



遗传学 (第3版)

第2章 遗传的细胞与分子基础

1. 细胞周期及染色体行为
2. 遗传物质的证明
3. 遗传物质的分子结构
4. DNA复制
5. 转录与翻译
6. 中心法则及其发展
7. 基因的概念及其发展



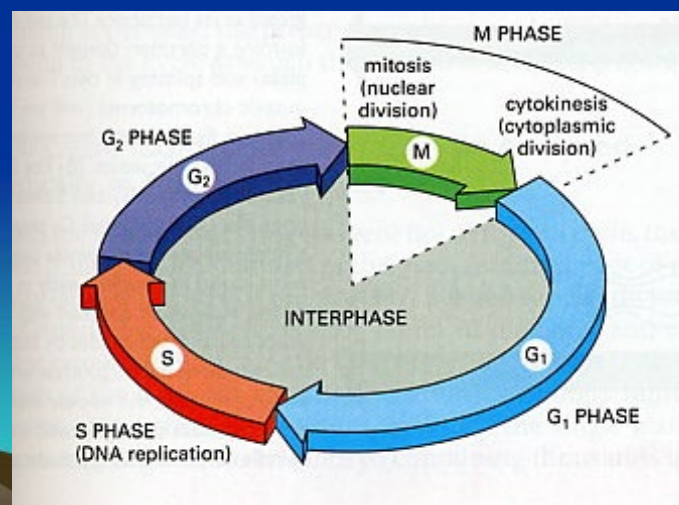
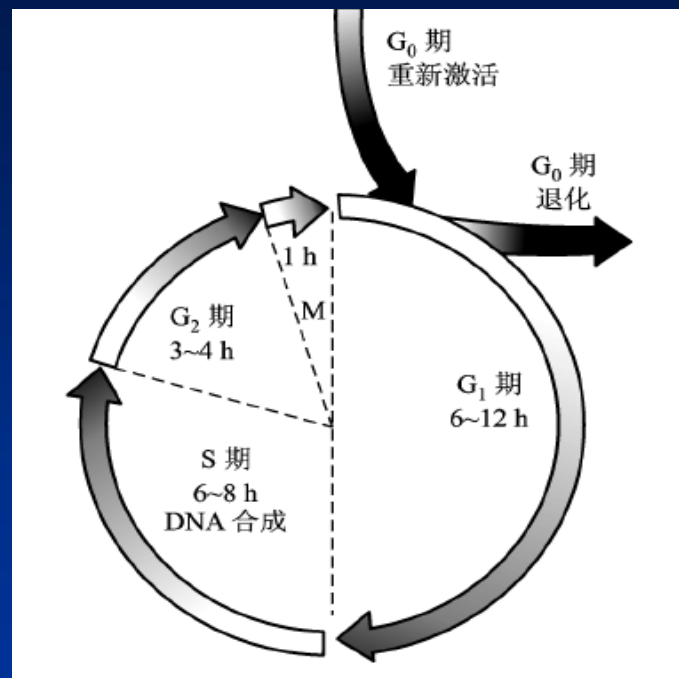


2.1 细胞周期及染色体行为

细胞周期 (cell cycle) 指由细胞分裂结束到下一次细胞分裂结束所经历的过程，所需的时间称细胞周期时间。

分为4个阶段：

- ① **G₁期** (gap1) 指从有丝分裂完成到DNA复制之前的间隙时间；
- ② **S期** (synthesis phase)，DNA复制时期；
- ③ **G₂期** (gap2) 指DNA复制完成到有丝分裂开始之前的一段时间；
- ④ **M期** 又称D期 (mitosis, division)，细胞分裂开始到结束。





Biochemical events of cell cycle

G1 phase: Synthesize proteins (RNA) for the DNA replication. Uncondense chromatin.

S phase: Synthesis of DNA and Histones

G2 phase: Synthesis of a few proteins (RNA)

M phase: Mitosis and meiosis and cytokinesis



Chromosome condense **Mitotic spindle** **Contractile ring**



Two daughter cells





2.1.2 染色质与染色体

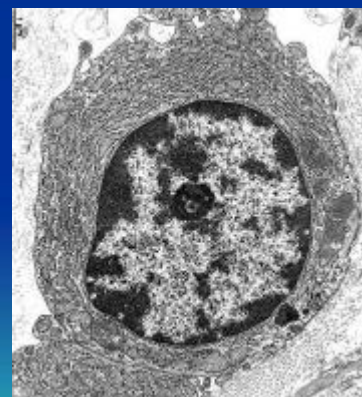
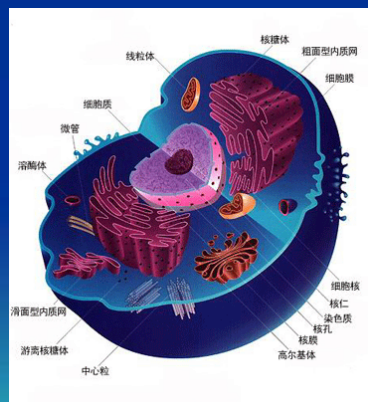
染色质 (chromatin) 是在间期细胞核内由DNA、组蛋白、非组蛋白和少量RNA组成的，易被碱性染料着色的一种无定形物质。

细胞分裂间期: 染色质是由染色质丝 (或称核蛋白纤维丝) 组成的网状结构。

细胞分裂期: 核蛋白纤维丝经螺旋化形成具有一定形态特征的染色体

间期染色质分为两种类型:

常染色质 (euchromatin) 和异染色质 (heterochromatin)。



常染色质 (核内浅染部分) 和异染色质 (核内深染部分)



常染色质

- 构成染色质的主要成分，染色较浅且着色均匀。在细胞分裂间期呈高度分散状态，伸展而折叠疏松。其DNA包装比为1：2000~1：1000，即DNA实际长度为染色质纤维长度的1000~2000倍
- 其DNA复制发生在细胞周期的S期的早期和中期
- 常染色质主要由单一序列和中度重复序列DNA构成
- 处于常染色质状态只是基因转录的必要条件。随着细胞分裂的进行，这些染色质区段由于逐步的螺旋化，从而染色逐渐加深。

异染色质

- 指间期细胞核中，折叠压缩程度高，处于聚缩状态，碱性染料染色时着色较深的染色质组分。
- 位于其中的基因没有转录活性，并且可以抑制插入DNA片段的表达
 - (1) 组成型异染色质(constitutive heterochromatin)
 - (2) 兼性异染色质(facultative heterochromatin)



组成型异染色质 (constitutive heterochromatin) :

即通常所指的异染色质，一种永久性异染色质，在染色体上的位置较恒定，间期保持螺旋化状态，染色很深，在光学显微镜下可以鉴别。

在染色体上的分布因不同物种而异
集中分布于染色体的着丝粒周围



兼性异染色质 (facultative heterochromatin) :

又称X性染色质。它起源于常染色质，具有常染色质的全部特点和功能，其复制时间、染色特征与常染色质相同。但在特殊情况下，在个体发育的特定阶段，它可以转变成异染色质，一旦发生这种转变，则获得了异染色质的属性，如发生异固缩、迟复制、基因失活等变化。例人类X染色体失活。

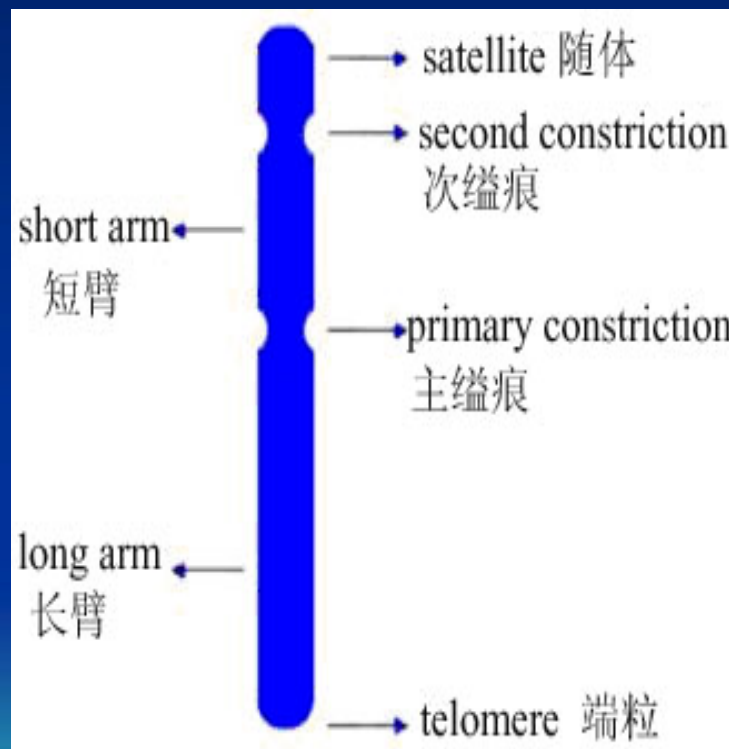


(1) 染色体的形态

染色体 (chromosome)：是染色质在细胞分裂过程中经过紧密缠绕、折叠、凝缩、精巧包装而形成的，具有固定形态的遗传物质的存在形式

染色质与染色体是在细胞周期不同的功能阶段可以相互转变的形态结构。

每一物种的染色体都具有特定的形态特征，其中以有丝分裂中期和早后期表现得最为明显和典型。

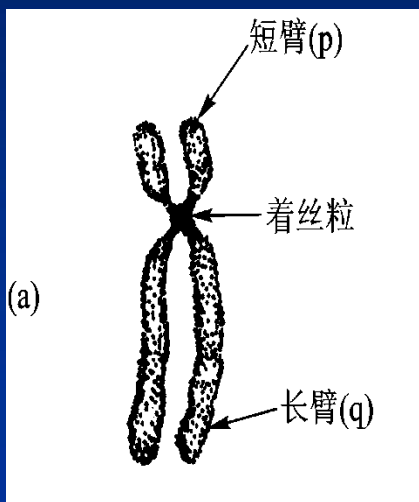


染色体各部分的名称

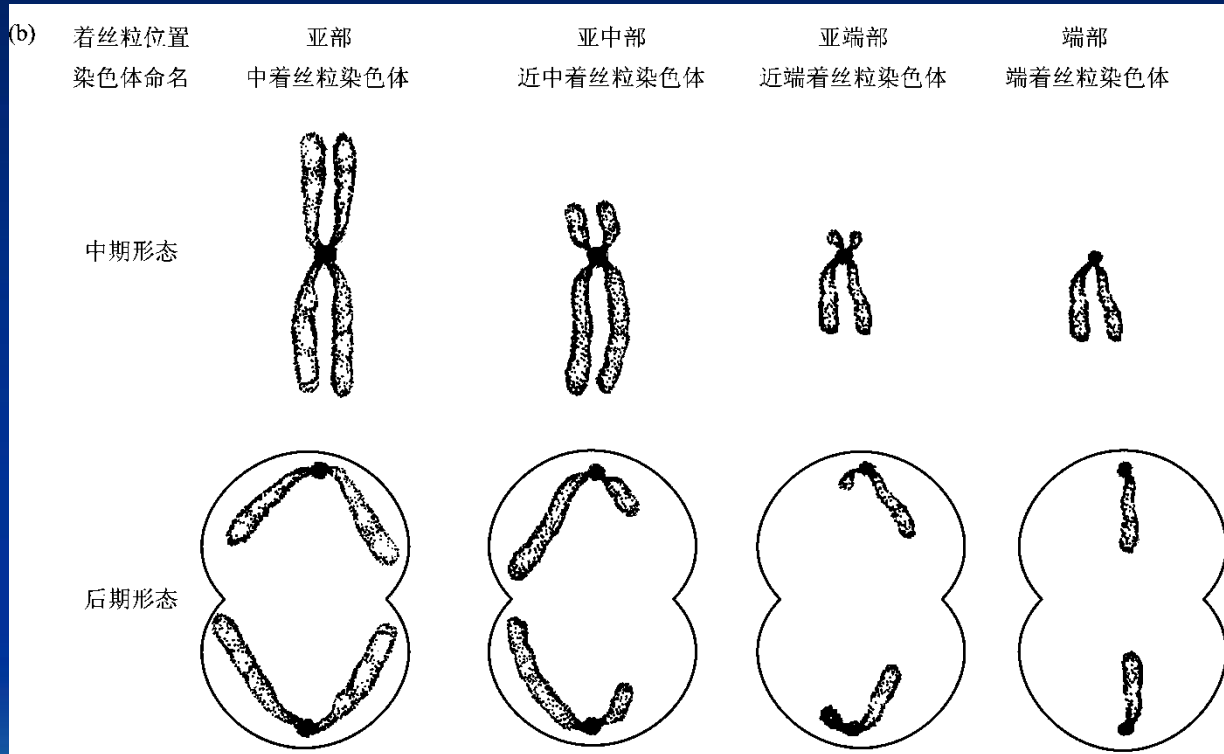


染色体的着丝粒位置恒定

着丝粒的位置直接关系染色体的形态特征。



(a) 染色体模式图



(b) 着丝粒位置及染色体命名

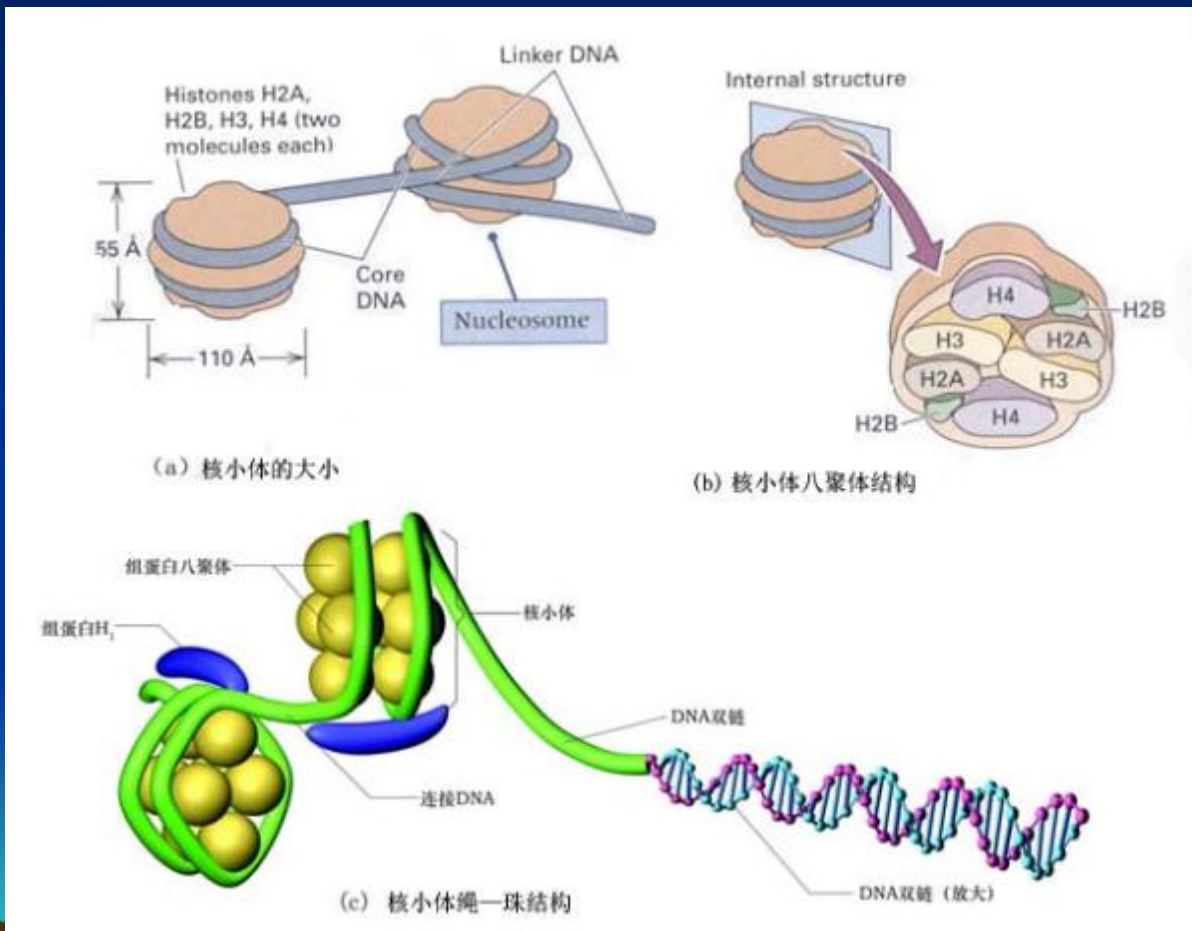


(2) 染色体的结构

核小体 (nucleosome) 是构成染色质的基本结构单位，使染色质中DNA、RNA和蛋白质组成一种致密的结构。

核小体由一个组蛋白八聚体(H2A、H2B、H3和H4各两个分子)及缠绕在该核心表面的200个碱基对左右的DNA。DNA双螺旋在组蛋白八聚体分子的表面盘绕1.75圈，其长度约为146bp，负超螺旋；

组蛋白的核心颗粒为扁球形：5.5 nm×11 nm。相邻的两个核小体由约55 bp的DNA连接，称为连接区DNA，在连接区部位结合有一个组蛋白分子H1。





核小体的形成是染色体中DNA压缩的第一步。

由直径11 nm串联排列的核小体进

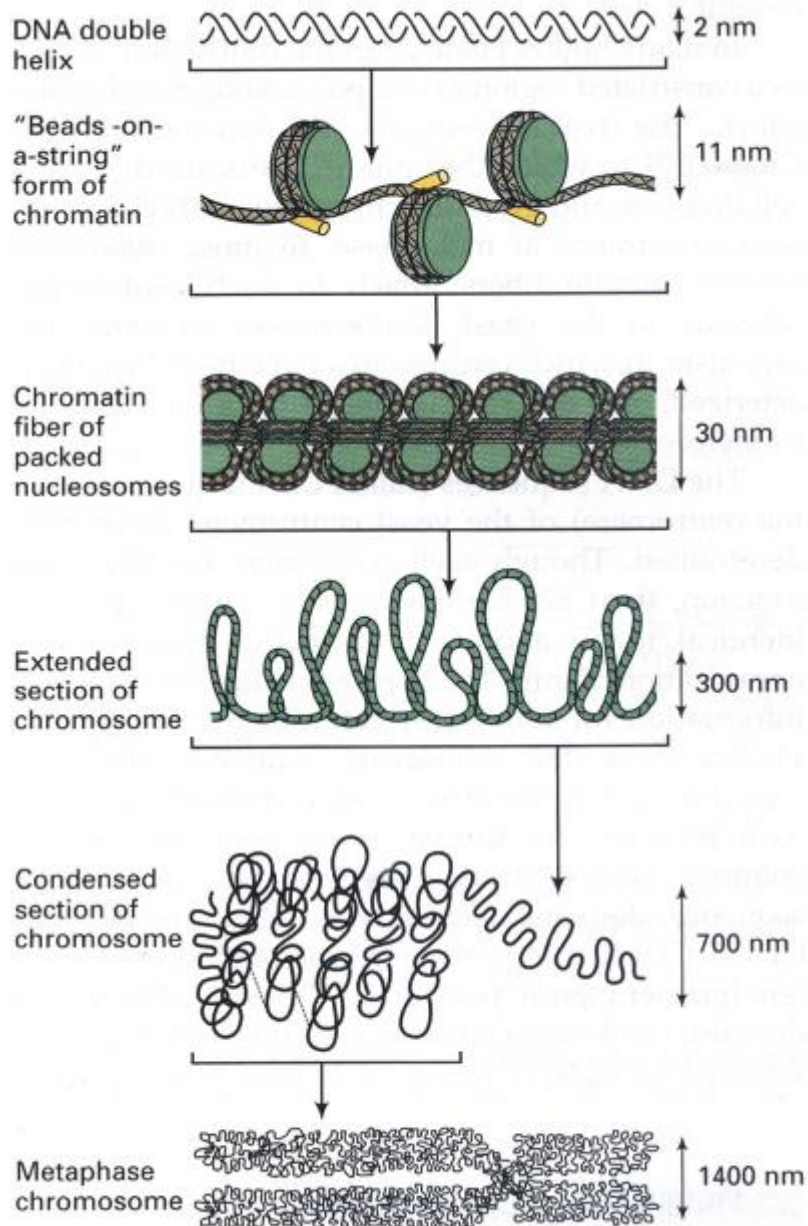
DNA→核小体→11nm染色质丝→染色体

总压缩比： $7 \times 6 \times 40 \times 5 = 8400$ 倍

90 kb，约0.5 μ m。

带有侧环的非组蛋白骨架进一步形成直径为700 nm的螺旋，构成染色单体。再由两条姊妹染色单体形成中期染色体，其直径为1400 nm

从DNA到染色体



(3) 染色体的数目

各种生物的染色体数目是恒定的，其在体细胞中成对，在性细胞中成单。常以 $2n$ 表示体细胞的染色体数目，用 n 表示性细胞的染色体数目。

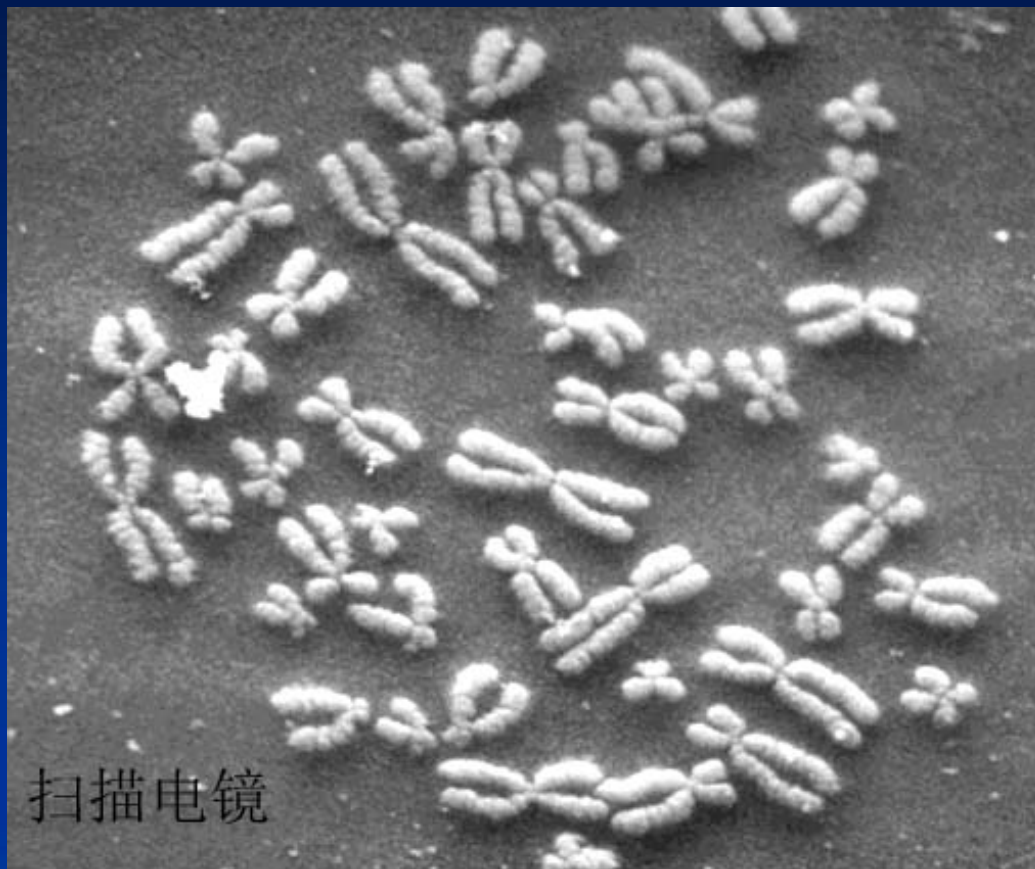
表 2-1 一些生物的染色体数目

生 物	二倍体数目($2n$)	生 物	二倍体数目($2n$)
人类(<i>Homo sapiens</i>)	46	拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	10
黑猩猩(<i>Pan troglodytes</i>)	48	水稻(<i>Oryza sativa</i>)	24
大鼠(<i>Rattus norvegicus</i>)	42	玉米(<i>Zea mays</i>)	20
小鼠(<i>Mus musculus</i>)	40	普通小麦(<i>Triticum aestivum</i>)	$2n = 6X = 42$
中华大蟾蜍(<i>Bufo bufo gargarizans</i>)	22	甘蓝(<i>Brassica oleracea</i>)	18
秀丽隐杆线虫(<i>Caenorhabditis elegans</i>)	雄 11 雌 12	小黑麦(<i>Triticale</i>)	$2n = 8X = 56$
家蚕(<i>Bombyx mori</i>)	56	萝卜甘蓝(<i>Raphano brassica</i>)	36
黑腹果蝇(<i>Drosophila melanogaster</i>)	8	酿酒酵母(<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	17
斑马鱼(<i>Danio rerio</i>)	50	粗糙脉孢菌(<i>Neurospora crassa</i>)	7

单倍体数目(n)



核型(Karyotype)

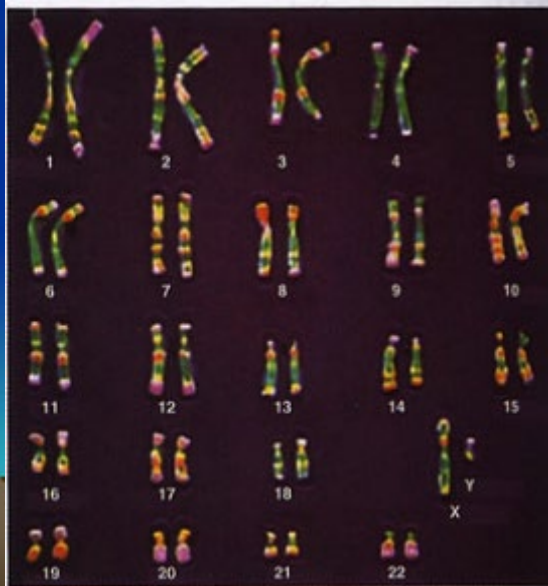
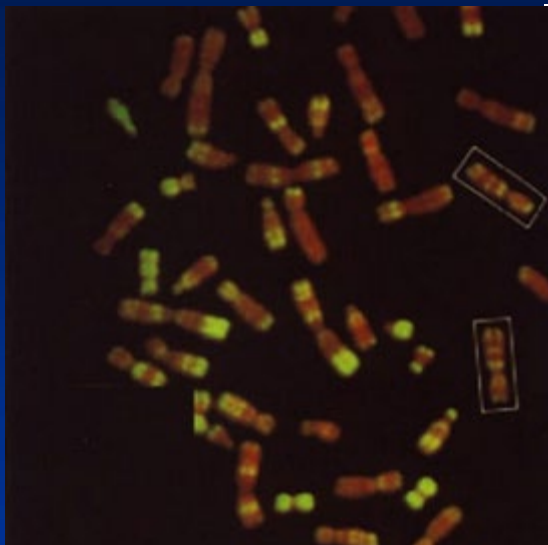


扫描电镜

核型(Karyotype): 染色体组在有丝分裂中期的表型, 包括染色体数目、大小、形态特征等。核型是物种特异的。



人细胞的染色体组和核型





端粒：是真核生物染色体臂末端的特化部分。端粒由高度重复的DNA短序列串联而成，在进化上高度保守，不同生物的端粒序列都很相似，人的序列为TTAGGG。端粒起到细胞分裂计时器的作用，端粒核苷酸每复制一次减少50~100 bp，其复制过程要靠具有反转录酶性质的端粒酶（telomerase）来完成。端粒对于真核生物线性染色体的正确复制是必需的。端粒丢失或端粒酶失活可能在细胞衰老中起作用。

端粒的功能：

- 维持染色体的稳定性
- 完成染色体完整的复制
- 防止染色体末端被核酸酶降解
- 防止染色体末端融合



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2009

"for the discovery of how chromosomes are protected by telomeres and the enzyme telomerase"



伊丽莎白·布莱克本

卡罗尔·格雷德

杰克·绍斯塔克

Elizabeth H. Blackburn

Carol W. Greider

Jack W. Szostak

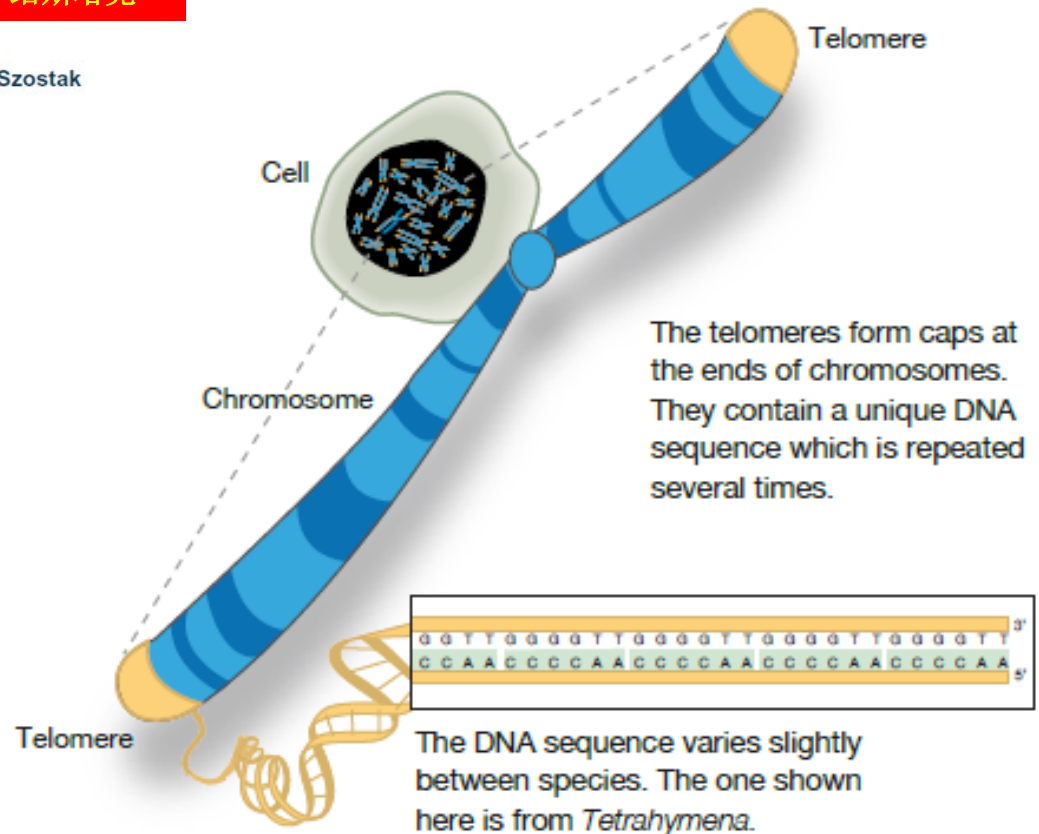
The Telomere - Function and Synthesis

1. The mysterious telomere

The telomeres appear to protect the chromosomes from damage. But how?

Telomere = Greek for "end" (*telos*) and "part" (*meros*)

这3位科学家的发现解决了一个生物学的重要课题：即染色体在细胞分裂的过程中是怎样实现完全复制的，同时还能受到保护不至于发生降解





染色体末端复制问题?

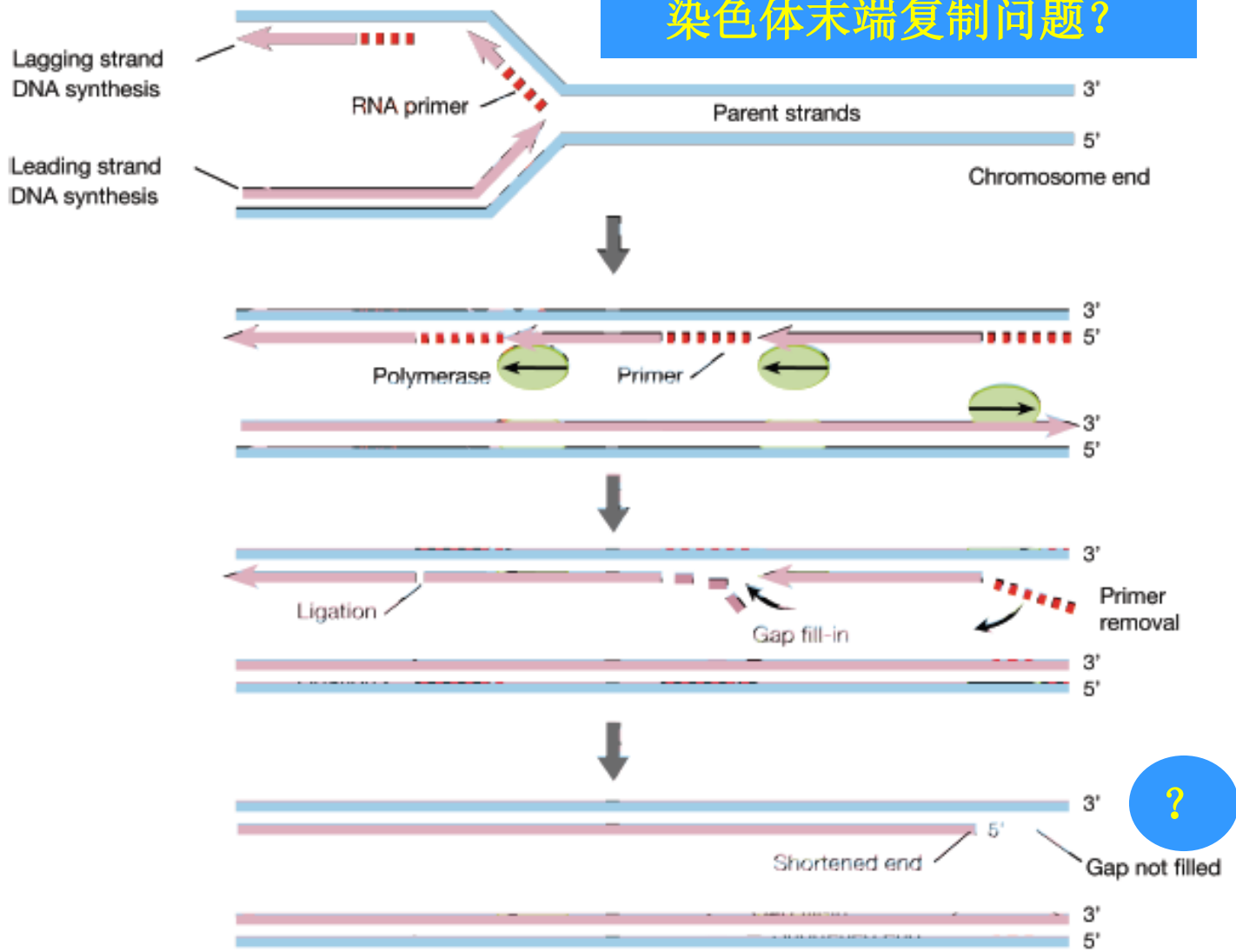


Figure 1. The end-replication problem. Copying of the lagging strand of a linear DNA molecule by DNA polymerase occurs in a stepwise fashion dependent on an RNA primer that is subsequently degraded. The gap is filled-in and ligated to produce an intact DNA molecule. At the very end, DNA polymerases are not able to fill the gap with the result that the end will become shorter upon each round of replication.





2. Telomere function discovered:
Telomere DNA protects
the chromosomes

Chromosomes with telomeres
Tetrahymena
– a single-cell organism
that lives in water

Telomere DNA

Artificial
minichromosomes

Yeast cell

Yeast cell

没有端粒的人造小染色体被引入酵母细胞。
这些小染色体没有被保护而受到损伤、降解。

从四膜虫中纯化的端粒DNA，与人造小染色体
连接并引入酵母细胞。带有端粒DNA的人造小
染色体被保护，防止了降解，而仍然保持完整。

Figure 2. The DNA end-sequence of linear DNA molecules from *Tetrahymena* added to artificial minichromosomes allows their long-term stable maintenance in yeast. Conservation of the structure and function of chromosomal termini between very distant species is striking.



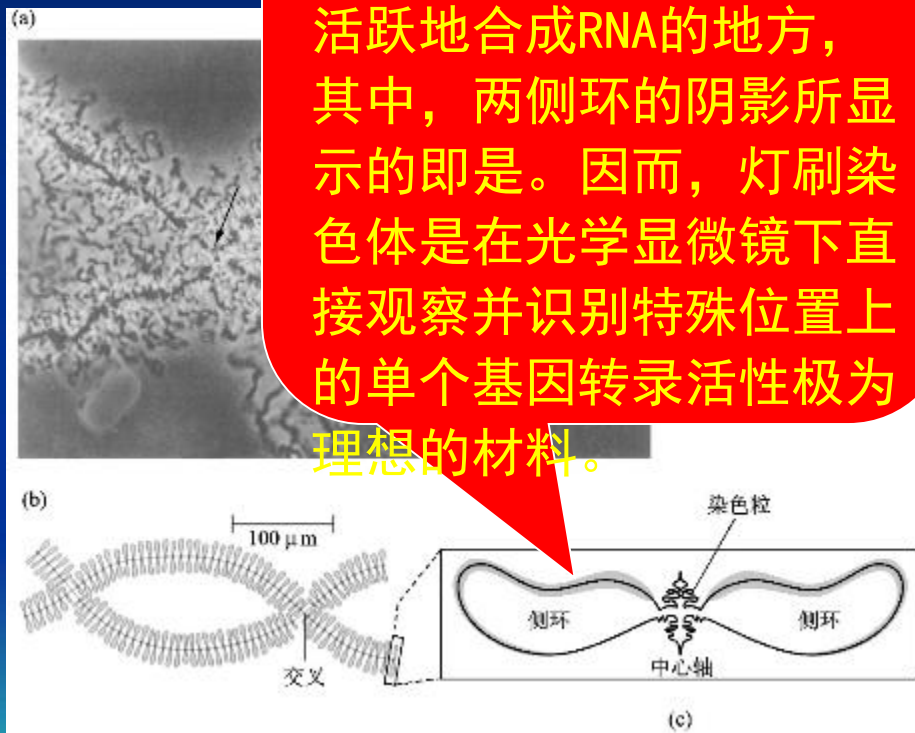
用于遗传学分析的特殊染色体

动物卵母细胞中的灯刷染色体 (lampbrush chromosome) 双翅目昆虫的幼虫中所见的多线染色体

①灯刷染色体

一类形态特殊的巨大染色体

1882年，Flemming观察美西螈卵巢组织切片时首次发现。灯刷染色体是未成熟的卵母细胞进行第一次减数分裂停留在双线期（可持续数月）的染色体。可在光学显微镜下看到酷似20世纪早中期用于清洁煤油灯灯罩的灯刷而得名。

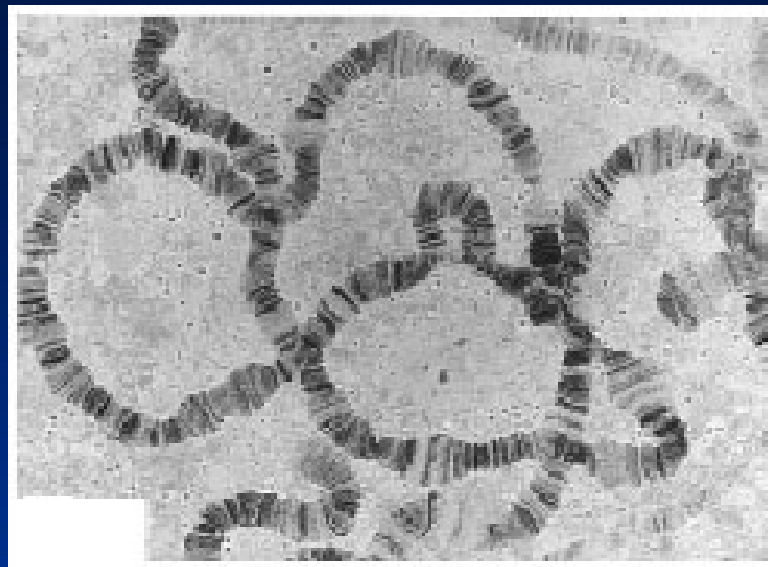


染色粒中的DNA是不活动的，但侧环的DNA区域是活跃地合成RNA的地方，其中，两侧环的阴影所显示的即是。因而，灯刷染色体是在光学显微镜下直接观察并识别特殊位置上的单个基因转录活性极为理想的材料。



▲ ②多线染色体 1881年由意大利细胞学家 Balbiani发现，存在于双翅目昆虫幼虫的唾腺、气管、消化管和马尔比基氏管。

例如果蝇幼虫唾腺细胞中的唾腺染色体。由于染色体反反复复进行核内复制，而核或细胞不分裂，由很多纵向密集在一起的染色丝束集在一起，若染色体进行10次复制，则可形成 $2^{10} = 1024$ 条染色单体



而且，在唾腺细胞中进行了同源染色体配对，同源染色体两成员之间如有不同，就很容易识别。唾腺染色体总处在前期状态，螺旋化程度低，比相应正常的体细胞染色体要长几百倍；另一重要特点是具有明暗相间的带纹（bands），在果蝇唾腺染色体组中，约有5000条带和5000条间带。在唾腺染色体上带纹有粗有细，带纹数目和形态、分布特征各不相同。带纹的排列和次序一般在同一个种内一致，在不同种内则表现不同。当染色体发生结构变异时，带纹也就随着出现不同的排列。所以检查带纹是研究果蝇染色体结构变异的一个重要方法。



2.1.3 染色体在细胞分裂中的行为

在细胞周期中，细胞分裂期：细胞核分裂和胞质分裂两个主要过程。染色体在有丝分裂（mitosis）和减数分裂（meiosis）这两种分裂方式中的行为是有所不同的。

▲ 1) **有丝分裂**又称为间接分裂（indirect division），一般发生在体细胞中，与细胞的增殖和个体的生长发育密切相关。

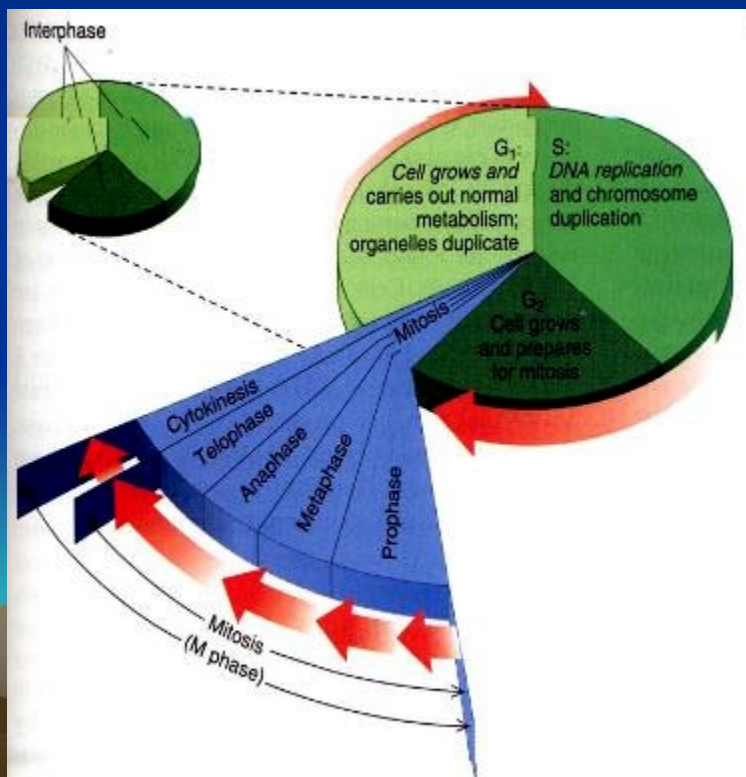
有丝分裂是一个连续的过程，根据染色体形态的变化特征，可将其分为4个阶段：

前期（prophase）

中期（metaphase）

后期（anaphase）

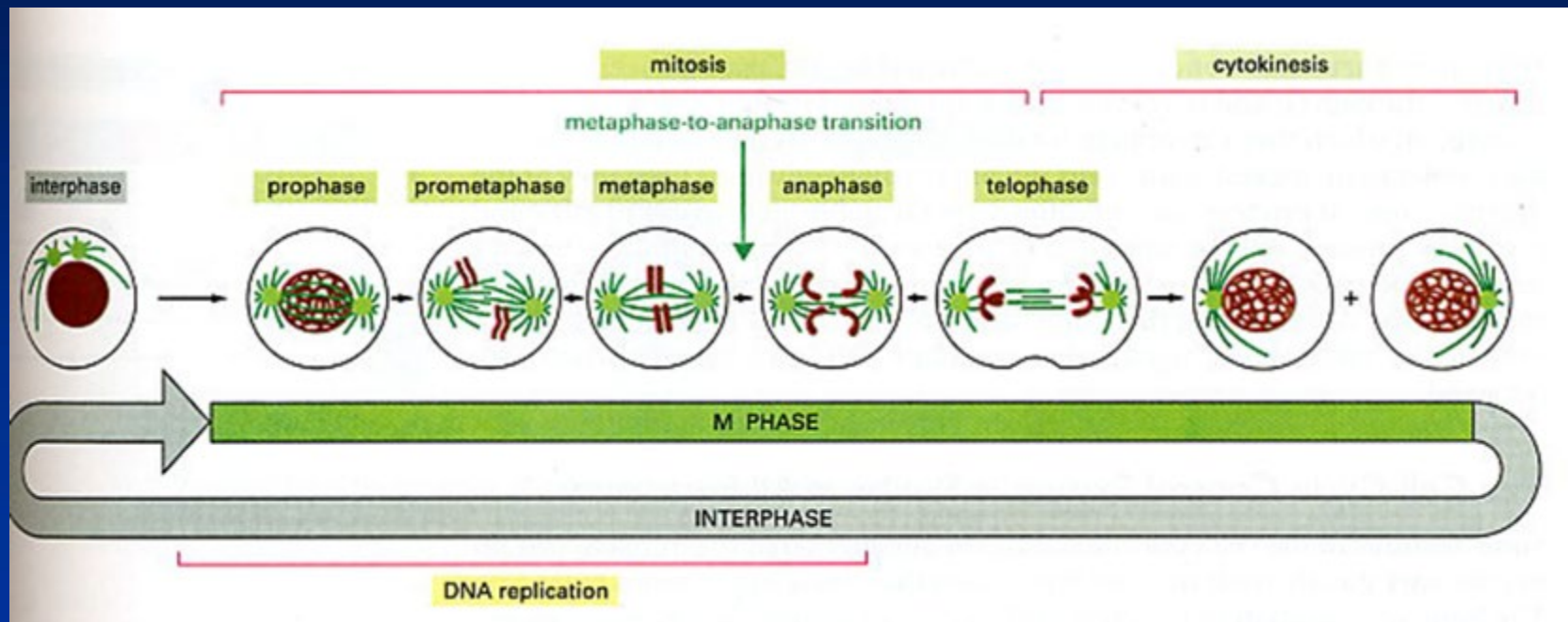
末期（telophase）





武汉大学

Wuhan University





武汉大学

Wuhan University

有丝分裂





有丝分裂的主要特点：细胞分裂一次，染色体复制一次，遗传物质均分到两个子细胞中。

染色体在有丝分裂过程中的变迁是：从间期的S期→前期→中期，每条染色体具有两个染色单体（由两条完整的双链DNA分子所组成）。从后期→末期→下一个细胞周期的间期的G1期，在这些阶段中，所谓的染色体实质上只有一个染色单体（一条DNA双链）。

有丝分裂的遗传学意义在于：一个细胞产生两个子细胞，各具有与亲代细胞在数目和形态上完全相同的染色体。在分裂中有规律地分配到了两个子细胞核中。因此，**有丝分裂使染色体精确地分配到子细胞，使子细胞含有与母细胞相等的遗传信息。**



▲ 2) **减数分裂** (meiosis) 是在配子形成过程中的成熟期进行的, 包括两次连续的核分裂而染色体只复制一次, 每个子细胞核中只有单倍数的染色体的细胞分裂形式。

两次连续的核分裂分别称为第一次减数分裂 (或减数分裂I, meiosisI) 和第二次减数分裂 (或减数分裂II, meiosisII)。

在两次减数分裂中都能区分出前期、中期、后期和末期。**减数分裂I**导致染色体的数目从二倍体到单倍体的减少, **减数分裂II**导致姊妹染色单体的分离。

结果经两次减数分裂而产生的4个细胞核中都只有一套完整的单倍体基因组。在大多数情况下, 减数分裂伴随着胞质分裂, 所以一个二倍体细胞经过减数分裂产生4个单倍体细胞。



武汉大学

Wuhan University

减数分裂





减数分裂的遗传学意义

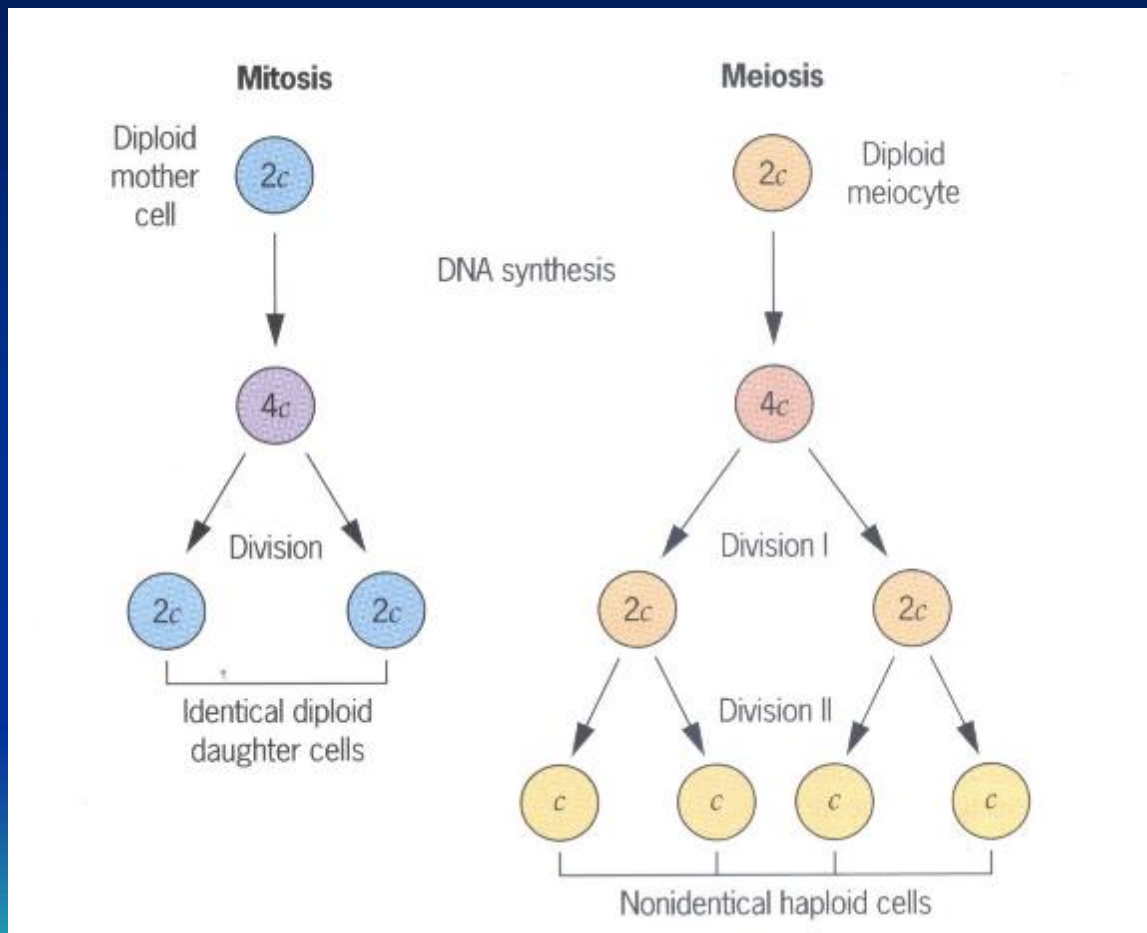
① 只有一个细胞周期，却有两次连续的核分裂。DNA只复制一次（间期S期），细胞分裂两次（减数分裂 I、II）。

② “减数”并不是随机的。实质上是配对的同源染色体的分开。这是使有性生殖的生物保持种族遗传物质（染色体数目）恒定性的机制；同源染色体的分离决定了等位基因的准确分离，为非同源染色体随机重组提供了条件。

③ 在粗线期，非姊妹染色单体间有可能发生对等片段的交换。发生过交换的位置在双线期可见交叉。因此，遗传物质间的交换在先，细胞学上可见的交叉在后。故交叉是交换的有形结果。分开来的染色体不再是联会前的染色体，由于交换事件的发生，导致遗传物质的非随机重组，增加了遗传物质的变异性。



有丝分裂和减数分裂的比较





2.1.4 遗传的染色体学说

Sutton以及Boveri 1902 -1903年间首先提出：

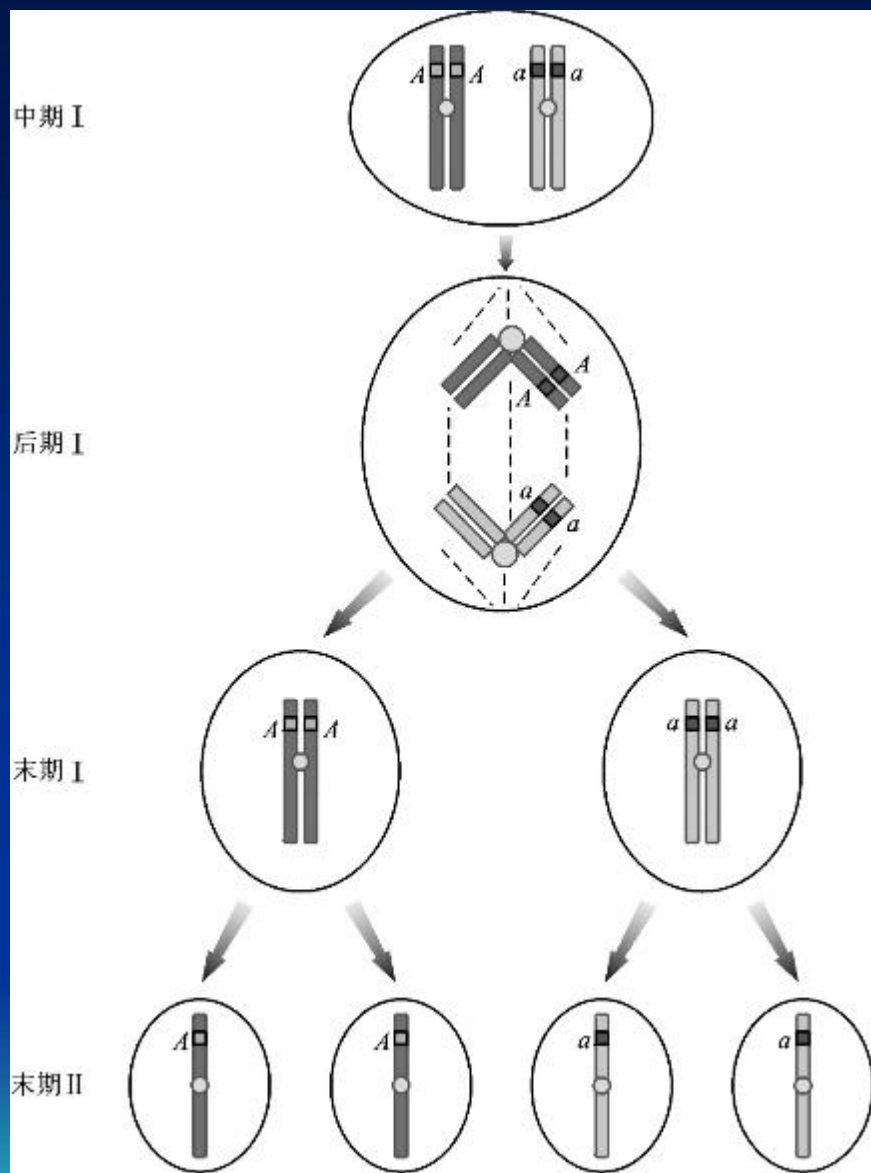
遗传的染色体学说（chromosome theory of inheritance）

推测：“父本和母本染色体的联会配对以及随后通过减数分裂的分离构成了孟德尔遗传定律的物质基础。”

Sutton提出孟德尔的遗传因子是由染色体携带的，因为：

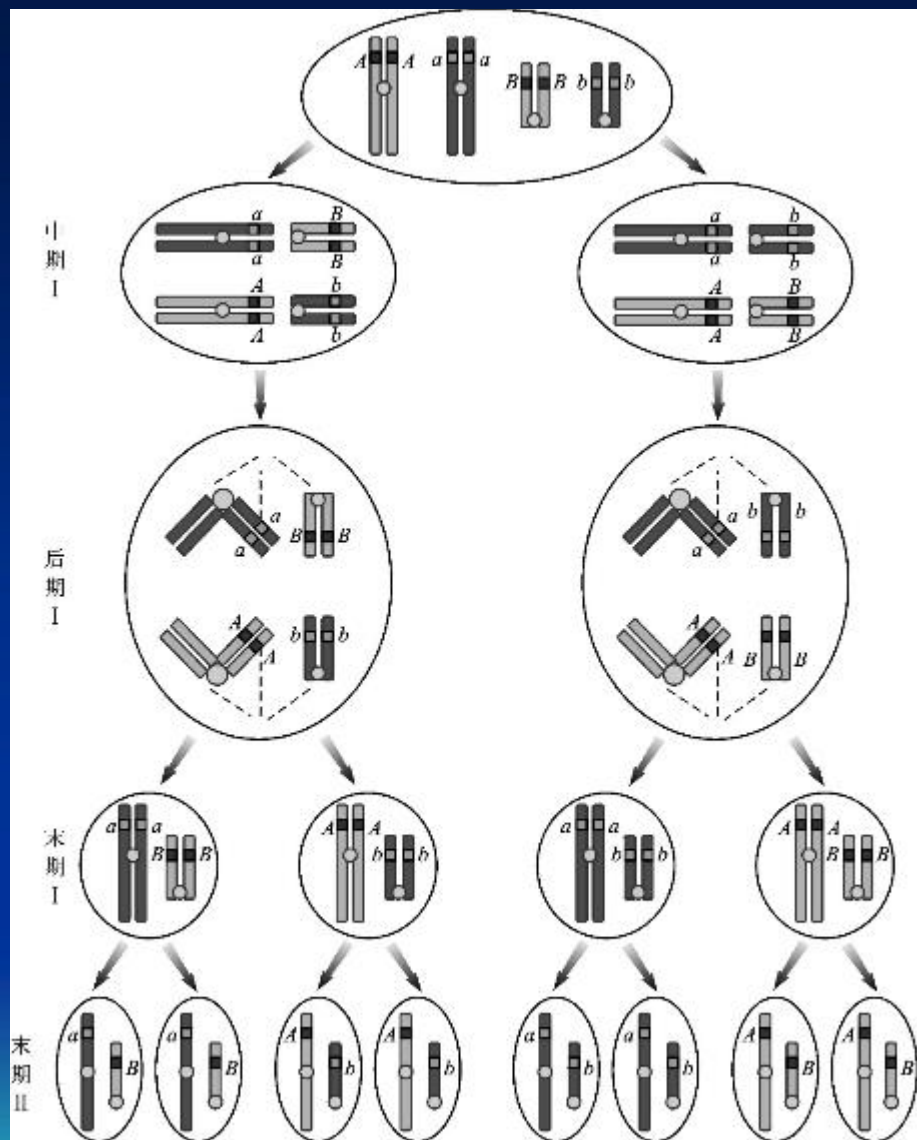
- ①**每一个细胞**包含每一染色体的两份拷贝以及每一基因的两份拷贝。
- ②**全套染色体**，如同孟德尔的全套基因一样，在从亲代传递给后代时并没有改变
- ③**减数分裂**时，同源染色体配对，然后分配到不同的配子中，就如同一对等位基因分离到不同的配子中。
- ④每一对同源染色体的**两个成员独立地分配**到相反的两极，而不受其他同源染色体独立分配的干扰。各对不同的等位基因独立分配。
- ⑤**受精时**，来自卵细胞的一套染色体随机与所遇到的一套来自精子的染色体结合，从一个亲本获得的所有基因也会随机地和从其另一亲本获得的所有基因结合。
- ⑥**从受精卵分裂得到的所有细胞**，其染色体的一半和基因的一半起源于母本，另一半起源于父本。

按照上述学说，对孟德尔的分离定律和独立分配定律可以这样理解：**在第一次减数分裂时，由于同源染色体的分离，使位于同源染色体上的等位基因分离，从而导致性状的分离。**



孟德尔分离定律的染色体基础
(以一对同源染色体为例的模式图)

由于决定不同性状的两对非等位基因分别位于两对非同源染色体上，形成配子时同源染色体上的等位基因分离，非同源染色体上的非等位基因以同等的机会在配子内自由组合，从而实现性状的自由组合。



孟德尔独立分配定律的染色体基础
(以两对非同源染色体为例的模式图)

2.2 遗传物质的证明

(1) 肺炎链球菌的转化实验 DNA是遗传物质的概念源于1928年Griffith等进行的肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*, 旧称肺炎双球菌 *Diplococcus pneumoniae*) 的转化实验。

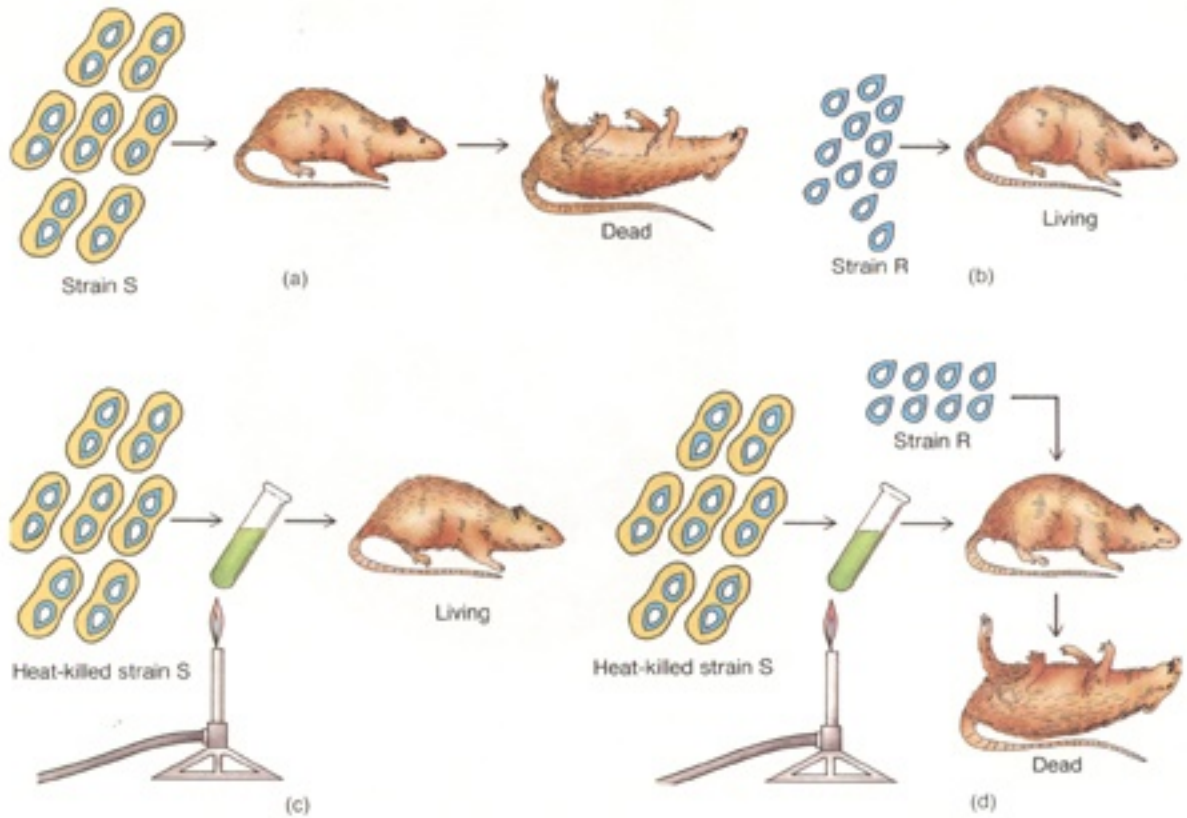


FIGURE 6.3

Griffith's transformation experiments. (a) Virulent strain S *Pneumococci* kill their host; (b) avirulent strain R bacteria cannot infect successfully, so the mouse survives; (c) strain S bacteria that are heat-killed can no longer infect; (d) a mixture of strain R and heat-

killed strain S bacteria kills the mouse. The killed virulent (S) bacteria have transformed the avirulent (R) bacteria to virulent (S).
From R. Sager and J. Ryan, *Cell Heredity*. Copyright © 1961 John Wiley & Sons, Inc., New York, NY.



由于Griffith等没有做单因子转化实验，当时还不能说明引起转化作用的物质是什么。

直到1944年Avery等三位美国科学家不仅在体外成功重复了上述实验，而且用生物化学的方法对S型菌提取液的所有成分分离后，进行单因子转化实验，证明转化因子是DNA，而不是多糖荚膜、蛋白质和RNA，而且转化频率随着DNA的纯度的提高而增加。Avery等的实验结果首次证明转化因子是DNA，取得了DNA是遗传物质的第一个和最重要的一个证据，明确了DNA是遗传信息的载体。

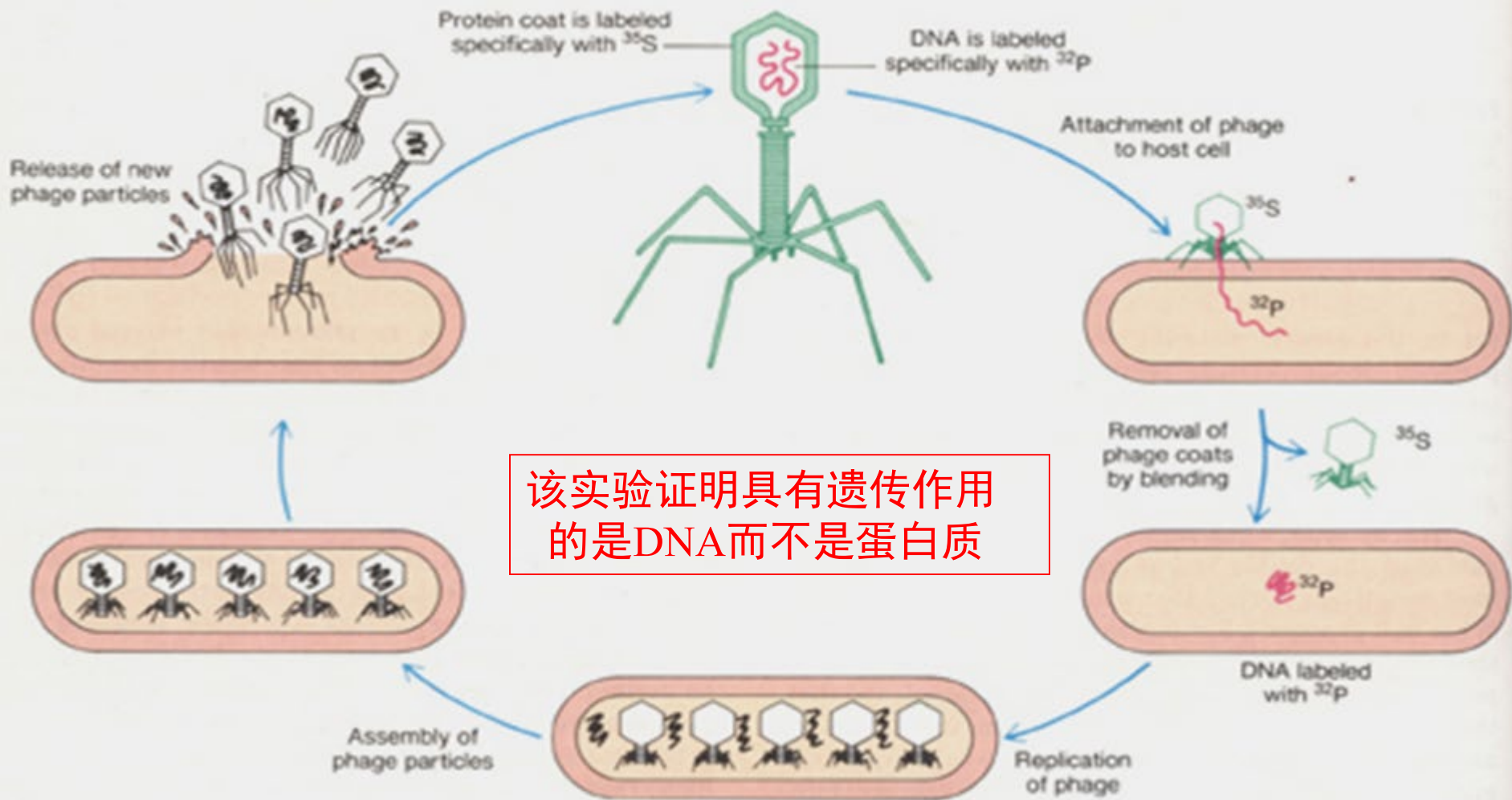


(2) 噬菌体感染试验

1952年Hershey和Chase用标记放射性同位素的方法，进行了噬菌体感染实验，为证明DNA是遗传物质提供了更直接的证据。

T2 噬菌体是感染大肠杆菌 (*E.coli*) 的一种噬菌体，它由蛋白质外壳和DNA核心构成。在噬菌体中，其蛋白质是唯一含硫 (S) 的物质，而DNA是唯一含磷 (P) 的物质。利用这一特性，他们在放射性 ^{32}P 和 ^{35}S 存在的情况下，使噬菌体进行繁殖，再用这种带有放射性物质标记的噬菌体去感染无放射性的大肠杆菌，几分钟后离心除去未吸附的噬菌体，再利用捣碎机捣碎使噬菌体与大肠杆菌分开。

对其进行离心，发现从大肠杆菌表面释放的噬菌体外壳在上清液中，它们由蛋白质组成，含有80%放射性标记 ^{35}S ，而大肠杆菌在沉淀中，含有80%放射性标记 ^{32}P 。实验表明在噬菌体感染过程中，只有DNA进入细菌细胞，而蛋白质外壳留在细菌体外。





(3) 烟草TMV的重建试验

能感染烟草的烟草花叶病毒 (tobacco mosaic virus, TMV) 由蛋白质外壳和RNA核心组成。

1957年Fraenkel-Conrat等人将两个不同的MTV株系 (S株系和HR株系) 的蛋白质和RNA分别提取出来, 然后相互对换, 将S株系的蛋白质和HR株系的RNA, 或反过来将HR株系的蛋白质和R株系的RNA放在一起, 重建形成两种杂种病毒, 去感染烟草叶片。

结果是叶片上所产生的病斑跟所含RNA密切相关, 是什么样的RNA就形成什么样的子代病毒粒子, 即子代病毒粒子的外壳蛋白是由RNA决定的, 而不是由蛋白质决定的。令人信服地证明在不具有DNA的病毒中, RNA是遗传物质。



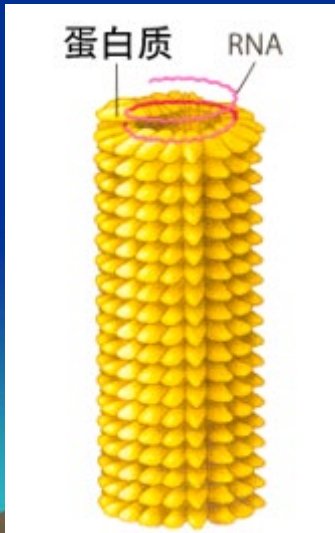
武汉大学

Wuhan University



正常烟草叶

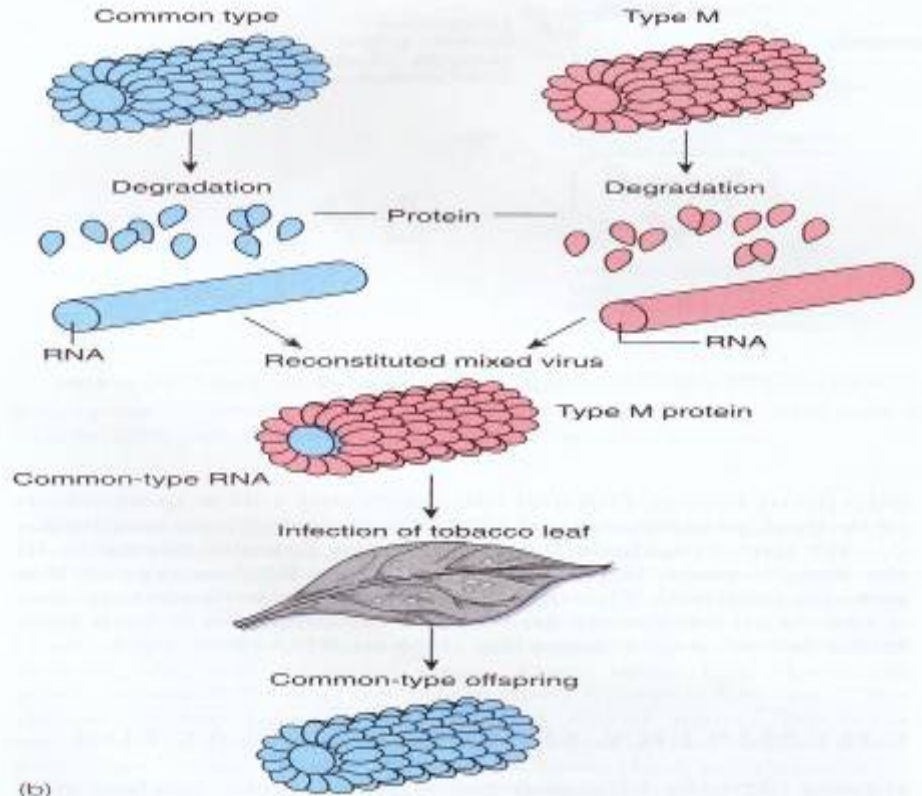
烟草“花叶”



烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)



(a)



(b)

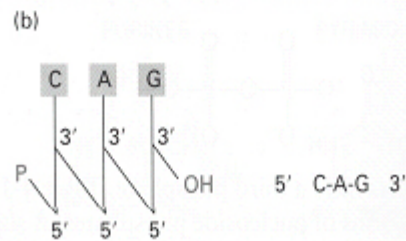
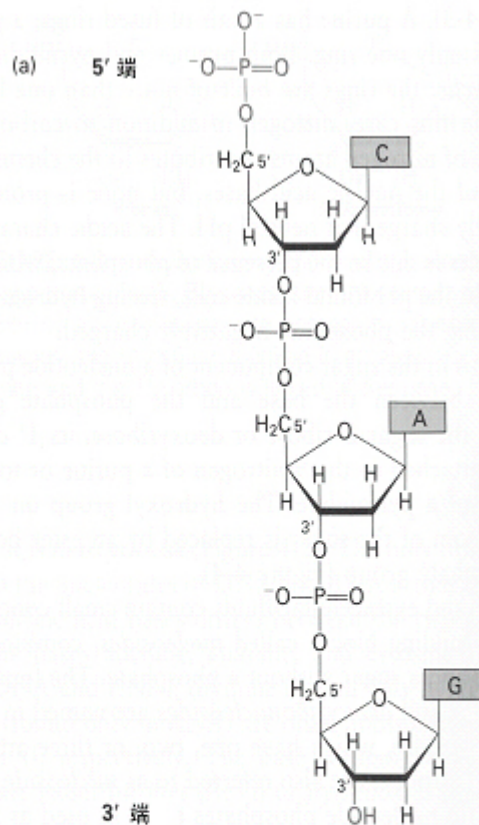
Figure 9.7 (a) Electron micrograph of tobacco mosaic virus. Magnification 37,428x. (b) Reconstitution experiment of Fraenkel-Conrat and Singer. Inheritance is controlled by the nucleic acid (RNA), not the protein component of the virus. ([a] © Biology Media/Photo Researchers, Inc.)



2.3 遗传物质的分子结构

2.3.1 DNA的分子结构

(1) DNA的一级结构：DNA的一级结构是指核苷酸在DNA分子中的排列顺序。在DNA的一级结构中碱基顺序代表了核苷酸顺序。生物的遗传信息通过核苷酸的不同排列顺序贮存在DNA分子中，碱基的顺序就是信息所要表达的内容，碱基顺序稍有变化，就可能引起遗传信息的很大变动，因此顺序测定对于阐明DNA的结构和功能具有更本性的意义。从这个意义上我们可以更深刻地理解基因组计划的伟大作用。





(2) DNA的二级结构

- 一般指两条多核苷酸链反向平行盘绕所生成的双螺旋结构。
- 1953年Watson和Crick提出的DNA分子双螺旋结构模型





DNA双螺旋结构模型

1953年由 Watson & Crick 提出

- **主链**：两条反向平行的多核苷酸链（主链）围绕同一中心轴相互缠绕；**糖—磷酸—糖**构成螺旋主链
- **碱基与碱基配对**：两条链的碱基都位于双螺旋的内侧，碱基平面与**螺旋轴**垂直；两条链对应碱基通过

形成氢键呈配对关系

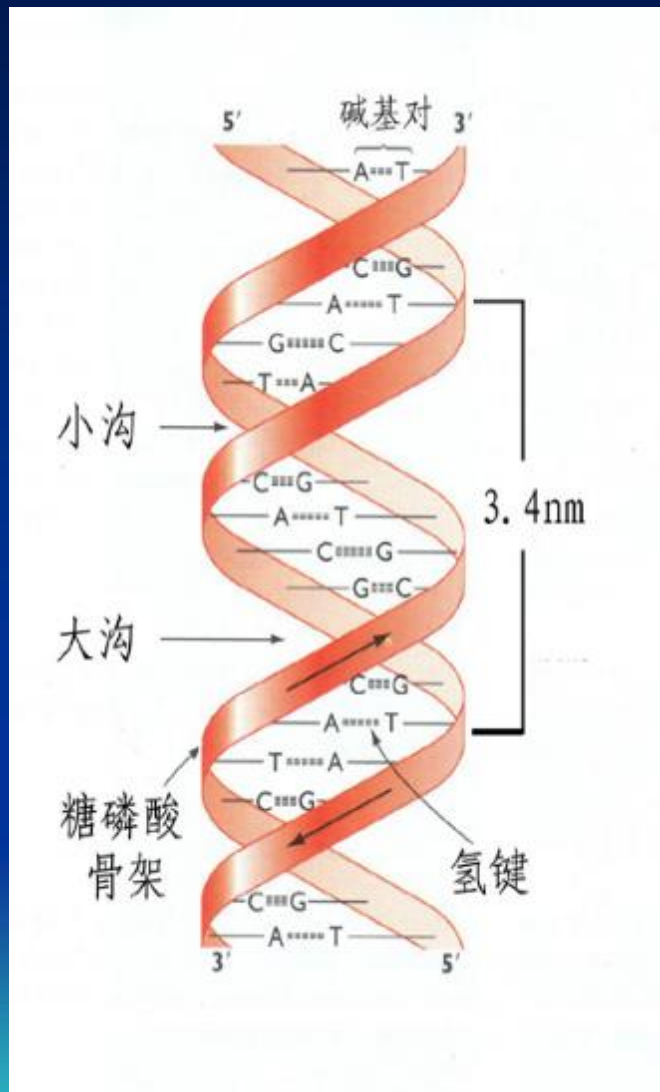


螺旋直径： 20Å

相邻碱基对之间相距 3.4 Å

螺距： 34 Å，每一螺距中含 10bp

- **大沟和小沟**：双螺旋表面有两条凹槽，宽而深的为大沟，窄而浅的为小沟。
- B-DNA





DNA双螺旋的多态性

对DNA二级结构的研究表明，在不同的湿度下DNA可以呈现不同的螺旋构型。在溶液中或在细胞的生理条件下，DNA一般为B型，但当水合的B-DNA脱水，或由于加入乙醇或盐使水的活性降低时就转变为A型。A-DNA和B-DNA都为右手螺旋，但A-DNA比B-DNA缠绕更为紧密，每圈螺旋含有11bp，螺旋轴距约为2.8 nm。其他的右旋DNA还有C-，D-，E- 和T-DNA等。这些不同构型的DNA其结构参数都有一定的差异变化，这种现象称为DNA结构的多态性。

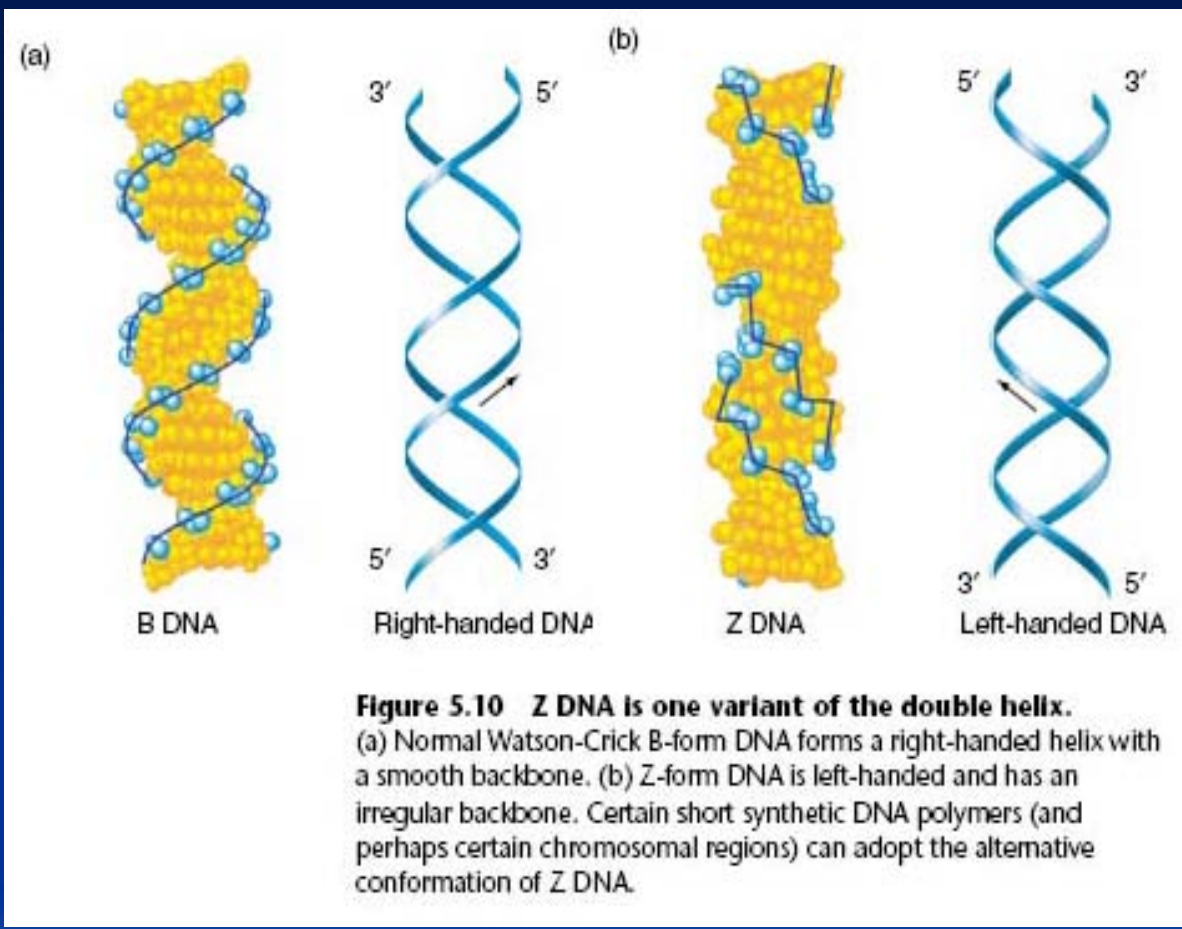
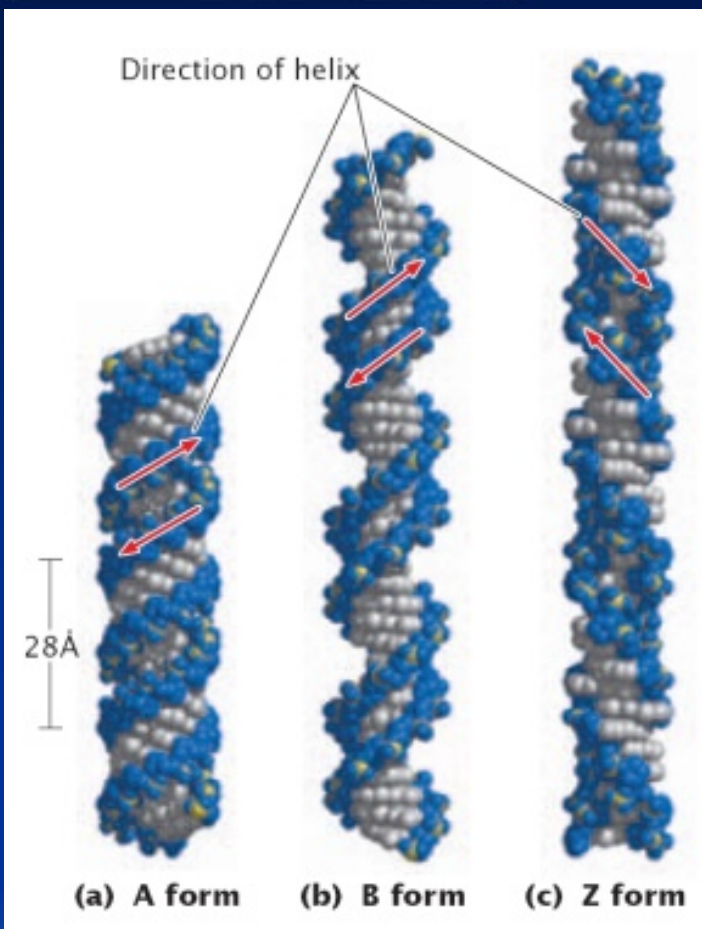


Figure 5.10 Z DNA is one variant of the double helix.
 (a) Normal Watson-Crick B-form DNA forms a right-handed helix with a smooth backbone. (b) Z-form DNA is left-handed and has an irregular backbone. Certain short synthetic DNA polymers (and perhaps certain chromosomal regions) can adopt the alternative conformation of Z DNA.

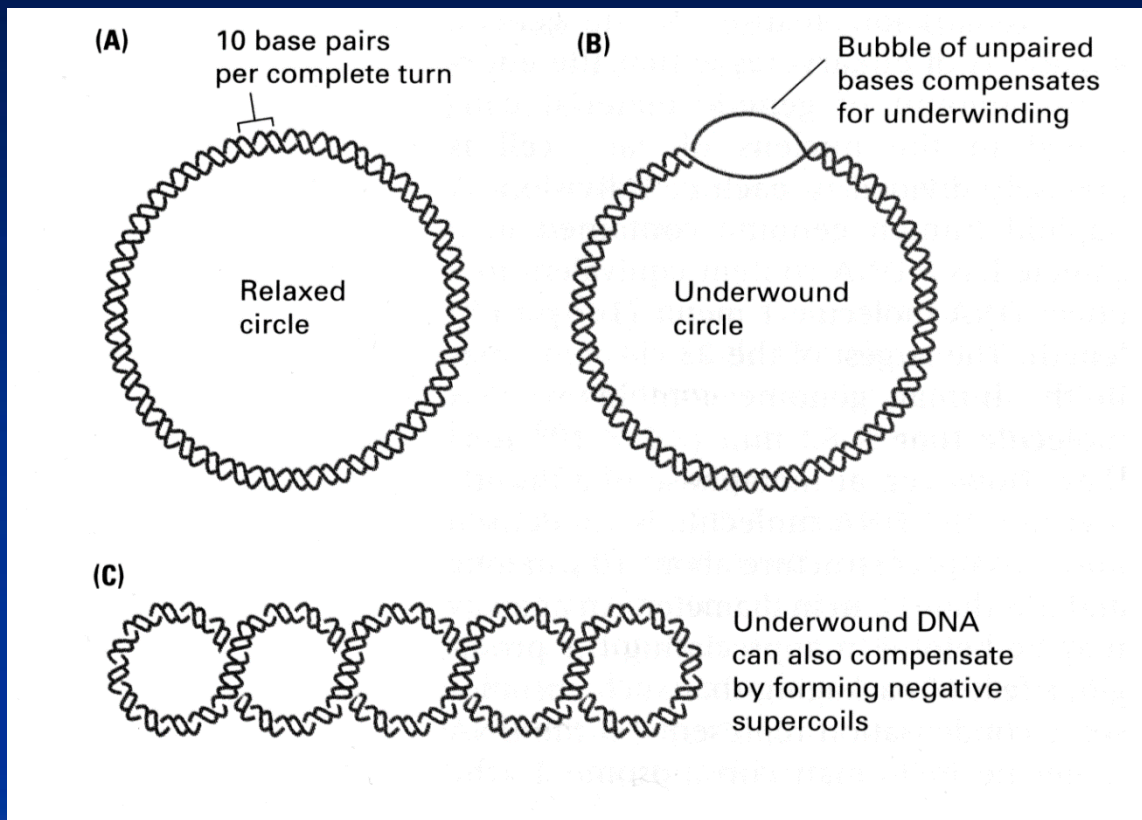
DNA双螺旋的多态性示意图





(3) DNA的高级结构

DNA的高级结构是指DNA的超螺旋（supercoil）结构和染色体DNA所具有的复杂折叠状态。超螺旋是DNA双螺旋的螺旋轴盘绕而形成的螺旋，是DNA三级结构的一种形式。DNA的三级结构是指双螺旋链的



扭曲。例如在B-DNA双螺旋中，每10个核苷酸长度旋转一圈，这时双螺旋最稳定处于能量最低态。



生物体中绝大多数DNA以超螺旋的形式存在

细菌质粒

大肠杆菌染色体

线粒体DNA、

叶绿体DNA以及

哺乳类病毒基因组

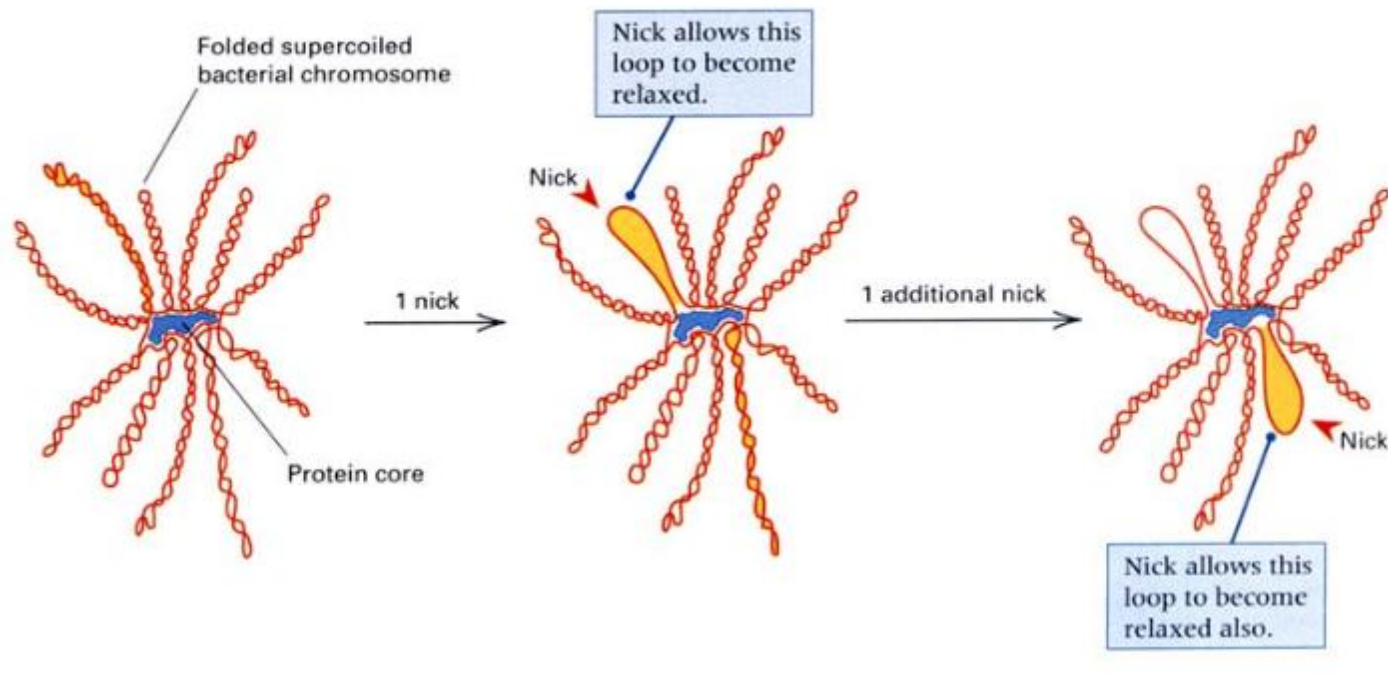
等

例如大肠杆菌

染色体（拟核）的

结构受到破坏，变

A schematic drawing of the folded supercoiled *E. coli* chromosome, showing 11 of the 40 to 50 loops attached to a protein core (blue shaded area) and the opening of loops by nicks.

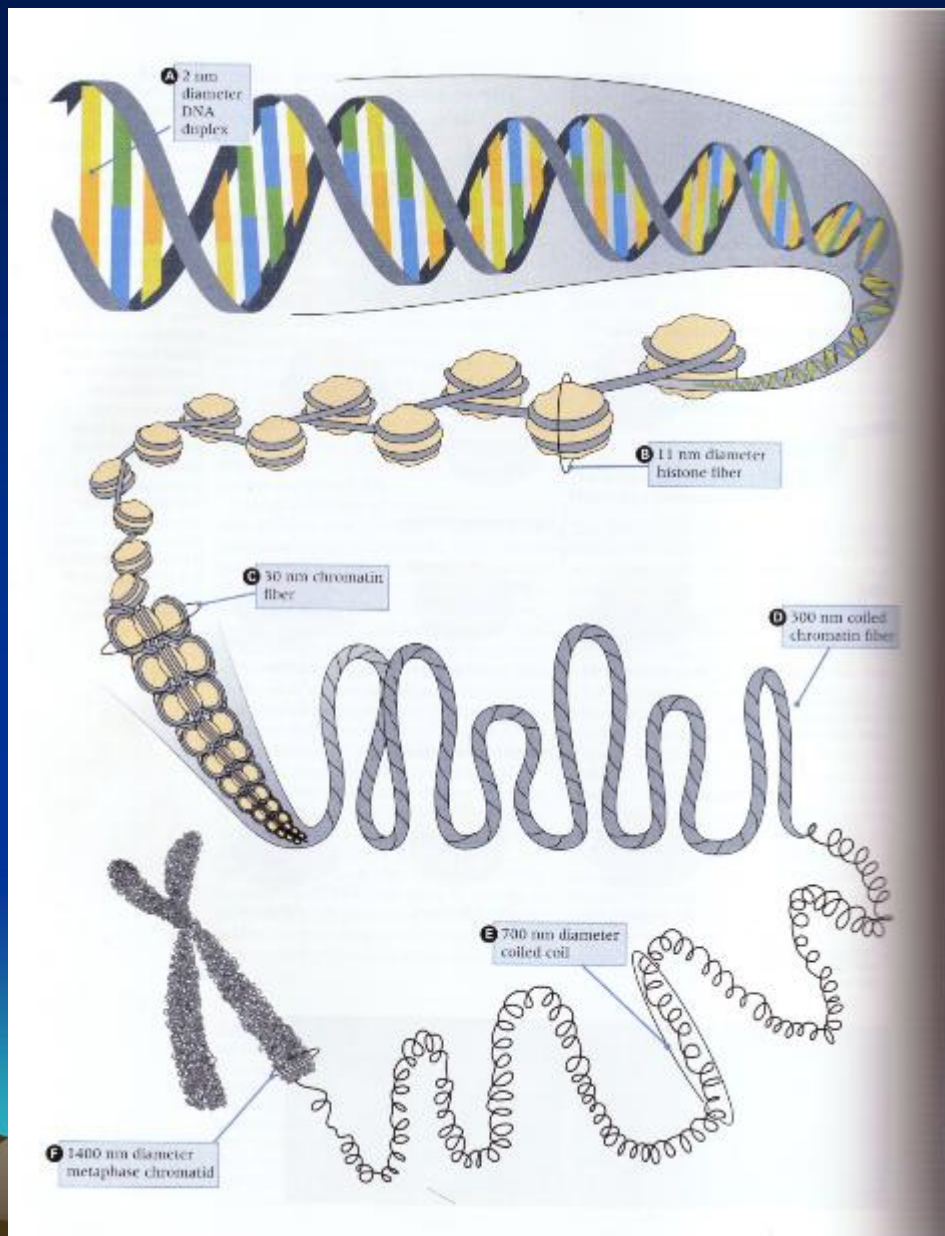


为松弛型结构。一个闭合分子必须在DNA的每一条链上都没有断裂，既是在一条链上出现断裂都有可能导致双螺旋的消失。同样，一个分子无论是闭合还是开放结构，只要缺少双螺旋结构，就称为松弛型。



DNA的三级结构

- 指DNA双螺旋进一步扭曲盘绕所形成的特定空间结构——超螺旋。
- 线状DNA（如：染色体DNA）和环状DNA（如：质粒DNA）





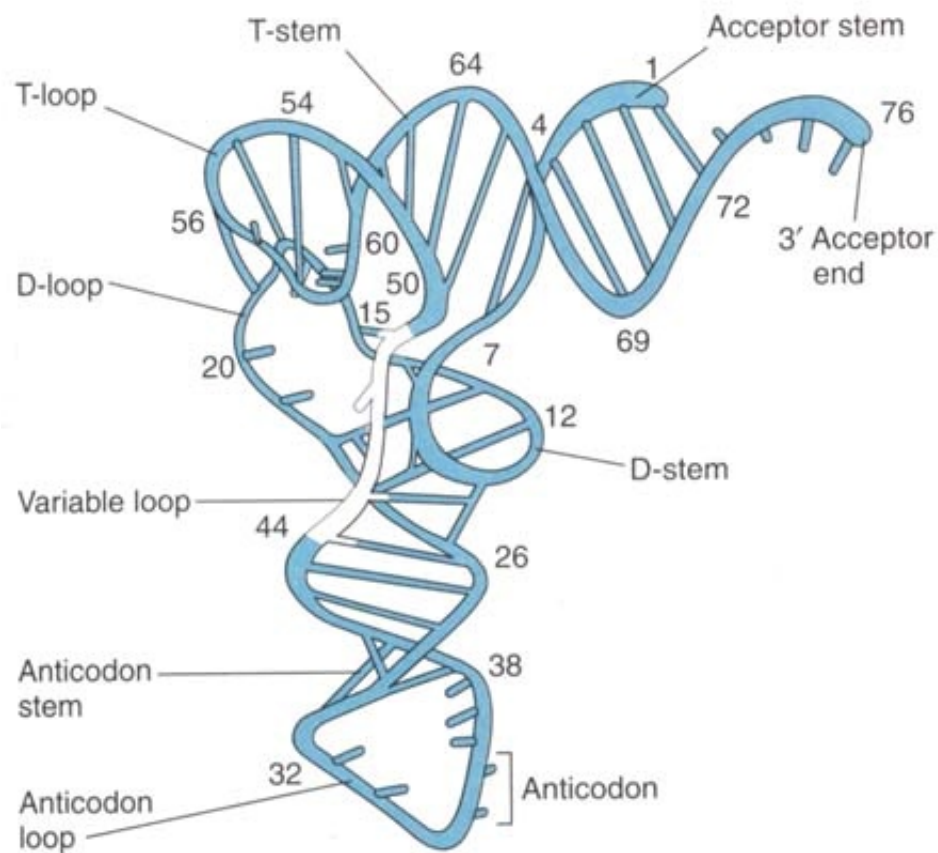
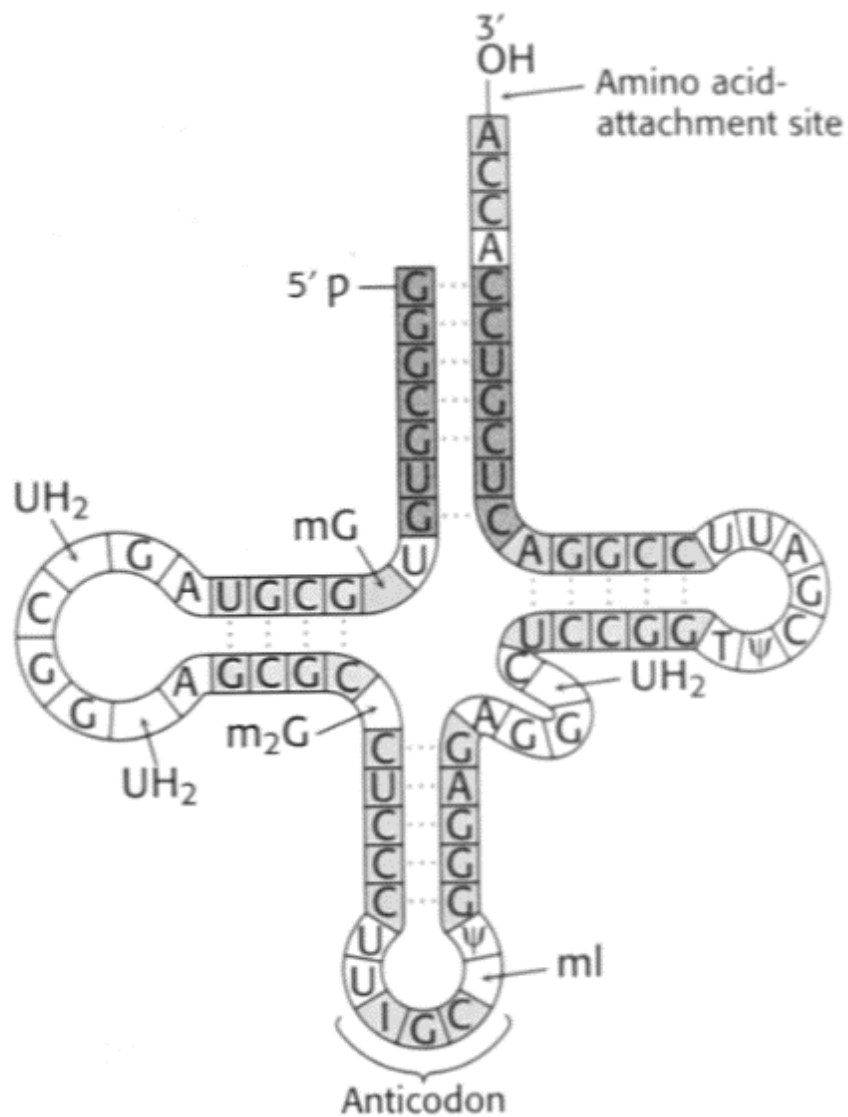
2.3.2 RNA的分子结构

(1) tRNA分子

已全序列分析的tRNA有3300种以上

tRNA都是小分子，长75—94个核苷酸，5'端有末端磷酸化基团，3'端为CCA-OH序列，分子中稀有碱基含量较高，而且许多被甲基化修饰；分子内部有碱基互补区，都能形成三叶草形二级结构。该二级结构一般由氨基酸接受臂、二氢尿嘧啶环（D环）、反密码子环和T ψ C环组成，有的还在反密码子环和T ψ C环之间存在额外环。

tRNA的三级结构都为倒L形结构。



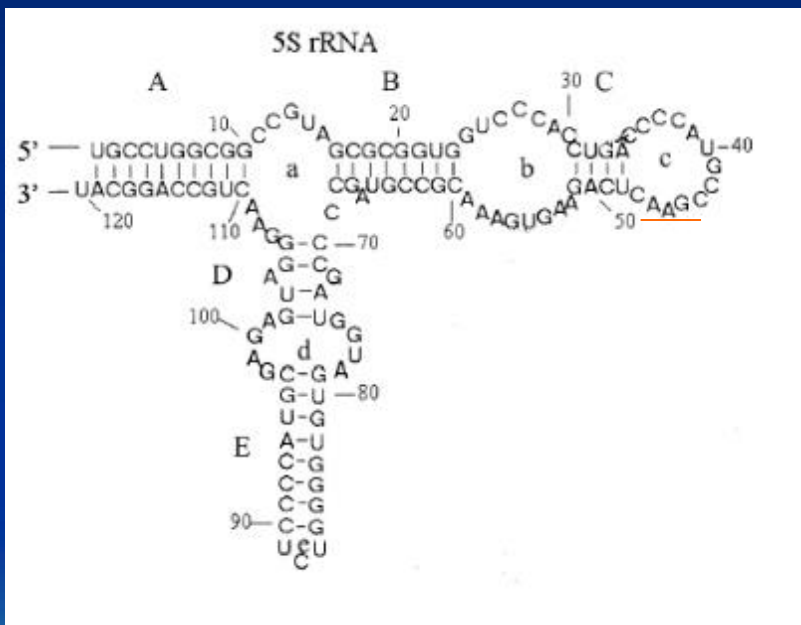
(a)

图 2-8 Structure of yeast phenylalanine transfer RNA. (a) Structural model with bases in yellow and backbone in blue. The two parts of the



(2) rRNA分子

大肠杆菌的5S、16S和23S rRNA的一、二级结构分别含有120、1542和2904核苷酸。



大肠杆菌5S rRNA的二级结构模型

组成：5个双螺旋区和其他单链区；

两个功能域：一个功能域中含有5'CGAAC序列，这是与tRNA分子T ψ C环上的GT ψ CG序列相互作用的部位，使tRNA与核糖体结合。

另一个功能域与23S rRNA中的一段序列互补，对核糖体大亚基与rRNA的相互作用有重要意义。



不同来源的16S rRNA具有相似的二级结构

大肠杆菌16S rRNA的二级结构

四个功能域：

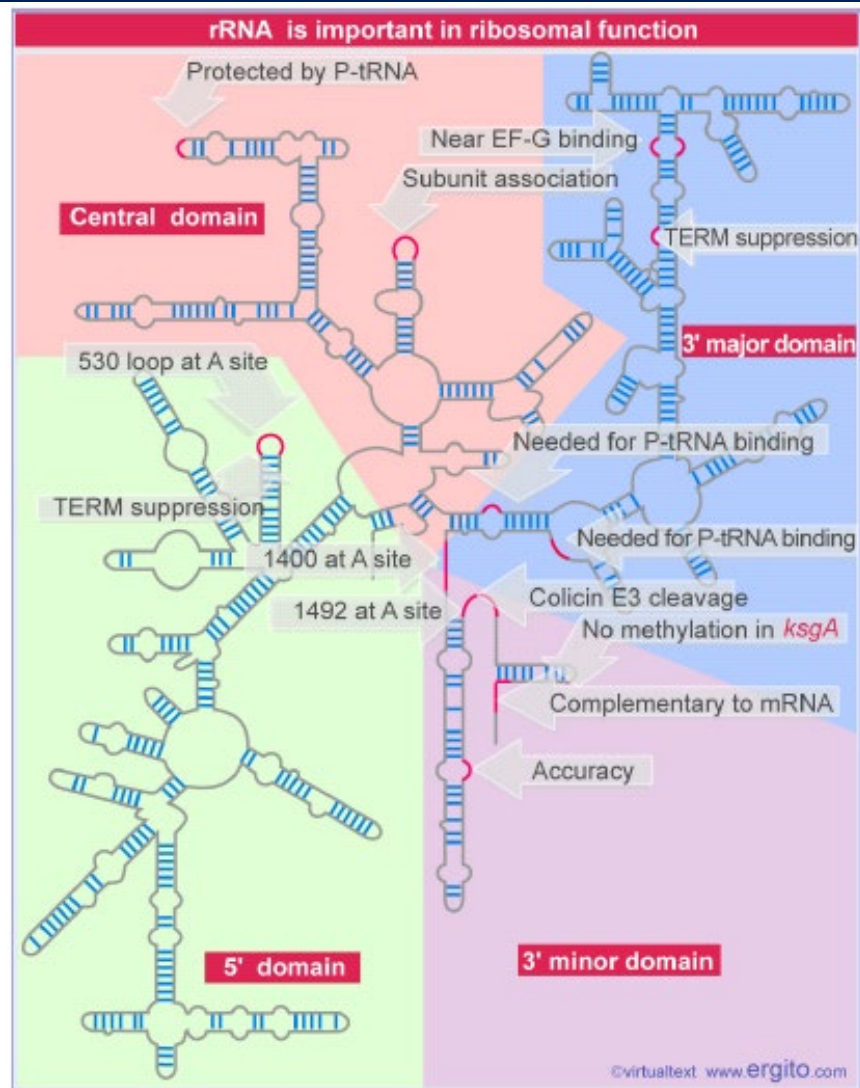
5'端功能域

中心功能域

3'末端大功能域

3'末端小功能域

在这些功能域中有与mRNA互补的部位，有结合肽酰tRNA的部位，有些则在30S与50S亚基结合中起作用等，涉及多种识别与作用功能





2.4 DNA复制

2.4.1 DNA复制的基本规律

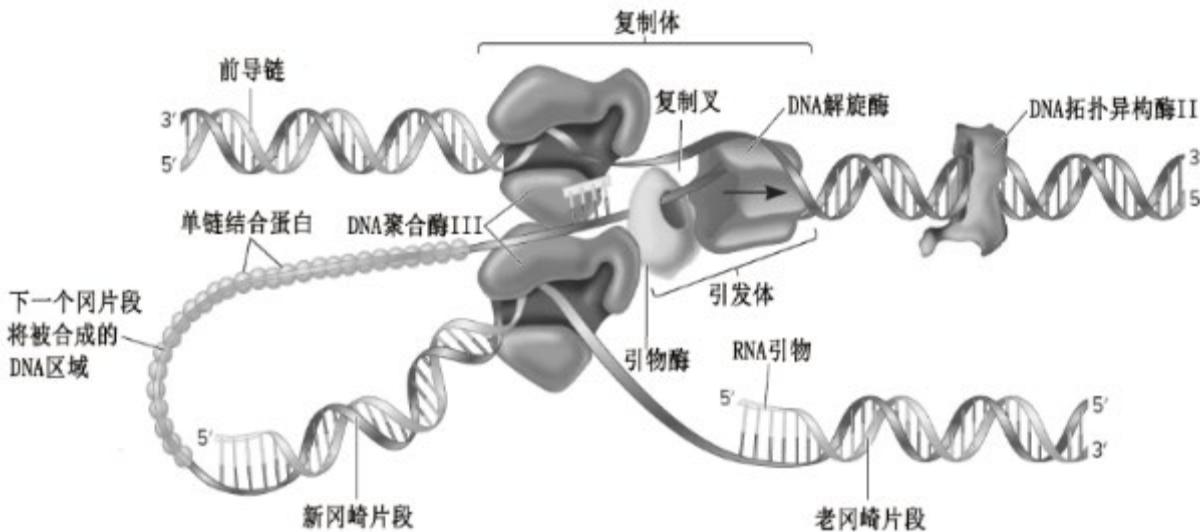
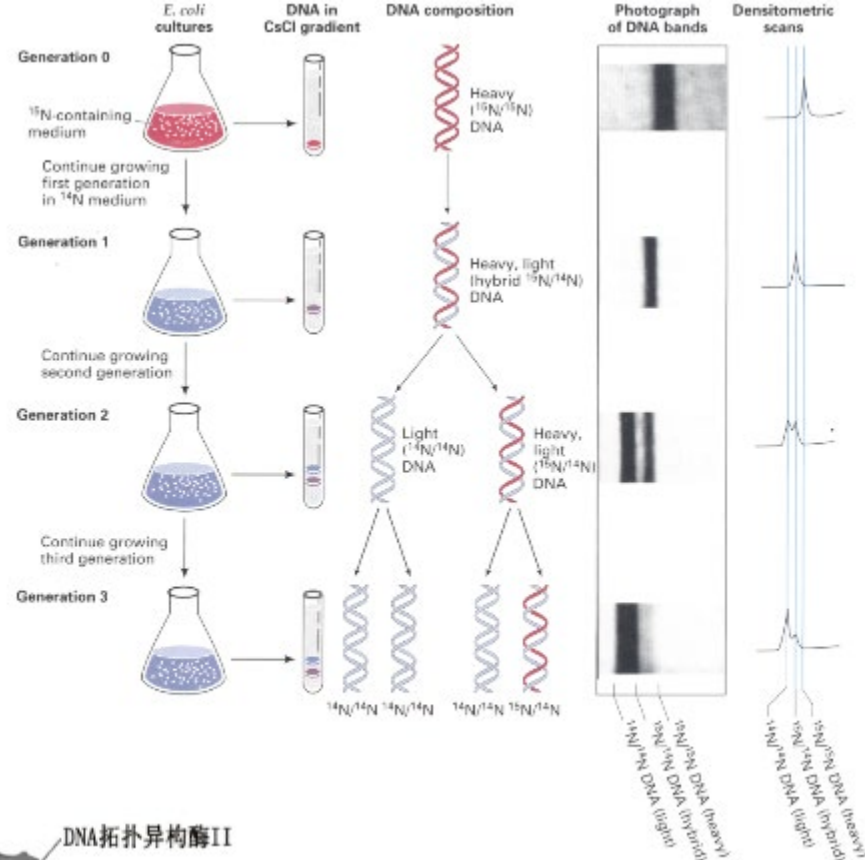
- ① DNA复制一般按半保留半不连续的的方式进行；
- ② 复制起始（Initiation）在起点（Origin）的特定序列上；
- ③ 复制的起点处控制复制；
- ④ 复制叉（Fork）的移动有单向或双向；
- ⑤ 链的延伸方向只能是5'→3'方向；
- ⑥ 在存在模板的条件下，DNA聚合酶以短的RNA片段作为引物开始合成DNA的短片段；



- ⑦ 存在各种DNA链的合成起始机制，除了RNA引发外，还存在其它的一些机制，包括DNA链与一个末端蛋白共价结合，以及缺口的共价延伸，或者亲本链已被环出的末端
- ⑧ 终止也是在复制过程中的某个固定点；
- ⑨ 复制的机制取决于基因组结构和构象来保持产生完整的染色体；
- ⑩ 即使在同一个细胞内也可进行多种复制机制的操作。

2.4.2 半保留半不连续复制

亲代DNA分子的两条链，在半保留复制过程中，一条链按5'→3'方向连续合成，另一条链按5'→3'方向不连续合成的方式，合成一系列不连续的冈崎片段（Okazaki fragment），它是在蛋白质和酶促作用下进行的复杂的生化反应，涉及30多种蛋白质的协同作用。



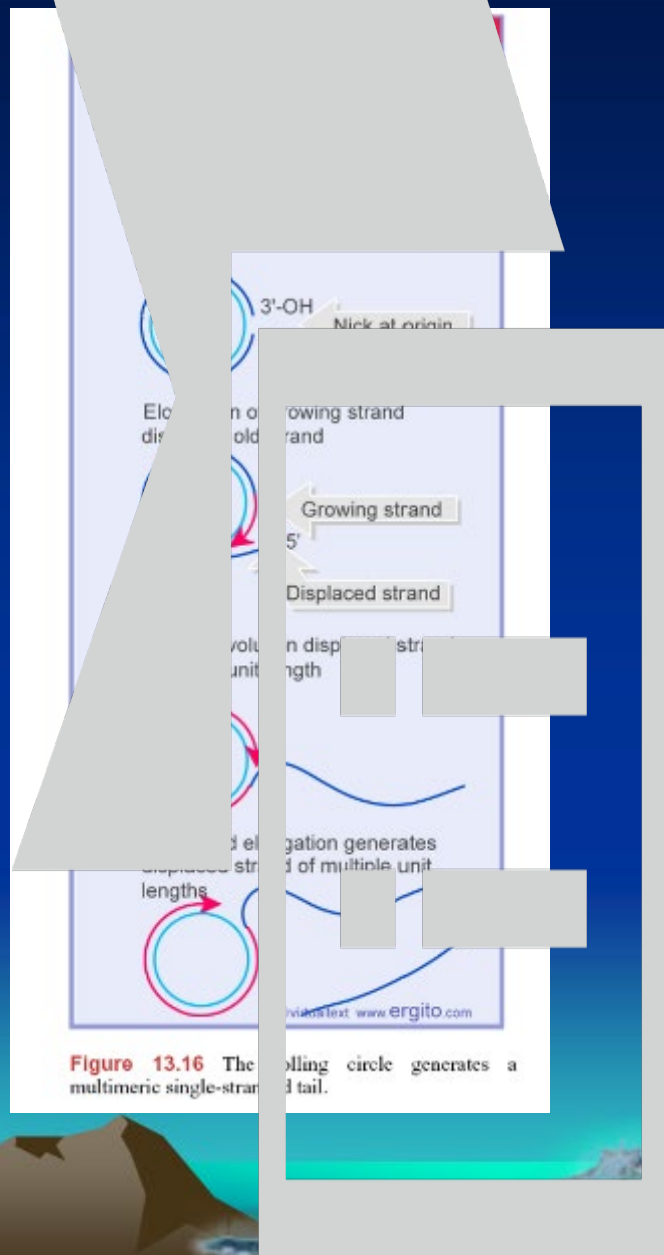
Meselson & Stahl
*E. coli*的半保留复制实验
在 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ 、 $^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$ 培养
同位素 $^{15}\text{N} \rightarrow ^{14}\text{N}$ 标记,
CsCl 密度梯度离心



2.4.3 环状双链DNA复制

(1) **滚环复制**：滚环复制又叫 σ 复制

λ 的增殖、接合，以及真核生物rDNA的扩增都是以这种复制方式进行。



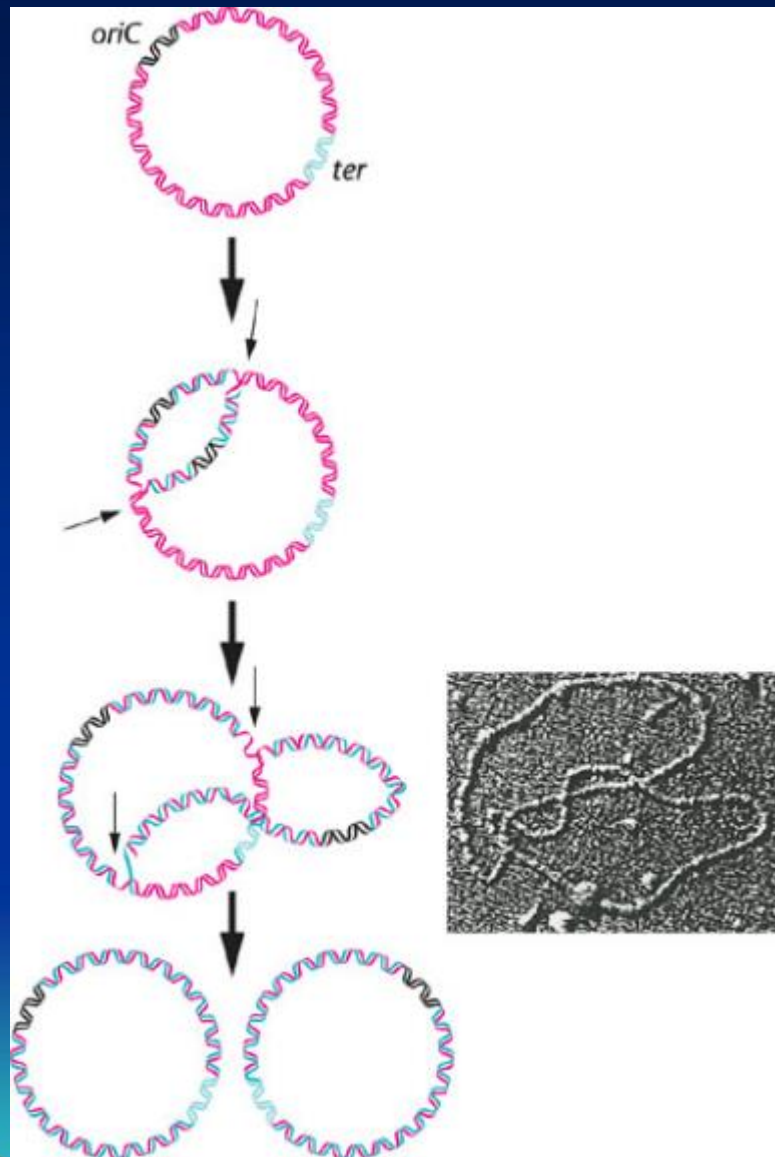


(2) θ -型复制

1963年 Cairns

E.coli DNA放射自显影实验

大肠杆菌DNA双链环状分子在其DNA复制过程的中间产物，在放射自显影观察时可形成一个 θ -型结构。这是由于复制从复制原点 (*OriC*) 开始，形成两个复制叉，双向复制所产生的结果。 θ -型复制需要RNA引物，半保留半不连续复制。一条单链总是和模板链互补地结合在一起形成子链





(3) 线粒体的D环复制

哺乳动物mtDNA复制：**不对称不同时的复制。**

先复制双链中的一条链，待该链复制到2/3的长度时，另一条链才开始复制。

由于重链和轻链上有各自的复制起点，

其复制起始的特点是，在起始区形成D-Loop (Displacement)结构，即重链和以重链为模板合成的新链组成的双链部分以及被新链替代出来的单链（轻链）部分形成的结构。D-loop区含有约500—600bp，它是不稳定的，处于降解 \rightleftharpoons 合成状态，这样来保持该区双链被打开，即D-loop结构。

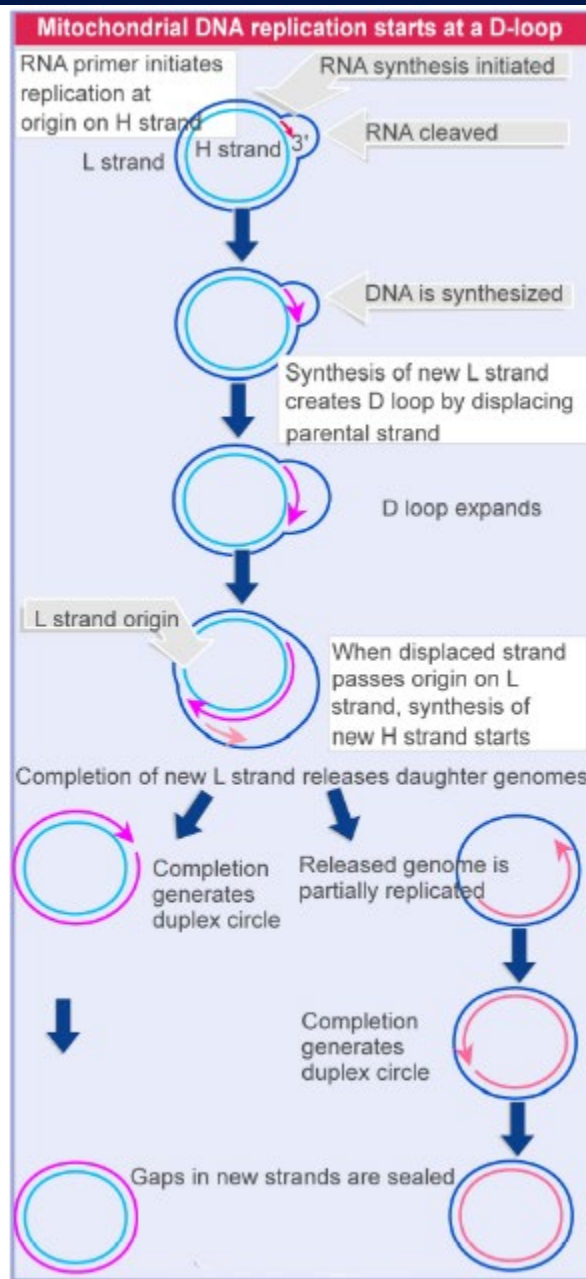


Figure 13.11 The D loop maintains an opening in mammalian mitochondrial DNA, which has separate origins for the replication of each strand.



2.4.4 真核生物染色体端粒的复制

端粒 (telomere) 是真核生物染色体末端的一种特殊结构

功能：防止染色体末端免受核酸酶的降解，维持染色体结构的稳定性，保持染色体的完整性，为线状染色体的末端复制提供基础。此外，端粒与染色体联会、细胞分裂和细胞衰老等也有密切的关系。

端粒DNA的序列比较特殊，由一系列短的随机串联重复序列组成，可用 $G_n(A/T)_m$ 的一般式来表示，其中 $n > 1$, m 为1~4。例如四膜虫为TTGGGG, 线虫为TTAGGC, 哺乳类为TTAGGG等。



当端粒 $(TTAGGG)_n$ 序列的3'—单链末端序列折回碱基配对取代其上游相同序列时，将形成一个类似D-loop的t-loop (telomere loop) 结构。该结构的形成提供了一个有序的高级结构，使凸出3'单链埋藏在DNA分子内部以免与端粒酶接触，同时也保护了单链。

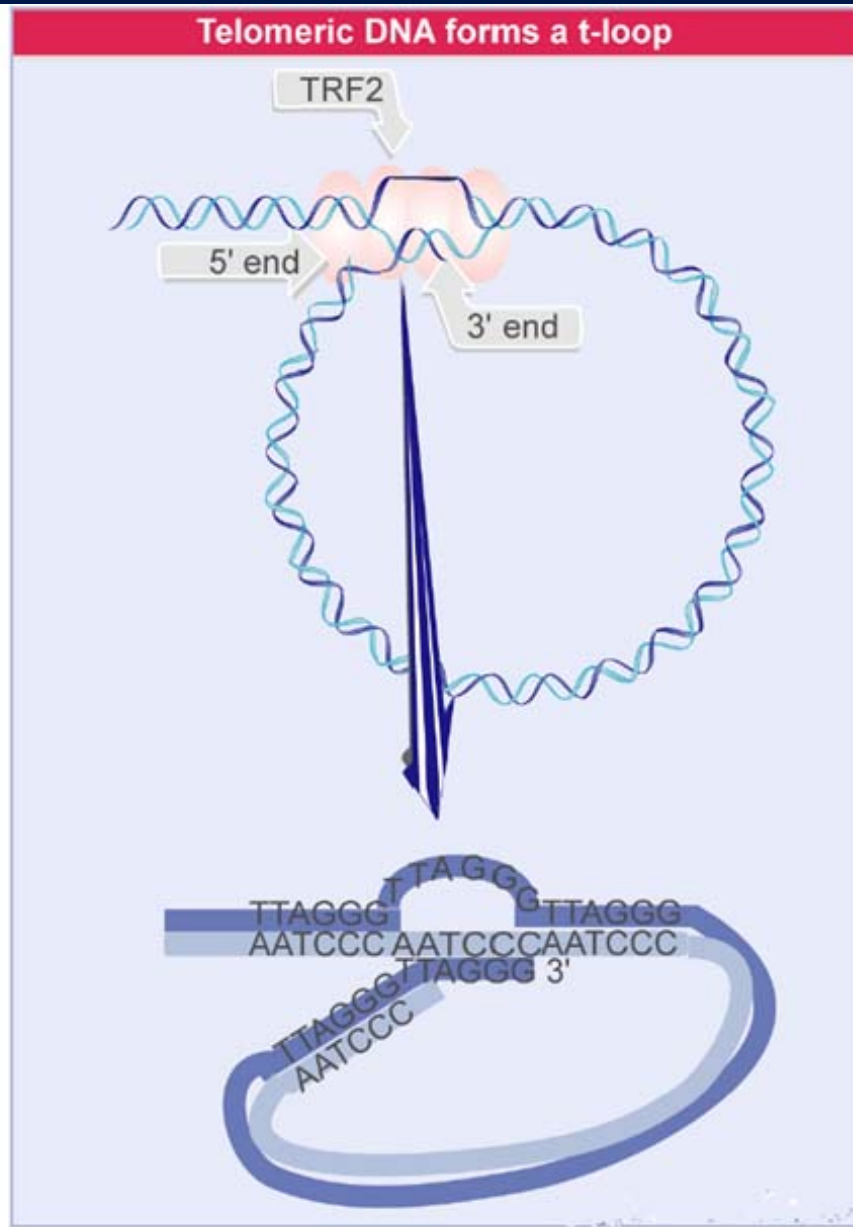
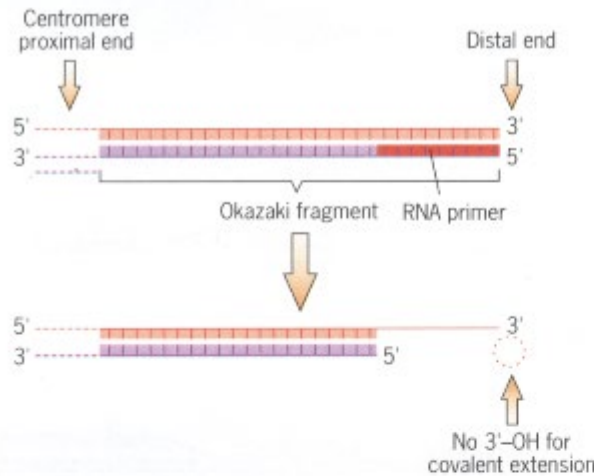


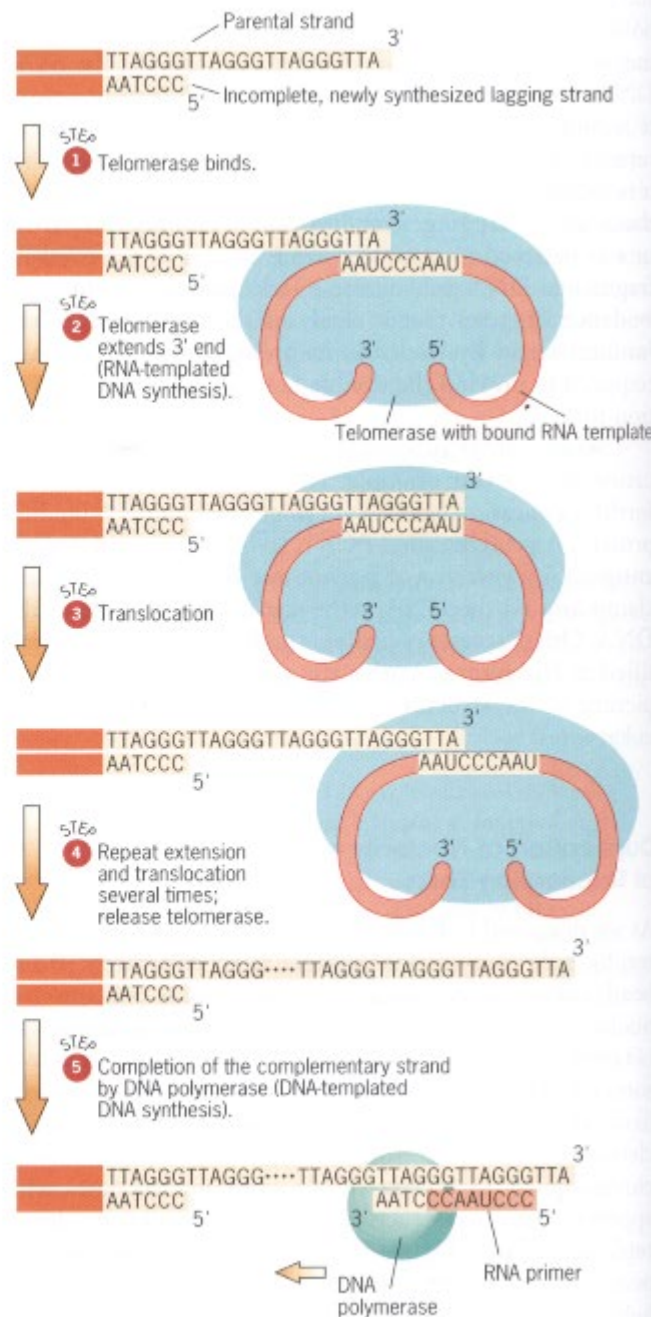
图 2-11 The 3' single-stranded end of the telomere $(TTAGGG)_n$ displaces the homologous repeats from duplex DNA to form a t-loop. The reaction is catalyzed by TRF2.

端粒的复制

端粒酶是一个
 分子，由多条多肽
 子组成——**Ribonu**
 。端粒酶RNA的核
 粒DNA的模板，它
 22nt重复序列。端
 殊的反转录酶，其
 用端粒酶特异的R



(a) The telomere lagging-strand primer problem.



(b) Telomerase resolves the terminal primer problem.

Figure 11.34 Replication of chromosome telomeres.
 (a) Because of the requirement for a free 3'-OH at the end of the primer strand, DNA polymerases cannot replace an RNA primer that initiates DNA synthesis close to or at the terminus of the lagging strand. (b) These termini of chromosomes are replicated by a special enzyme called telomerase, which prevents the ends of chromosomes from becoming shorter during each replication. The nucleotide sequence at the terminus of the lagging strand is specified by a short RNA molecule present as an essential component of telomerase. The telomere sequence shown is that of humans.



2.5 转录与翻译

转录是DNA的遗传信息被拷贝成RNA的遗传信息的过程

一般将DNA双链分子上带有遗传信息的链称为

非模板链 (nontemplate strand) 或**基因链** (gene strand)

或**有义链** (sense strand) 或**编码链** (coding strand)

它与mRNA序列一致，代表从遗传密码到蛋白质序列相联系的DNA序列

另一条与其互补的链称为

模板链 (template strand) 或**反基因链** (antigene strand)

或**反义链** (antisense strand)

它是作为模板合成mRNA的DNA链。所有基因均以模板链为模板进行转录，因而转录产物的碱基顺序必定与基因链的遗传信息一致。



Transcription process. The DNA double helix is denatured by RNA polymerase in prokaryotes, or by other proteins in eukaryotes. RNA polymerase then catalyzes the synthesis of a single-stranded RNA chain, beginning at the “start of transcription” point. The RNA chain is made in the 5'-to-3' direction, using only one strand of the DNA as a template to determine the base sequence.

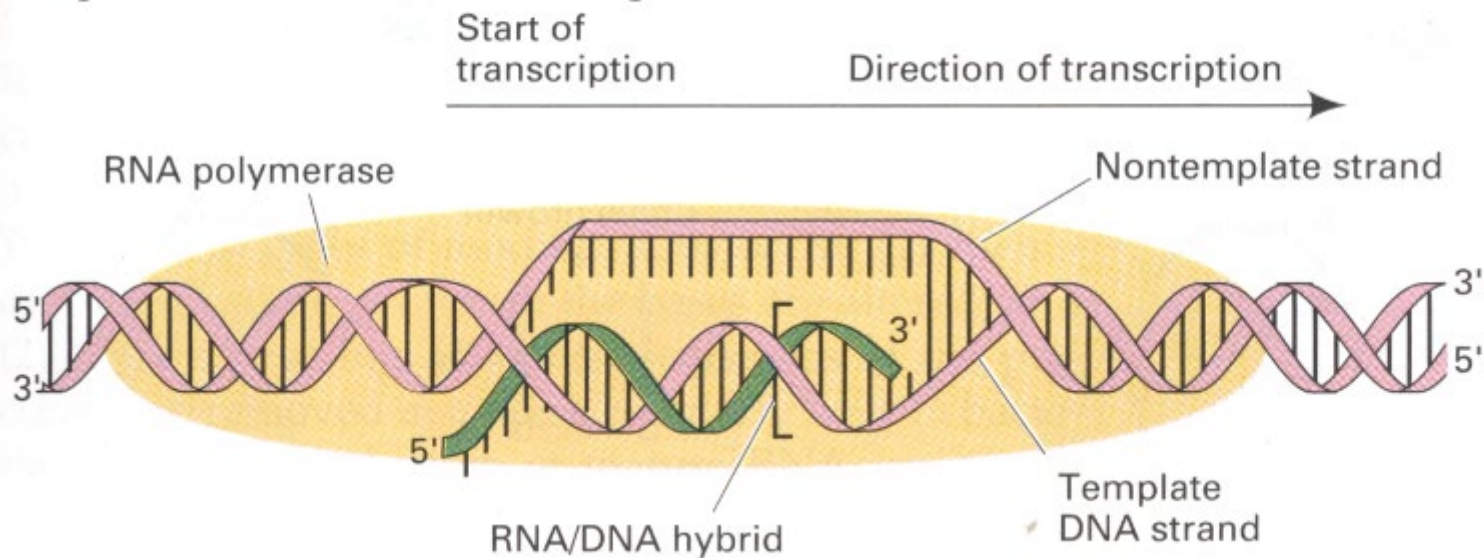


图2-12 RNA的转录过程（引自Russell, 2010）



2.5.1 RNA聚合酶与启动子及增强子

(1) 大肠杆菌RNA聚合酶

大多数原核生物RNA聚合酶的组成是相同的，而且只有一种RNA聚合酶转录所有的基因。大肠杆菌RNA聚合酶主要由5种亚基组成（6个亚基 $2\alpha\beta\beta'\omega\sigma$ ）：2个 α 亚基、一个 β 亚基、一个 β' 亚基、一个 ω 亚基和一个 σ 亚基。

$\alpha_2\beta\beta'\omega$ 组成大肠杆菌核心酶（core enzyme）， σ 因子加入后形成全酶（holoenzyme）→ 专一性起始转录

原核生物一种RNA聚合酶转录所有的基因，其中 σ 因子控制启动子的识别。由于 σ 因子替代引导核心酶去识别一组不同的启动子。 ω 亚基对核心酶的正确组装起重要作用，并参与某些调节功能。

E. coli has several sigma factors

Gene	Factor	Use
<i>rpoD</i>	σ^{70}	general
<i>rpoS</i>	σ^S	stress
<i>rpoH</i>	σ^{32}	heat shock
<i>rpoE</i>	σ^E	heat shock
<i>rpoN</i>	σ^{54}	nitrogen
<i>fliA</i>	σ^{28} (σ^F)	flagellar

©virtualtext www.ergito.com

Figure 9.32 In addition to σ^{70} , *E. coli* has several sigma factors that are induced by particular environmental conditions. (A number in the name of a factor indicates its mass.)

E. coli 有几种不同的 σ 因子

不同的 σ 因子识别不同启动子的保守序列

Sigma factors recognize promoters by consensus sequences

Gene	Factor	-35 Sequence	Separation	-10 Sequence
<i>rpoD</i>	σ^{70}	TTGACA	16-18 bp	TATAAT
<i>rpoH</i>	σ^{32}	CCCTTGAA	13-15 bp	CCCGATNT
<i>rpoN</i>	σ^{54}	CTGGNA	6 bp	TTGCA
<i>fliA</i>	σ^{28} (σ^F)	CTAAA	15 bp	GCCGATAA
<i>sigH</i>	σ^H	AGGANPuPu	11-12 bp	GCTGAATCA

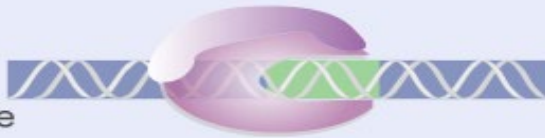
©virtualtext www.ergito.com

Figure 9.34 *E. coli* sigma factors recognize promoters with different consensus sequences.

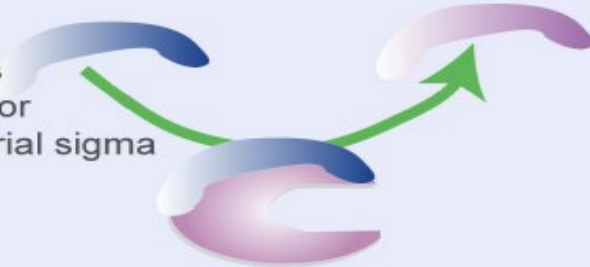
Alternative sigmas control phage development

Early

phage promoters are recognized by bacterial holoenzyme

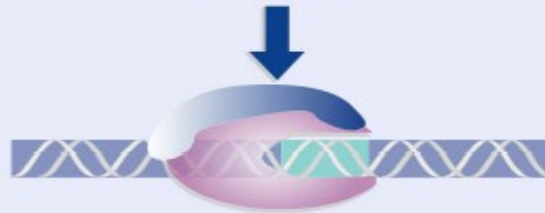


Early gene 28 codes for a new sigma factor that displaces bacterial sigma



Middle

gp28-core enzyme transcribes phage middle genes

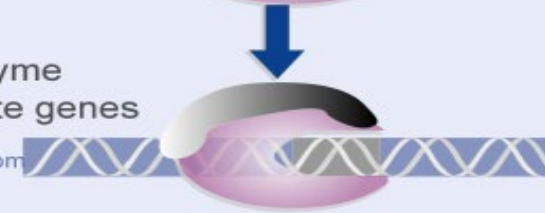


Middle genes 33 and 34 code for proteins that replace gp28



Late

gp33-gp34-core enzyme transcribes phage late genes



©virtualtext www.ergito.com

例：

噬菌体 *SPO1* 基因的
转录由两个连续的 σ 因子
替换而控制其改变转录
起始的专一性

Figure 9.40 Transcription of phage SPO1 genes is controlled by two successive substitutions of the sigma factor that change the initiation specificity.



σ 因子上的几种氨基酸能与-10启动子序列的编码链上的碱基专一结合，这便是 σ 因子决定启动子专一性的分子机制

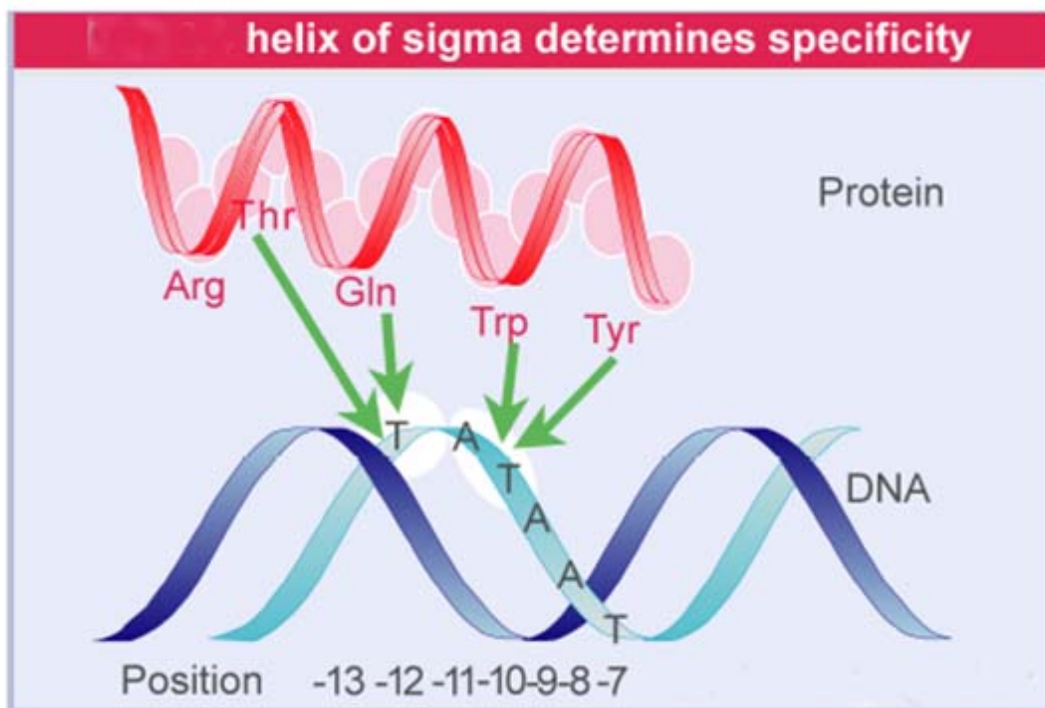


图 2-13 Amino acids in the 2.4 α -helix of σ^{70} contact specific bases in the coding strand of the -10 promoter sequence.



(2) 真核生物RNA聚合酶

一种来自毒蘑菇鬼笔鹅膏的真菌毒素，二环八肽，能抑制真核RNA聚合酶II与RNA聚合酶III转录

真核生物细胞中有3类RNA聚合酶

表 2-2 真核生物 RNA 聚合酶的特性比较

聚合酶类别	细胞核内定位	转录产物	对 α -鹅膏蕈碱的敏感程度
RNA 聚合酶 I	核仁	28S、5.8S 和 18S rRNA	不敏感
RNA 聚合酶 II	核质	mRNA 前体(pre-mRNA)、核内小RNA(snRNA)	敏感
RNA 聚合酶 III	核质	tRNA、5S rRNA、U6-snRNA、核仁小RNA(snoRNA)、胞质内小RNA(scRNA)	中等敏感



RNA polymerase has >10 subunits

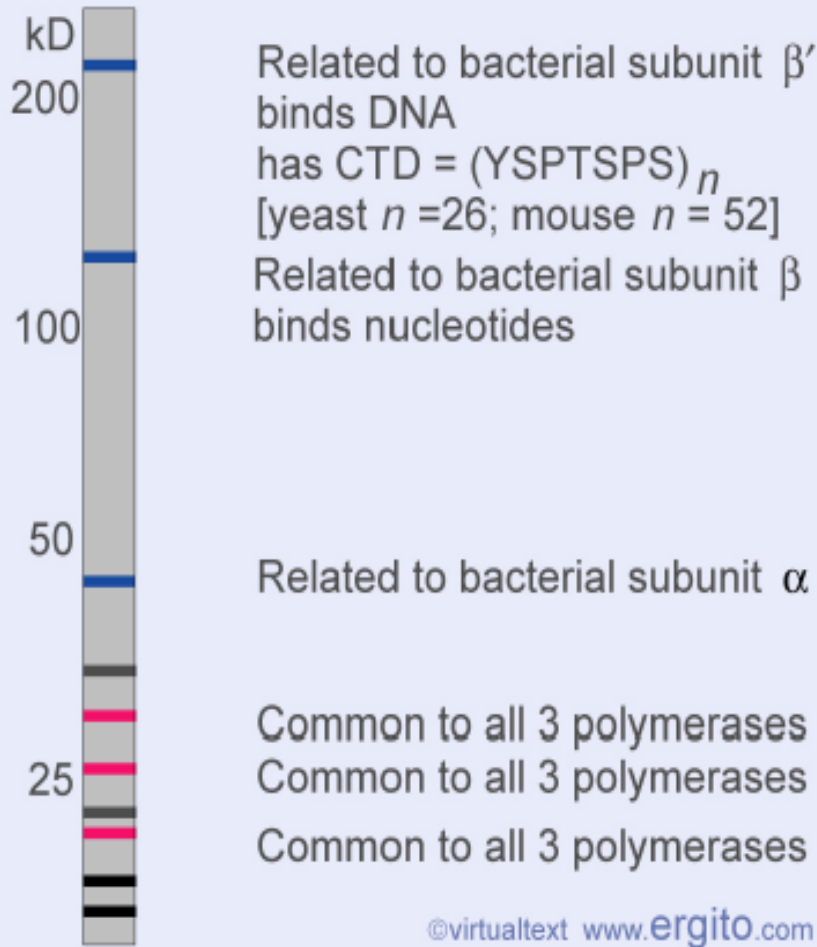


Figure 21.2 Some subunits are common to all classes of eukaryotic RNA polymerases and some are related to bacterial RNA polymerase.

■ 真核生物RNA聚合酶含有十多种亚基

- 对原核生物和真核生物的RNA聚合酶的蛋白质电泳分析表明：

在真核生物中，一些蛋白质亚基在所有的RNA聚合酶中是共同都具有的。一些亚基与细菌RNA聚合酶有关系

RNA polymerase has 4 types of subunit

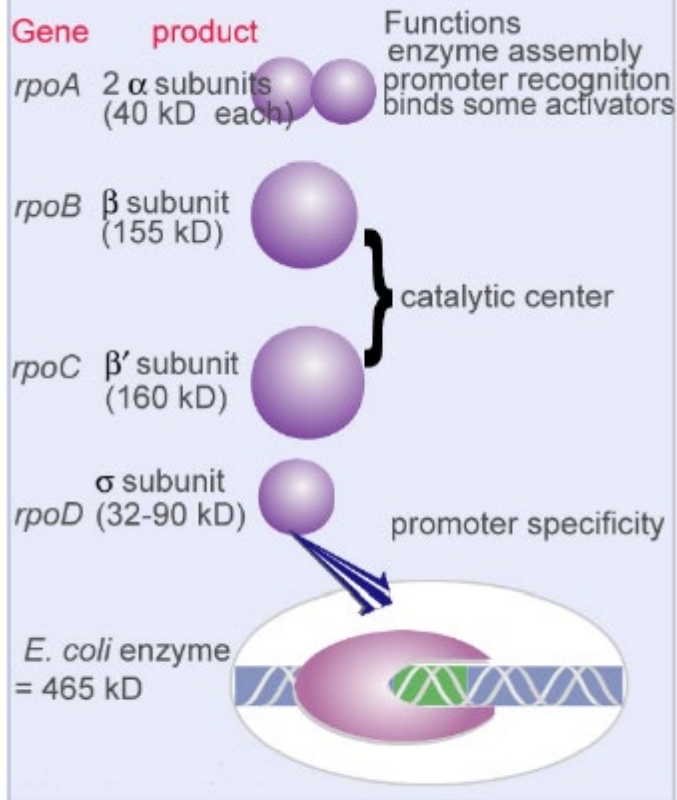
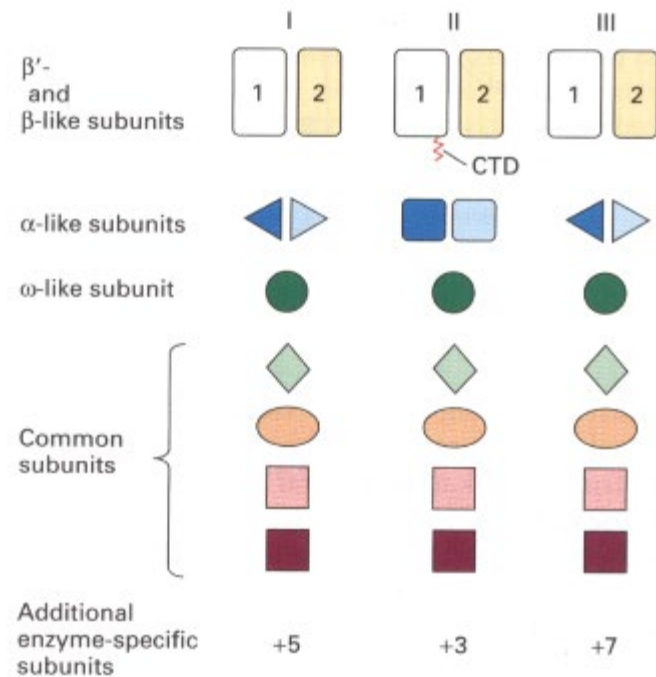


Figure 9.16 Eubacterial RNA polymerases have four types of subunit; α , β , and β' have rather constant sizes in different bacterial species, but σ

E. coli core RNA polymerase ($\alpha_2\beta\beta'\omega$)



Eukaryotic RNA polymerases



▲ FIGURE 11-6 Schematic representation of the subunit structure of the *E. coli* RNA polymerase.

酵母RNA聚合酶与大肠杆菌的核心酶相比较，在组成上酵母RNA聚合酶 I、II、和 III 分别有两个大亚基（L'L）与大肠杆菌的 β 和 β' 亚基类似，另两个亚基与 α 亚基类似。同时，酵母RNA聚合酶 I、II、和 III 彼此之间有 5 个小亚基（10—27kD）是相同的。这说明RNA聚合酶在进化上是高度保守的。

In addition, each yeast polymerase contains three to seven unique smaller subunits.



(3) 原核生物启动子

启动子 (promoter) 是决定RNA聚合酶转录起始位点的DNA序列。RNA聚合酶特异与其结合，而使转录开始。

原核生物的启动子一般处在结构基因的上游。一个典型的原核生物启动子主要由4个区域组成：转录起点 (Startpoint)、-10序列 (-10 sequence)、-35序列 (-35 sequence)、-10序列和-35序列间的序列长度。



Gene	-35 Sequence	Consensus sequences	-10 Sequence	Transcription start
<i>lac</i>	TAGGCACCCAGGC	TTTACACTTTA	TATGTTGTG	+1
<i>lacI</i>	GACACCATCGAATG	TTCGCGGTATGG	CATGATAGCG	AAAGAGAGT
<i>trp</i>	TCTGAAATGAGCTG	TCATCGAACTAG	TAACTAGTAC	GCAAGTTCACGT
<i>his</i>	ATATAAAAAGTTC	CGTGAAAGTGGTT	TAGGTTAAAAG	CATCAGTTGAA
<i>leu</i>	GTTGACATCCGT	TTTGTATCCAG	TAACTCTAAA	AGCATATCGCATT
<i>gal</i>	CTAATTTATTCCAT	CATCTTTGTTATG	TATGTTTAT	TTCATACCATAG
<i>bio</i>	GCCTTCTCCAAAAC	TGTTAATTCGGTG	TAGACTTGT	AAACCTAAATCT
<i>recA</i>	TTTCTACAAAACAC	TGAGCATACAG	TATAAT	TTCACAGAACAT

图2-14 原核生物启动子结构（引自Lewin, 2008）

(a) 一个典型的原核生物启动子由-35序列、-10序列、-10序列和-35序列间的间隔区和转录起始位点这4部分组成 (b) 不同原核生物启动子序列的比较



(4) 真核生物启动子

真核生物有3类RNA聚合酶，分别识别三种不同类型的启动子，它们在结构上各有特点。

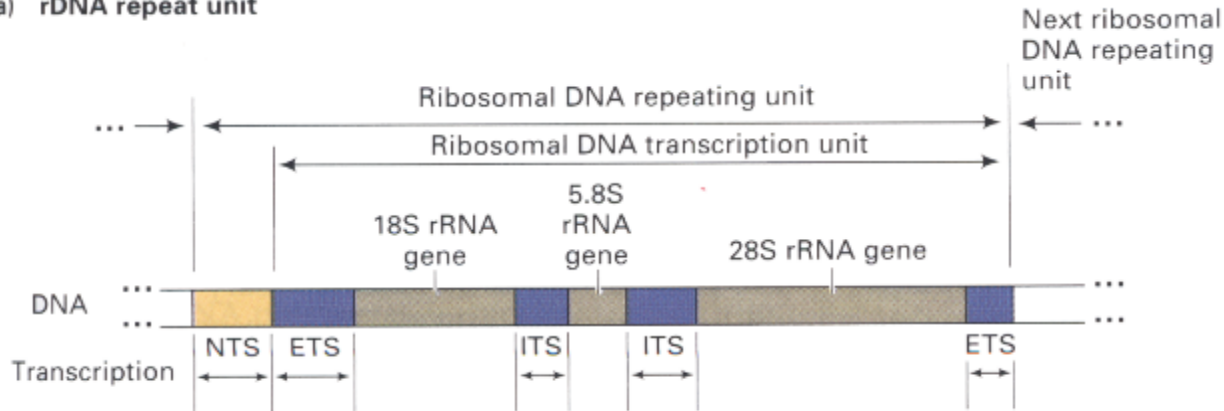
① RNA聚合酶I识别的启动子结构：

RNA聚合酶I（RNA pol I），只转录rRNA一种基因，包括5.8S、18S和28S rRNA





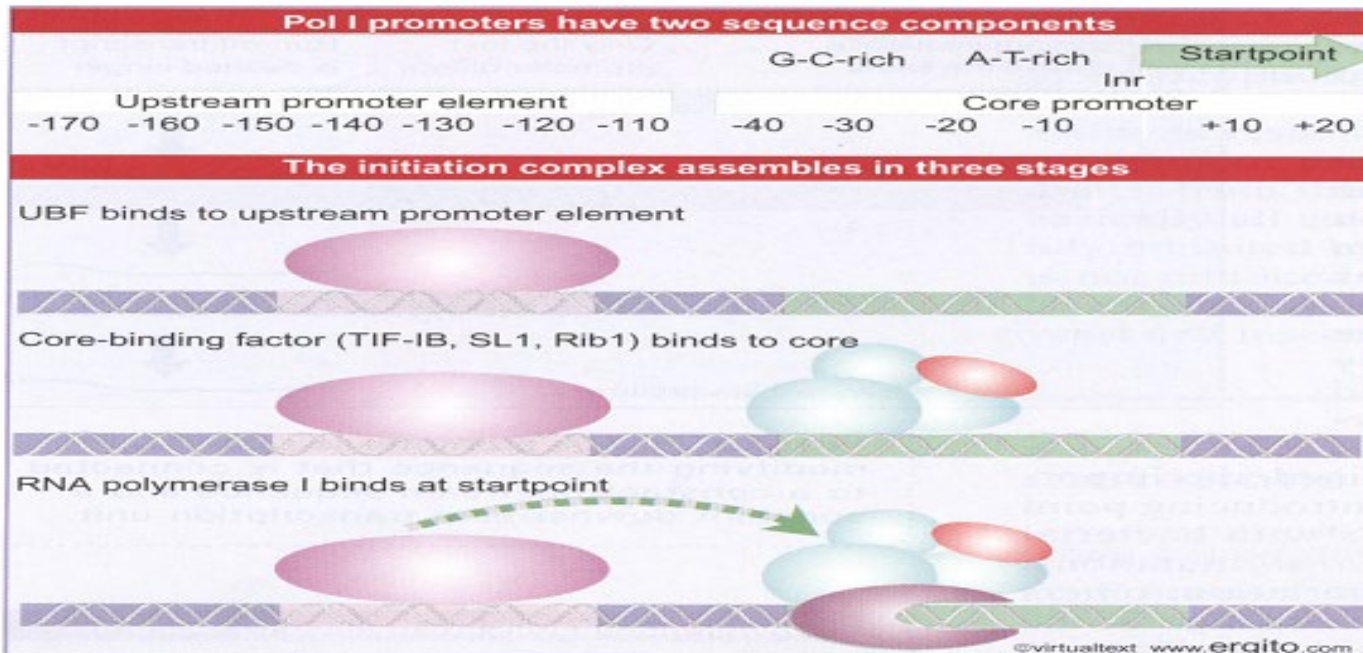
a) rDNA repeat unit



NTS (nontranscribed spacer): 非转录间区;

ETS (external transcribed spacer): 外间区;

ITS (internal transcribed spacer): 内间区。





② RNA聚合酶III识别的启动子的结构

RNA PolIII基因的产物为一些分子量较小的细胞质 RNA (cytoplasmic RNA, scRNA)、tRNA、5S rRNA、7SL RNA(参与细胞内蛋白质转移)、U6 RNA(转录后加工)等。

RNA PolIII基因的启动子很特殊，既有上游启动子也有下游启动子。下游启动子位于它们转录的基因编码序列内，通常核心启动子在+50bp—+100bp之间，由2个分开的框序列组成，A box和C box，或A box和B box。因此，RNA PolIII基因的启动子有三种类型：I型基因内启动子、II型基因内启动子和III型基因外启动子。

I型基因内启动子：是5S rRNA基因所具有的启动子，不含TATA框，转录控制区（核心启动子）位于+50至+80的区段，由box A 和box C组成。这类启动子需要TFIIIA，TFIIIB和TFIIIC的结合来定位RNA聚合酶。



II型基因内启动子：是tRNA基因的启动子，无TATA框，由A box和B box构成基因的不连续启动子。A box位于+10bp至+20bp;B box 位于+50bp至+65bp。只需要TFIIIB和TFIIIC的结合来定位RNA聚合酶。



III型基因外启动子：是某些scRNA、U6 RNA和7SL RNA基因的启动子，属上游启动子，它由TATA框、PSE（proximal sequence element，近端顺序元件）和Oct元件等3个上游元件组成。TATA框可能决定聚合酶类型的特异性，PSE和Oct元件的存在可以大大增加转录效率。



③ RNA聚合酶 II 识别的启动子结构

RNA聚合酶II（RNA polII）主要负责蛋白质基因（结构基因）和部分核内小RNA（small nuclear RNA, snRNA）的转录，其识别的启动子位于转录起始点的上游，结构最为复杂。

RNA polII识别的启动子由

核心启动子（core promoter）

或基本启动子（basal promoter）

上游启动子元件（upstream promoter element, UPE）组成。



核心启动子是指在体外测定到的由RNA polII进行精确转录起始所要求的最低限度的一套DNA序列元件。一个典型的核
心启动子与起始位点紧密靠近，长约80个核苷酸左右，从转
录起点向上游（-40）或下游（+40）延伸。

RNA polII核心启动子由4种元件组成：

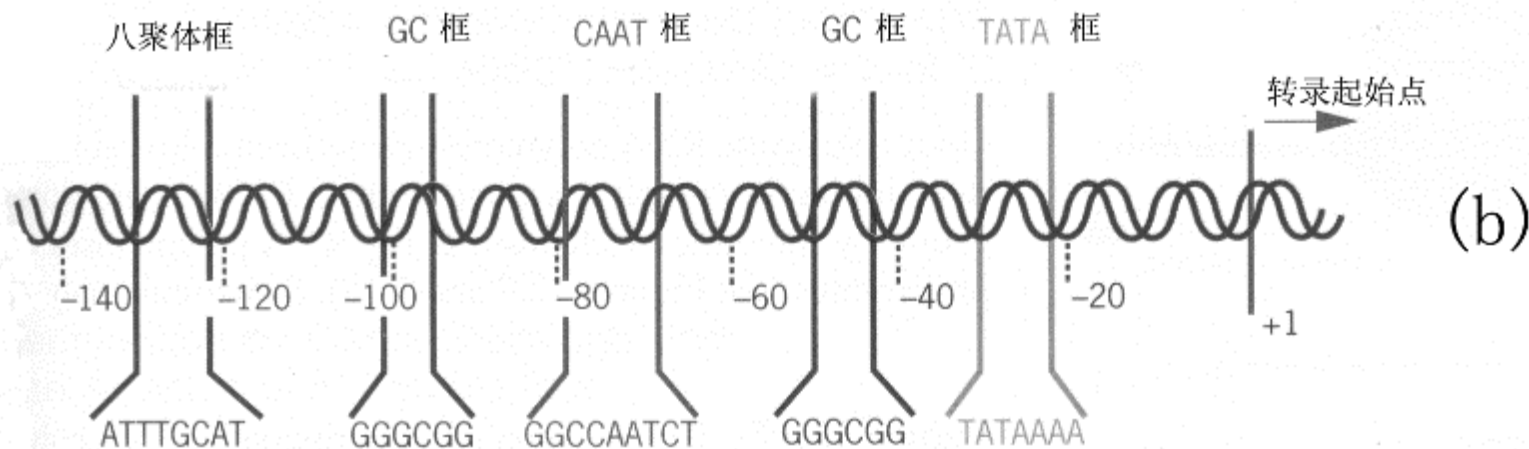
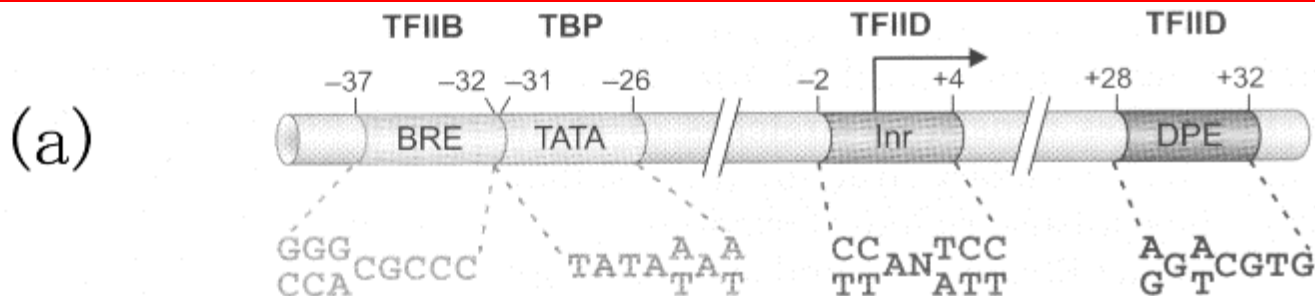
TATA框（TATA element 或TATA box）

TBIIB识别序列（TBIIB recognition element, BRE）

起始子（initiator, InR）

下游启动子元件（downstream promoter element, DPE）

起始子一般由Py2CAPy5构成，位于-2至+4之间，可能提供RNA polIII的识别。只包含InR的启动子是能被RNA polIII识别的最简单形式，DPE对于含InR但不含TATA框的启动子的活性十分重要，但对含TATA框的启动子却无作用



TATA框的作用是选择正确的起始位点，保证精确起始并产生基础水平的转录，当某些基因缺少TATA框时可由Inr来替代这一作用。

TBIIB识别序列位于-32至-37bp之间，作用是介导RNA polIII的结合，影响转录起始点的选择；



一般地，一个核心启动子可能包含以上4种元件中的2种或3种。因此

一个核心启动子既可由TATA框和InR组成

也可由InR和DPE组成

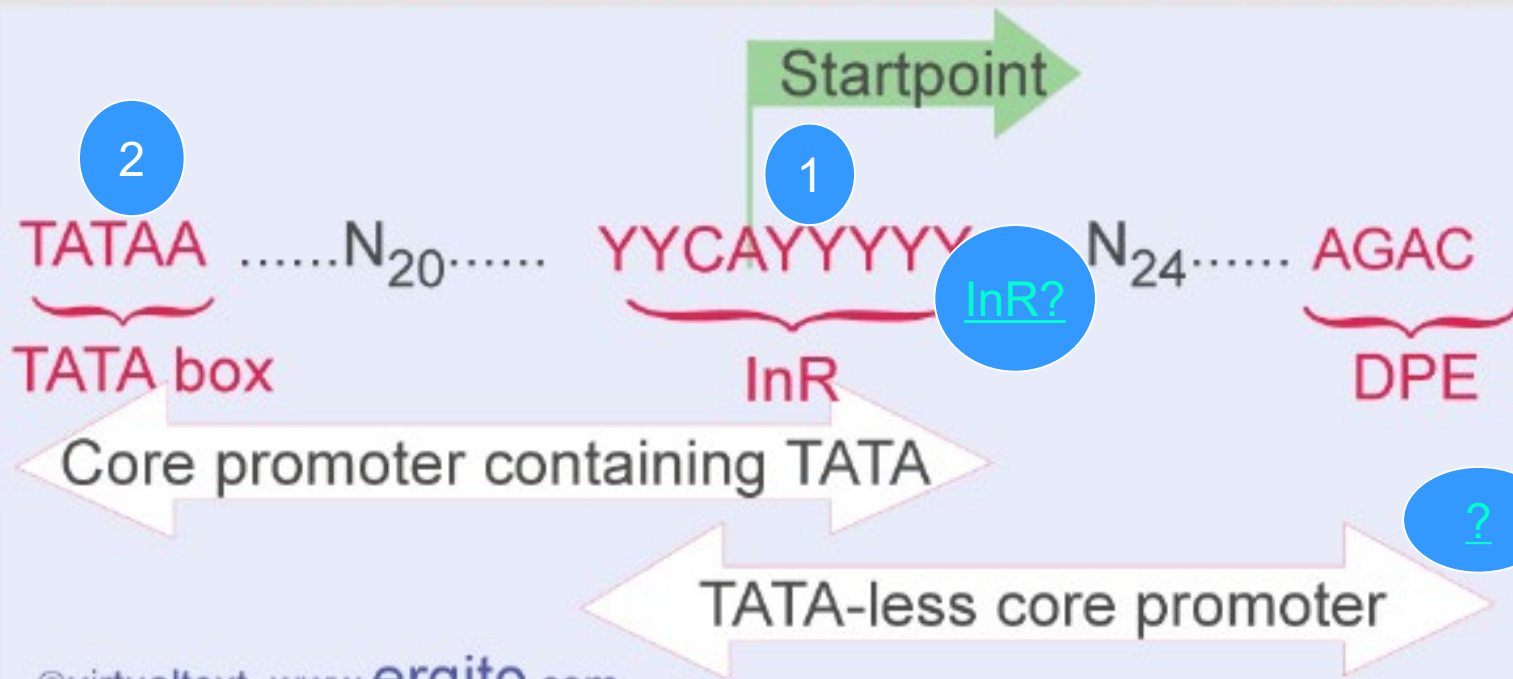
还可通过TATA框和InR共同组成

这样核心启动子的变化是不大的。但是，在RNA polII启动子中上游启动子元件的变化和组合却是很大的，这样与核心启动子再组合起来就形成了RNA polII启动子的复杂性和多样性。



一个小的RNA pol II启动子仅有两种元件

A minimal pol II promoter has only 2 elements





④ 不同的基因含有不同的启动子—— 启动子的结构是多种多样的

- Promoter construction is flexible but context can be important
- 启动子是按“mix and match”原则来组织，各种因子（elements）能够对启动子的功能起作用，但是没有一种因子对所有的启动子是必需的。
- 在一些启动子中发现有四种类型的因子：

TATA, GC boxes, CAAT boxes, and the octamer (a 8 bp element)

但是这些因子在一些启动子中其数目、位置和方向是不同的



Promoters have mix and match modules

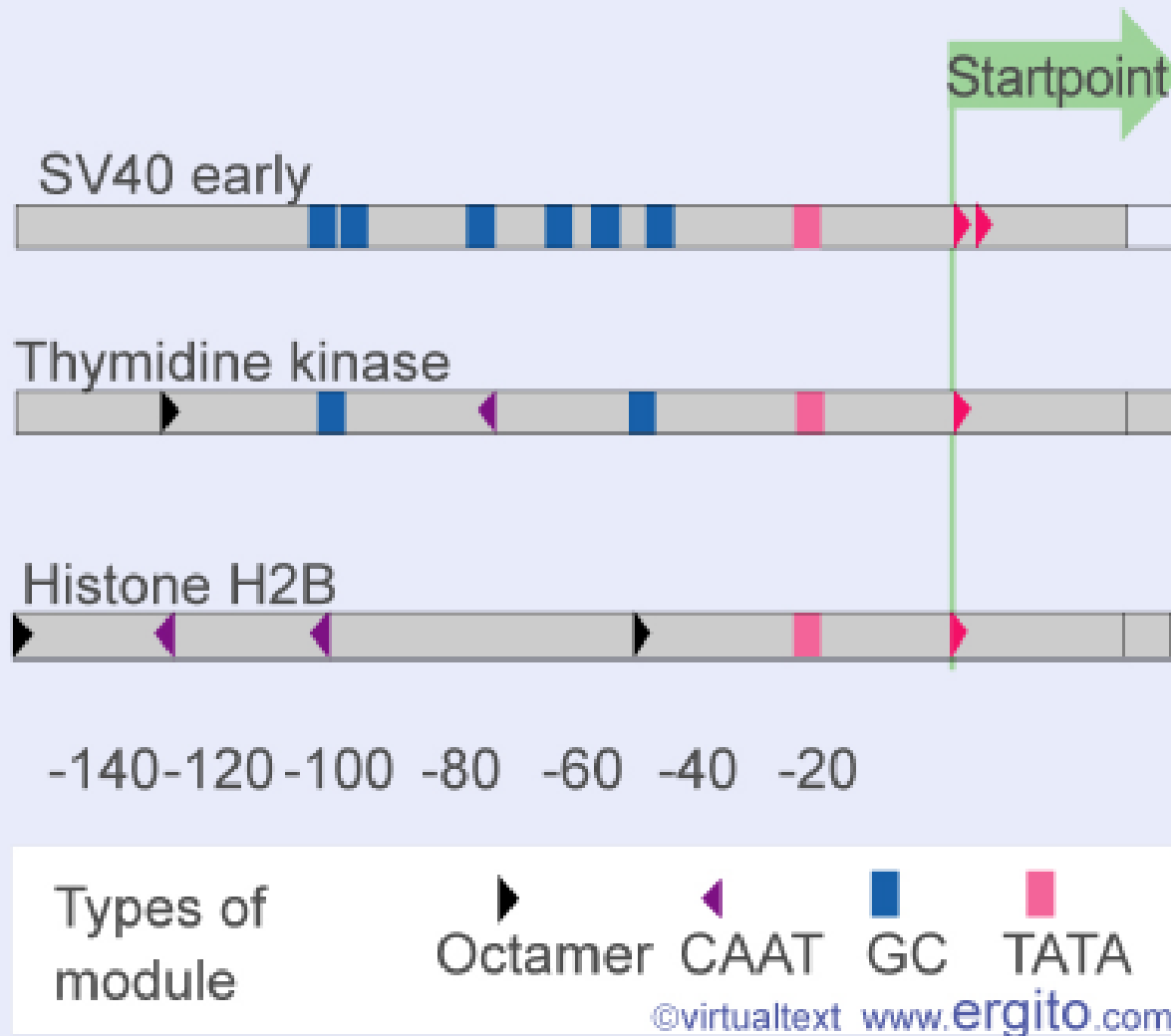


Figure 21.22 Promoters contain different combinations of TATA boxes, CAAT boxes, GC boxes, and other elements.

(5) 增强子 (enhancer)

是真核细胞中通过启动子来增强转录的一种远端性控制元件。增强的是同它连锁的基因的转录频率。

1981年由Benerji, Rusconi小组和Chambom等发现的，又称远上游序列 (far upstream sequence)

1981 Benerji SV40 DNA 140bp (增强子)

SV40 DNA+兔 β -血红蛋白融合基因的表达水平 \uparrow

其特点是：① **具有远距离效应**：常在上游-200bp处，但可增强远处启动子的转录，即使相距十几Kb也能发挥其作用；

② **无方向性**：在DNA双链中没有5'端与3'端固定的方向性，无论在靶基因的上游，下游或内部都可发挥增强转录的作用；



- ③ **顺式调节**:只调节位于同一染色体上的靶基因，而对其它染色体上的基因无作用；
- ④ **无物种和基因的特异性**，对同源或异源基因同样有效，可以接到异源基因上发挥作用，如将SV40的增强子接到兔 β -珠蛋白基因前，引入Hela细胞，此珠蛋白基因转录增强200倍。
- ⑤ **具有组织的特异性**: SV40的增强子在3T3细胞中比多瘤病毒的增强子要弱，但在Hela细胞中SV40的增强子比多瘤病毒的要强5倍，抗体基因的增强子只有在B淋巴细胞中才起作用。增强子的效应需特定的蛋白质因子参与。
- ⑥ **有相位性**:增强子的活性与其在DNA双螺旋结构中的空间方向性有关（其作用和DNA的构象有关）。



⑦ **有的增强子可以对外部信号产生反应**:如热休克基因在高温下才表达。编码重金属蛋白的金属硫蛋白基因在镉和锌存在下才表达。某些增强子可以被固醇类激活。

⑧增强子含有许多可与不同转录因子结合的基序，可以不同的组合方式调控基因的表达，在已研究过的绝大多数基因的表达调控模式中都发现组成增强子的不同基序或模块 (module) 之间可形成不同的组合,它们是基因差别表达 (differential expression) 的主要原因 (图2.18)。

组织和细胞专一性增强子: 只在特殊的组织细胞、特定的转录因子参与下，才能发挥其功能。

诱导性增强子: 这种增强子的活性通常要有特定的启动子参与。

•例如: 金属硫蛋白基因可以在多种组织细胞中转录, 又可受类固醇激素、锌、镉和生长因子等的诱导而提高转录水平。

增强子的作用机制

- 增强子的活性作用要求与启动子靠近。

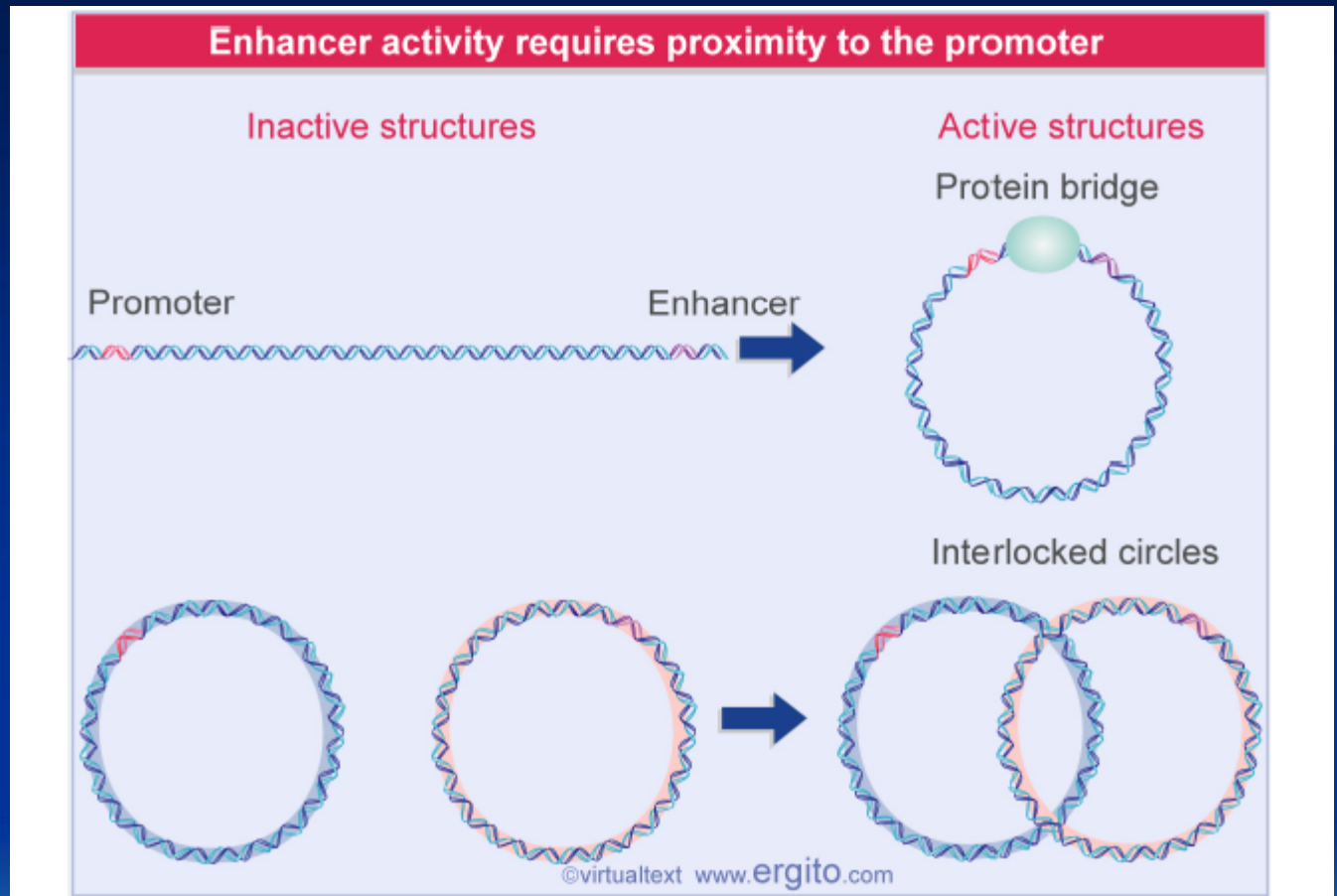


Figure 21.25 An enhancer may function by bringing proteins into the vicinity of the promoter. An enhancer does not act on a promoter at the opposite end of a long linear DNA, but becomes effective when the DNA is joined into a circle by a protein bridge. An enhancer and promoter on separate circular DNAs do not interact, but can interact when the two molecules are catenated.



2.5.2 RNA的加工

多数转录的初始产物无生物活性，在生物体内进行加工处理后才具有生物活性。

转录后加工

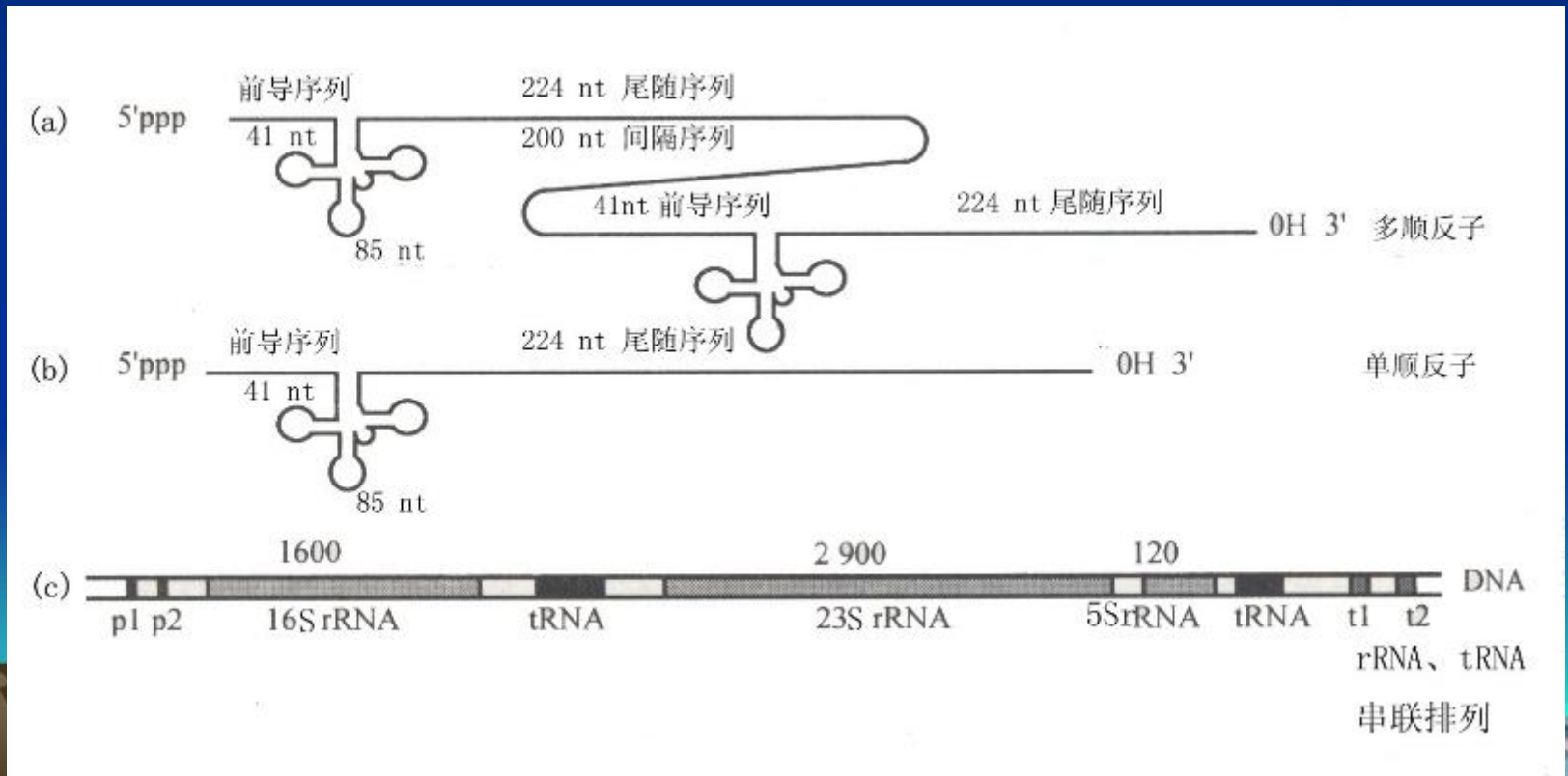
(post-transcriptional modification)

(post-transcriptional processing) :

是指将各种前体RNA分子加工转变成有功能的、成熟的各種RNA(mRNA、rRNA或tRNA等)的过程

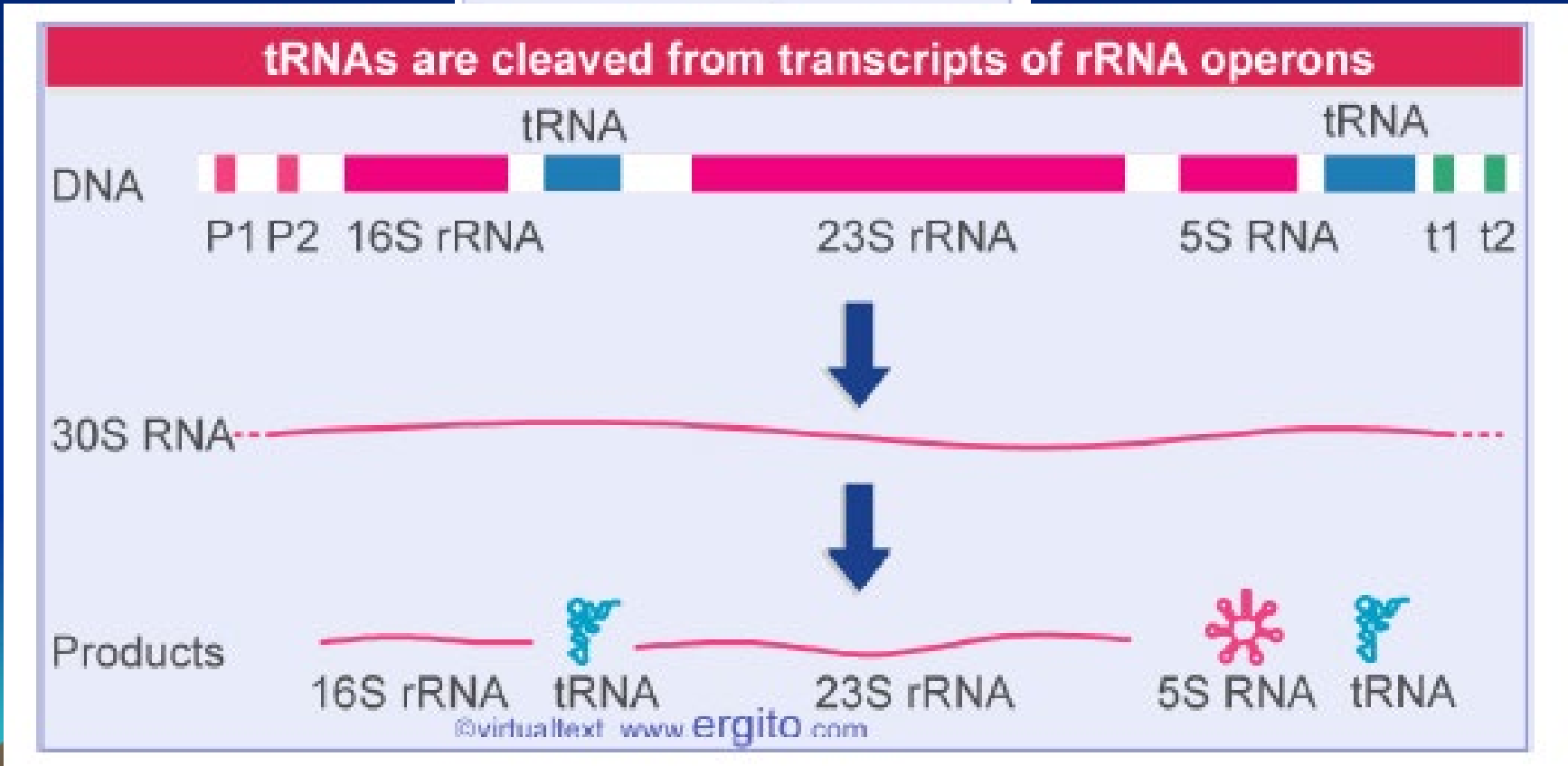
(1) 原核生物tRNA和rRNA的加工

原核生物tRNA初始转录本多为串连在一起的多顺反子（polycistron），少数为单顺反子，另有由tRNA和rRNA串连组成



为了得到成熟的tRNA和rRNA, 细菌细胞利用了多种核酸酶对前体分子进行后加工。

Both ends of tRNA are generated by processing
tRNA precursor has extra 5' and 3' sequences





3.4.4 真核生物tRNA和rRNA的加工

(1) 真核生物tRNA的加工

真核tRNA的基因与原核基因不同：

真核的前体分子 tRNA数目多、单顺反子、成簇排列、有基因间隔区，例如 爪蟾 tRNA基因数目 >200 拷贝，酵母约有400个tRNA基因，是一种重复序列；

真核的前体分子 tRNA中含有内含子。

其加工过程要剪接内含子，都要加CCA；

与真核生物其它内含子剪接相比不是转酯反应；

其剪切原则上是依赖于对tRNA共同的二级结构的识别

tRNA splicing has separate cleavage and ligation stages

©virtualtext www.ergito.com

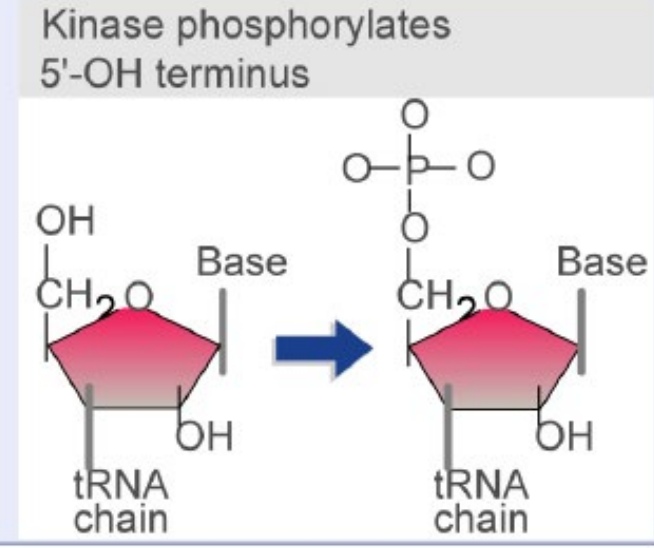
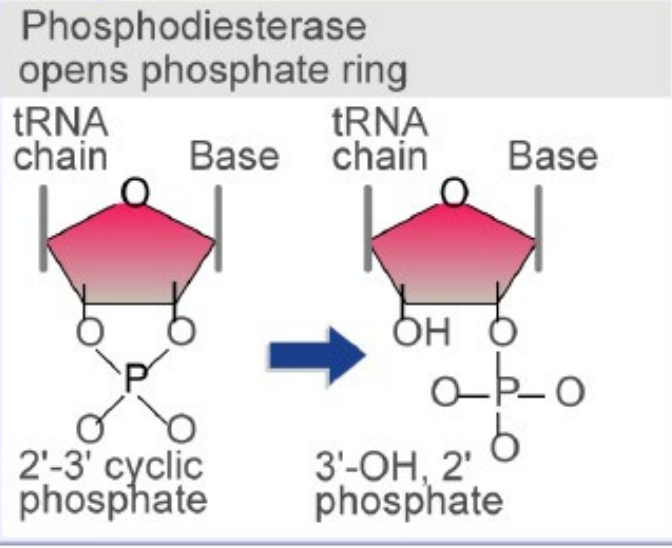
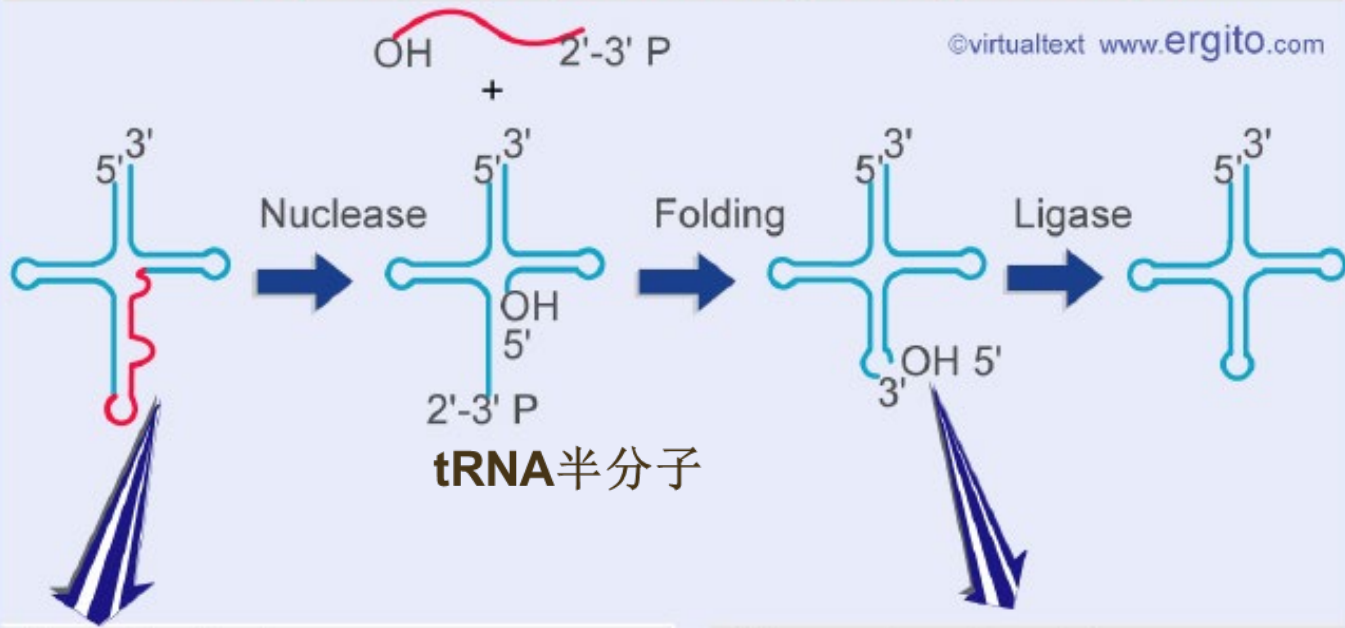


图2-15 酵母tRNA内含子的剪接

(2) 真核rRNA的加工

真核生物的18S、5.8S和28S rRNA基因串联在一起形成一个转录本，初级转录本为45S前体，5S RNA与它们分开转录，这和原核的rRNA基因不同。

真核rRNA基因中没有内含子。

在转录时或转录后有110个甲基化酶立即结合导转录本

上： 保持到rRNA加工成熟

18S RNA 结合 39个甲基化酶（胞质中加上4个）

28S RNA 结合 74个甲基化酶

表明甲基化用于标明转录本的加工区域

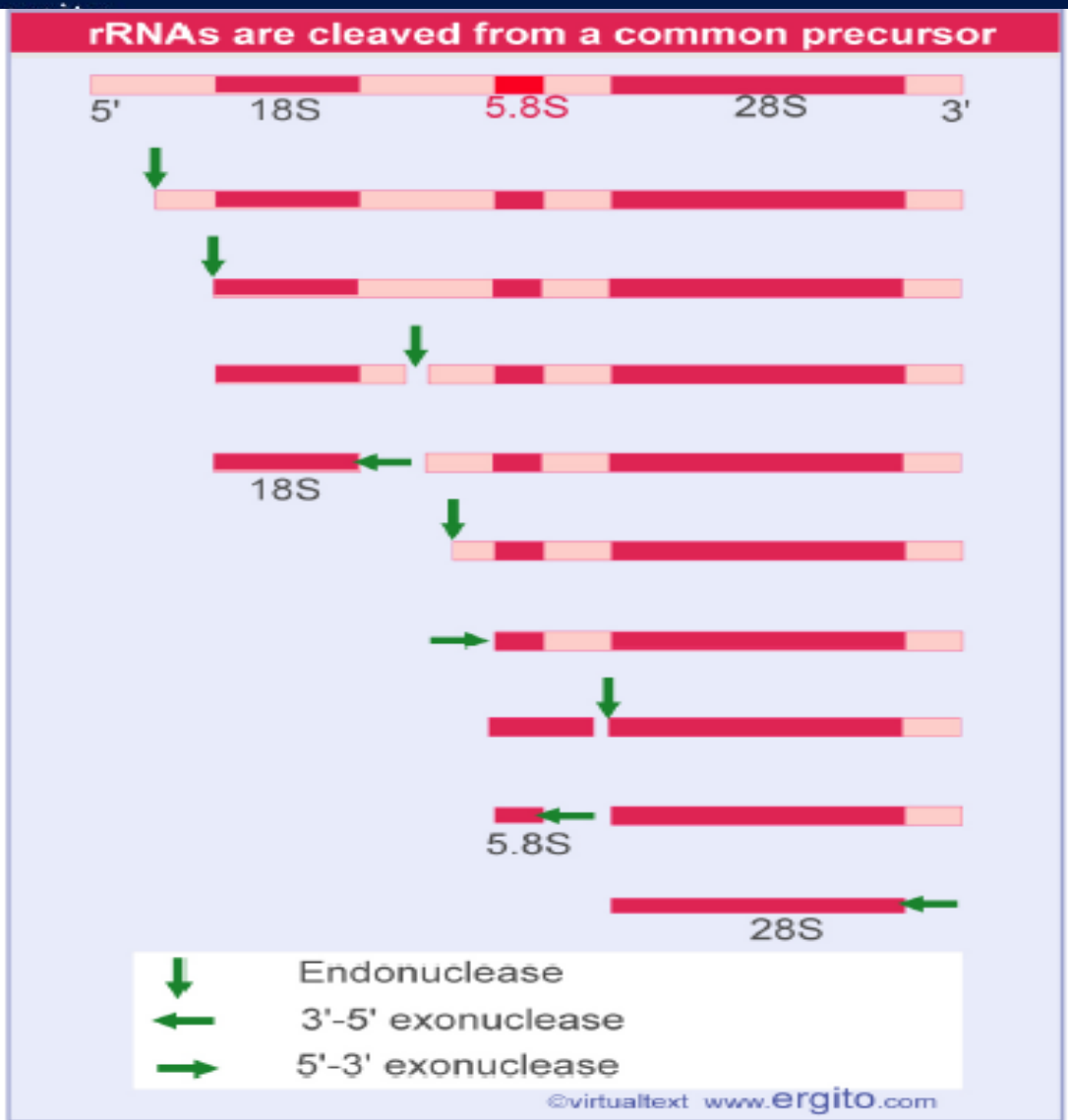


图2-16 高等真核生物rRNA前体的加工



(3) 真核生物mRNA前体的加工

一般要经过四个步骤：

mRNA的5'端加帽

mRNA的3'端多聚腺苷酸化（加尾）

切除内含子

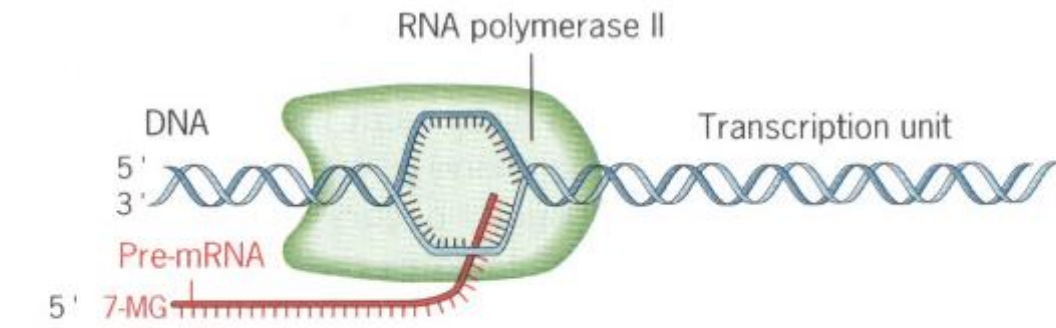
修饰（对某些碱基进行甲基化）



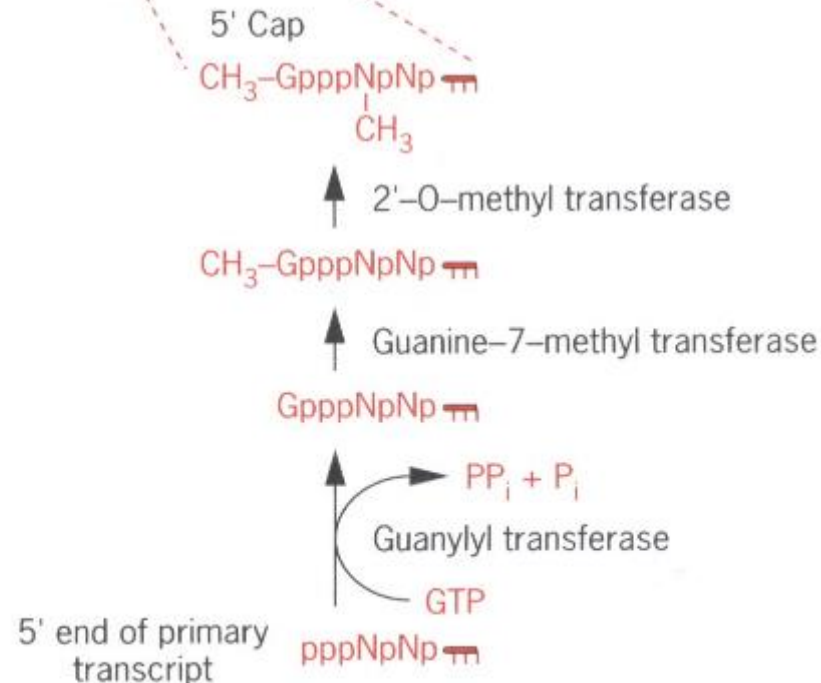


① mRNA的5'加帽

- 成熟的真核生物并没有游离的5'端，只有所谓的帽子结构，该结构是通过转录加工加上去的。
- mRNA的5'加帽是一个多步加工过程，第一步是**鸟苷转移酶**（guanylyl transferase）将一个鸟苷酸加在5' RNA的前端，产生5'-5'对接的**磷酸二酯键**。第二步由**鸟嘌呤甲基转移酶**（guanine methyl transferase)将一个甲基基团加到嘌呤环的7位氮原子使5' 帽子鸟嘌呤转变为**7-甲基鸟嘌呤**。

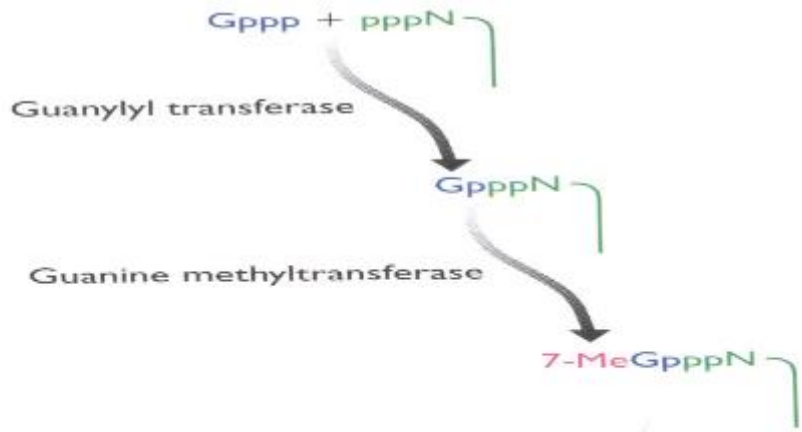


(a) Early stage in the transcription of a gene by RNA polymerase II.



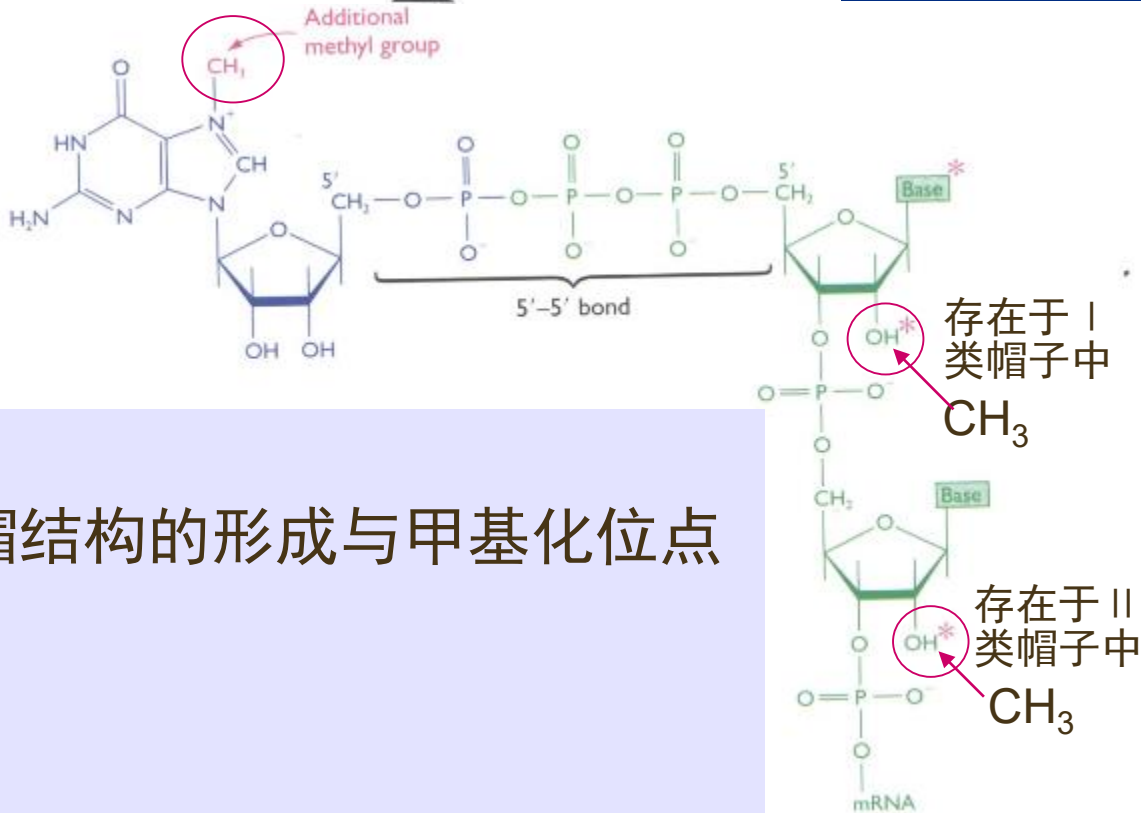
(b) Pathway of biosynthesis of the 7-MG cap.

图2-17 mRNA前体的5'端加帽（7-MG）（a）一个由RNA聚合酶II转录的基因的早期阶段（b）7-MG帽结构的生化合成途径



- 真核生物的帽子结构有三类
- Type 0 cap: m^7GpppX
- Type I cap: $m^7GpppXm$
- Type II cap: $m^7GpppXmYm$

存在于各类帽子中



帽结构的形成与甲基化位点





mRNA 5'加帽的功能主要表现在4个方面：

1) **保护mRNA 5'端不被降解** RNA酶的降解从5'端起始，当在mRNA的5'端加上 m^7GpppG 帽子后，带有3个连接磷酸的5'帽可阻止RNase切割。

2) **为核糖体识别mRNA提供信号，提高翻译效率** 真核生物mRNA必须通过5'帽结合蛋白才能接触核糖体，起始翻译。缺少加帽的mRNA由于不能被5'帽结合蛋白识别，其翻译效率比加帽的mRNA低20倍。

3) **作为进出细胞核的识别标记**。凡由Pol II转录的RNA均在5'端加帽，包括snRNA，这是RNA分子进出细胞核的识别标记。

4) **提高mRNA的剪接效率**。5'帽结合蛋白涉及第一个内含子剪接复合物的形成，直接影响mRNA的剪接效率



② mRNA 的3'端多聚腺苷酸化

- 几乎所有真核生物成熟的mRNA末端都有一串约250个腺嘌呤核苷酸尾巴。它们并非模板DNA编码，而是在转录完成后由poly (A) 多聚酶合成。加尾位置不在转录物的最末端，而是在接近末端的内部位点。在切除mRNA 3'末端的一段序列后，再加上多聚腺苷酸。
- 加尾信号:新合成的mRNA的3'-端含两个明显的加尾信号。

5'-AAUAAA-----24 bp----GUGUGUUGGAAUUUUUUUGUGU--3'

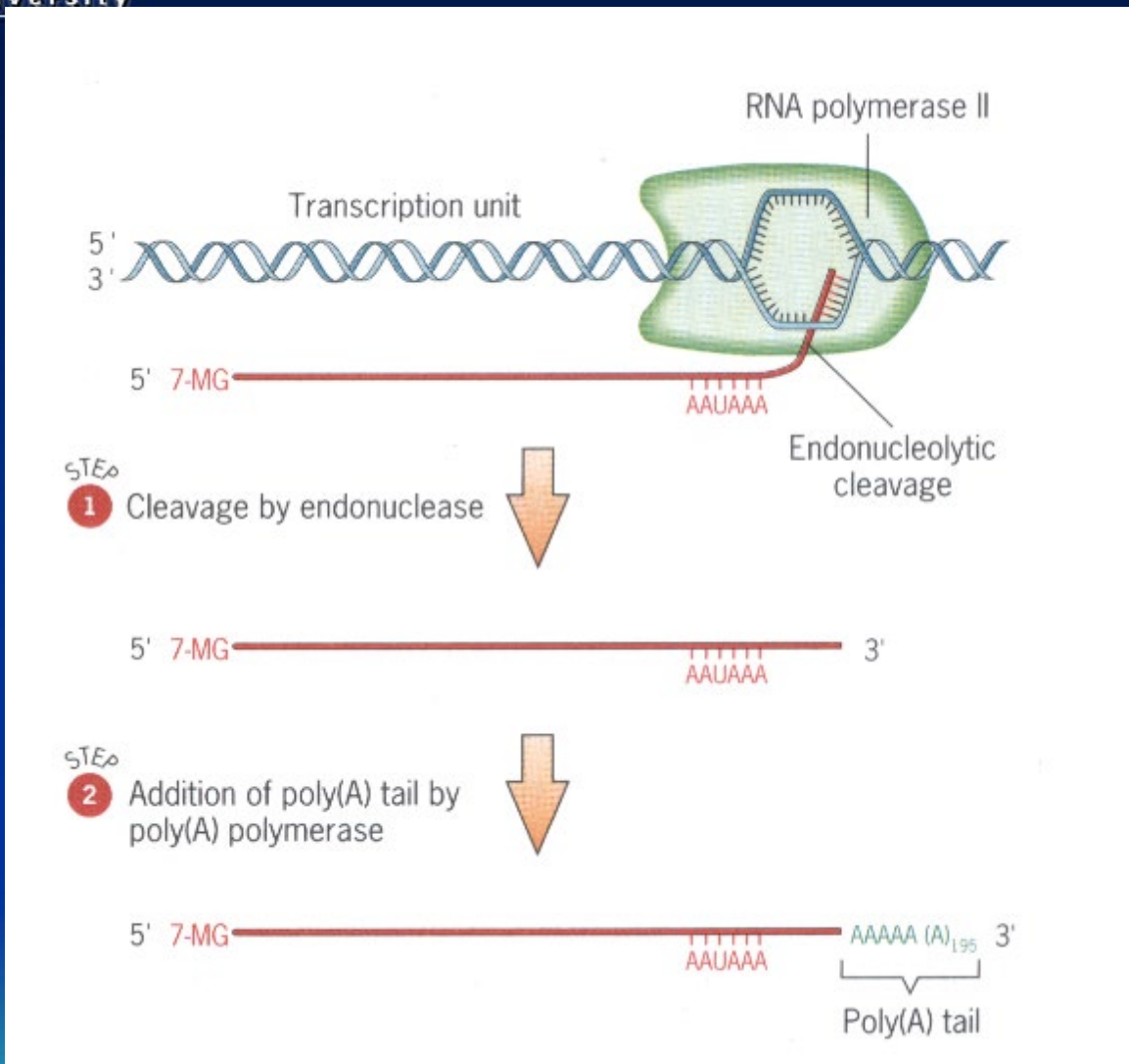


图2-18 mRNA 3'端的切割和加poly (A) 尾



mRNA的3' 端多聚腺苷酸化的作用可能是：

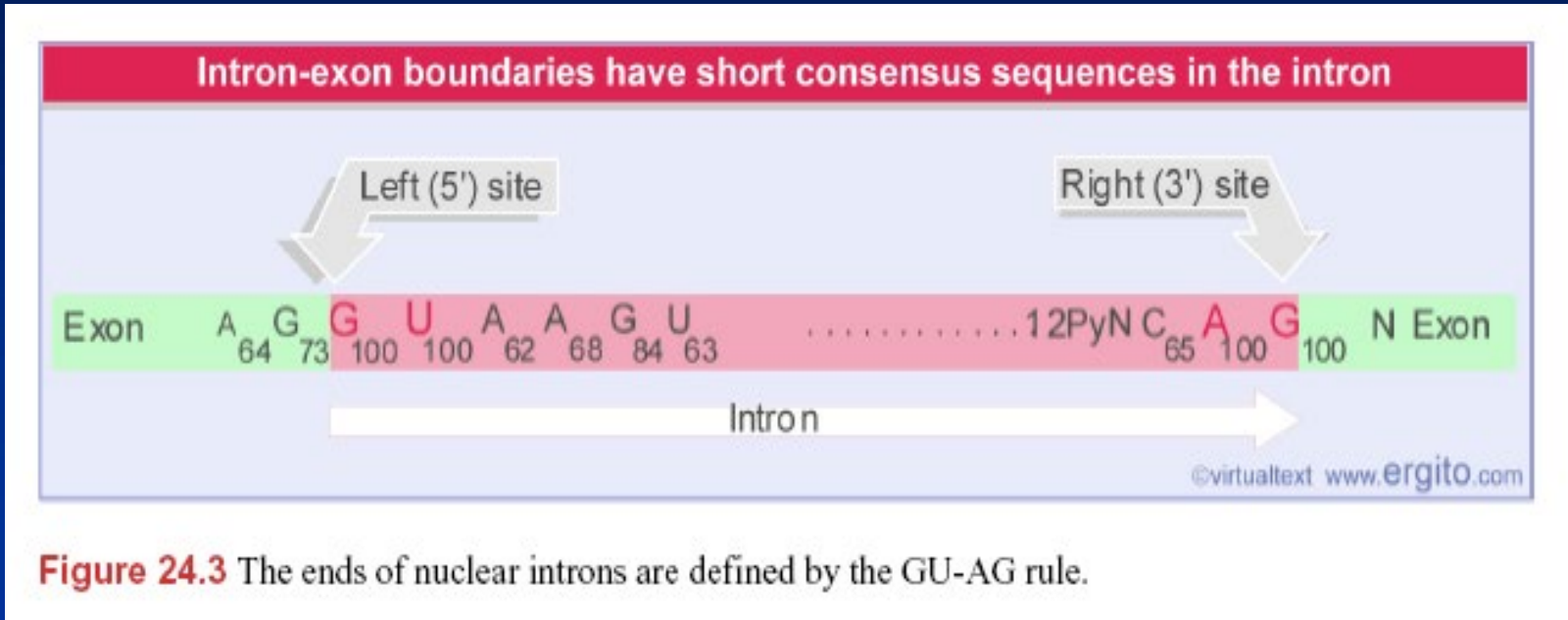
- 增加mRNA的稳定性；
- 提高mRNA翻译效率；
- poly (A) 可影响mRNA前体最后一个内含子的剪切，缺少poly (A) 使剪接效率降低5-10倍。



(4) RNA的剪接

真核细胞基因DNA的间插序列（intervening sequence），即不连续基因（interrupted gene）的间插序列称为内含子(intron)。被内含子隔开的基因序列，即出现在成熟RNA中的序列称为外显子（exon）。真核生物前体mRNA切除内含子,连接外显子形成成熟的mRNA的过程称为RNA剪接(RNA splicing)。

➤ 内含子的边界顺序由保守的基序组成



- 比较大量的真核生物mRNA内含子发现，它们的两侧边界均有一对保守顺序，即5'-端为GU，3'-端为AG，这类称为GU-AG的内含子均以相同方式剪切。



① I 类内含子的剪接

I 类内含子常分布于低等真核生物的细胞器中，

如 四膜虫的rRNA；

大部分真菌如酵母的mtDNA；

植物叶绿体基因的内含子；

Group I intron structure is conserved

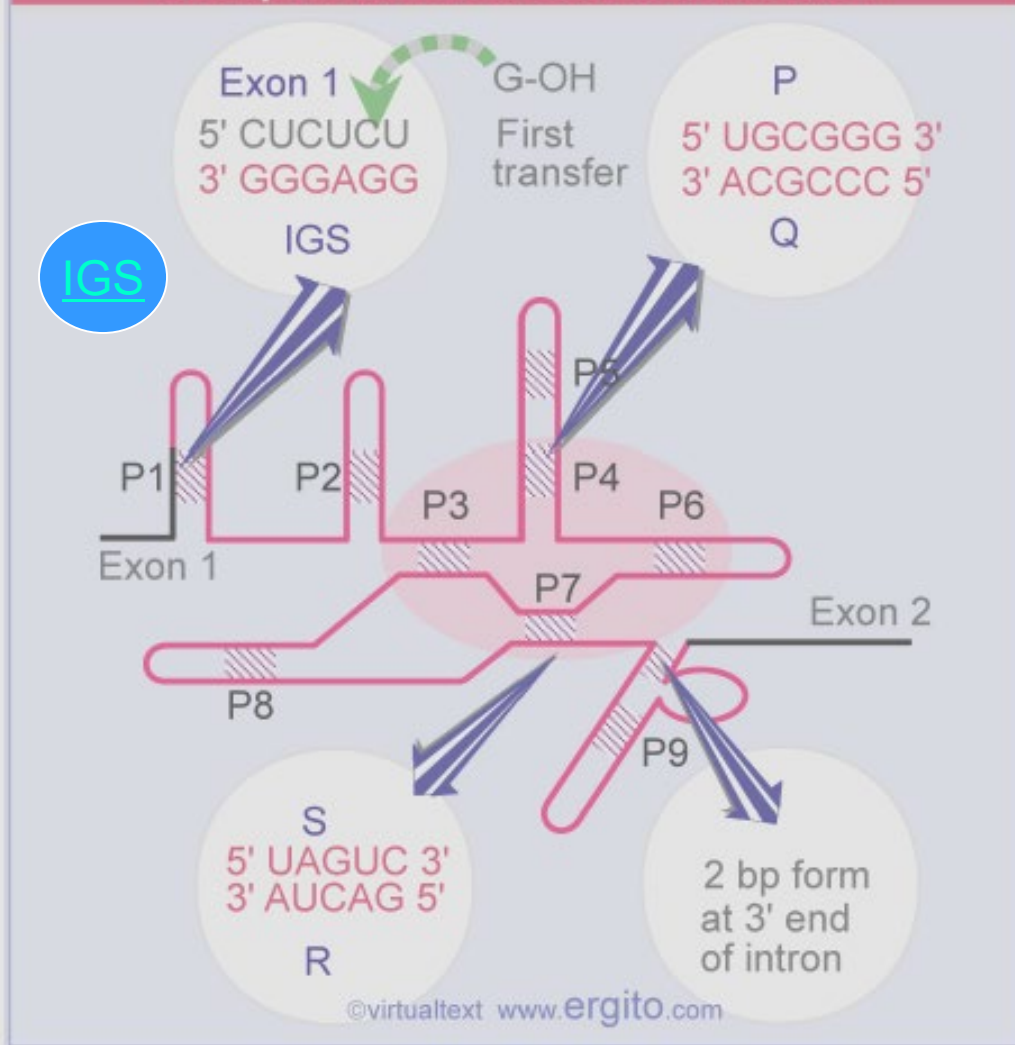


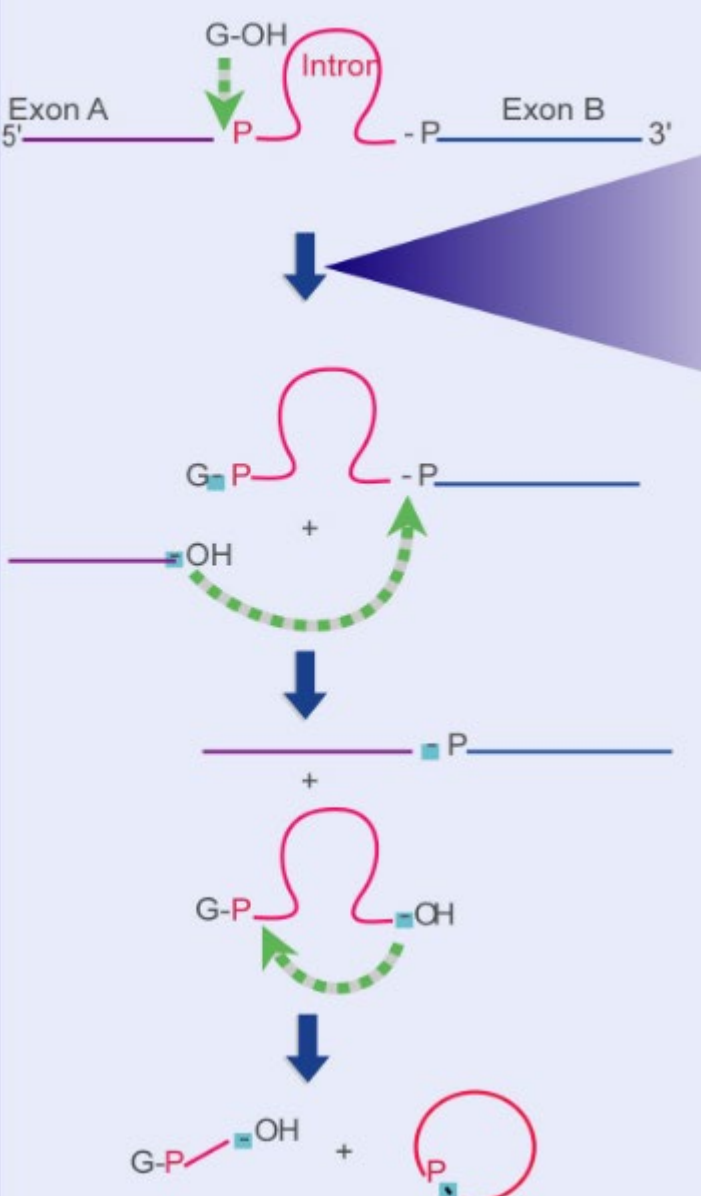
Figure 26.4 Group I introns have a common secondary structure that is formed by 9 base paired regions. The sequences of regions P4 and P7 are conserved, and identify the individual sequence elements P, Q, R, and S. P1 is created by pairing between the end of the left exon and the IGS of the intron; a region between P7 and P9 pairs with the 3' end of the intron.

- I类内含子有一个共同的二级结构，共9个配对区（P1—P9），其中P4和P7是I类内含子中共有的保守序列。
- P4由P和Q序列形成，长10nt，配对碱基6—7对。P7由R和S序列构成，长12nt，5对碱基配对。
- P3,P4,P6和P7是核心结构，是可以执行催化的最小区域。其他的配对区在不同的内含子中是不同的。

I类内含子的剪接机制

自剪接 (self-splicing) 反应，通过3次连续的转酯反应完成。只是磷酸酯键的直接转移，没有水解，不需能量。

Self-splicing occurs by successive transesterifications



First transfer
3'-OH end of G attacks 5' end of intron

5' 3'
pG-OH
X

pNpNpNpNpNpNpNpNpXpXpXpXpXpX

↓

pNpNpNpNpNpNpN-OH
+
pGpXpXpXpXpXpX

Second transfer
3'-OH of exon A attacks 5' end of exon B

Third transfer
3'-OH end of intron attacks bond 15 bases from 5' end

©virtualtext www.ergito.com



特点：

由于内含子自身形成特定的二级三级结构，从而产生适于剪接反应的空间构象和活性位点，相当于传统酶的激活位点，即G苷酸结合位点和底物结合位点，后者依赖于IGS的配对来确定。G的参与完成剪接反应。即剪接反应完全由内含子自身完成

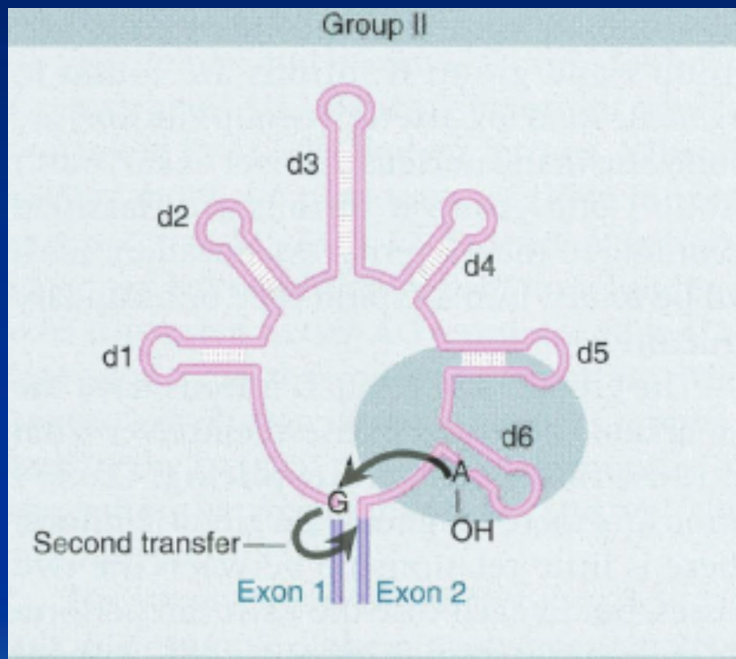


② II类内含子的剪接

- II类内含子的剪接和I类内含子不同，而和核mRNA内含子的剪切有些相似。
- 分布：在酵母mtRNA, 细胞色素氧化酶的a亚基、b亚基，玉米mtRNA、tRNA以及真核mRNA前体中。
- 边界序列为5' ↓GUGCG- - -YnAG↓, 符合GT—AG法则



➤二级结构：形成6个茎环结构，使两个并列的功能区靠近。功能区5和功能区6被两个碱基隔开。功能区6含有1个不配对A残基，其上带有2-OH,发动第一次转酯反应。



II类内含子的二级结构



- 与核基因mRNA的剪接过程相比，II类内含子的最大特定是不需要其他成分的参与，RNA分子本身能形成剪接所需的空间结构和催化活性区域。在核基因mRNA的剪接过程中，需要多种成分特别是snRNA与RNA前体共同作用才能形成剪接所需的空
间结构，产生具催化功能的区域。



③

核mRNA的剪接

➤ 核mRNA的剪接过程和II类内含子十分相似，根本区别是：核mRNA前体本身不能形成二级结构，必需依赖于snRNP(U1,U2,U4,U5和U6)的帮助才能形成剪接体，进行自我剪接。

➤ 结构特点：

边界顺序 完全符合GU-AG法则

含分枝点序列

内含子5'端保守序列 (5'GUAAGUA3')

和U1snRNA的5'端保守序列 3'CAUUCAU5'互补

剪接机制

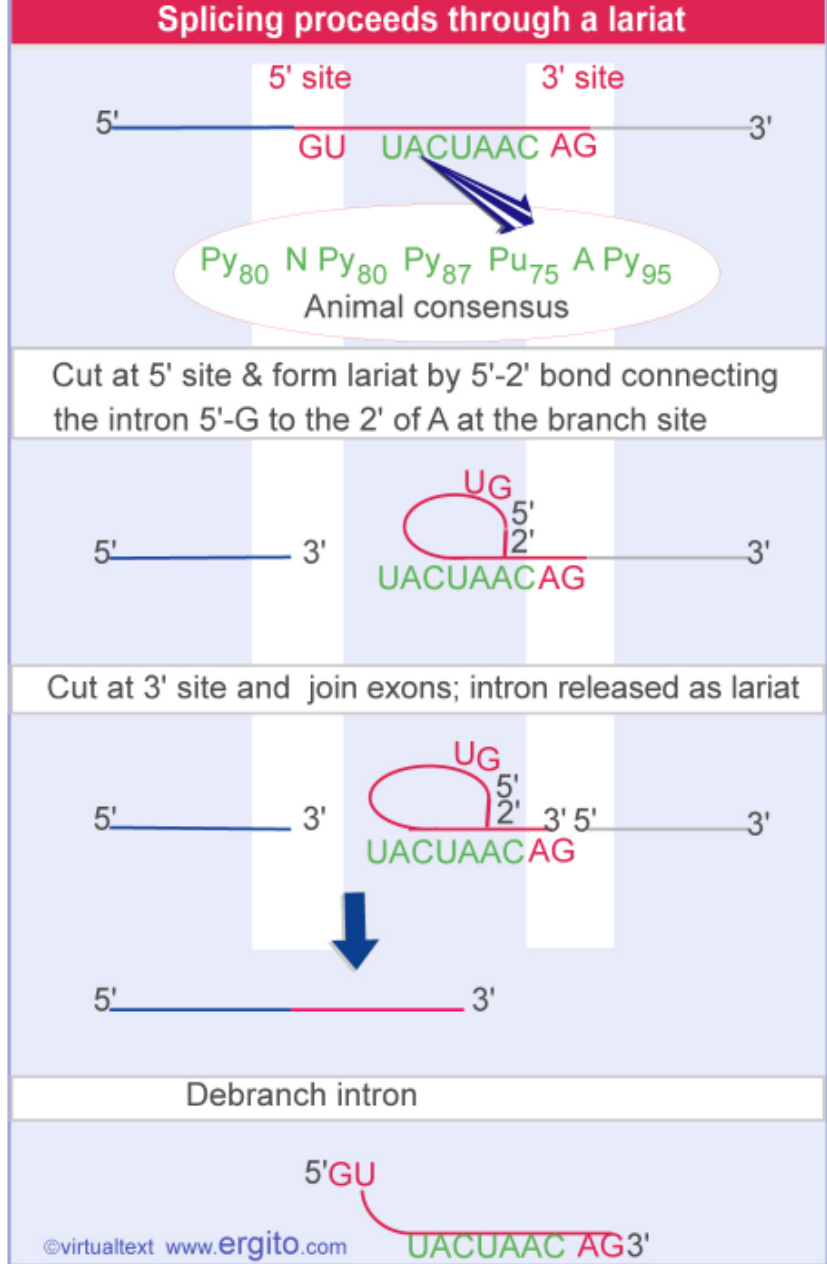


Figure 24.6 Splicing occurs in two stages. First the 5' exon is cleaved off; then it is joined to the 3' exon.

Splicing uses transesterification

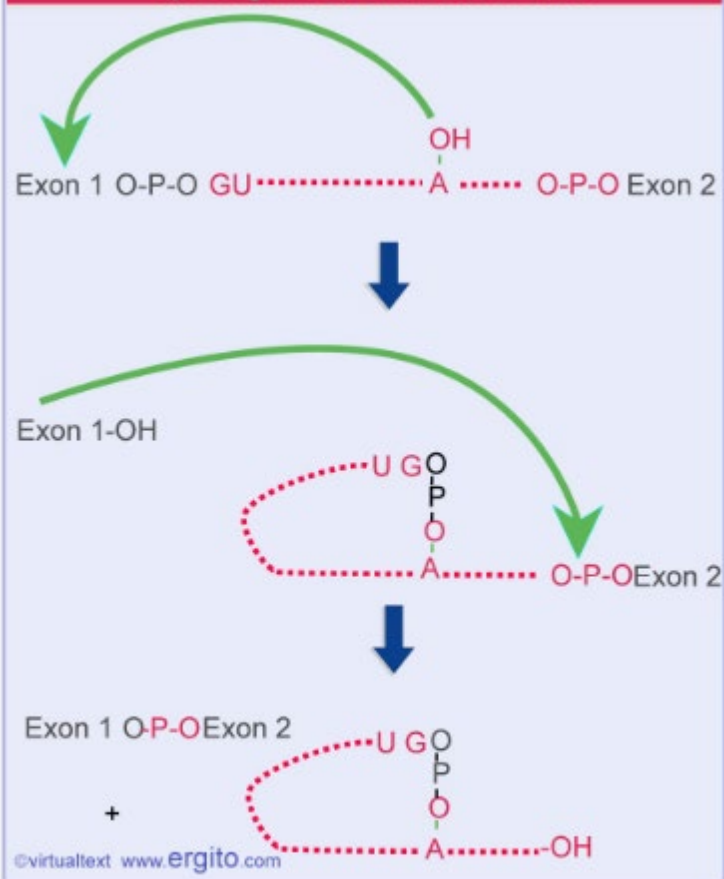


Figure 24.7 Nuclear splicing occurs by two transesterification reactions in which an OH group attacks a phosphodiester bond.



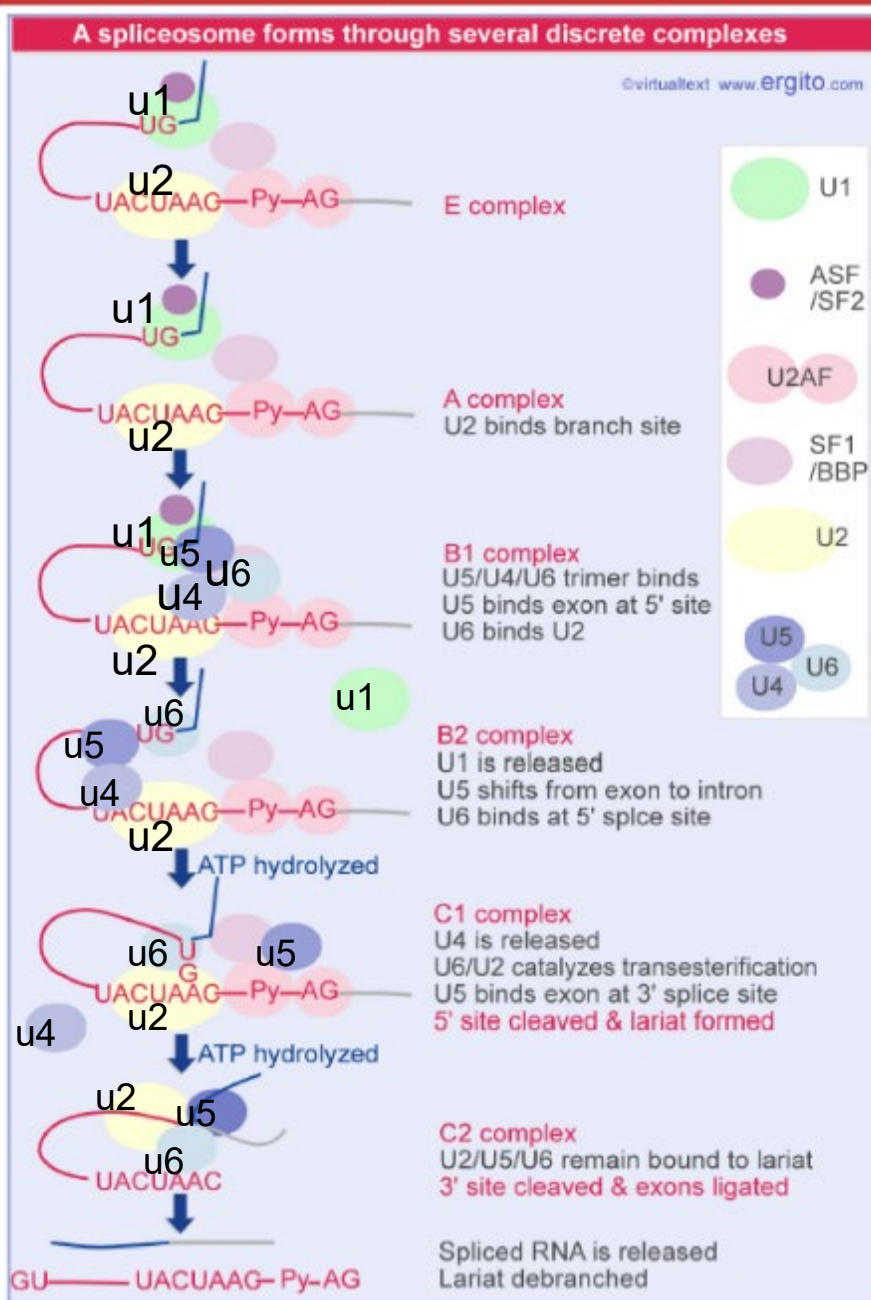
- 在剪接体的作用下通过转酯反应而完成
- 形成一个套索 (lariat) 结构和剪接了的外显子
- snRNP的剪接功能和反应步骤是：

U1结合→形成E complex→

A complex(U2结合)→B1 complex

→ B2 complex→C1 complex

→C2 complex



E complex + U2

A complex (U2与分枝位结合)

B1 complex (U5/U4/U6三聚体结合, U5结合在外显子5'端, U6与U2结合)

B2 complex (释放出U1, U5从外显子向内含子移动, U6结合在5'剪接位点)

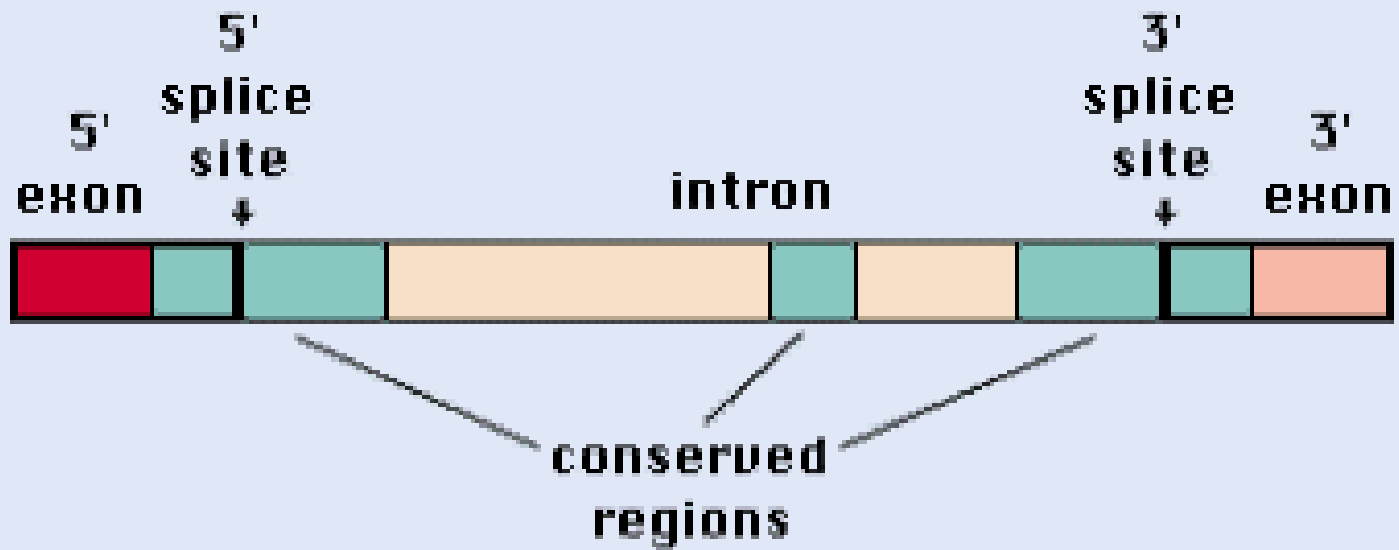
C1 complex (释放出U4, U6/U4催化转酯反应, U5结合在外显子3'剪接位点, 5'位点被切开, 形成套索)

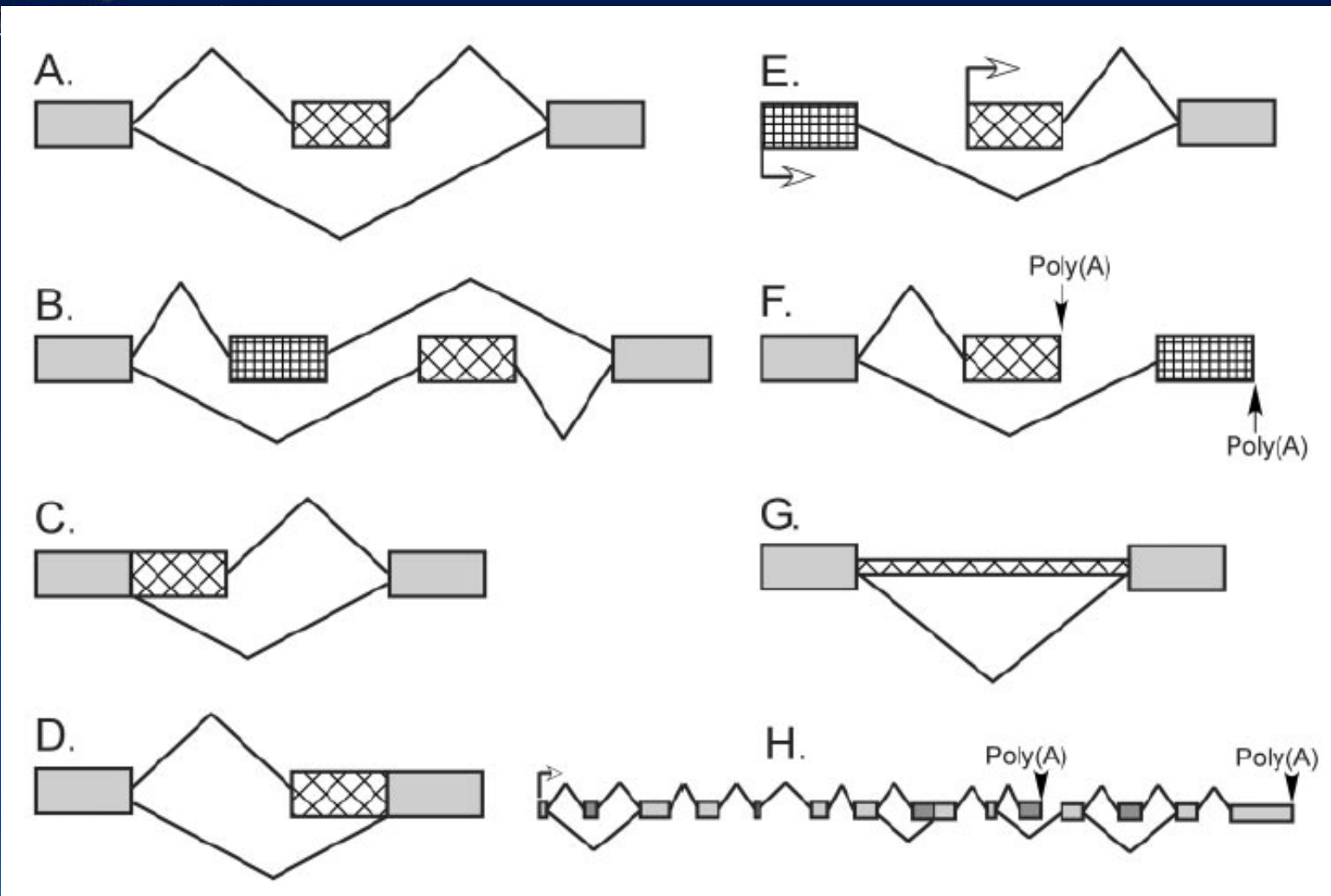
C2 complex (U2/U5/U6仍结合在套索上。3'位点被切开, 外显子被连接)

释放出剪接了的RNA, 套索脱分枝成线状。

Figure 24.13 The splicing reaction proceeds through discrete stages in which spliceosome formation involves the interaction of components that recognize the consensus sequences.

RNA splicing



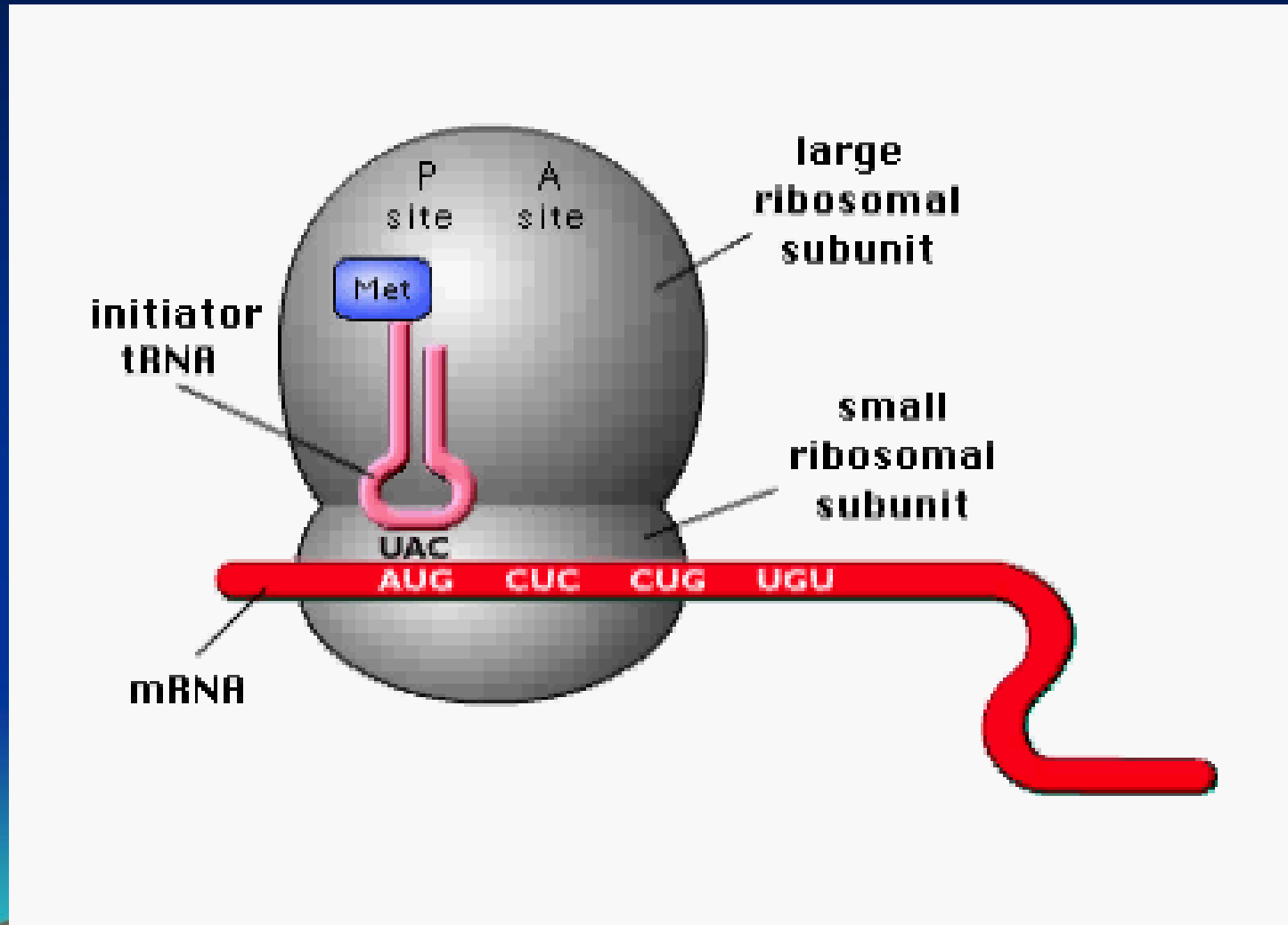


可变剪接产生多种RNA





蛋白质合成演示图





3.6 中心法则及其发展（自学）

- 1 中心法则与遗传信息流
- 2 朊粒与中心法则
- 3 中心法则的修正与发展
 - (1) RNA的复制； (2) RNA反向合DNA；
 - (3) RNA的自催化剪接； (4) DNA水平的基因重排；
 - (5) RNA编辑； (6) 基因中内含子的切除和外显子的连接
 - (7) 普里昂的感染与繁殖问题

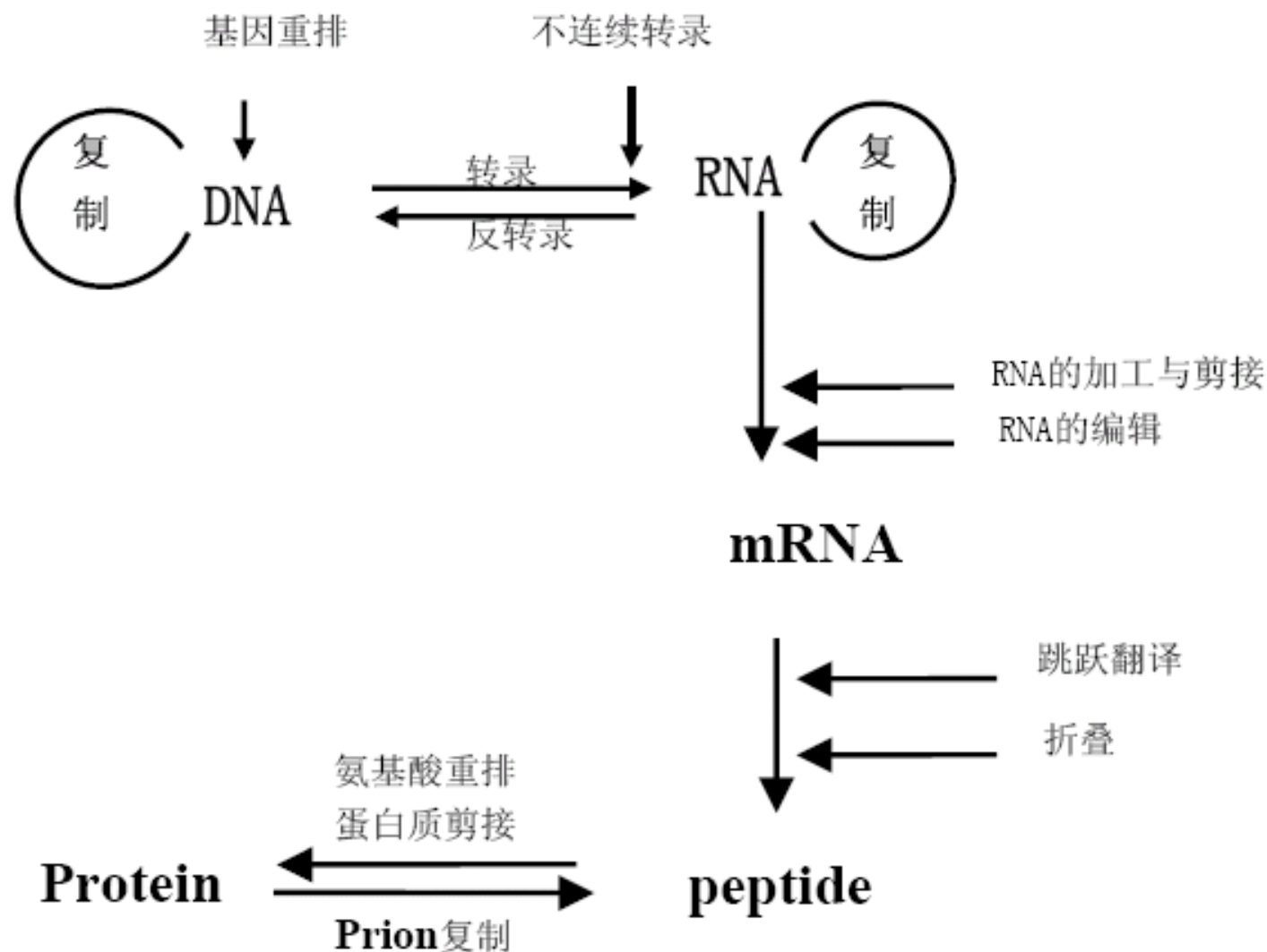


图 3.6—1 补充和修正了的中心法则与遗传信息流



3.7 基因的现代概念 (自学)

- 1 早期的基因概念
 - (1) 孟德尔“遗传因子”
 - (2) 染色体——基因学说
 - (3) “一个基因一个酶” ⇨ “一个基因一个多肽”
- 2 顺反子与操纵子
- 3 断裂基因与重叠基因
- 4 转座子
- 5 现代基因的概念



第2章习题

1. 简单说明早期的基因概念以及基因概念的发展。
2. 前人已经证明DNA是遗传物质。若请你用现代分子生物学的技术方法，将如何设计实验证明DNA是遗传物质？给出设计方案，并说明理由。
3. 有丝分裂与减数分裂的主要区别是什么？它们在维护物种的稳定性和生物的进化中各有什么作用？说明理由。





武汉大学

Wuhan University

谢谢！

本章结束

