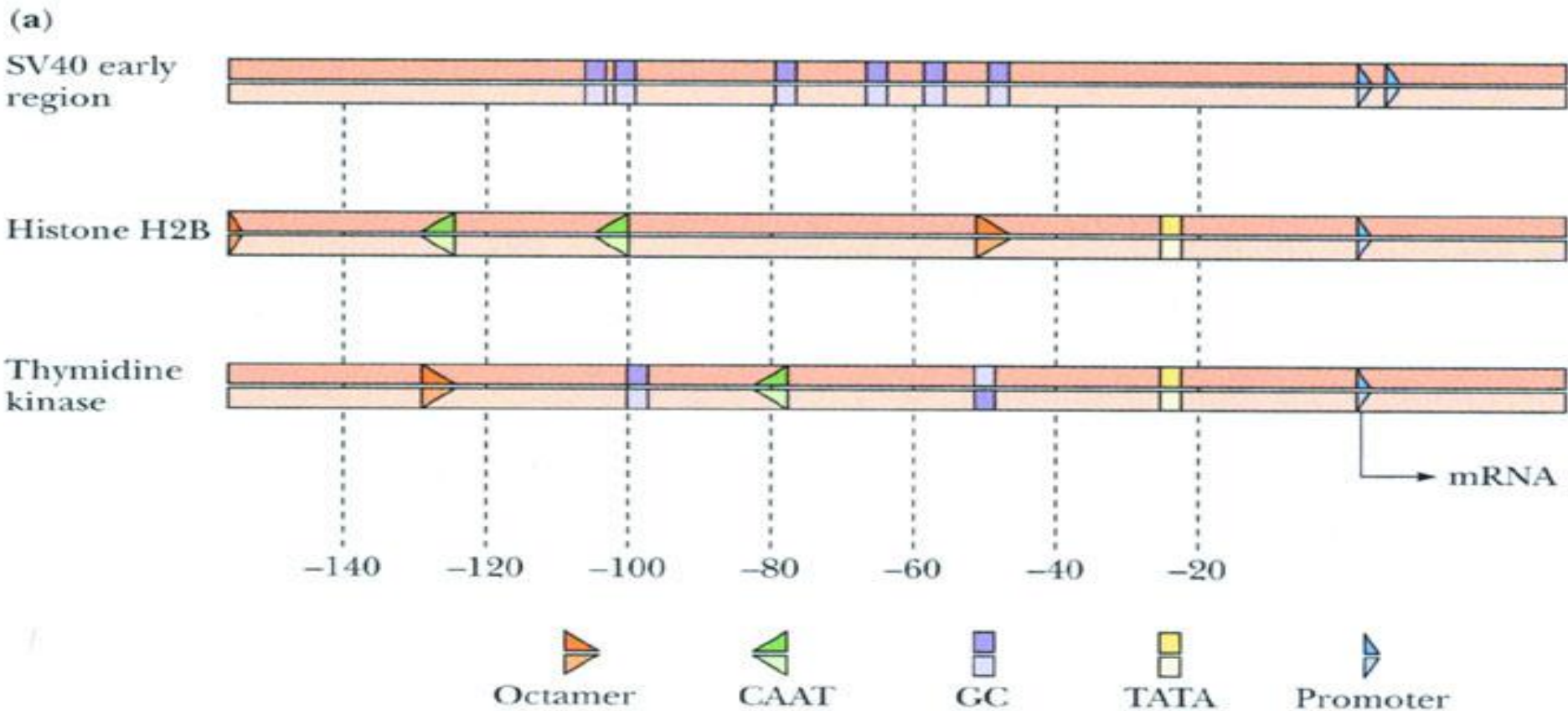
转录调节因子由某一基因表达后，通过与特异的顺式作用元件相互作用 (DNA-蛋白质相互作用)，或通过与其它调节因子的相互作用 (蛋白质-蛋白质相互作用)，反式激活另一基因的转录，可以分为3类；

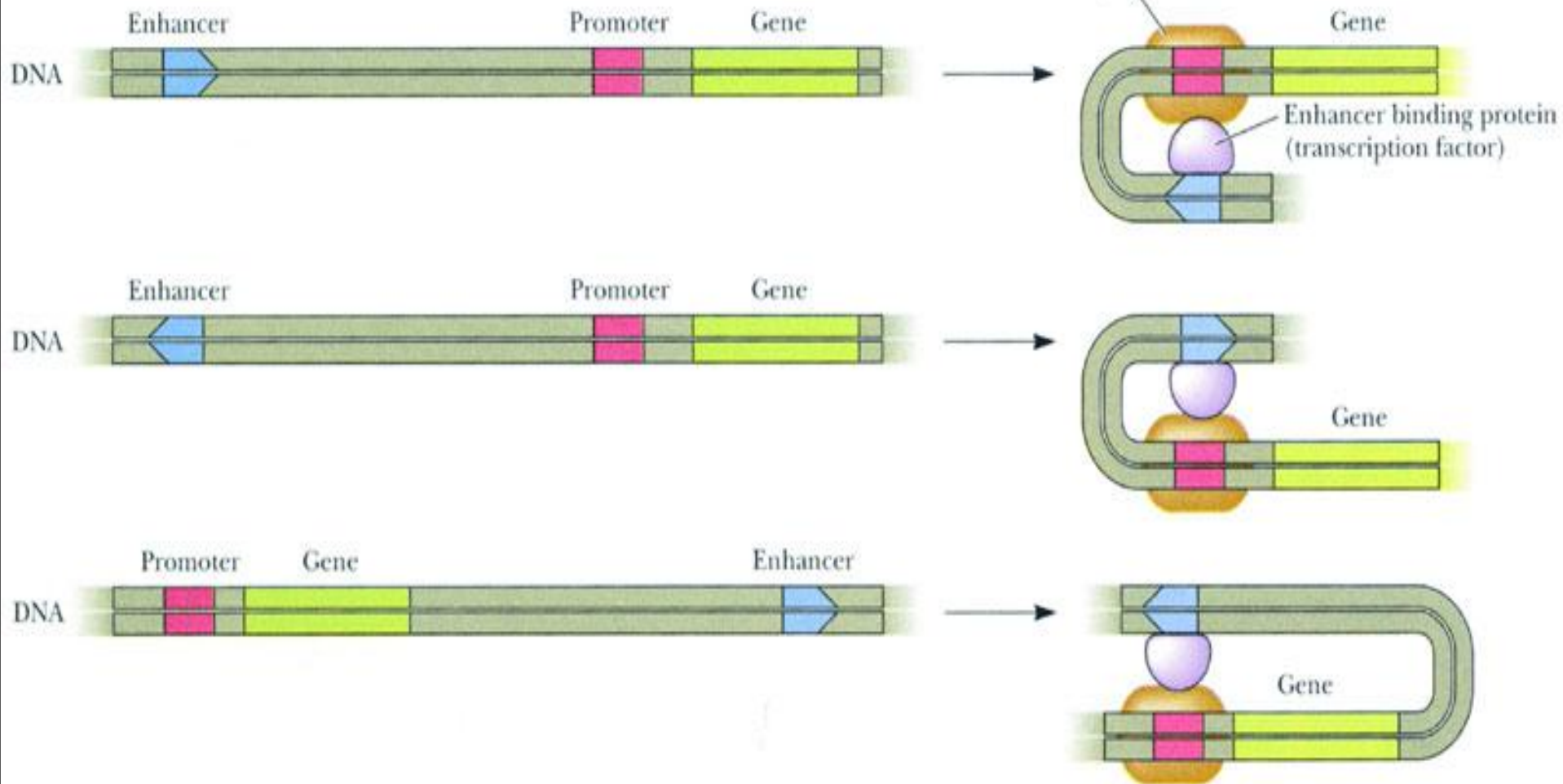
通用反式作用因子，主要识别启动子的核心启动成分，如TBP；

特殊细胞的反式作用因子，如淋巴细胞中的Oct-2；

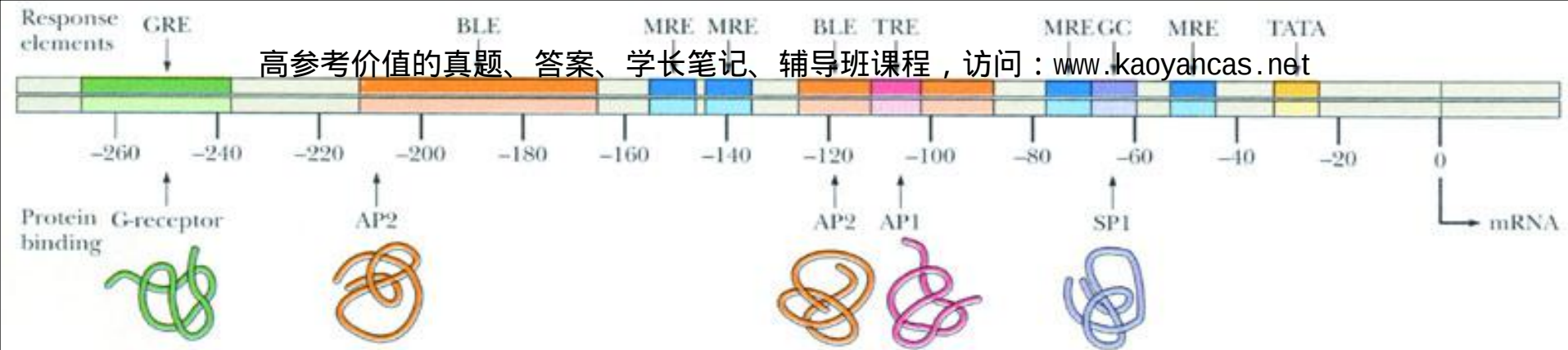
同反应性元件 (response elements) 结合的反式作用因子，如HSE (热休克反应元件, heat shock response element)，GRE (糖皮质激素反应元件 glucocorticoid response element)；MRE (金属反应元件, metal response element)；TRE (肿瘤诱导剂反应元件, tumorigenic agent response element)。

完整版，请访问www.kaoyancas.net 中科院考研网，专注于中科大、中科院考研

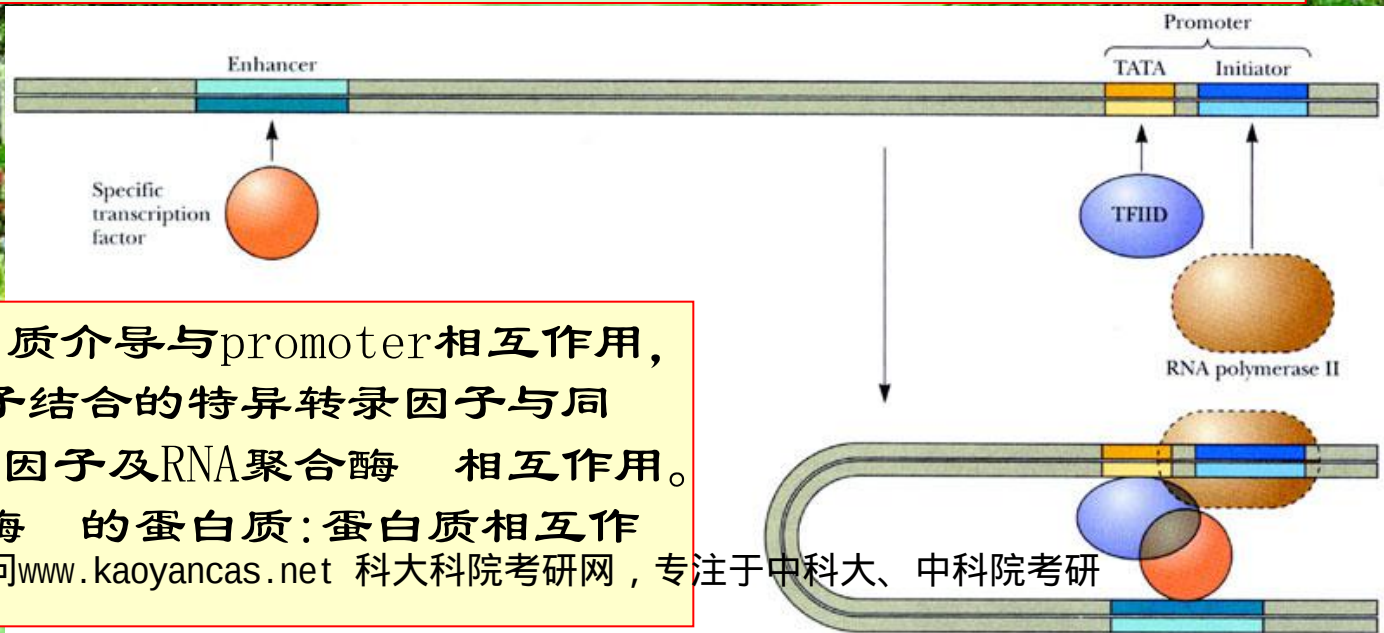




真核生物的promoter与增强子的距离和方向差别很大，转录因子与增强子结合促进其与promoter靠近，并促进基因的表达。



金属硫蛋白的promoter由多个元件构成，特异应答元件如MREs（金属应答元件）和GRE（糖皮质激素应答元件）。BLEs元件（基础水平元件）与基础表达（组成性表达）有关，TRE 是一个肿瘤应答元件，可以被促肿瘤佛波脂如TPA(tetradecanoyl phorbol acetate, 四癸基佛波乙酸脂)活化。AP为反式作用因子。

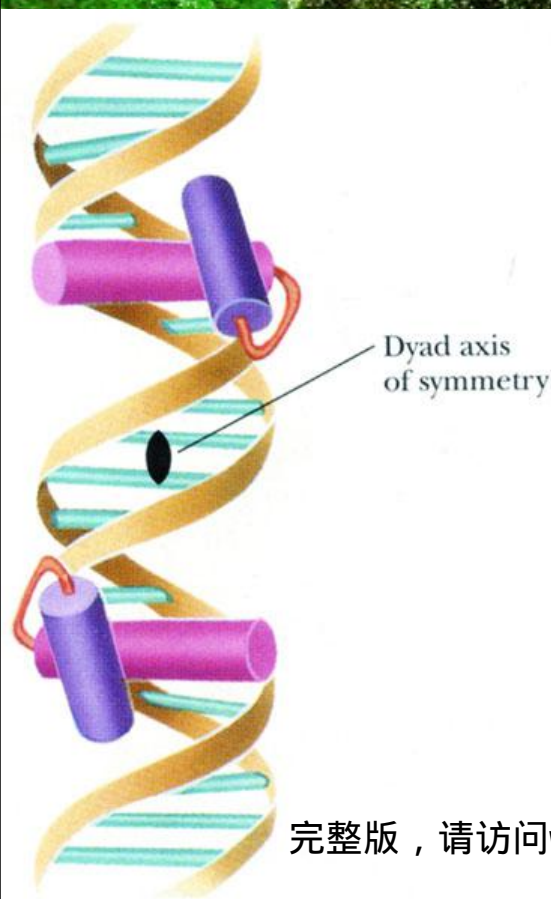


增强子通过蛋白质介导与promoter相互作用，形成的DNA环使增强子结合的特异转录因子与同promoter结合的转录因子及RNA聚合酶 相互作用。转录因子与RNA聚合酶 的蛋白质:蛋白质相互作用活化基因的转录。

完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

4. DNA结合蛋白的识别结构

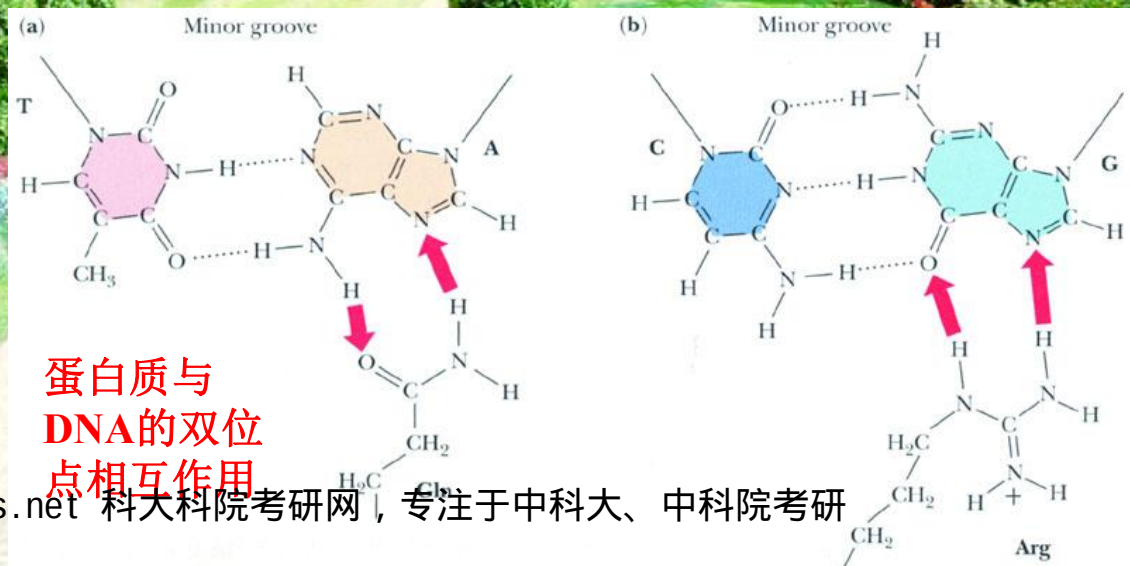
(1) 螺旋-转角-螺旋
基序二聚体与DNA的二重对
称位点结合，辨认螺旋(红
色)与DNA的大沟结合，另一
个螺旋(紫色)帮助辨认螺旋
锁定在特定的位置。



学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net



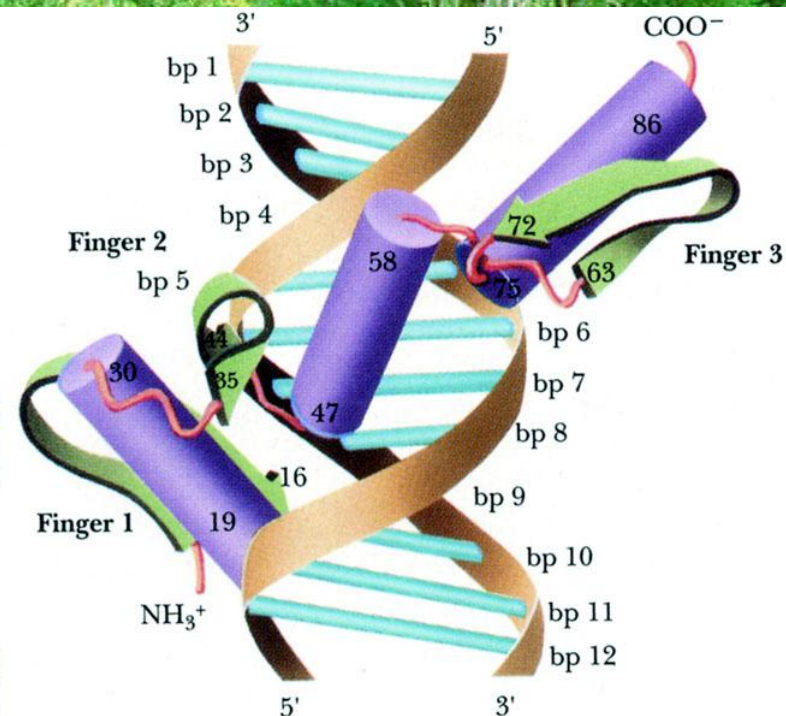
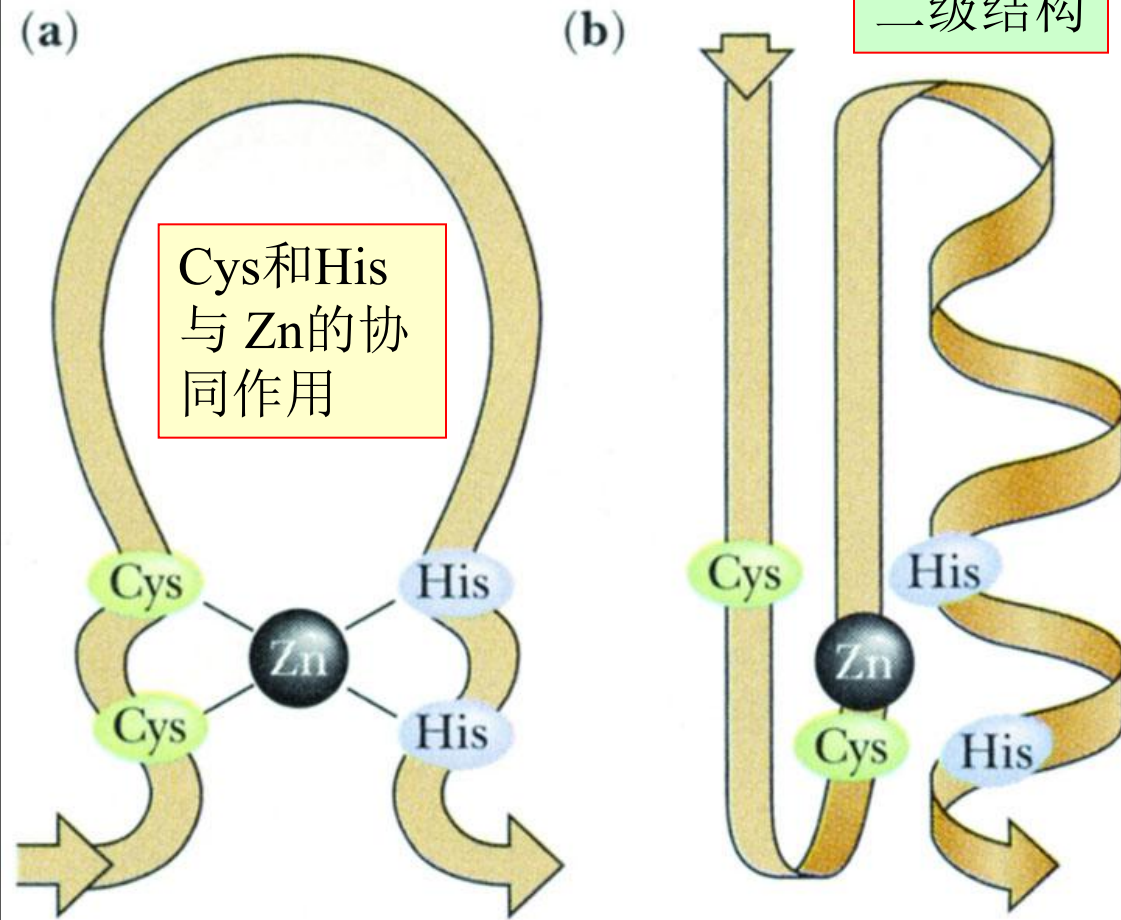
几种蛋白质中的螺旋-转角-螺旋基序



蛋白质与DNA的双位点相互作用

完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

二级结构

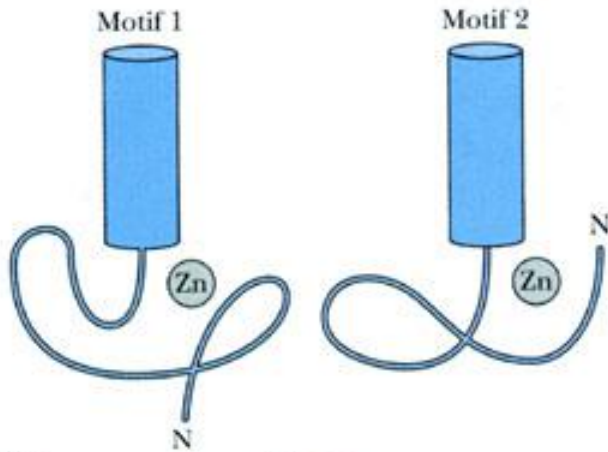


(2) Zn-指C2H2基序与DNA的相互作用。3个Zn-指基序与DNA半个螺旋的大沟结合，Zn-指的螺旋指向大沟，与大沟的碱基对相互作用。

Zn-指基序

Cx家族Zn-指蛋白质的特征

(a)



C₄ + C₅ (estrogen receptor)

Motif 1 K E T R Y **C** A V **C** N D Y A S G Y H Y G V W S **C** E G **C** K A F F R R S I Q

Motif 2 G H N D Y M **C** P A T N Q **C** T I D K N R R K S **C** Q A **C** R L R K **C** Y E V G M M

雌激素受体的DNA结合基序，
其二级结构无 β -片层结构。

(b)



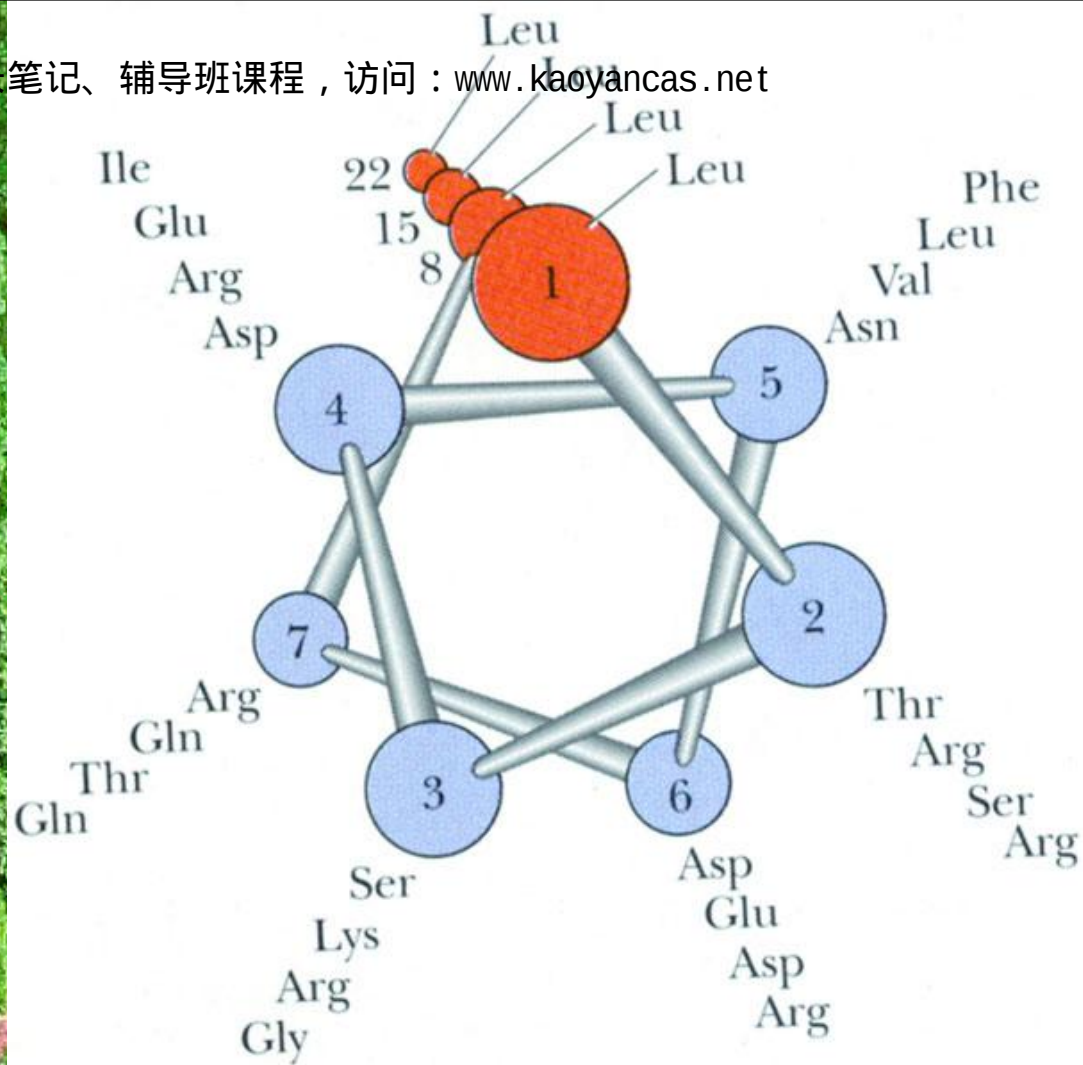
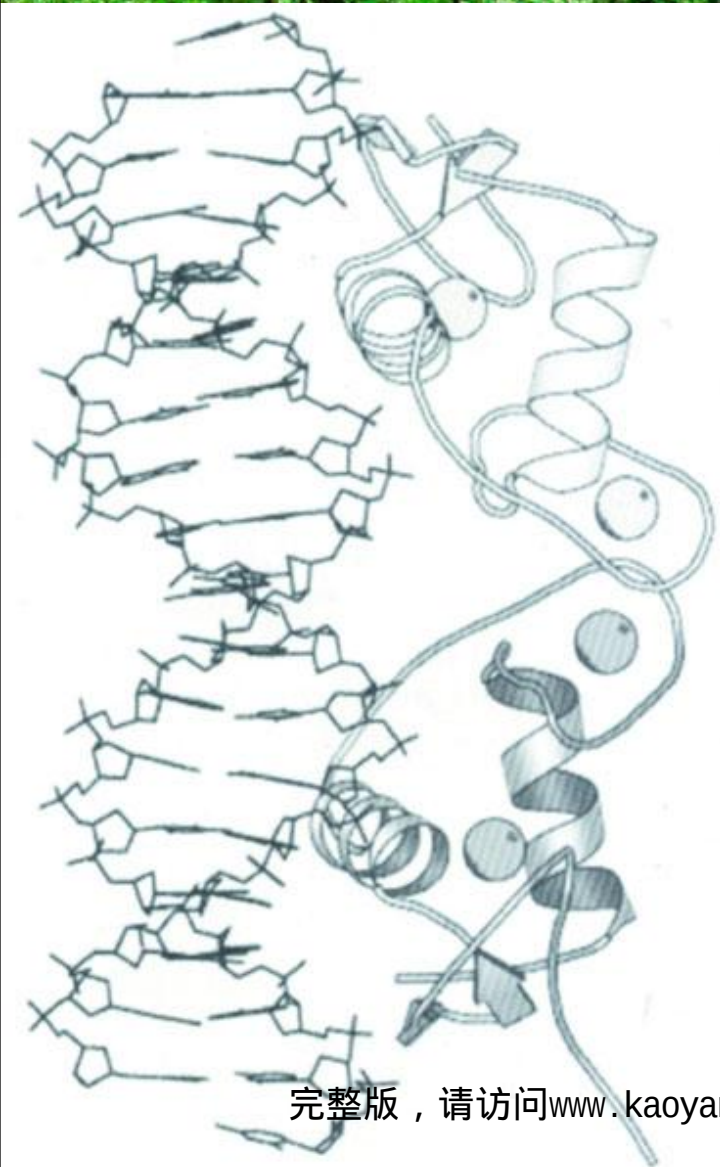
Cx类雌激素受体有
多个锌指结构域



Receptors:

Estrogen	MKETRYCAVCNDYASGYHYGVWSCEGCKAFFKRSIQGHNDYMCPATNQCTIDKNRRKS
Glucocorticoid	CLVCSDEASGCHYGVLTCGSCKVFFKRAVEGQHNYLCAGRNDCIIDKIRRKNC
Thyroid hormone	CVVCGDKATGYHYRCITCEGCKGFFRRTIQKN^SYSCKYEGKCVIDKVTRNQCCQECRFKKCIYVGM
Progesterone	CLICGDEASGCHYGVLTCGSCKVFFKRAMEGQHNYLCAGRNDCIVDKIRRKNC
Vitamin D	完整版本, 请访问 www.kaoyancas.net 科大科院考研网, 专注于中科大、中科院考研
Retinoic acid	CFVCQDKSSGYHYGVSA

雌激素受体的结构、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net
合结构域与DNA辨认
元件的相互作用。



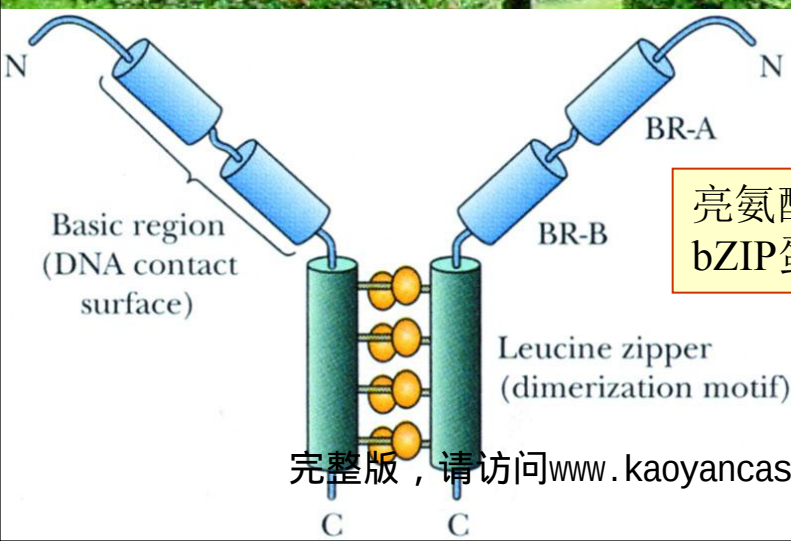
(3) 亮氨酸拉链C/EBP*的C-末端螺旋结构，Leu处于螺旋的一侧。

*即CCAAT and Enhancer Binding Protein, 从小鼠肝脏提取的一种耐热的DNA结合蛋白。

完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研。

Protein	Basic region	Basic region	Leucine zipper	
高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问： www.kaoyancas.net				
C/EBP	278-DKNSNEYRVRRRERN	NI AVRKSHDKAKQRNVET	QQKVLELTSDNDRLLRKRVEQLSRELDTLRG-341	
Jun	257-SQERIKAEKRMRNR	IAASKCHKRKLRIARLEE	KVKTLKAQNSELASTANMLTEQVAQLKO-320	
Fos	233-EERRRIRRI	RRERNKMAAAKCRNRR	RELTDTLQAETDQLEDKKSALQTEIANLLKEKEKLEF-296	
GCN4	221-PES	SDPAALKRARNT	EAARRSRARKLQRMKOLEDKVEELLSKNYHLENEVARLKKLVGER-COOH	
YAP1	60-DLDPETKQKRT	AQNRAAQRAFHERKER	KMKELEKKVQSLES	IQQQNEVEATFLRDQLITLVN-123
CREB	279-EEAARKREVRLMKN	REAARECRRKKKEYVK	CLENRVAVLENQNKT	LIEELKALKDLYCHKSD-342
Cys-3	95-ASRLAAEEDKRKR	NTAASARFRIKKKQRE	QALEKSAKEMSEKVTQ	LEGRIQALETENKYLKG-148
CPC1	211-EDP	SDVVAMKRARNT	LAARKSBERKAQRLEE	LEAKIEELIAERDRYKNLALAHGASTE-COOH
HBPI	176-WDERELKKQKRL	SNRESARRSRLRKQAE	CEELGQRAEALKSENS	SLRIELDRIKKEYEELLS-239
TGA1	68-SKPVEKVLRR	LAQRNEAARKSRLRK	KAYVQQLENSKLKLI	QLEQELERARKQGMCVGGGVDA-131
Opaque2	223-MPTEERVVRKR	KESNRESARRSRYR	KAAHLKELEDQVAQL	KAENSCLLRRIAALNQKYNDANV-286
Consensus	-----BB-BN--AA-B-R-BB-----L ^E _Q -----L-----L-----L-----L--			

11种特异性结合蛋白碱性区和亮氨酸拉链区序列的比较



亮氨酸拉链二聚体
bZIP蛋白质的结构

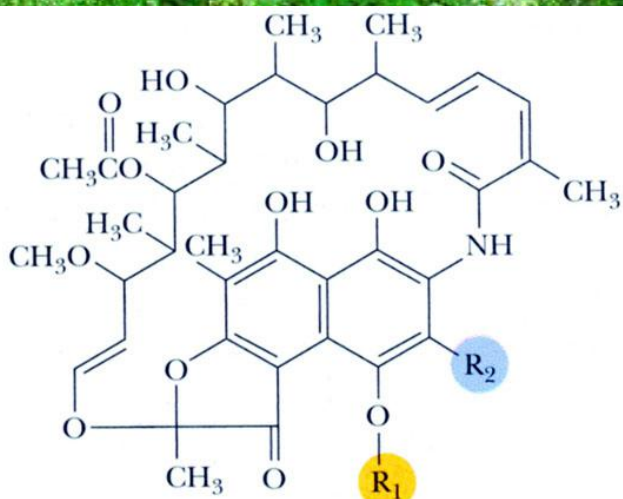
bZIP蛋白质杂二聚体转录因子c-Fos、c-Jun结合于DNA的AP-1共有靶序列TGACTCA

(三) 转录的抑制剂

1. 嘌呤和嘧啶的类似物：如6-巯基嘌呤在体内可以转变为巯基嘌呤核苷酸，阻断嘌呤核苷酸的生物合成，从而抑制转录。5-氟尿嘧啶是尿嘧啶的类似物，可以掺入RNA，5-氯，5-溴，5-碘尿嘧啶是胸腺嘧啶的类似物，可以掺入DNA，并可以引起碱基配对的错误。上述化合物可作为抗癌药使用。

2. DNA模板功能的抑制剂：烷化剂可以使DNA烷基化，通常有致癌作用；放线菌素D可以插入碱基平面之间，抑制转录作用，色霉素A，橄榄霉素，光神酶素有类似的作用；嵌入染料如丫啶和菲锭可以使DNA发生移码突变，抑制复制和转录。

3. RNA聚合酶的抑制剂：利福霉素（或利福平），利链霉素可以和原核生物RNA聚合酶的 β 亚基结合，抑制转录， α -鹅膏蕈碱可以抑制真核生物的转录。



Rifamycin B

$R_1 = \text{CH}_2\text{COO}^-$; $R_2 = \text{H}$

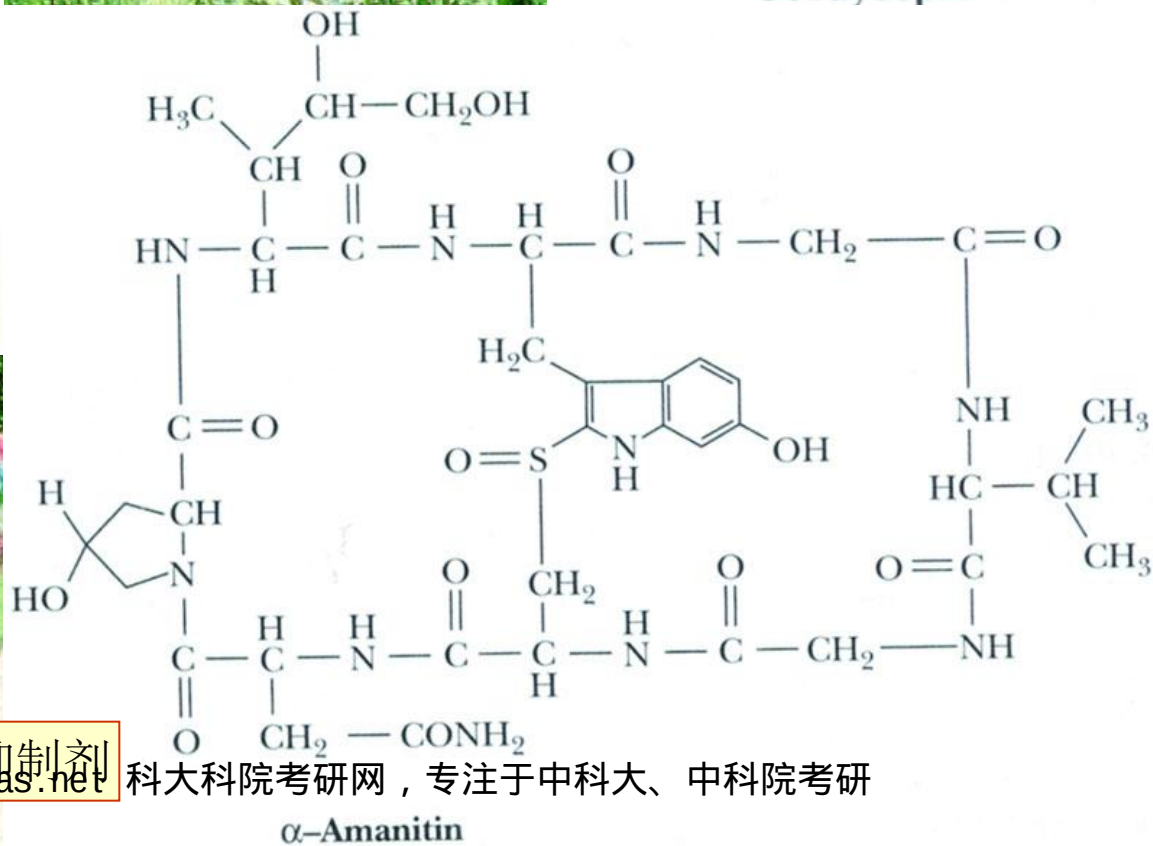
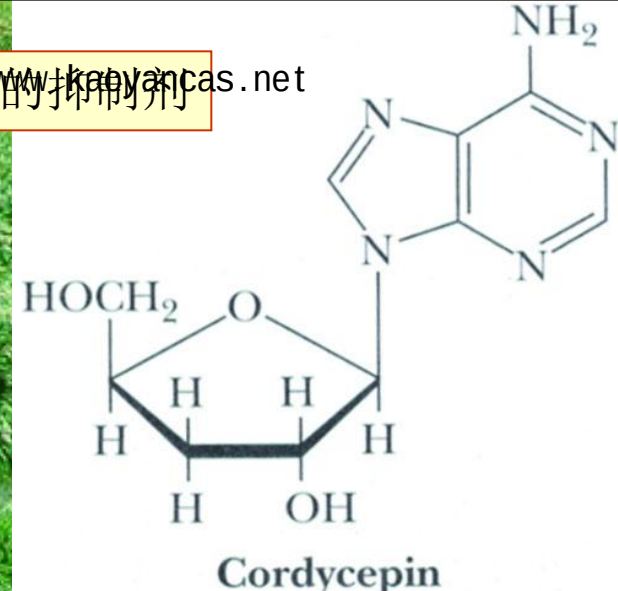
Rifampicin

$R_1 = \text{H}$; $R_2 = \text{CH}=\text{N}^+ \text{ (piperidine ring)} \text{ N}-\text{CH}_3$

利福霉素和利福平：
转录起始的抑制剂

鹅膏蕈碱是真核生物转录的抑制剂

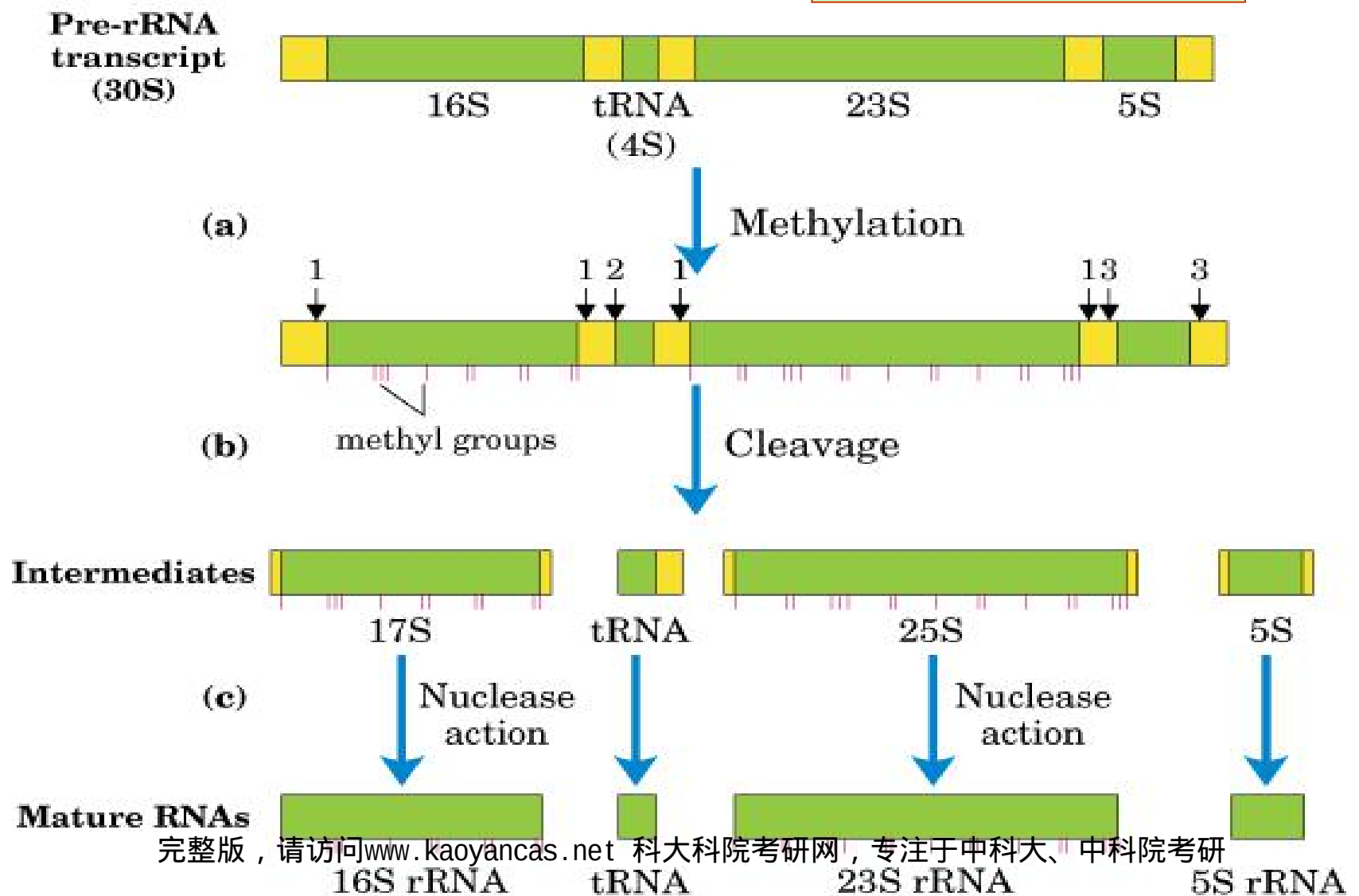
完整版，请访问 www.kaoyancas.net

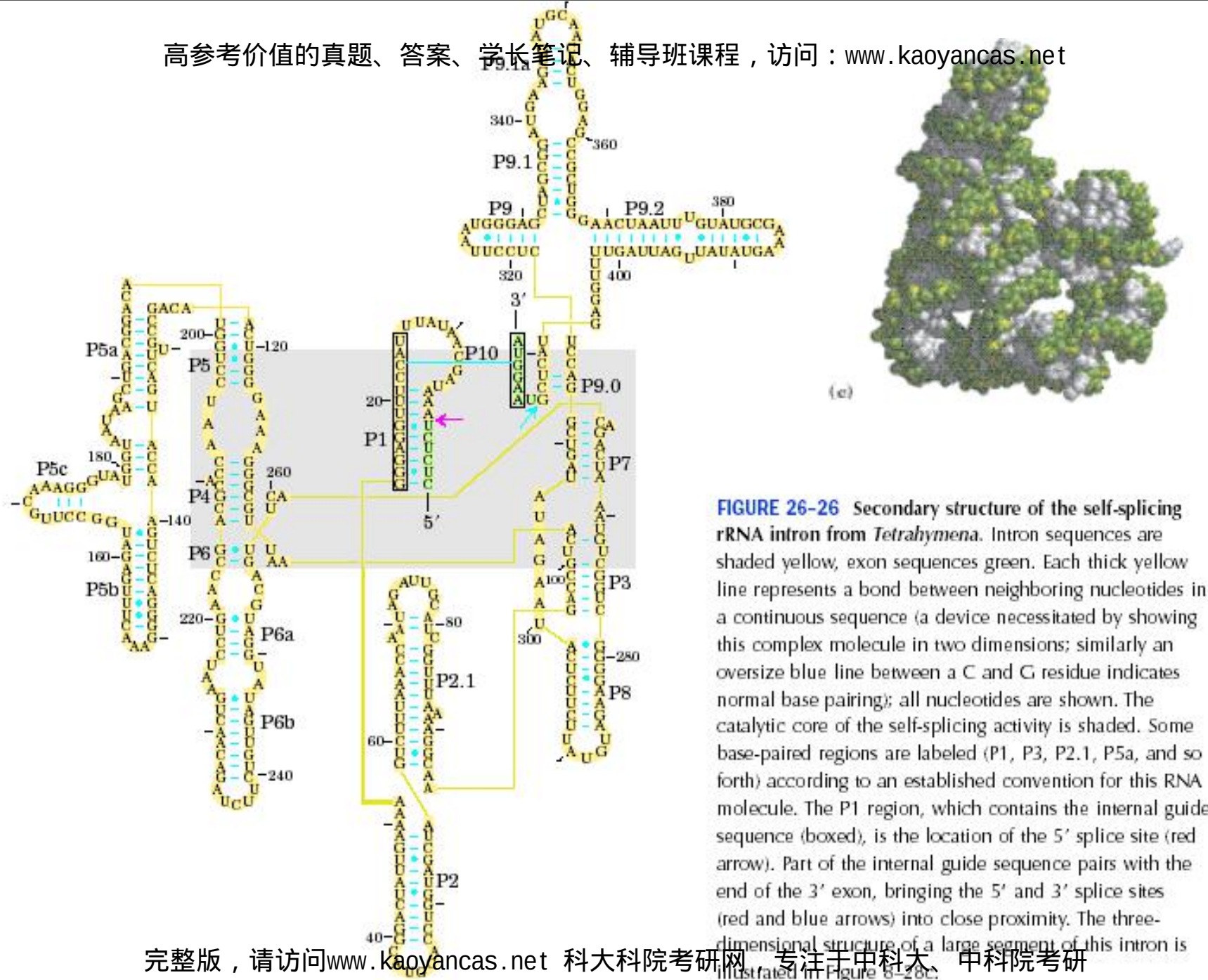


科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

(一) 原核生物中RNA的加工

原核生物rRNA的加工





(5') **G** AAAUAGCAAUAU **UACCUUUGGAGGG** A ——— G—OH(3')

Spliced rRNA intron

L-19 IVS (5') **UUGGAGGG** A ——— G—OH(3')

(a)

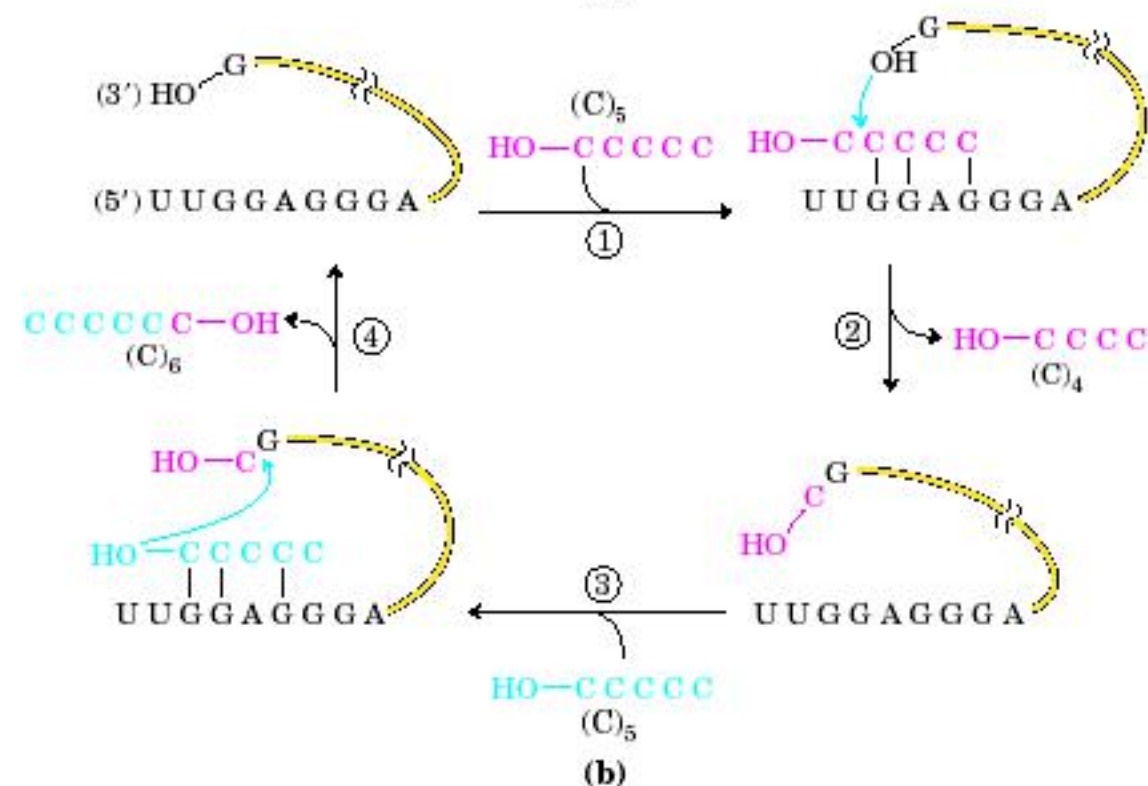


FIGURE 26-27 In vitro catalytic activity of L-19 IVS. (a) L-19 IVS is generated by the autocatalytic removal of 19 nucleotides from the 5' end of the spliced *Tetrahymena* intron. The cleavage site is indicated by the arrow in the internal guide sequence (boxed). The G residue (shaded pink) added in the first step of the splicing reaction (see Fig. 26-14) is part of the removed sequence. A portion of the internal guide sequence remains at the 5' end of L-19 IVS. (b) L-19 IVS lengthens some RNA oligonucleotides at the expense of others in a cycle of transesterification reactions (steps ① through ④). The 3' OH of the G residue at the 3' end of L-19 IVS plays a key role in this cycle (note that this is *not* the G residue added in the splicing reaction). (C)₅ is one of the ribozyme's better substrates because it can base-pair with the guide sequence remaining in the intron. Although this catalytic activity is probably irrelevant to the cell, it has important implications for current hypotheses on evolution, discussed at the end of this chapter.

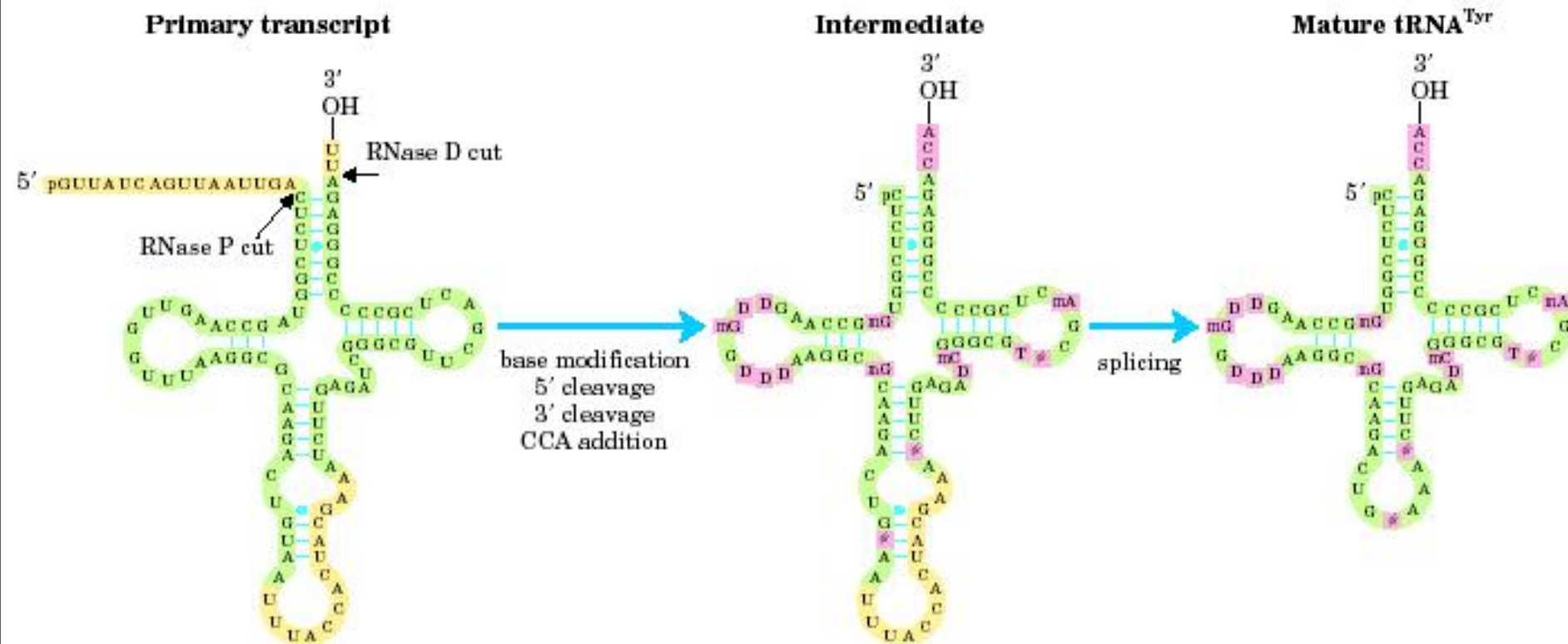
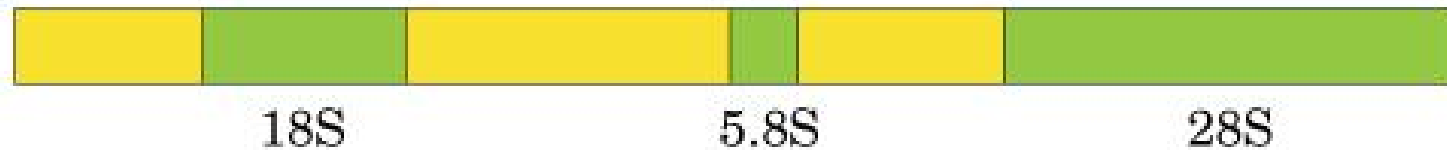


FIGURE 26-23 Processing of tRNAs in bacteria and eukaryotes. The yeast tRNA^{Tyr} (the tRNA specific for tyrosine binding; see Chapter 27) is used to illustrate the important steps. The nucleotide sequences shown in yellow are removed from the primary transcript. The ends are processed first, the 5' end before the 3' end. CCA is then added to the 3' end, a necessary step in processing eukaryotic tRNAs and

those bacterial tRNAs that lack this sequence in the primary transcript. While the ends are being processed, specific bases in the rest of the transcript are modified (see Fig. 26-24). For the eukaryotic tRNA shown here, the final step is splicing of the 14-nucleotide intron. Introns are found in some eukaryotic tRNAs but not in bacterial tRNAs.

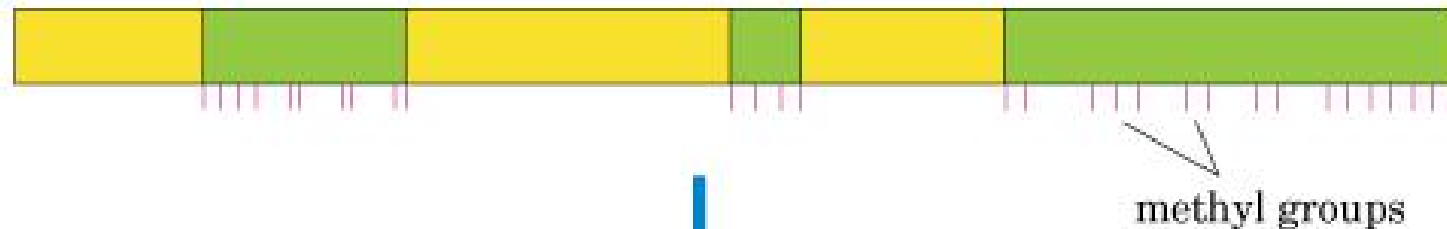
(二) 真核生物中RNA的一般加工

**Pre-rRNA
transcript
(45S)**



(a)

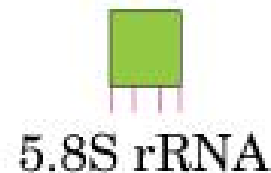
Methylation



(b)

Cleavage

Mature rRNAs



真核生物rRNA前体的甲基化，假尿嘧啶化和切割是由核仁小RNA (small nucleolar RNA, snoRNA) 指导的，酵母和人类细胞中已发现上百种snoRNA。

多数真核生物rRNA的基因不含内含子，少数含有内含子的有的不转录，有的转录后会自动切除。

Figure 22.31 A snoRNA base pairs with a region of rRNA that is to be methylated.

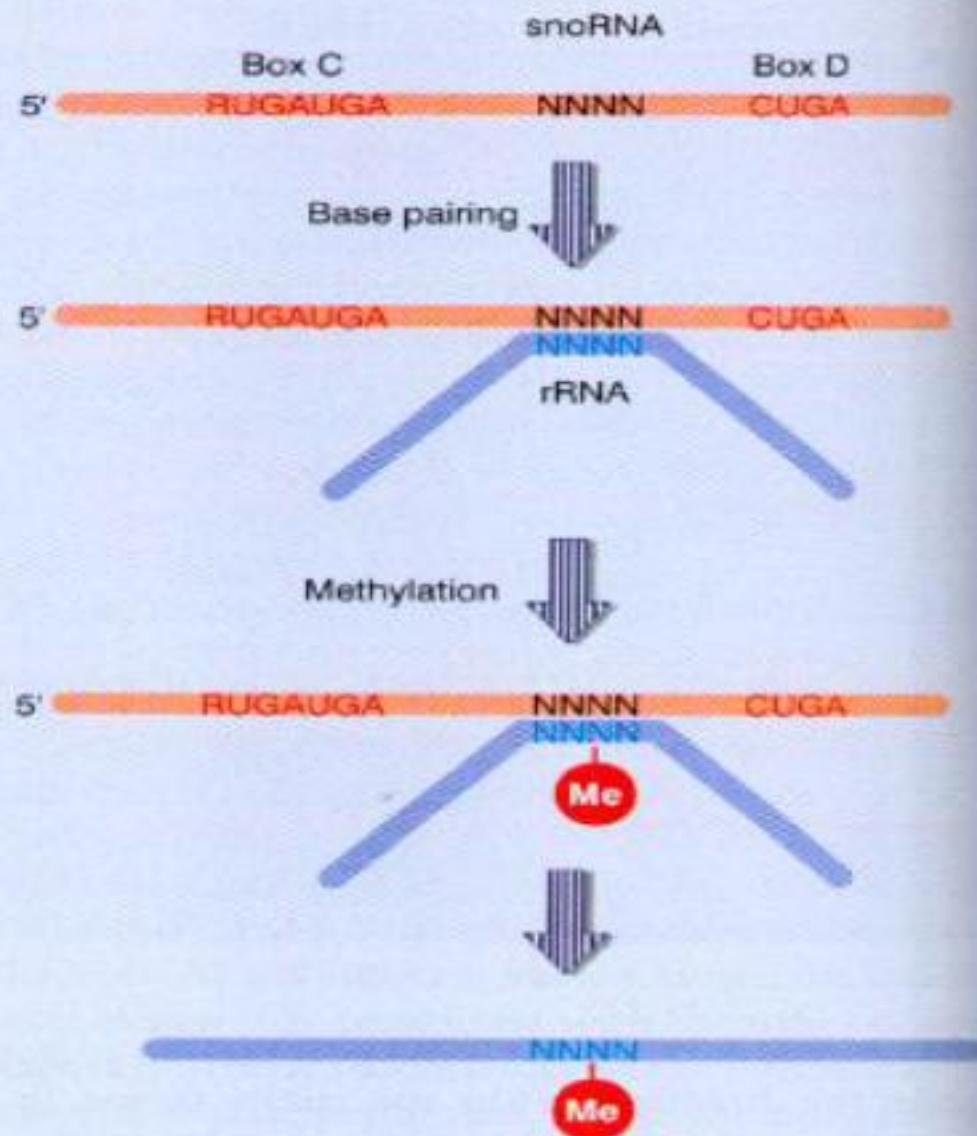
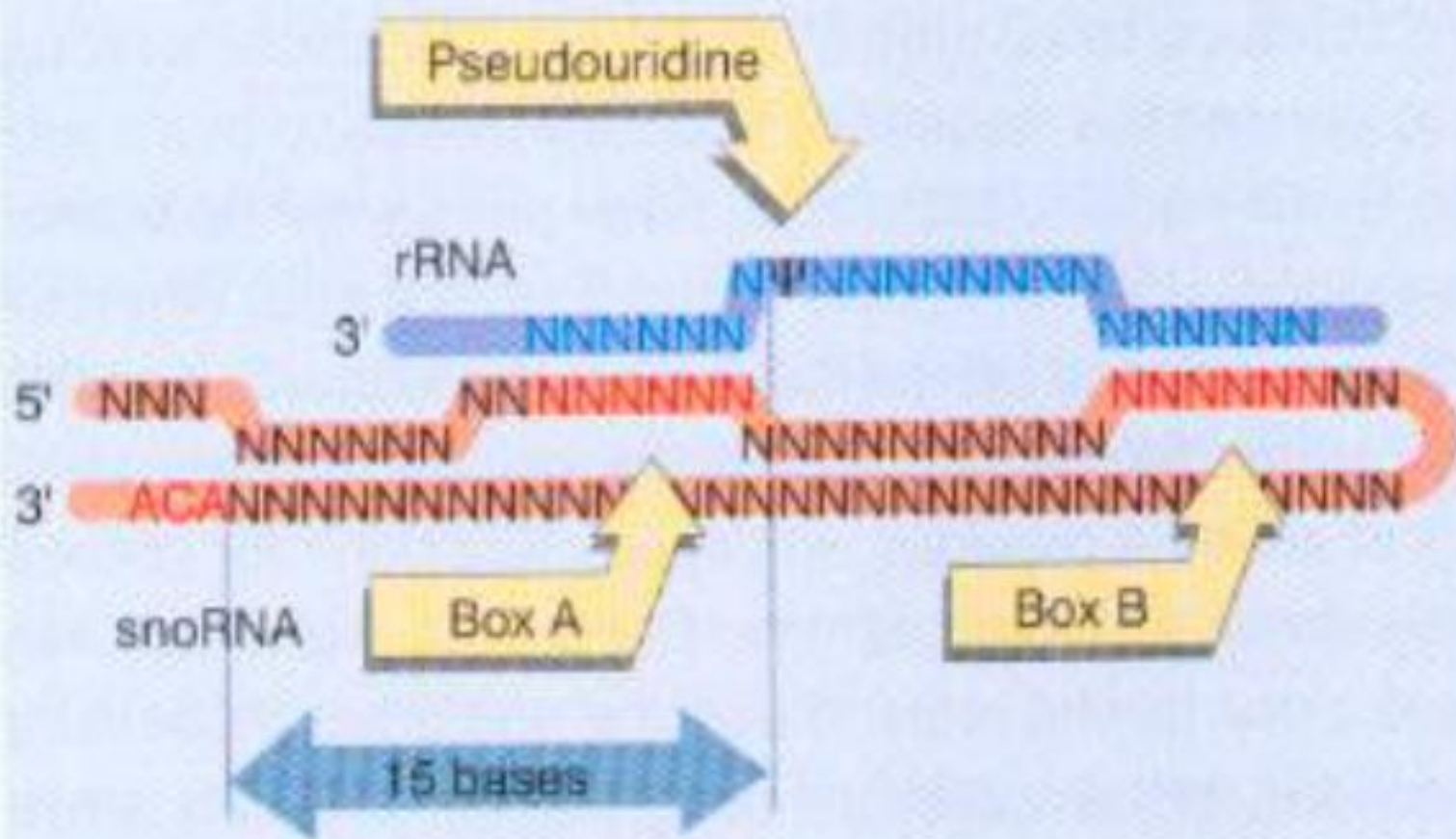
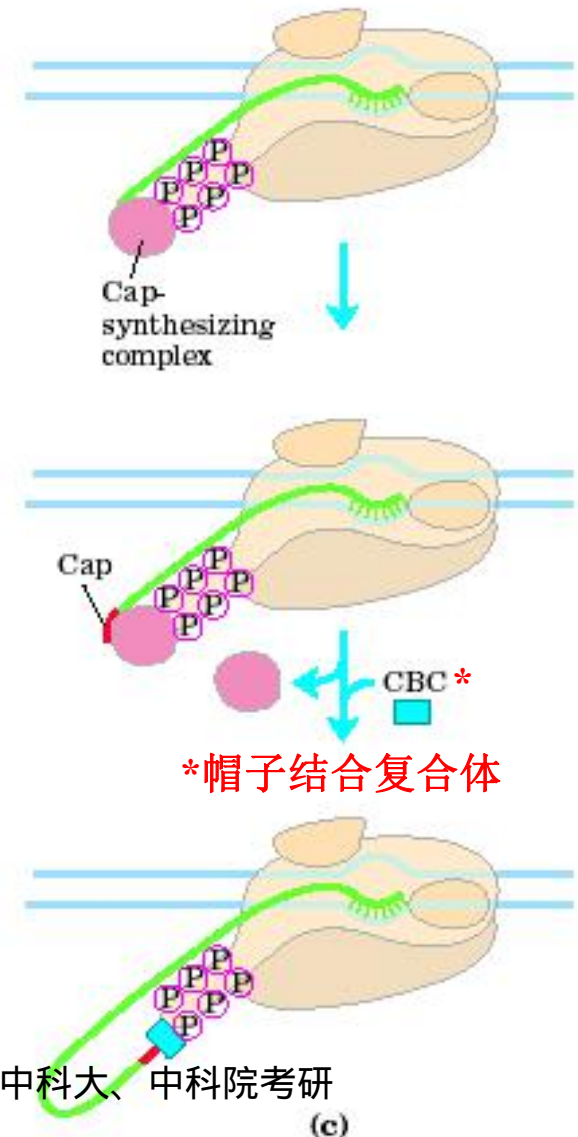
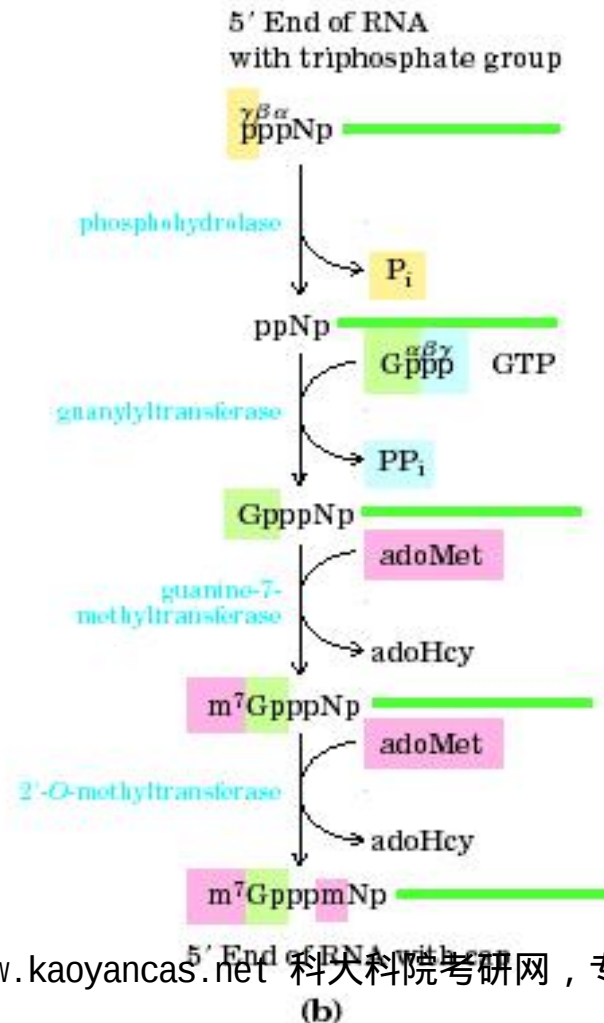
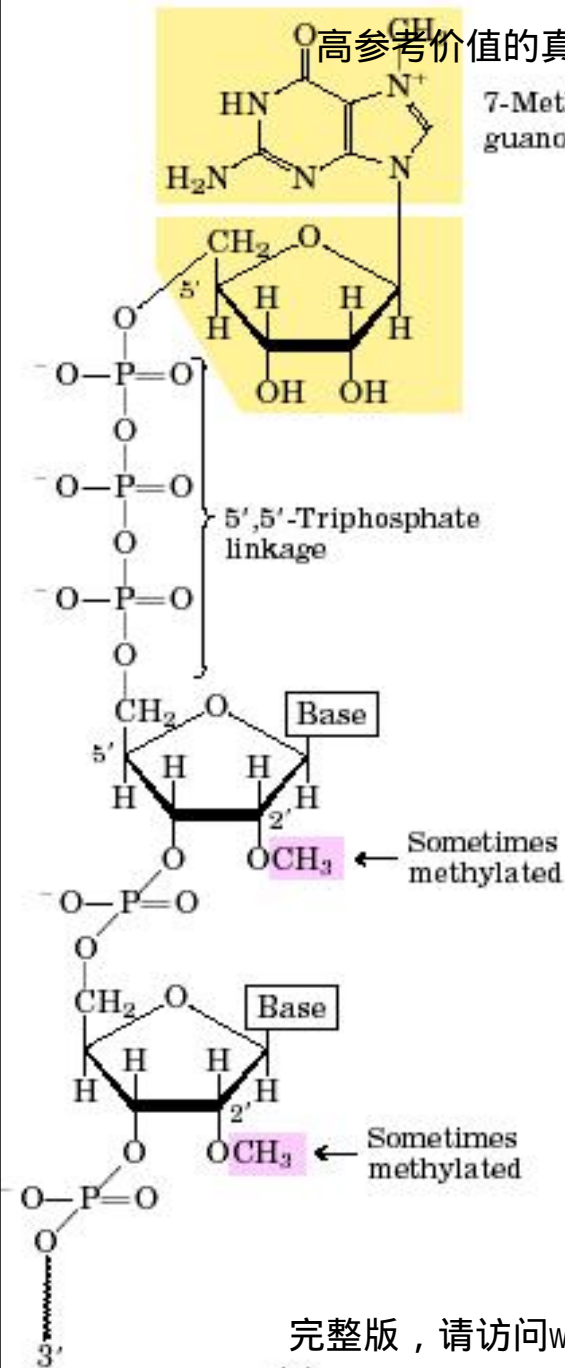


Figure 22-22 An ACA group snoRNA base pairs with rRNA to determine the position of pseudouridine modification.



5'端加帽子:真核pre-mRNA有3种不同的帽子结构, 帽子结构对翻译的起始和mRNA的稳定有重要作用。



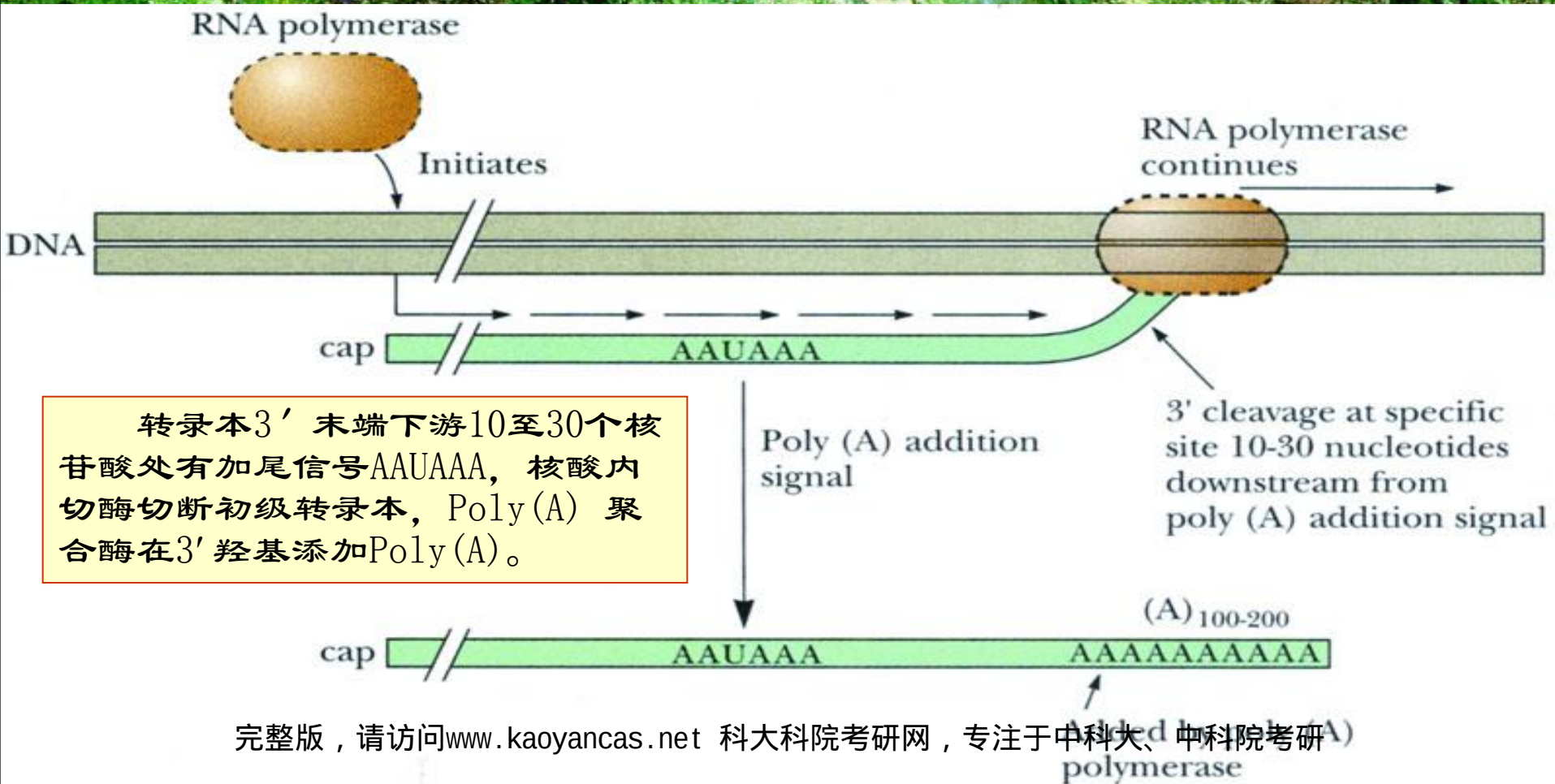
3'末端的多聚腺苷酸化

答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

靠近3'末端的AAUAAA为链的切断和多聚腺苷酸化提供信号，链的切断由RNase III催化，多聚腺苷酸化由多聚腺苷酸聚合酶催化，此外还需要多种蛋白质参与。冬虫夏草素是多聚腺苷酸化的特异抑制剂。

甲基化和切割

hnRNA的一些位点可以被甲基化，随后进行切割，切割的过程十分复杂。



转录本3'末端下游10至30个核苷酸处有加尾信号AAUAAA，核酸内切酶切断初级转录本，Poly(A)聚合酶在3'羟基添加Poly(A)。

(三) RNA的拼接、编辑和再编码

Group I introns are found in some nuclear, mitochondrial and chloroplast genes encoding rRNAs, mRNAs, and tRNAs.

Group II introns are often found in genes encoding mRNAs in mitochondrial and chloroplast DNA of fungi, algae, and plants.

Group III introns (the largest group) are found in genes encoding eukaryotic nuclear mRNAs.

Group IV introns are found in genes encoding the tRNAs in the nuclear genomic DNA of eukaryotes

类型 I 内含子
的自我拼接

高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

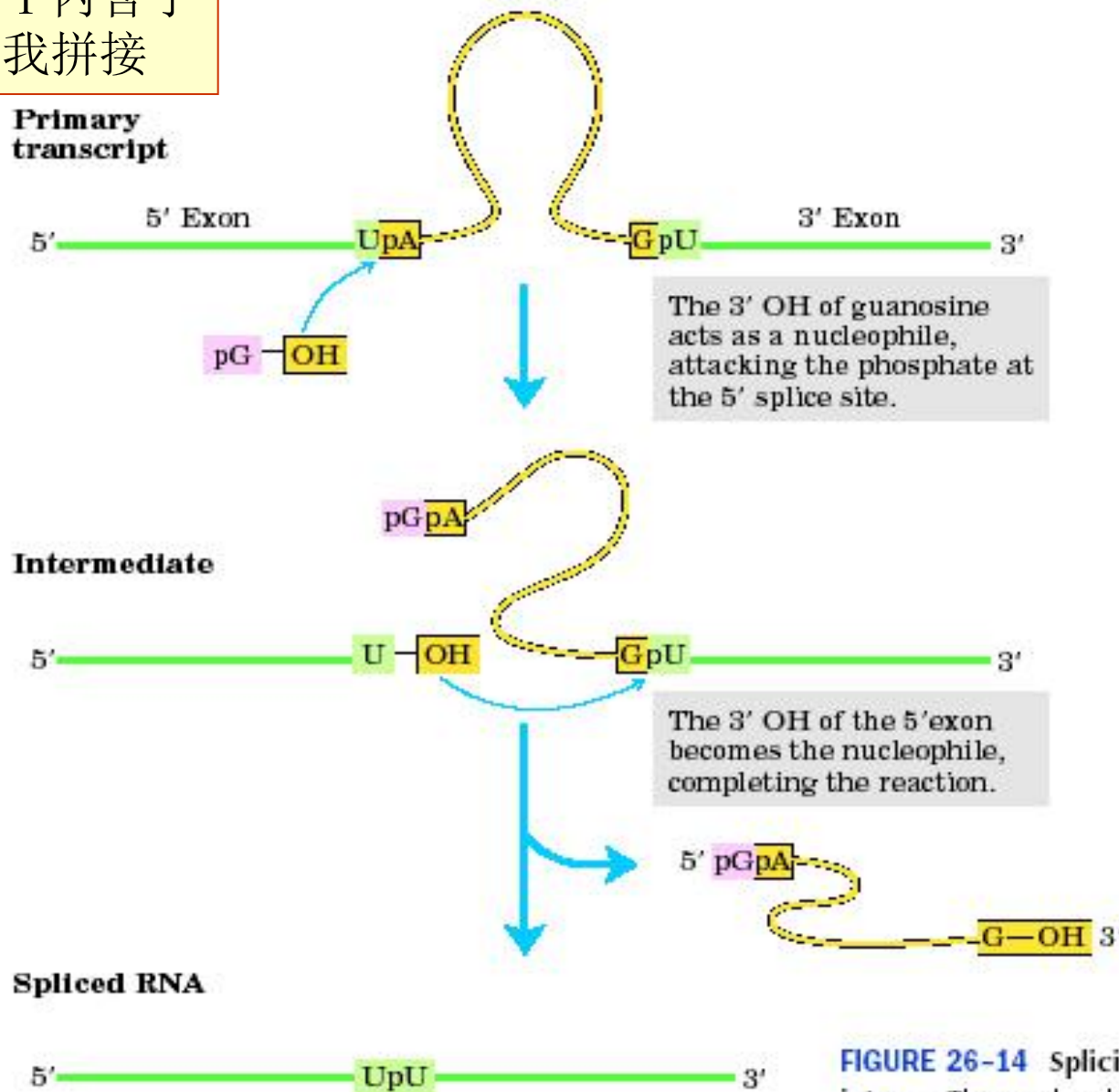


FIGURE 26-14 Splicing mechanism of group I introns. The nucleophile in the first step may be guanosine, GMP, GDP, or GTP. The spliced intron is eventually degraded.

高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

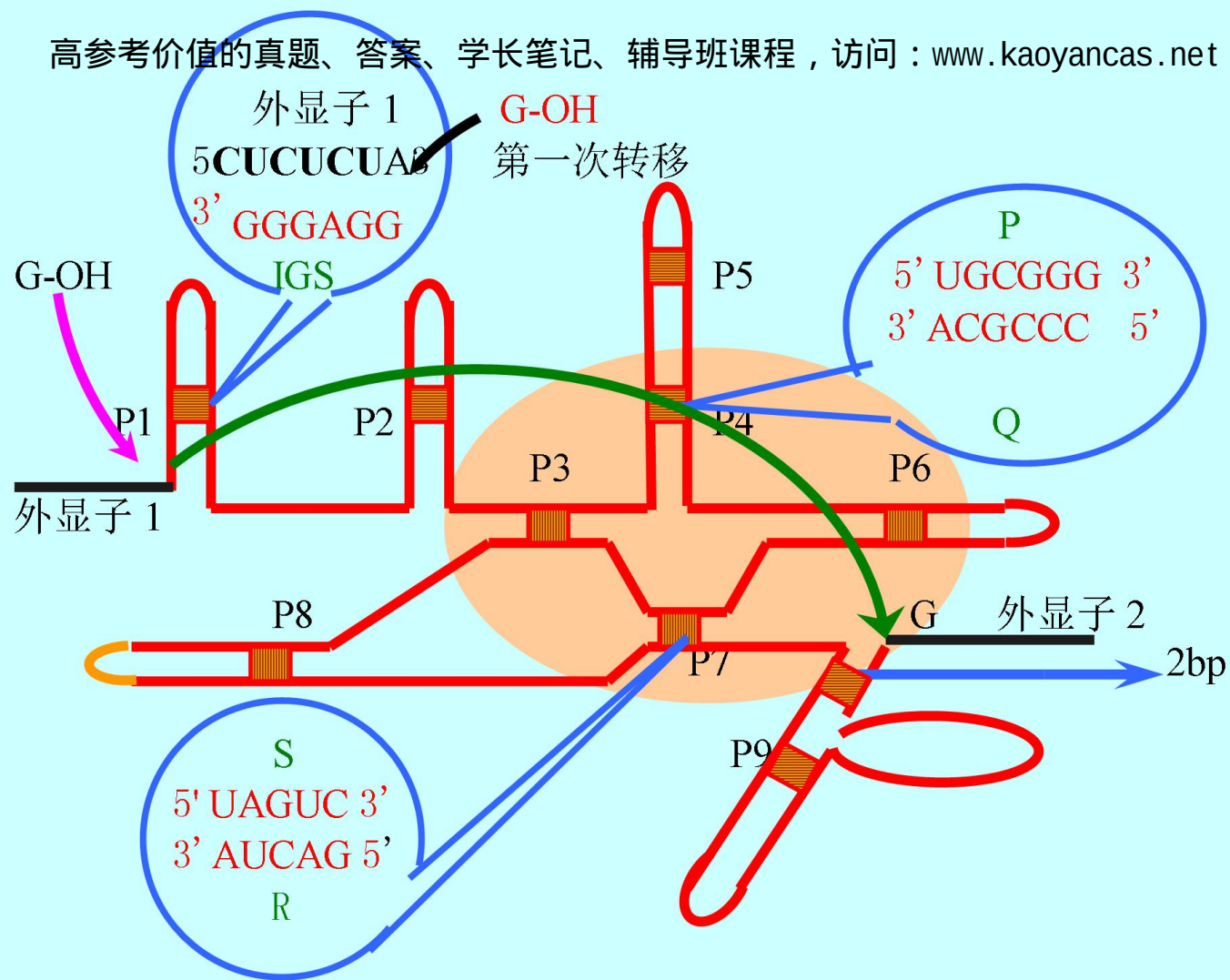


图 13-26 1 类内含子中含有的共同的二级结构

(仿 B.Lewin: 《GENES》VI, 1997, Fig31.4)

完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

类型II内含子的自我拼接

Primary transcript

5' ————— UpG ————— pU ————— 3'

The 2' OH of a specific adenosine in the intron acts as a nucleophile, attacking the 5' splice site to form a lariat structure.

Intermediate

5' ————— U—OH ————— pU ————— 3'

The 3' OH of the 5' exon acts as a nucleophile, completing the reaction.

Spliced RNA

5' ————— UpU ————— 3'

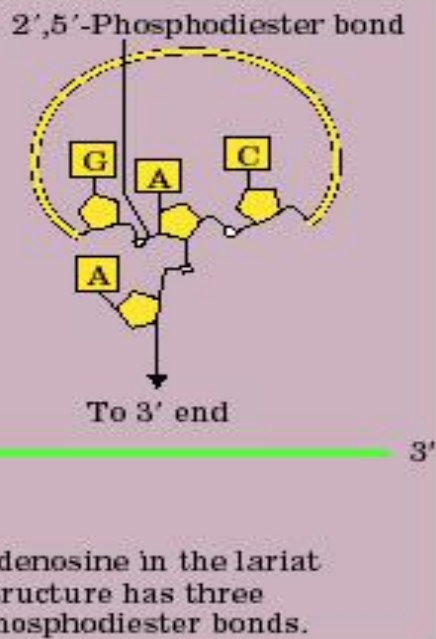


FIGURE 26-15 Splicing mechanism of group II introns. The chemistry is similar to that of group I intron splicing, except for the identity of the nucleophile in the first step and formation of a 2',5'-phosphodiester bond. The lariat formed with one branch is a 2',5'-phosphodiester bond.

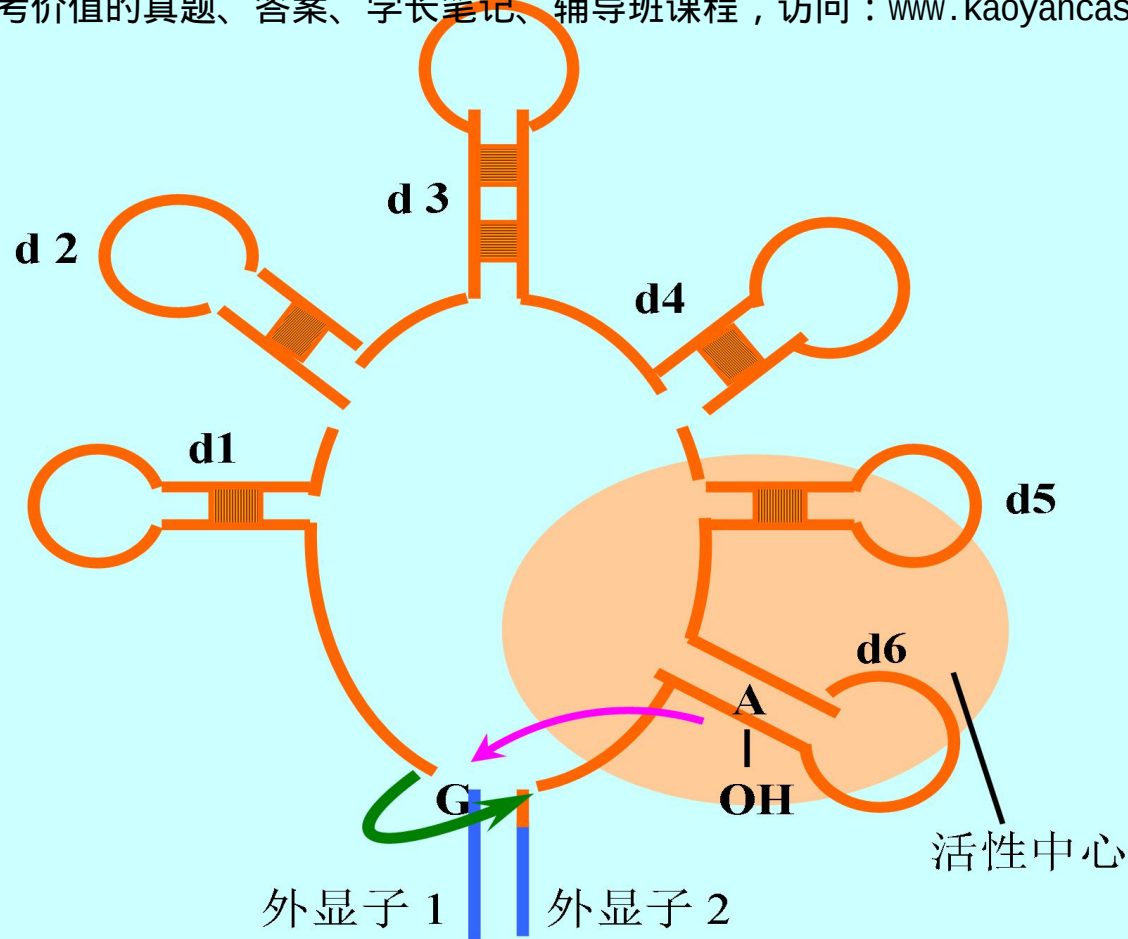
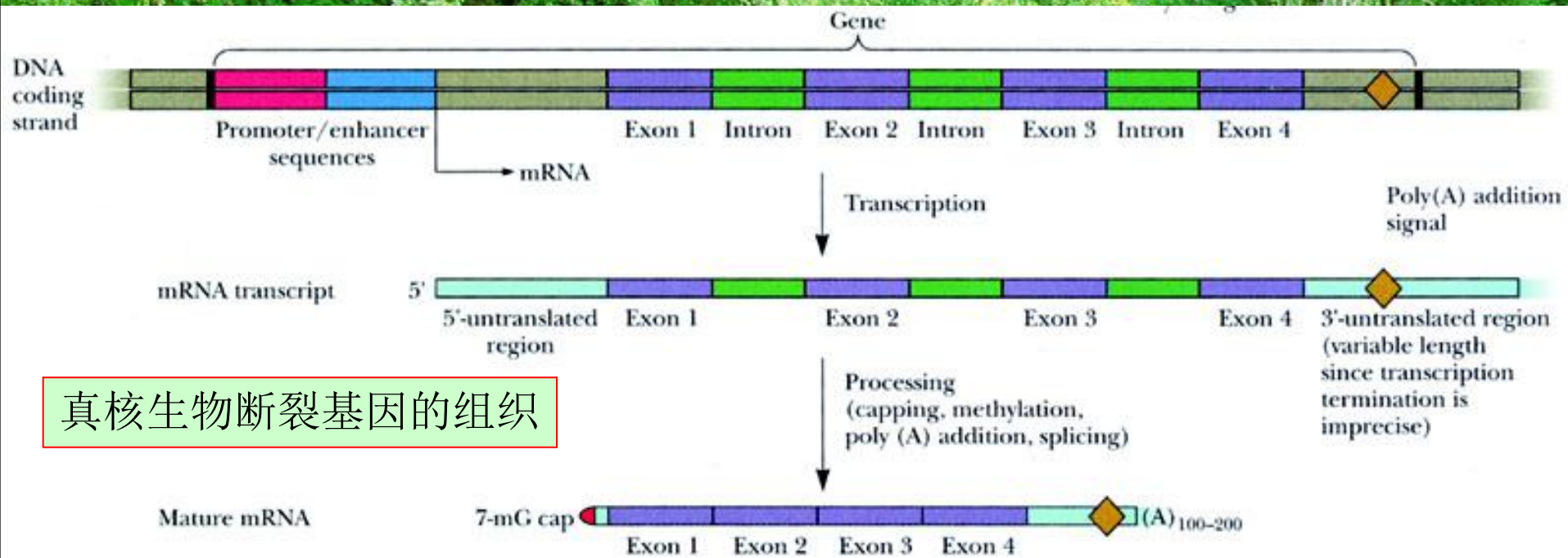
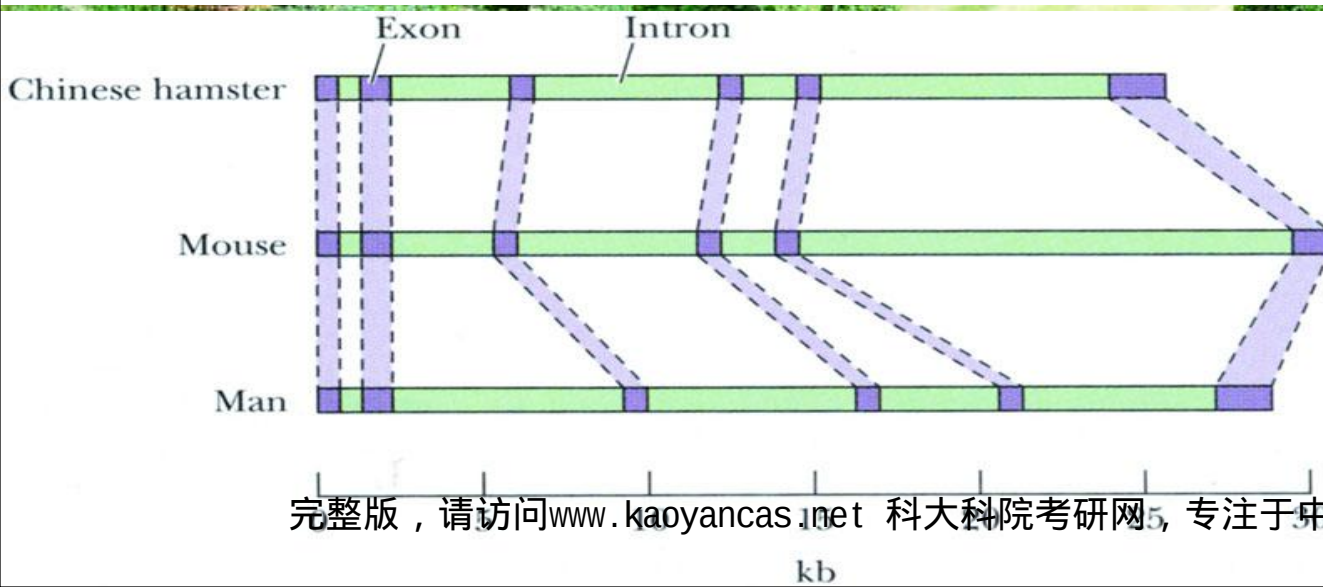


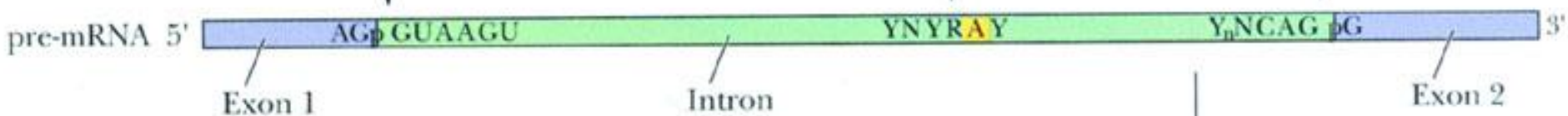
图 13-29 II 类内含子的二级结构
(仿 B.Lewin: 《GENES》 VI,1997, Fig30.15)



真核生物断裂基因的组织

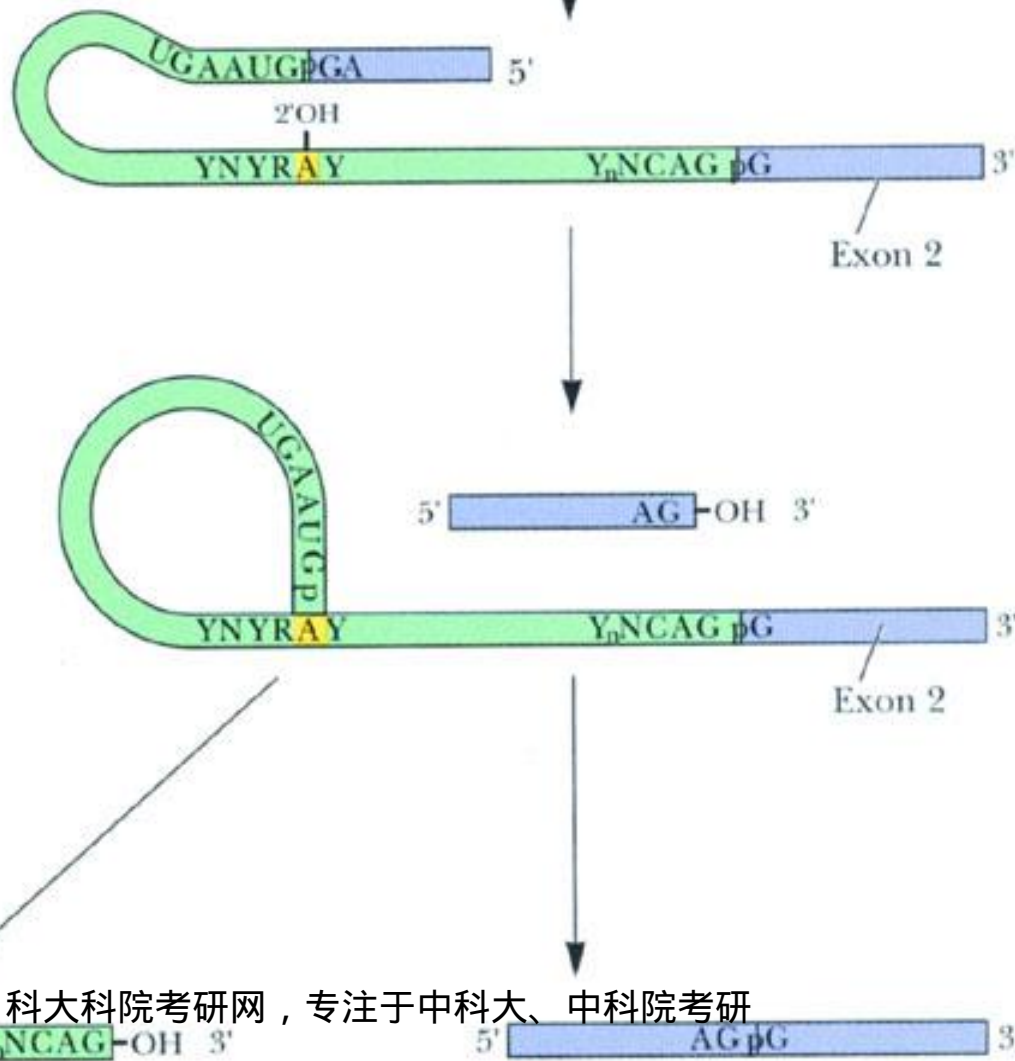


三种不同物种断裂基因DFHR（二氢叶酸还原酶）的组织，内含子片段远大于外显子，外显子比内含子保守的多。

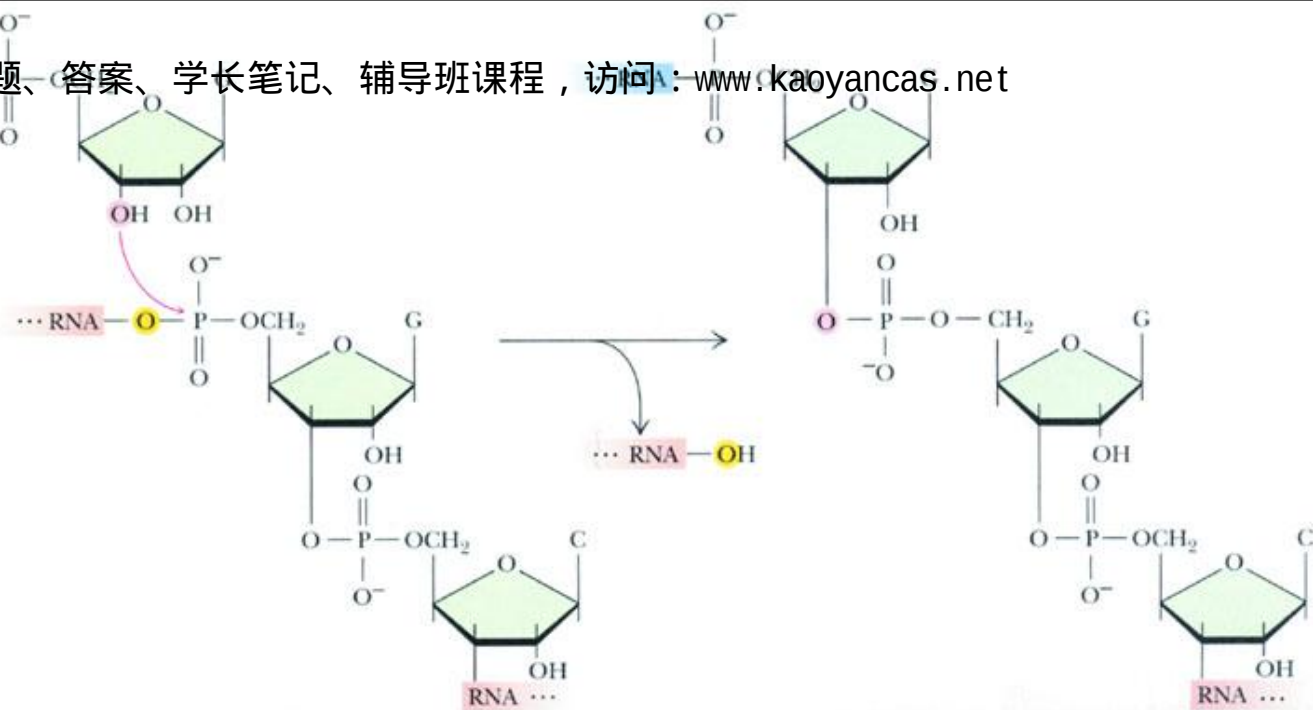


Y表示任意嘧啶, N表示任意核苷酸, R表示任意嘌呤。

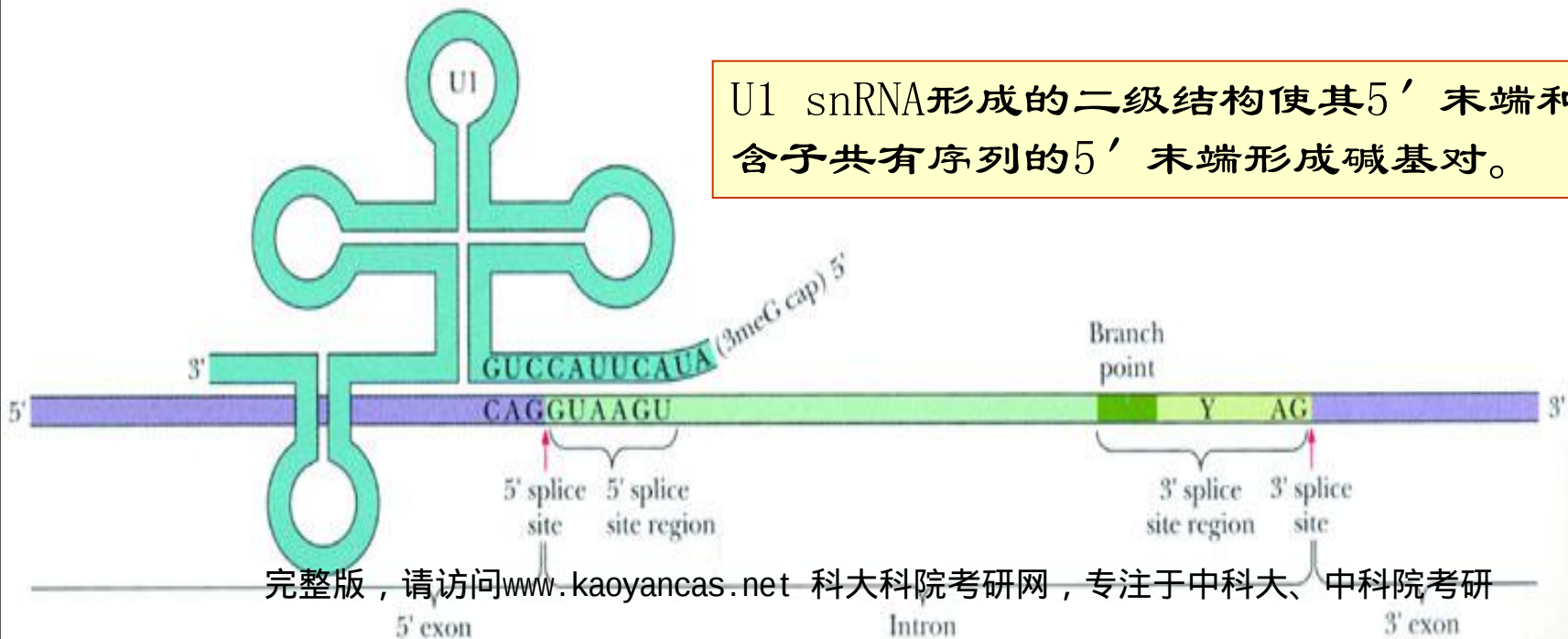
内含子两端的序列分别为GT (GU) 和AG, 内含子通过套索式的结构被剪切。



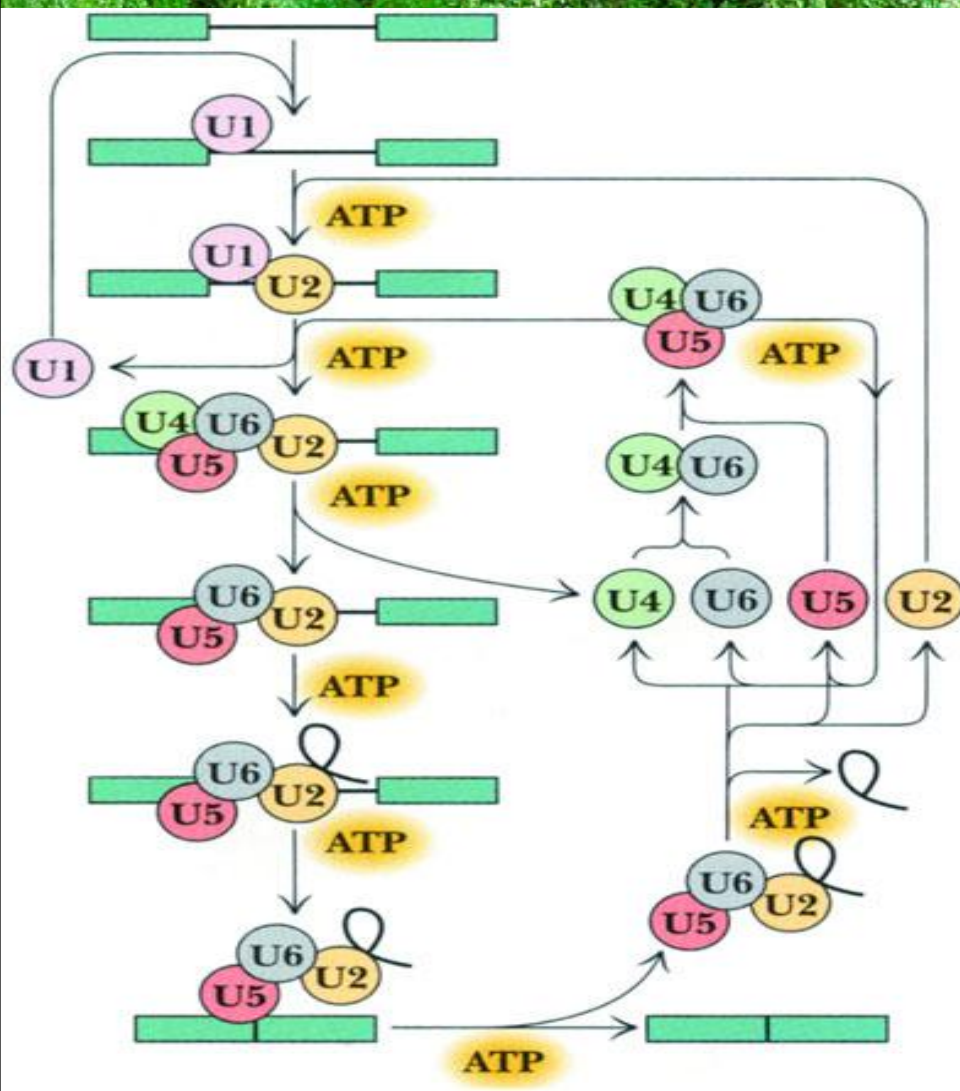
转酯作用形成新的磷酸二酯键



U1 snRNA形成的二级结构使其5'末端和内含子共有序列的5'末端形成碱基对。



剪接复合体的形成和作用

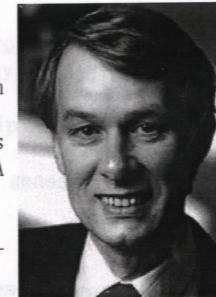


The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1993

"for their discoveries of split genes"

Press Release: The 1993 Nobel Prize in Physiology or Medicine
Press release
Illustrated presentation
NOBELFÖRSÄMLINGEN KANOLINGEN INSTITUTET
THE NOBEL ASSEMBLY AT THE KANOLINGEN INSTITUTE
11 October 1993

Richard J. Roberts
Great Britain
New England Biolabs
Beverly, MA, USA



1943 -

Autobiography

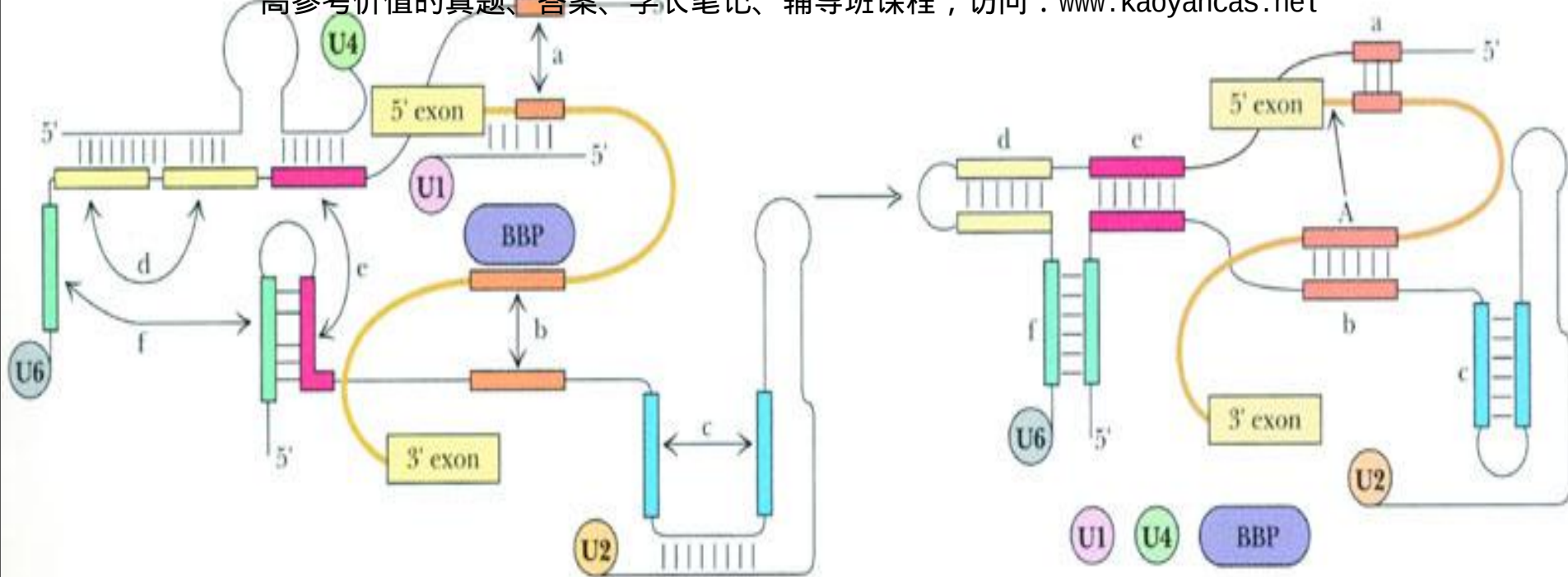


Phillip A. Sharp

USA

Center for Cancer Research
Massachusetts Institute of Technology
Cambridge, MA, USA

1944 -



剪接需要大量反向平行的RNA碱基对，这里总结的是伴随第一次转酯反应的重排，黑线表示snRNA的序列，黄线表示pre-mRNA的序列，分子内和分子间形成碱基对的片段用颜色框表示。(a)U1和U6的交换涉及到与内含子5'端形成的碱基对(橙色)；(b)BBP(分支点结合蛋白)被取代是由U2与分支点序列形成碱基对(橙色)引起的；(c)U2的分子内碱基对(蓝绿色)；(d)U4和U6相互作用的解除使U6形成分子内的茎环结构(黄色)；(e)U4和U6相互作用的解除有利于U2和U6的相互作用(粉红色)；(f)U2和U6碱基对的相互作用(绿色)。

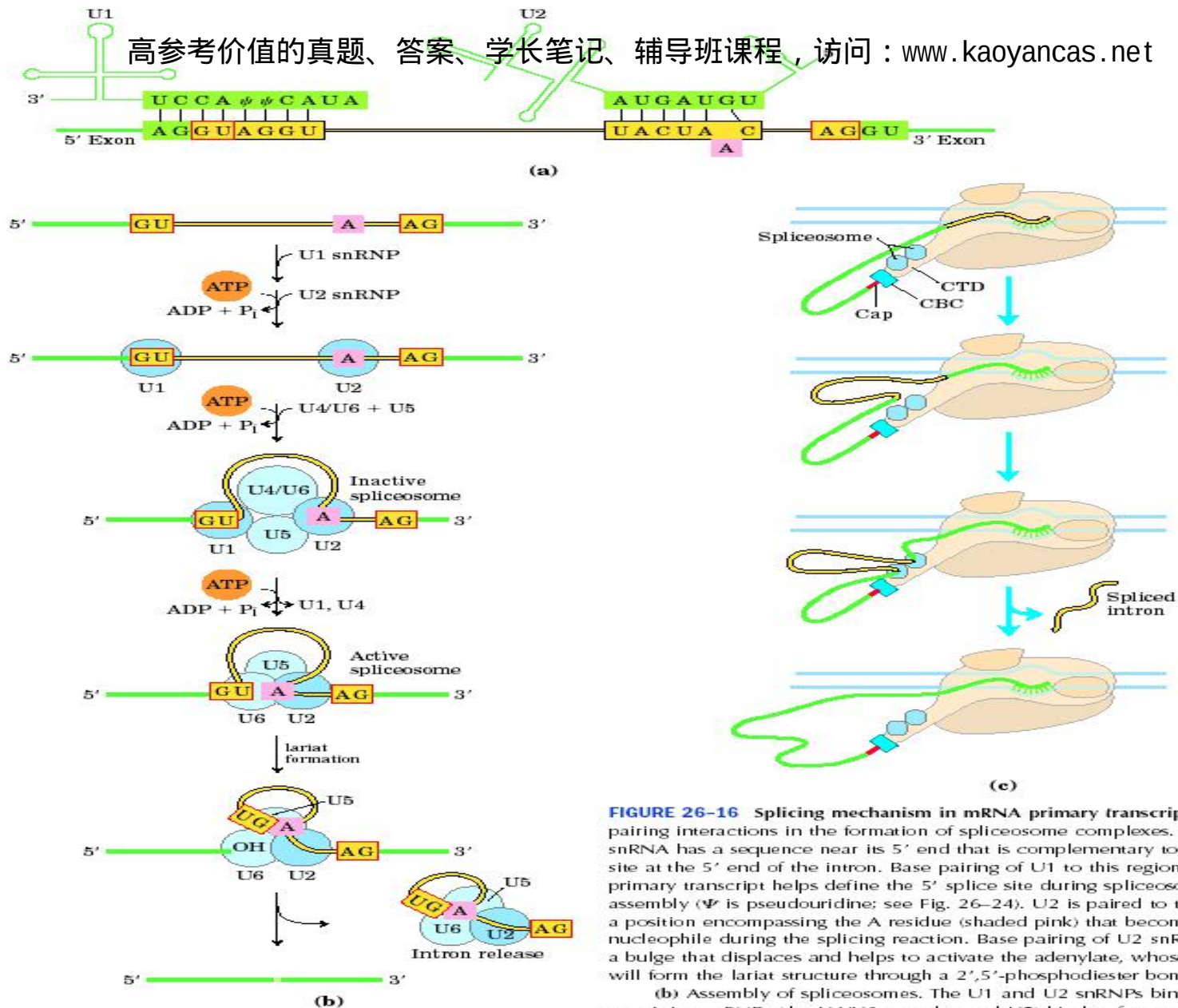


FIGURE 26-16 Splicing mechanism in mRNA primary transcripts. (a) RNA pairing interactions in the formation of spliceosome complexes. The U1 snRNA has a sequence near its 5' end that is complementary to the splice site at the 5' end of the intron. Base pairing of U1 to this region of the primary transcript helps define the 5' splice site during spliceosome assembly (Ψ is pseudouridine; see Fig. 26-24). U2 is paired to the intron at a position encompassing the A residue (shaded pink) that becomes the nucleophile during the splicing reaction. Base pairing of U2 snRNA causes a bulge that displaces and helps to activate the adenylate, whose 2' OH will form the lariat structure through a 2',5'-phosphodiester bond.

(b) Assembly of spliceosomes. The U1 and U2 snRNPs bind, then the remaining snRNPs (the U4/U6 complex and U5) bind to form an inactive spliceosome. Internal rearrangements convert this species to an active spliceosome in which U1 and U4 have been expelled and U6 is paired with both the 5' splice site and U2. This is followed by the catalytic steps, which are the subject of the following section (see Fig. 26-15).

(c) Coordination of splicing with transcription provides an attractive mechanism for bringing the two splice sites together. See the text for details.

高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net
反式拼接：分子内的拼接，称顺式拼接，分子间的拼接称反式拼接，

较少见。反式剪接较典型的例子是锥虫表面糖蛋白基因**VSG**(variable surface glycoprotein)，线虫的**肌动蛋白基因** (actin genes)，衣藻 (*chlamydomonas*) 叶绿体DNA中含有的**psa**基因。

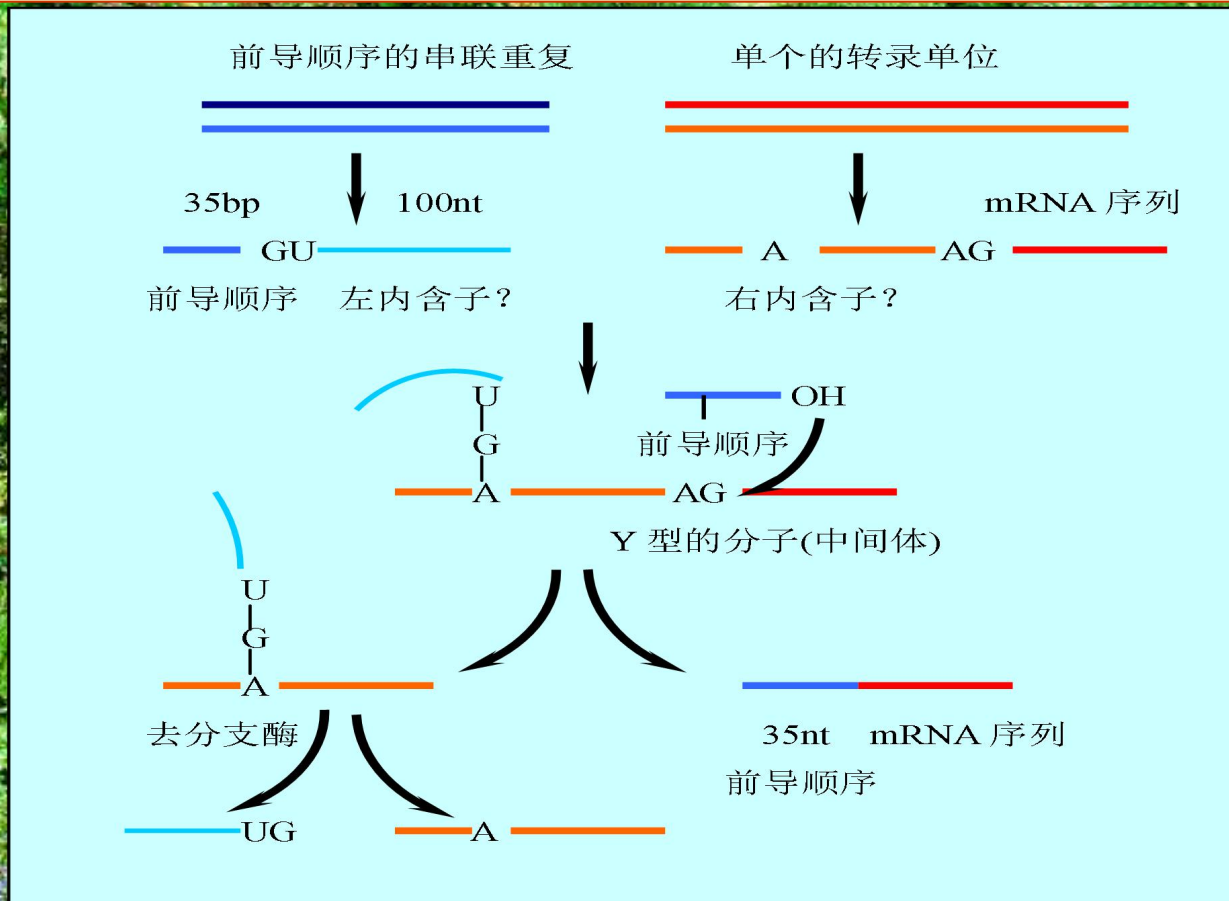


图 13-38 锥虫反式拼接的过程

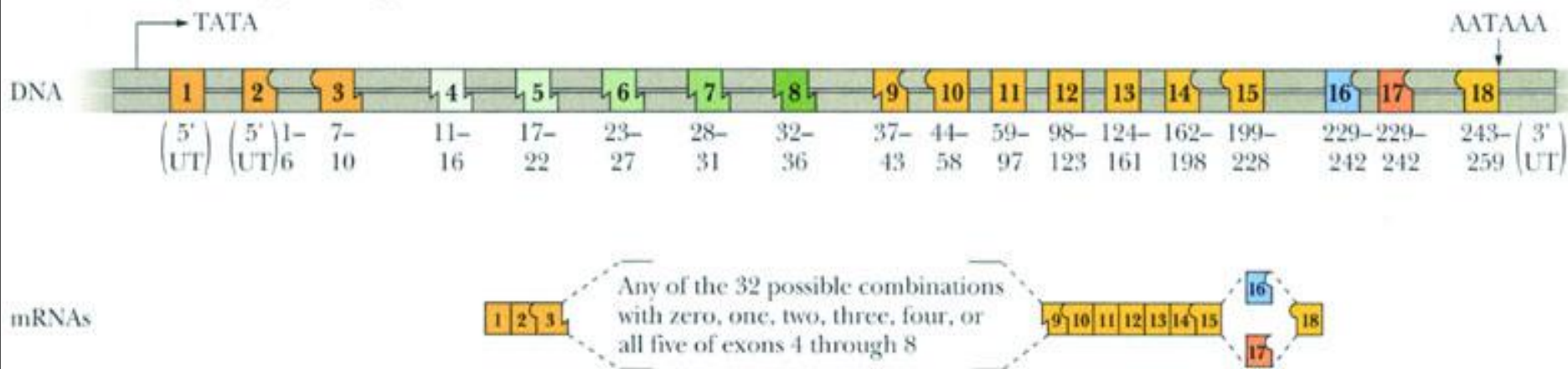
(参考 B.Lewin: 《GENES》 VI,1997, Fig30.22)

选择性拼接

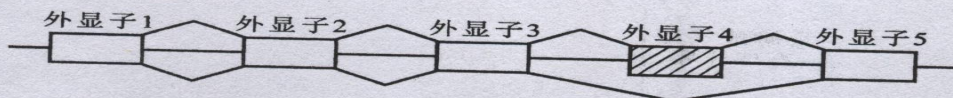
高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

在不同的发育阶段，可以有不同的剪切方式产生不同的蛋白质，图示为快骨骼肌肌钙蛋白T的基因排列，从这一基因可以生成64种不同的mRNA。

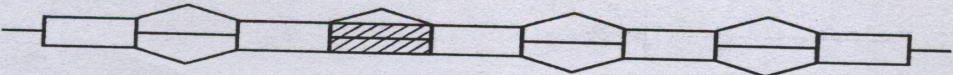
Fast skeletal troponin T gene and spliced mRNAs



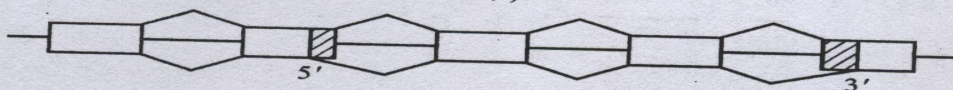
1. 拼接缺失外显子



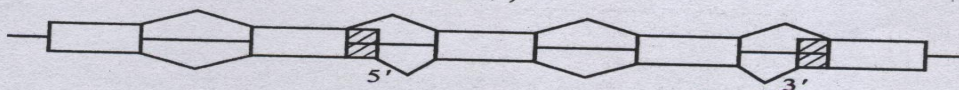
2. 拼接保留内含子



3. 外显子中存在拼接点(部分缺失外显子)



4. 内含子中存在拼接点(部分保留内含子)



选择性拼接
的四种方式

完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

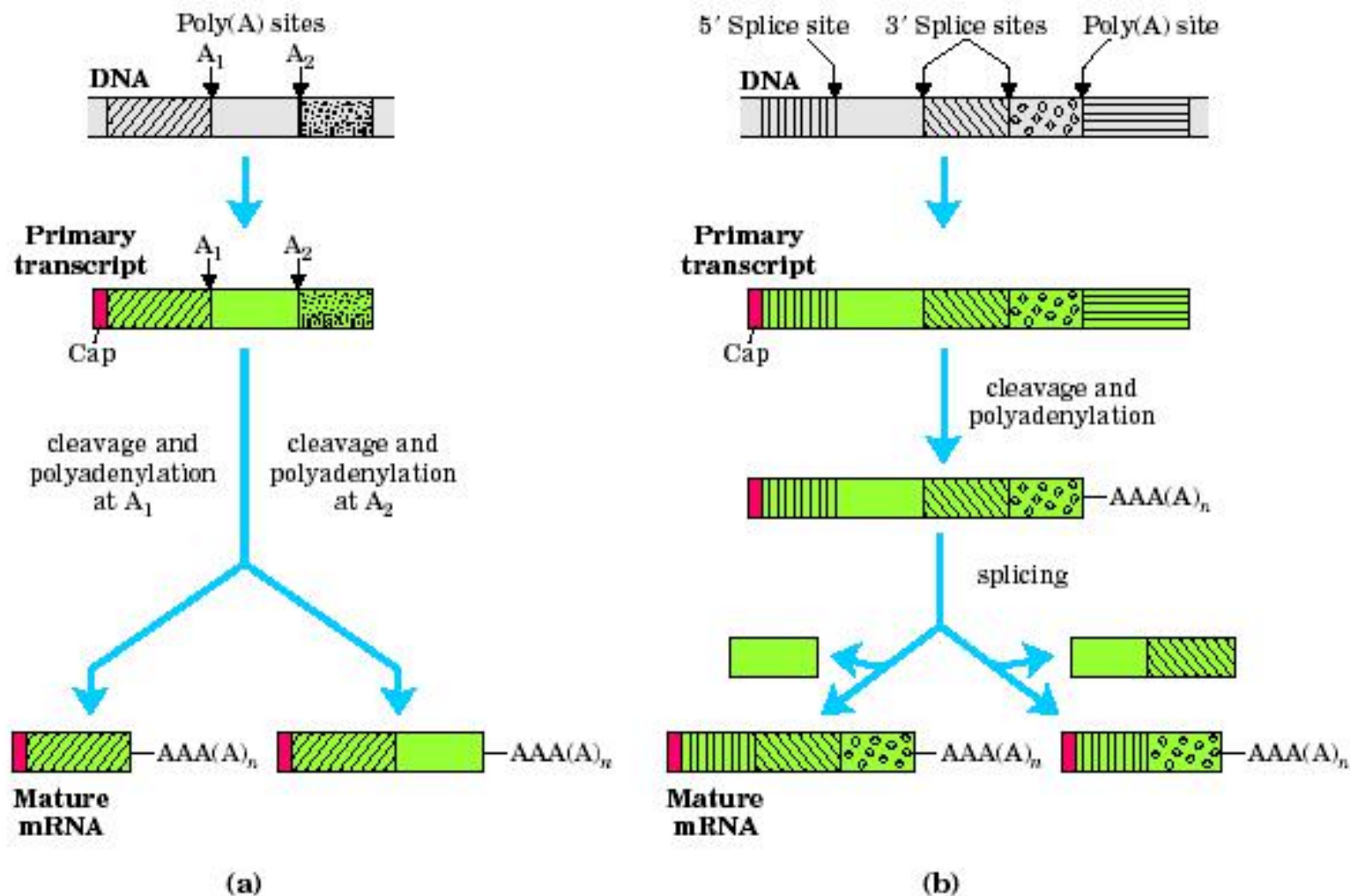


FIGURE 26-19 Two mechanisms for the alternative processing of complex transcripts in eukaryotes. (a) Alternative cleavage and polyadenylation patterns. Two poly(A) sites, A_1 and A_2 , are shown.

(b) Alternative splicing patterns. Two different 3' splice sites are shown. In both mechanisms, different mature mRNAs are produced from the same primary transcript.

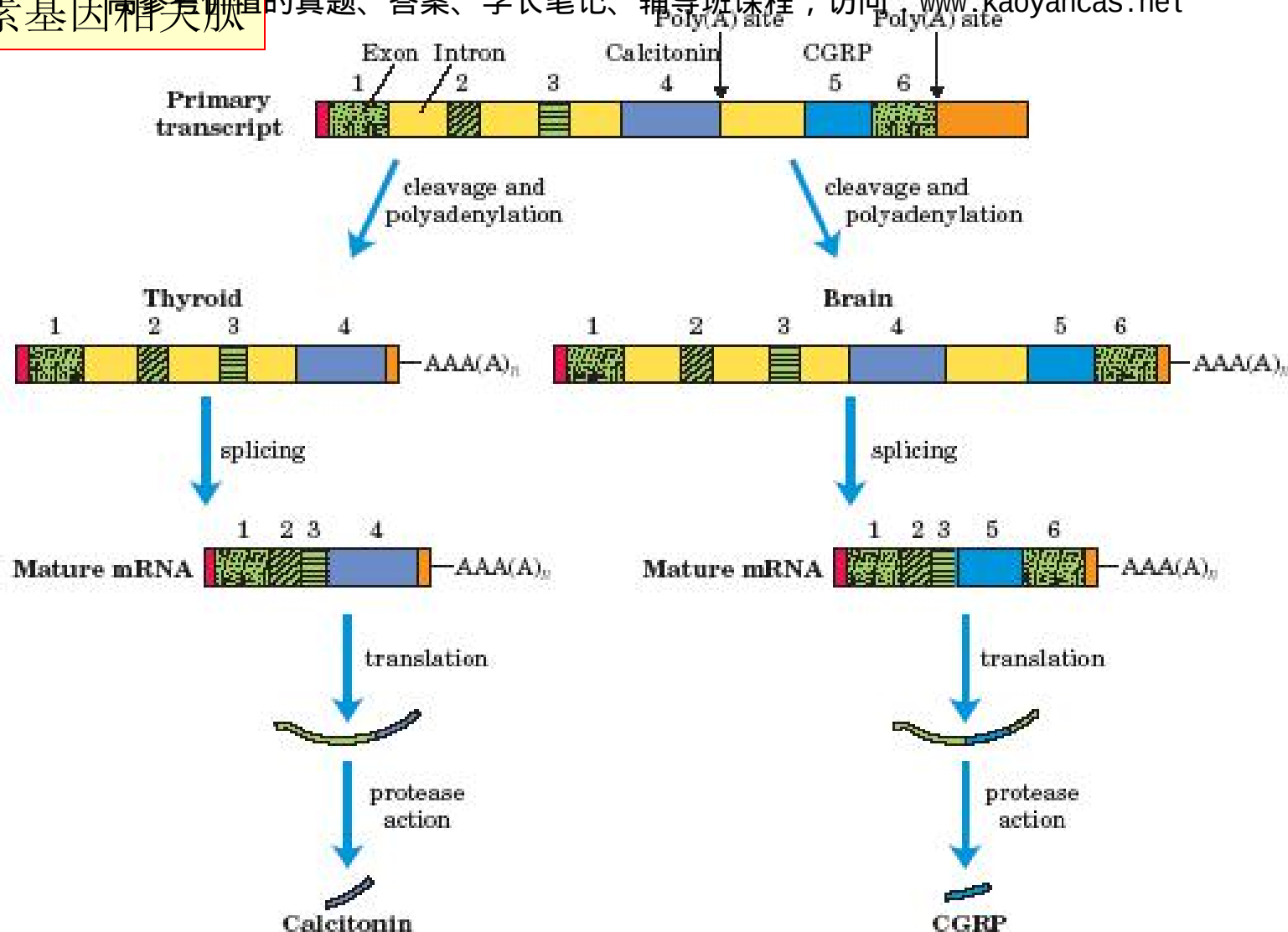


FIGURE 26-20 Alternative processing of the calcitonin gene transcript in rats. The primary transcript has two poly(A) sites; one predominates in the brain, the other in the thyroid. In the brain, splicing eliminates the calcitonin exon (exon 4). In the thyroid, the exon is retained.

The resulting peptides are processed further to yield the final hormone products: calcitonin-gene-related peptide (CGRP) in the brain and calcitonin in the thyroid.

RNA的编辑参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

在RNA中插入、删除或替换核苷酸称作**RNA编辑**，编辑过程有编辑体的多种酶和蛋白质参与。

载脂蛋白Apo B100和Apo B48由同一个基因编码，**在肝脏中合成的是Apo B100，在小肠中，谷氨酸的密码子CAA经编辑成为终止密码UAA，因而合成Apo B48。**脑受体离子通道亚基的mRNA可以通过不同部位的编辑产生多种不同的蛋白质。

RNA的编辑可以消除突变造成的危害，增加基因产物的多样性，可能与生物的发育和进化有关。

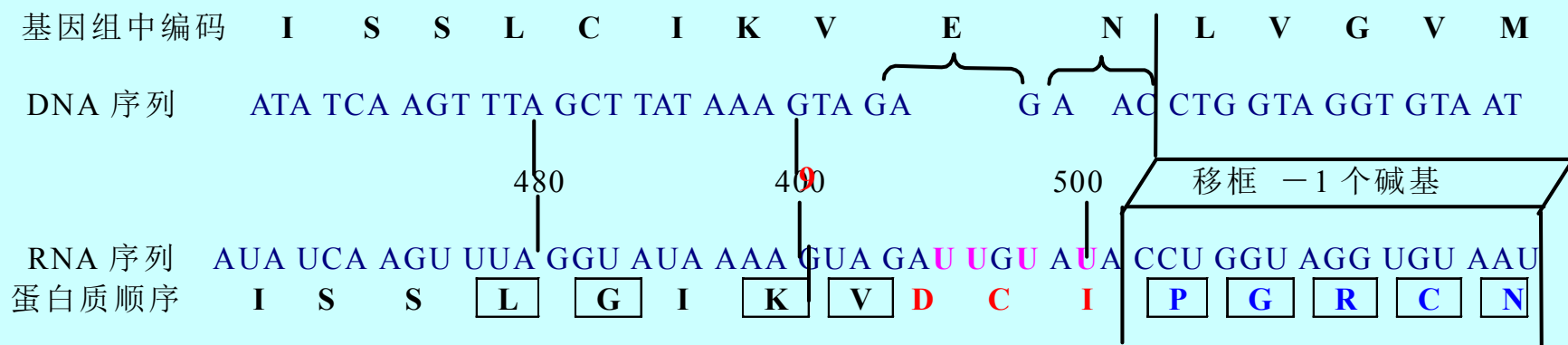


图 13-43 锥虫 *cox II* 基因片断及其产物顺序的比较。核酸序列的数字是以起始密码子 AUG 的 A 开始编号。蛋白质以单个字母表示。方框表示与酵母、人类同源的氨基酸。**红色**表示编辑位点。

(参考 B.Lewin: 《GENES》 VI,1997, Fig31.15)

Residue number	2,146	2,148	2,150	2,152	2,154	2,156						
Human liver (apoB-100)	5' -- C A A C U G C A G A C A U A U A U G A U A C A A U U U G A U C A G U A U --- 3'											
	-- Gln --	Leu --	Gln --	Thr --	Tyr --	Met --	Ile --	Gln --	Phe --	Asp --	Gln --	Tyr --
Human intestine (apoB-48)	-- C A A C U G C A G A C A U A U A U G A U A U A U U U U G A U C A G U A U ---											
	-- Gln --	Leu --	Gln --	Thr --	Tyr --	Met --	Ile	Stop				

FIGURE 3 RNA editing of the transcript of the gene for the apolipoprotein B-100 component of LDL. Deamination, which occurs only in the intestine, converts a specific cytosine to uracil,

changing a Gln codon to a stop codon and producing a truncated protein.

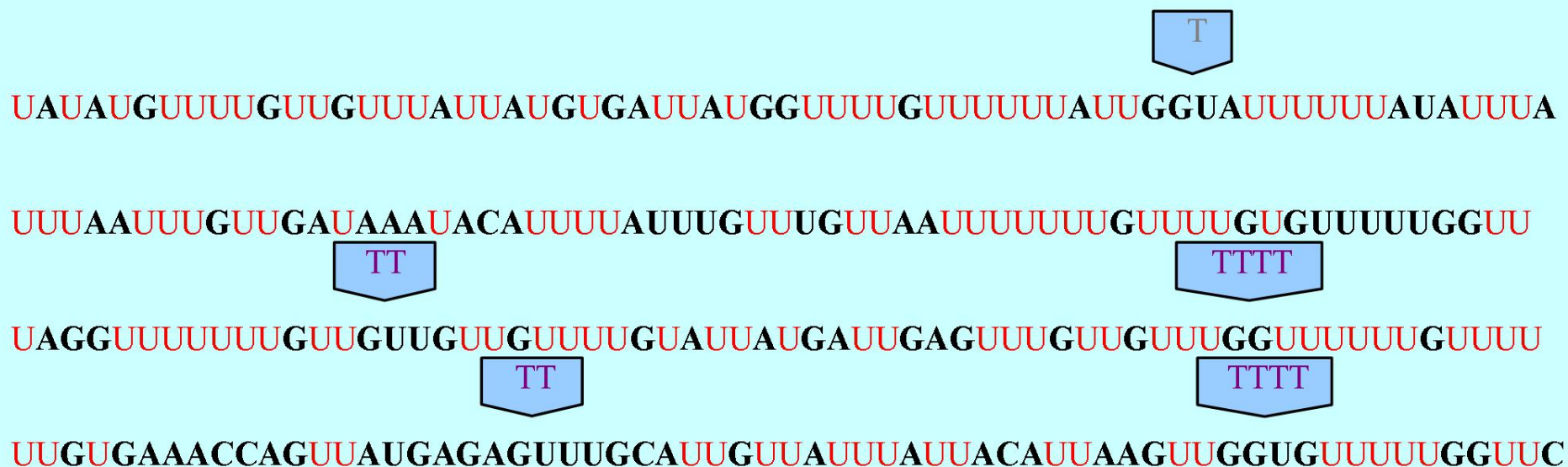


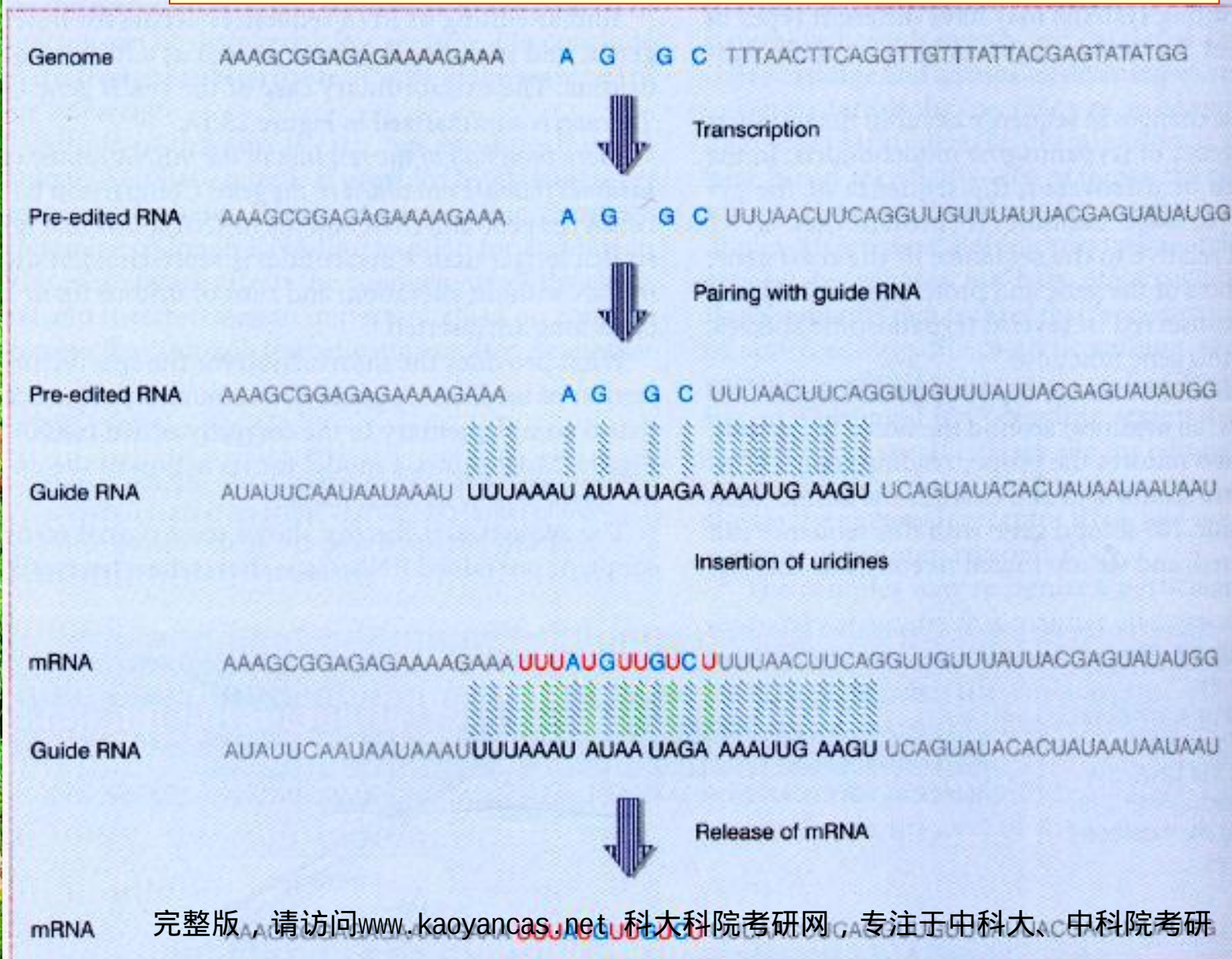
图 13-44 锥虫 (*T.brucei*) *cox II* 基因的部分 RNA 顺序。很多 U(红色)在 DNA 中未编码，而另一些在 DNA 中编码的 T(紫色)在 mRNA 中被删除了。(参考 B.Lewin: 《GENES》 VI,1997, Fig31.16)

完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

Figure 23.19 Pre-edited RNA base pairs with a guide RNA on both sides of the region to be edited. The guide RNA provides a template for the insertion of uridines. The mRNA produced by the insertions is complementary to the guide RNA.

高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

1990年L. Simpsom等发现**指导RNA** (guide gRNA) 。



完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

表 36-7 RNA 编辑的不同类型和分布

编辑类型	机制	存在
U 的插入与删除	gRNA 的转酯反应	锥虫线粒体 mRNA
C, A 或 U 的插入		多头绒孢菌线粒体 mRNA 和 rRNA
G 的插入	RNA 聚合酶重复转录	副黏病毒的 P 基因
C 转变为 U		哺乳类肠的 apoB mRNA
C 转变为 U 或 U 转变为 C	酶促脱氨 脱氨或氨基化	植物线粒体 mRNA 和 rRNA
A 转变为 I		牛心线粒体 tRNA ^{sec} 脑谷氨酸受体亚基 mRNA

RNA的再编码

tRNA反密码环上碱基的变化，或决定其特异性的碱基的变化，引起对密码子阅读的变化是RNA的再编码的一种方式。核糖体阅读框的改变是RNA的再编码的另一种方式。

gag reading frame

--- Leu — Gly — Leu — Arg — Leu — Thr — Asn — Leu Stop
5'---

C	U	A
---	---	---

G	G	G
---	---	---

C	U	C
---	---	---

C	G	C
---	---	---

U	U	G
---	---	---

A	C	A
---	---	---

A	A	U
---	---	---

U	U	A
---	---	---

U	A	G
---	---	---

 G | G | A | G | G | G | C | C | A |---3'

---C U A G G G C U C C G C U U G A C A A A U U U

A	U	A
---	---	---

G	G	G
---	---	---

A	G	G
---	---	---

G	C	C
---	---	---

A ---
pol reading frame Ile — Gly — Arg — Ala ---

劳氏肉瘤病毒的基因重叠

(四) RNA生物多样性的真正答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

1. 在遗传信息的翻译中起决定作用；
2. 有催化功能，现已发现多种核酶；
3. 参与转录产物的加工，如 UsnRNAr（剪接），gRNA（编辑）和 snoRNA（修饰）；
4. 对基因表达和细胞功能有调节作用，如反义RNA对转录和翻译的抑制作用，RNA干涉对翻译的抑制作用和对 mRNA 的降解作用等。RNA干涉在功能基因组研究和基因治疗等方面的应用价值引人关注。
5. 在进化中起重要作用。

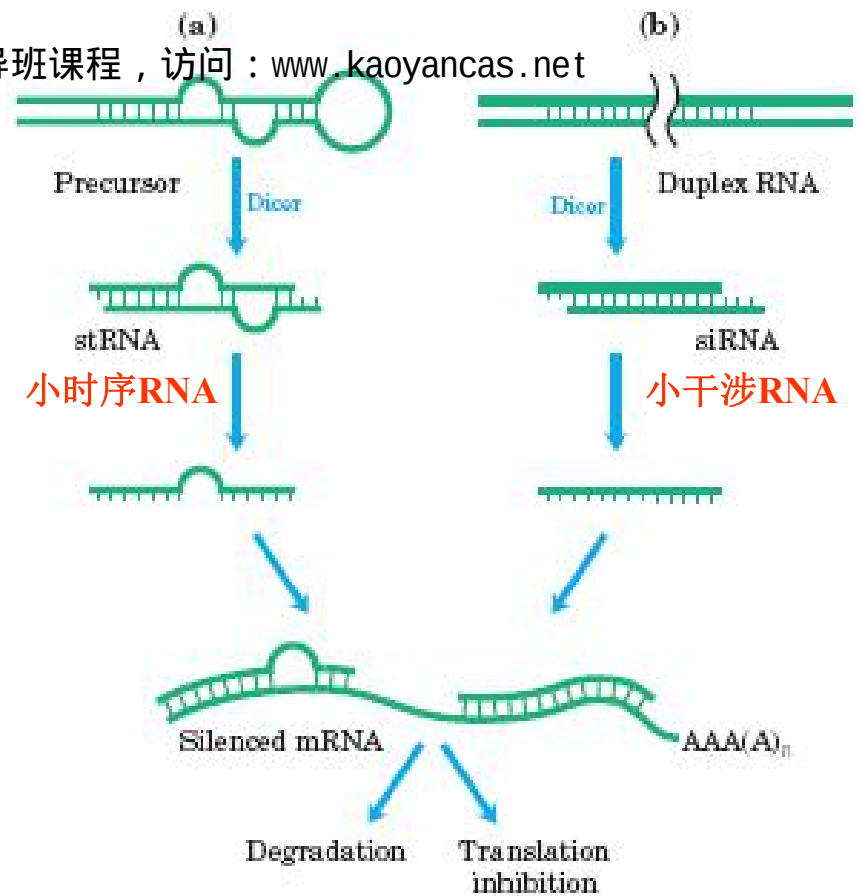


FIGURE 28-33 Gene silencing by RNA interference. (a) Small temporal RNAs (stRNAs) are generated by Dicer-mediated cleavage of longer precursors that fold to create duplex regions. The stRNAs then bind to mRNAs, leading to degradation of mRNA or inhibition of translation. (b) Double-stranded RNAs can be constructed and introduced into a cell. Dicer processes the duplex RNAs into small interfering RNAs (siRNAs), which interact with the target mRNA. Again, the mRNA is either degraded or its translation is inhibited.

(五) RNA的降解

tRNA和rRNA较稳定，更新率较低。

mRNA的降解是基因表达调节的一个重要环节，不同的mRNA半衰期相差很大，短的只有几分钟，但一些可合成组成性表达产物的mRNA，可以在多个细胞世代中稳定存在。脊椎动物mRNA的半衰期平均约为3h，细菌的约为1.5min。

原核生物的外切酶按5' → 3' 方向降解RNA的较多，细菌在几轮翻译后即开始降解mRNA。真核生物在poly(A)缩短后，脱去帽子结构，然后按5' → 3' 方向降解mRNA，也可以直接按3' → 5' 方向降解。

有关RNA降解的调控机制，有待进一步的研究。

四、在RNA指导下的RNA和DNA合成

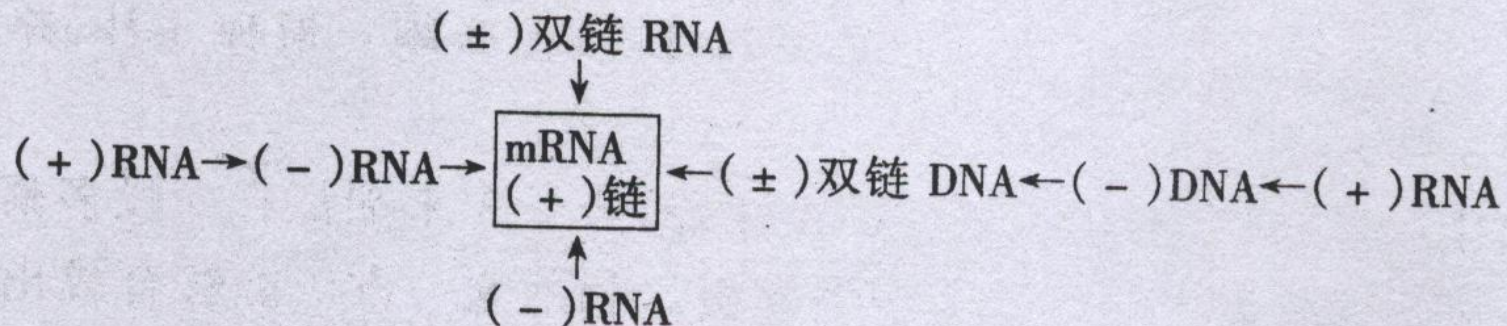
(一) 病毒RNA复制的主要方式

1. 病毒含正链RNA，先合成复制酶，复制后合成其他蛋白质进行装配。如噬菌体Q β 及灰质炎病毒。

2. 病毒含负链RNA和复制酶，先合成正链，再合成病毒蛋白和复制病毒RNA。如狂犬病毒。

3. 病毒含双链RNA和复制酶，如呼肠孤病毒。先复制正链，再翻译成病毒蛋白，最后合成负链，形成双链RNA分子。

4. 致癌RNA病毒：如白血病病毒和肉瘤病毒，先逆转录生成DNA前病毒，再转录、翻译。



(二) 噬菌体Q β RNA的复制

其RNA是单链，正链，侵入后立即翻译，构成复制酶，进行复制。翻译只产生复制酶的 β 亚基，与宿主的三个亚基（ α 为核糖体蛋白， γ 、 δ 均为肽链延长因子）构成完整的复制酶。先以正链为模板合成负链，再根据负链合成正链。合成负链时需要宿主的两个蛋白因子，合成正链则不需要，所以可大量合成。

表 36-8 Q β 复制酶亚基的性质和功能

亚基名称	相对分子质量	来源	功能
I (α)	65 000	宿主细胞核糖体的蛋白质 S ₁	与噬菌体 Q β RNA 结合
II (β)	65 000	噬菌体感染后合成	聚合反应中磷酸二酯键形成的活性中心
III (γ)	45 000	宿主细胞的 EF-Tu 因子	与底物结合, 识别模板并选择底物
IV (δ)	35 000	宿主细胞的 EF-Ts 因子	稳定 α 、 γ 亚基结构

病毒的蛋白质
合成受RNA高级
结构的调控

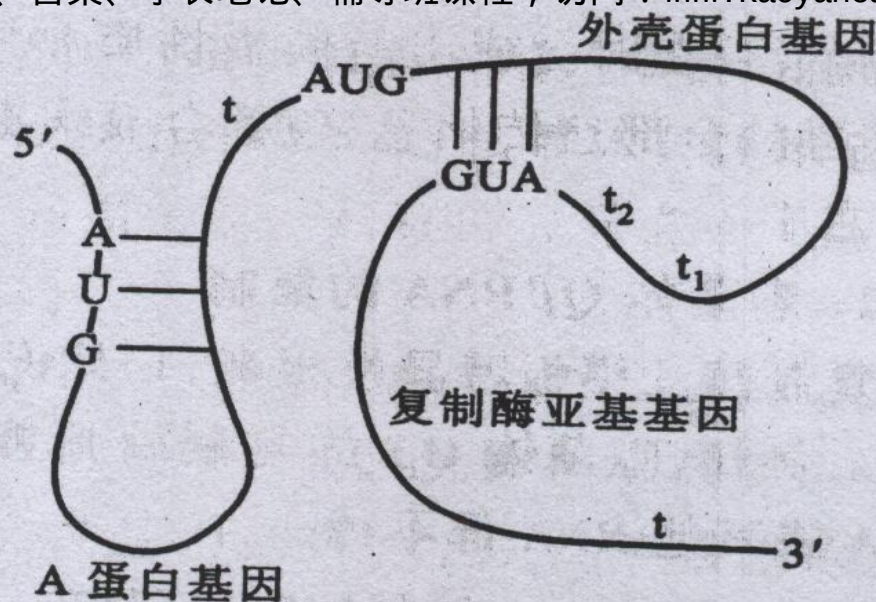


图 36-33 Q β RNA 翻译和复制的自我调节

A 蛋白基因和复制酶亚基基因的起始区可通过碱基配对形成双螺旋, AUG 是起始密码子; t 是终止位点。外壳蛋白基因有两个终止位点, t₁ 和 t₂。刚复制的 Q β RNA 可起动 A 蛋白的合成, 复制酶亚基的合成有赖于外壳蛋白的合成

(三) RNA的逆转录

高价值真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

1970年发现**放线菌素D**抑制某些RNA病毒的复制，说明病毒的复制**与DNA合成有关**，用**嘌呤霉素**抑制宿主的蛋白质合成，逆转录病毒仍可繁殖，说明**逆转录酶是由病毒合成的**，随后从病毒分离得到的逆转录酶能够**以RNA为模板**，**以dNTP为原料**，**合成RNA-DNA杂合链**，其**核糖核酸酶H**活力可以**水解RNA-DNA杂合链中的RNA链**，随后，在DND指导的DNA聚合酶作用下，**合成双链DNA分子**。

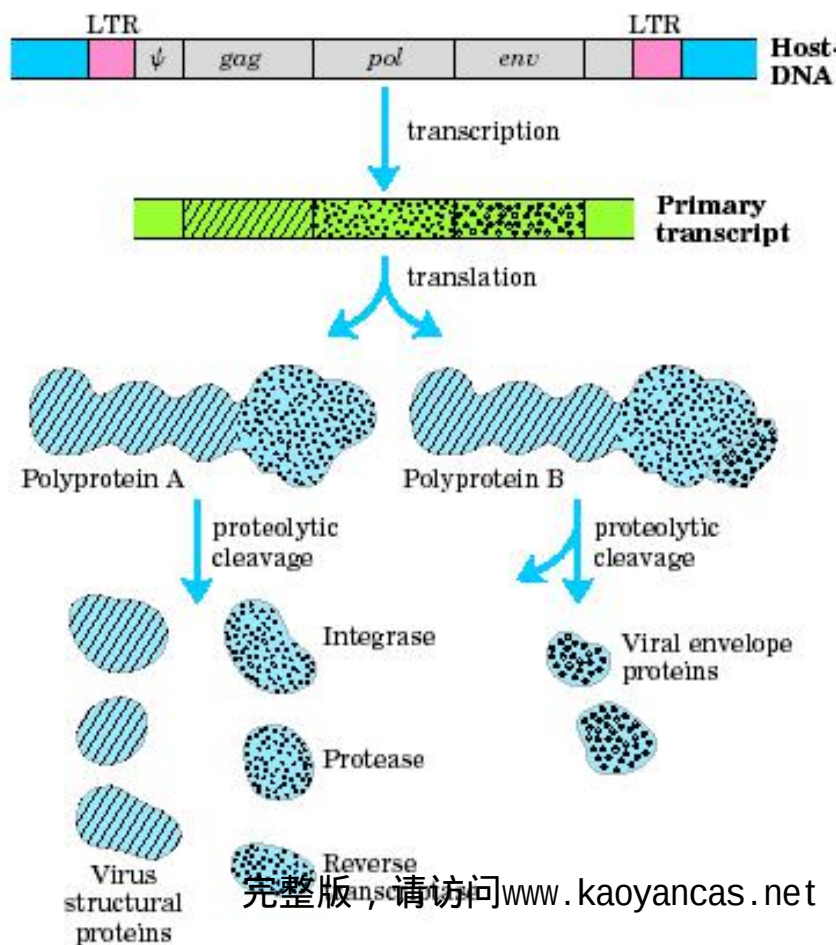


FIGURE 26-30 Structure and gene products of an integrated retroviral genome. The long terminal repeats (LTRs) have sequences needed for the regulation and initiation of transcription. The sequence denoted Ψ is required for packaging of retroviral RNAs into mature viral particles. Transcription of the retroviral DNA produces a primary transcript encompassing the gag, pol, and env genes. Translation (Chapter 27) produces a polyprotein, a single long polypeptide derived from the gag and pol genes, which is cleaved into six distinct proteins. Splicing of the primary transcript yields an mRNA derived largely from the env gene, which is also translated into a polyprotein, then cleaved to generate viral envelope proteins.

LTR：长末端重复序列，Gag：种群特异性抗原 (group specific antigen)，pol：聚合酶 (polymerase)，env：被膜蛋白 (envelope)， Ψ 是逆转录RNA包装为病毒所必需的。



FIGURE 26-31 Rous sarcoma virus genome. The *src* gene encodes a tyrosine-specific protein kinase, one of a class of enzymes known to function in systems that affect cell division, cell-cell interactions, and intercellular communication (Chapter 12). The same gene is found in

chicken DNA (the usual host for this virus) and in the genomes of many other eukaryotes, including humans. When associated with the Rous sarcoma virus, this oncogene is often expressed at abnormally high levels, contributing to unregulated cell division and cancer.

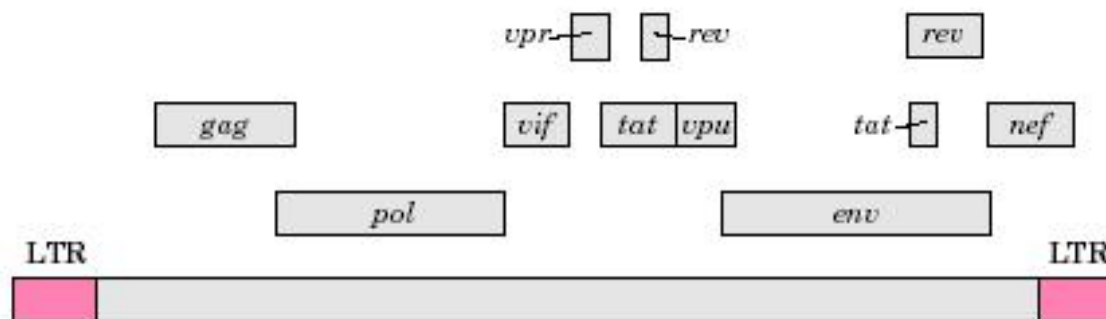


FIGURE 26-32 The genome of HIV, the virus that causes AIDS. In addition to the typical retroviral genes, HIV contains several small genes with a variety of functions (not identified here, and not all

known). Some of these genes overlap (see Box 27-1). Alternative splicing mechanisms produce many different proteins from this small (9.7×10^3 nucleotides) genome.

RNA

Reverse transcription



Linear DNA



Integration

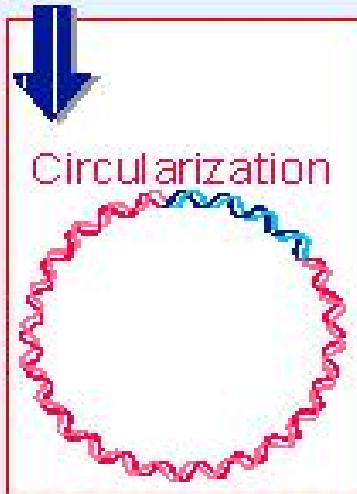


Provirus



Transcription

RNA



The retroviral life cycle proceeds by reverse transcribing the RNA genome into duplex DNA, which is inserted into the host genome, in order to be transcribed into RNA.

1

Budding initiates



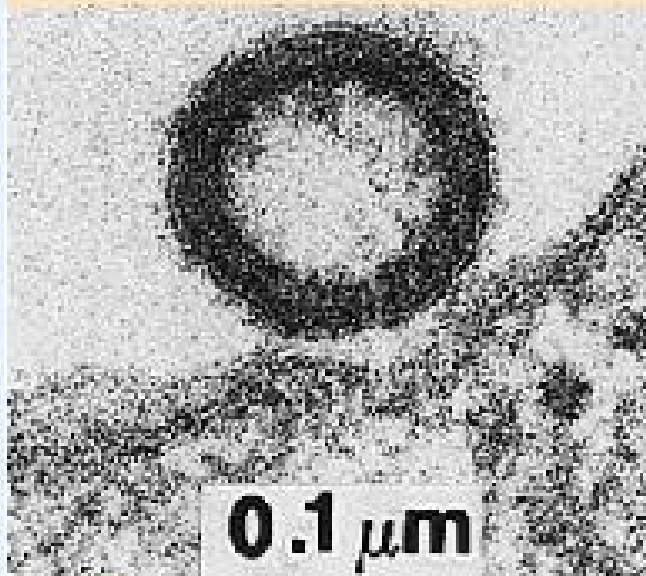
2

Bud elongates



3

Virus released



4

Virus matures



Retroviruses (HIV)
bud from the
plasma membrane
of an infected cell.

Retrovirus provides **plus strand** RNA

5' R U5 U3 R

高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

Primer tRNA anneals to binding site on retroviral RNA

5' R U5 U3 R 3'

Reverse transcriptase starts synthesis of **minus strand** DNA

Minus strand
3' 5'

Enzymes reaches end of template strand, generating strong stop minus DNA

Strong stop minus
3' 3'

5' terminal region of RNA strand is degraded

3' 5' 3'

New end

Single-stranded DNA R region pairs with 3' terminus in **first jump** to another retroviral RNA

Pairing

5' 3' 5'

Reverse transcriptase

5' 3' 5'

完整版，请访问www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

tRNA primer is removed

3' 5'

RNA is degraded, leaving fragments to prime DNA synthesis

3' 5'

Strong stop plus strand DNA is synthesized

3' 5' 5' 3'

Plus strand DNA is transferred to other end of minus strand in **second jump**

5' 3' 5' 3'

Plus strand DNA synthesis is completed

5' 3' 3' 5' 5' 3'

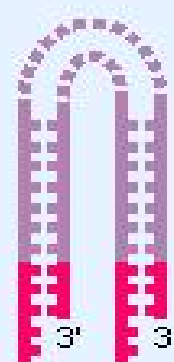
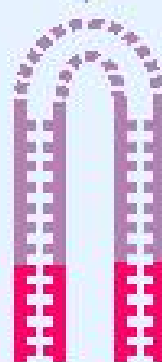
Minus strand DNA is completed

3' 5' 5' 3'

LTR LTR

1 Integrase generates 2 base recessed 3' ends in LTRs

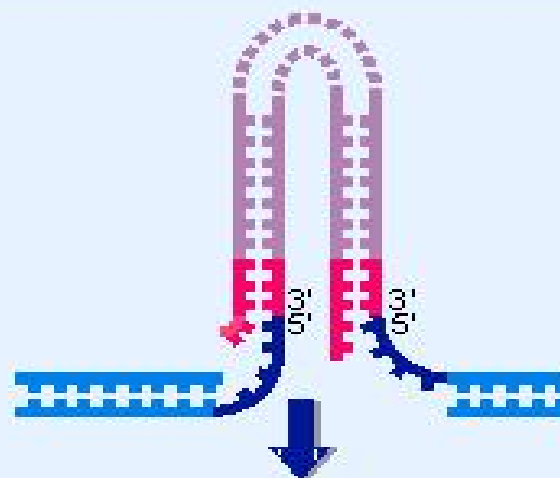
LTR



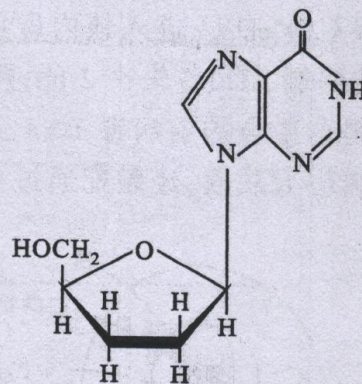
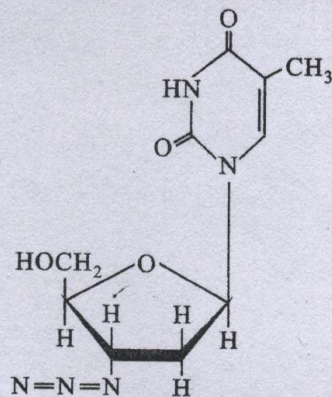
2 Integrase generates staggered ends in target DNA



3 Integrase links recessed 3' ends of LTR to staggered 5' ends of target



1. 逆转录作用是对中心法则的补充和修正；
2. 由逆转录作用生成的**互补DNA (cDNA)** **不含内含子**，可以有来构建真核生物的**cDNA文库**，真核生物有**3'poly(A)**，为cDNA文库的构建提供了方便；
3. 逆转录病毒可以引起多种疾病，**控制逆转录过程是治疗肿瘤和艾滋病等疾病的一种重要方法**，如叠氮双脱氧胸苷 (AZT) 和双脱氧肌苷 (DDI) 在体内转化为相应的三磷酸，抑制逆转录作用，对艾滋病有较好的疗效；
4. RT-PCR常用于**特定基因的克隆**；
5. 逆转录病毒经过改造可用作**基因工程的载体**。



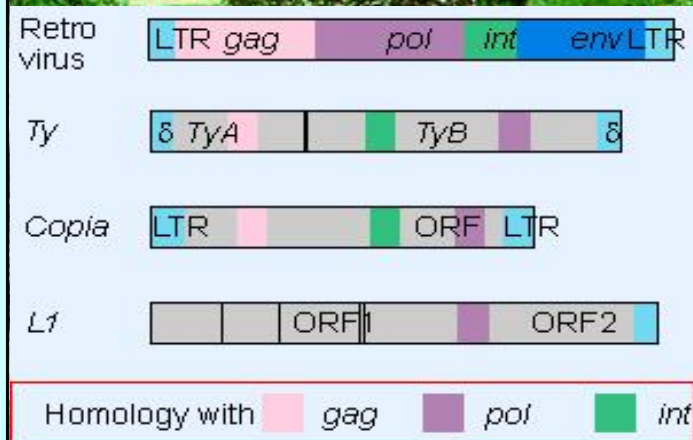
(三) 逆转座子的种类和作用机制

有一些转座子在转座过程中以RNA为中间体，称作逆转座子，其关键酶为逆转录酶 (revertranscriptase, RT) 和整合酶 (integraase, IN)。

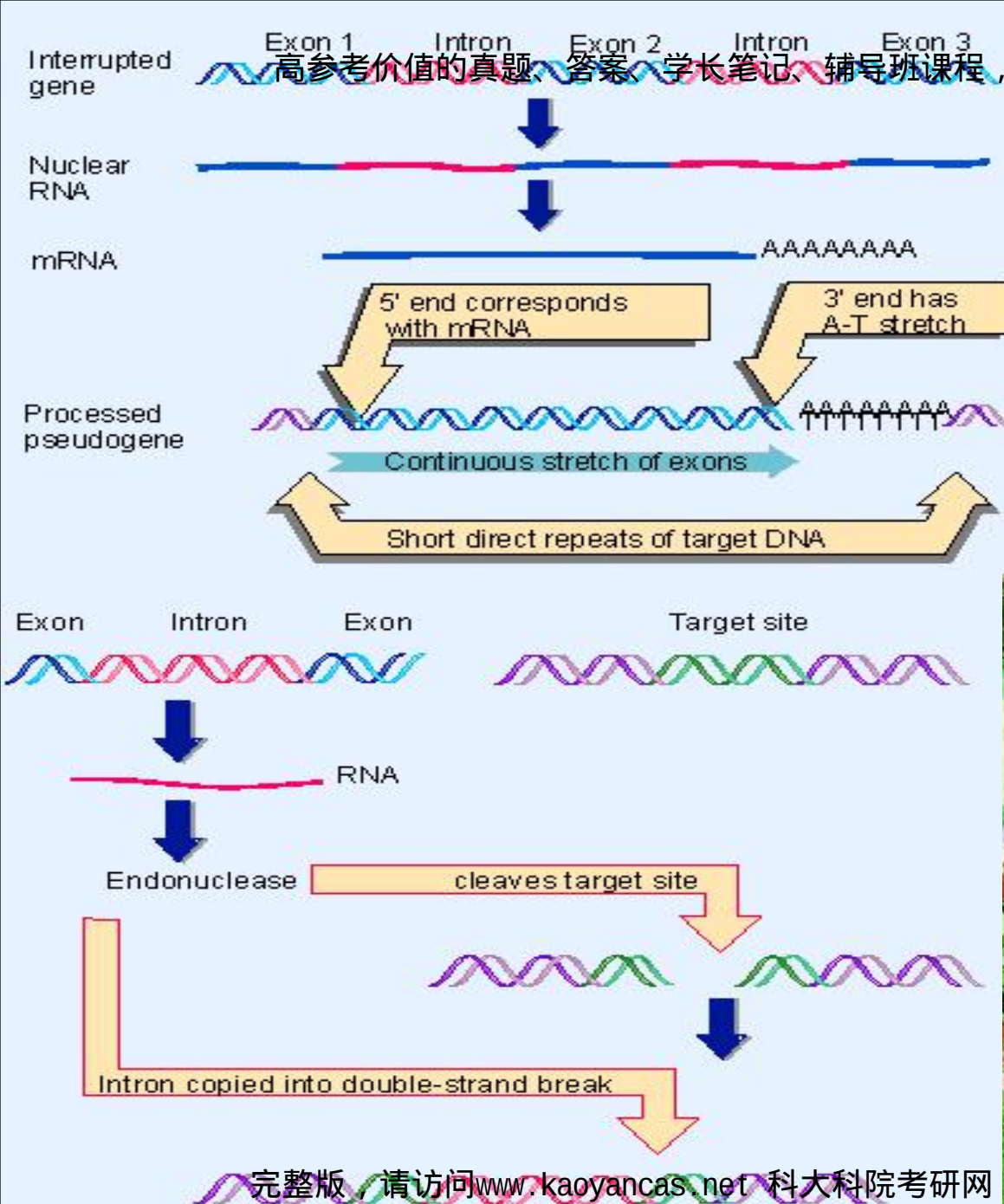
有一些逆转座子含有RT和IN，称作逆转录转座子，逆转录转座子又可分为两类，病毒超家族有长末端重复序列 (long terminal repeat, LTR)，但无被膜蛋白基因，如酵母的Ty因子，果蝇的copia等，非病毒超家族不具有LTR，但有3'poly(A)，如果蝇的I因子，哺乳类的长分散因子L1等，自身不编码逆转录酶的转座子，包括RNA聚合酶 II 转录物的逆基因和逆假基因，RNA聚合酶 III 形成的短分散因子 (short interspersed element, SINE)，其共同特点是无内含子，无重复末端，但有3'poly(A)。

表 23-7 反转录子分为病毒超家族和非病毒超家族

	病毒超家族	非病毒超家族
共同类型	Ty (酵母)	SINES B1/A1u (哺乳动物)
	Copia (果蝇)	Po1 III 转录的加工假基因
	LINES L1 (哺乳动物)	
末端	长末端重复序列	无末端重复序列
靶重复序列	4~6 bp	7~12bp
阅读框	反转录酶和/或整合酶	无 (不编码和转座有关的蛋白)
组成	可含内含子 (在亚基因组 mRNA 中被切除)	无内含子



B. Lewin: 《GENES》VI. 1997, Table 19.1



Pseudogenes could arise by reverse transcription of RNA to give duplex DNAs that become integrated into the genome.

An intron codes for an endonuclease that makes a double-strand break in DNA. The sequence of the intron is duplicated and then inserted at the break.

切除中间序列再连接形成AluDNA

由RNA聚合酶III催化的转录中止于Un，回折后An与Un及Tn配对，可以引发cDNA的合成。An, Un, Tn分别为多聚T，多聚U和多聚T。

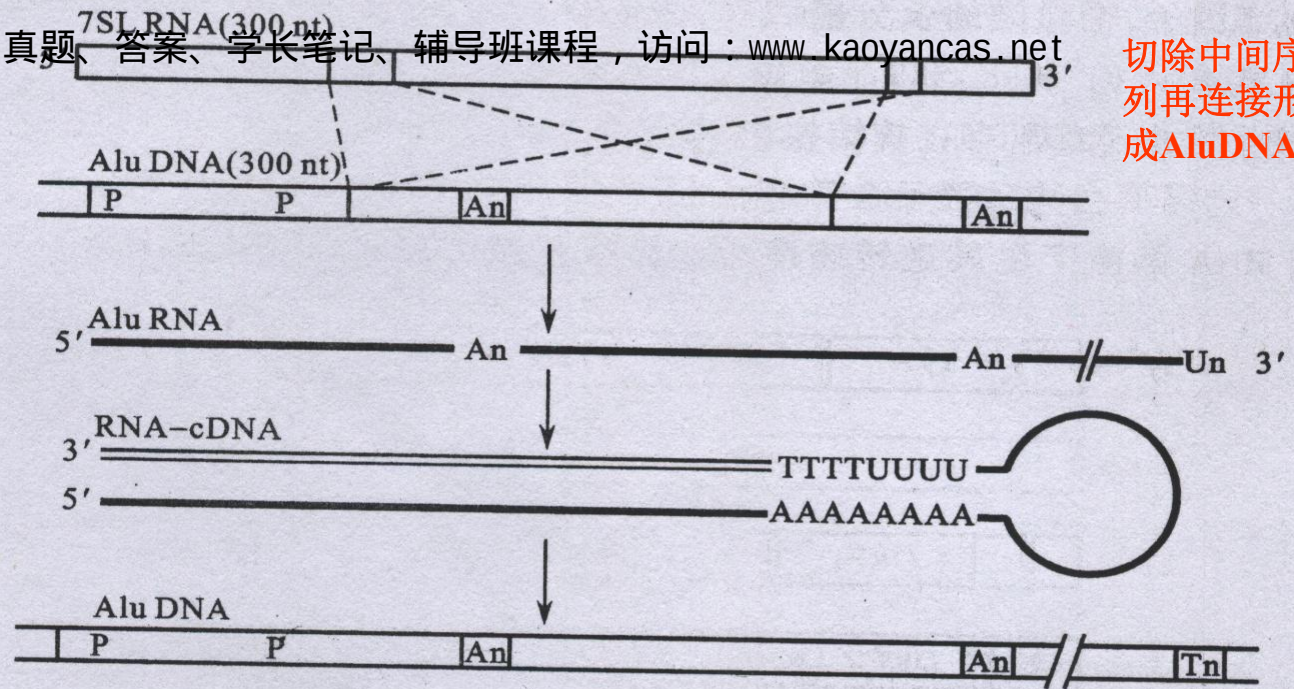


图 36 - 39 Alu 序列逆转座作用的一种可能方式

逆转座子的生物学意义
影响基因的表达；
介导基因的重排；
在生物进化中有重要意义。

基本要求

1. 掌握DNA指导下RNA的合成过程和有关的酶。 (重点)
2. 熟悉转录的调节控制机制 (含教材第39章后半部分)。
(重点)
3. 熟悉RNA的转录后加工。 (重点)
4. 掌握RNA指导下RNA和DNA的合成及其意义。 (重点)