

2014年诺贝尔生理学奖



John O'Keefe

John O'Keefe discovered, in 1971, that certain nerve cells in the brain were activated when a rat assumed a particular place in the environment. Other nerve cells were activated at other places. He proposed that these "place cells" build up an inner map of the environment. Place cells are located in a part of the brain called the hippocampus.

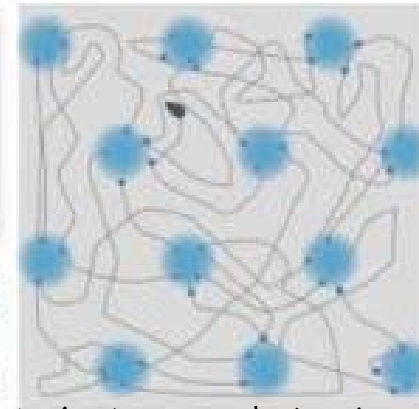
海马体中的位置细胞



May-Britt Moser and
Edvard I. Moser



May-Britt och Edvard I. Moser discovered in 2005 that other nerve cells in a nearby part of the brain, the entorhinal cortex, were activated when the rat passed certain locations. Together, these locations formed a hexagonal grid, each "grid cell" reacting in a unique spatial pattern. Collectively, these grid cells form a coordinate system that allows for spatial navigation.



大脑中定位系统的组成细胞——网格细胞

约翰·欧基夫（John O'Keefe）和梅·布莱特（May-Britt Moser）以及爱德华·莫索尔（Edvard I. Moser）获得2014年诺贝尔生理学或医学奖。

获奖理由是“构成大脑定位系统的细胞的发现”。

原核与真核生物转录产物比较

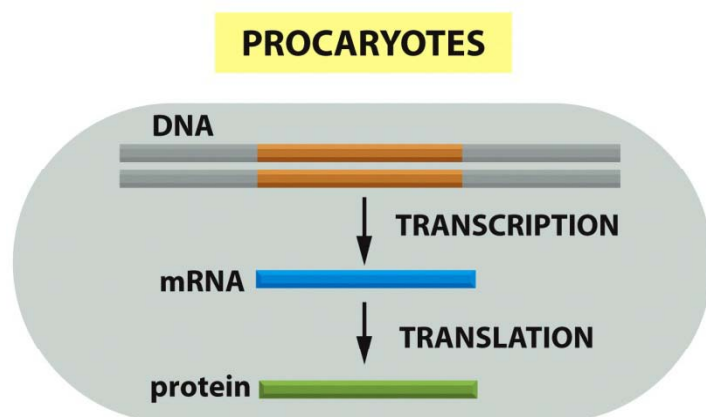


Figure 7-23b Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

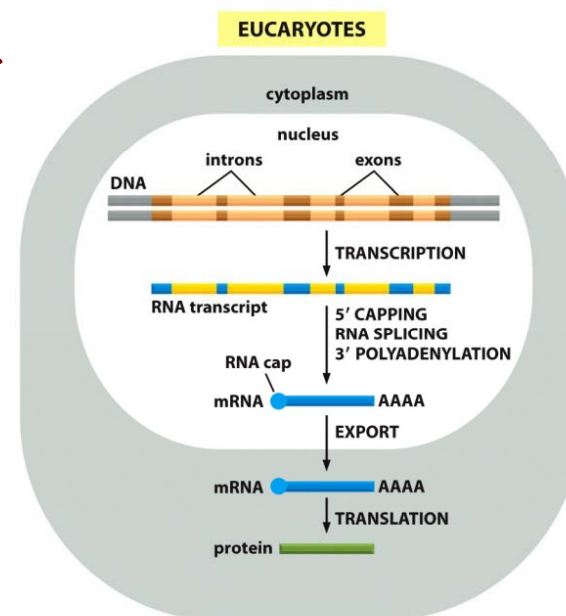


Figure 7-23a Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

原核生物	真核细胞
一种RNA聚合酶参与转录	三种以上RNA聚合酶参与转录
初始转录产物大多是编码序列，与蛋白质的氨基酸序列成线性关系	初始转录产物很大，含内含子序列，成熟的mRNA只占初始转录产物的一小部分
初始转录产物不需要剪接加工就可行使翻译模板的功能	初始转录产物需要经过剪接、修饰等加工才能成为成熟的mRNA
转录和翻译发生在同一个细胞空间，这两个过程几乎是同步进行的	真核细胞mRNA的合成和功能表达发生在不同的空间和时间范畴内

原核与真核生物mRNA的特征比较

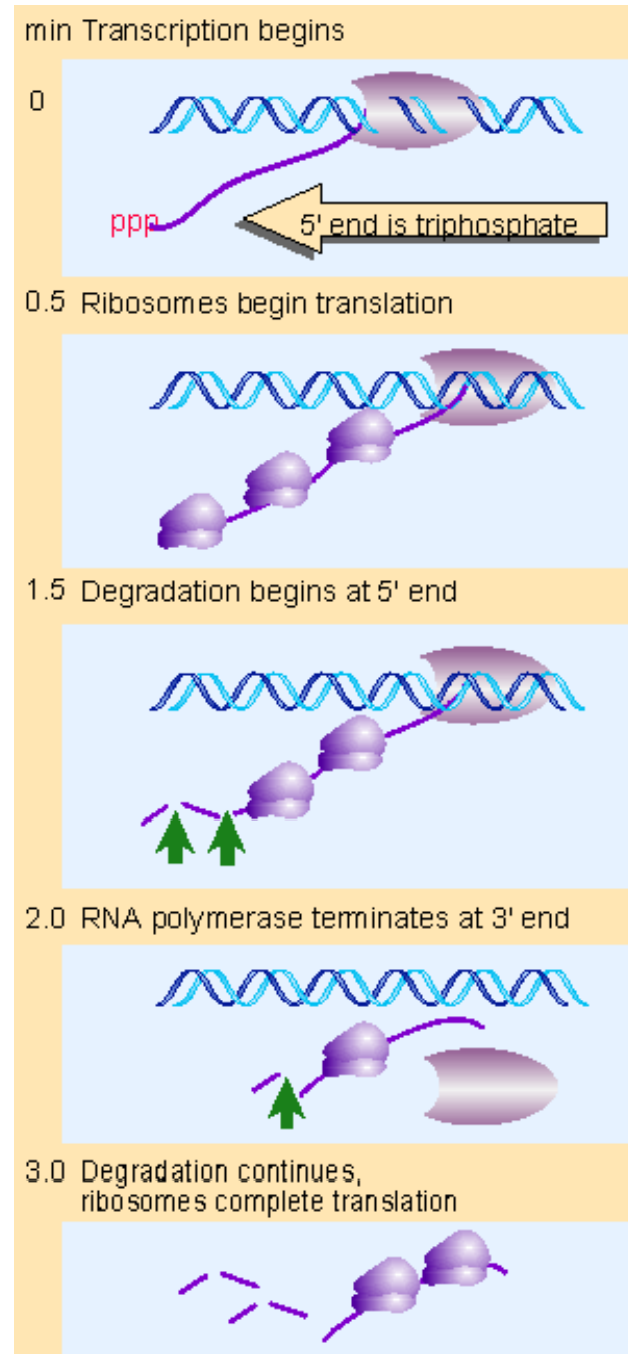
mRNA的组成:

- 编码区(coding region): 从起始密码子AUG开始经一连串编码氨基酸的密码子直至终止密码子。
- 5'端上游非编码区(5'UTR): 位于AUG之前不翻译的区域。
- 3'端下游非编码区(3'UTR): 位于终止密码子之后不翻译的区域。

原核生物mRNA的特征

- 半衰期短。
- 许多原核生物**mRNA**以多顺反子的形式存在。
- 原核生物**mRNA**的**5'**端无帽子结构，**3'**端没有或只有较短的多聚（**A**）结构。

1. 半衰期短

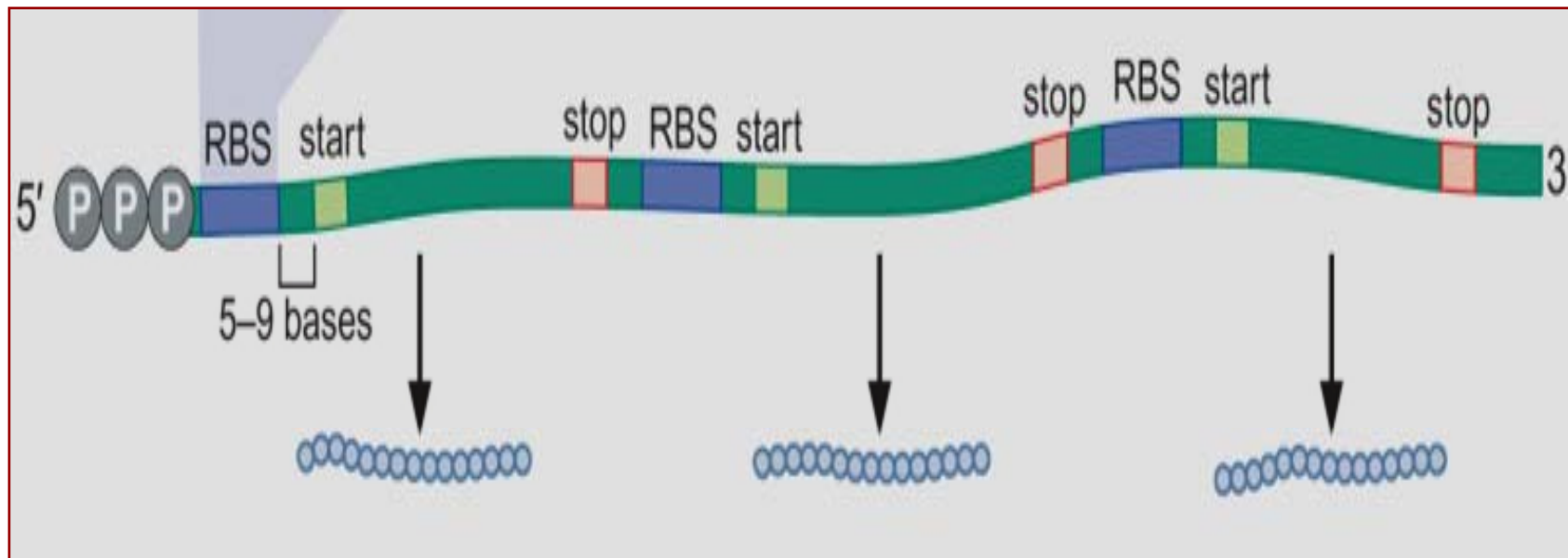


• 原核生物中，mRNA的**转录和翻译是在同一个细胞空间里同步进行的**，蛋白质合成往往在mRNA刚开始转录时就被引发了。

• 大多数细菌mRNA在转录开始1分钟后就开始降解。
mRNA降解的速度大概只有转录或翻译速度的一半。

2. 许多以多顺反子的形式存在:

原核细胞的mRNA(包括病毒)有时可以同时编码几个多肽。

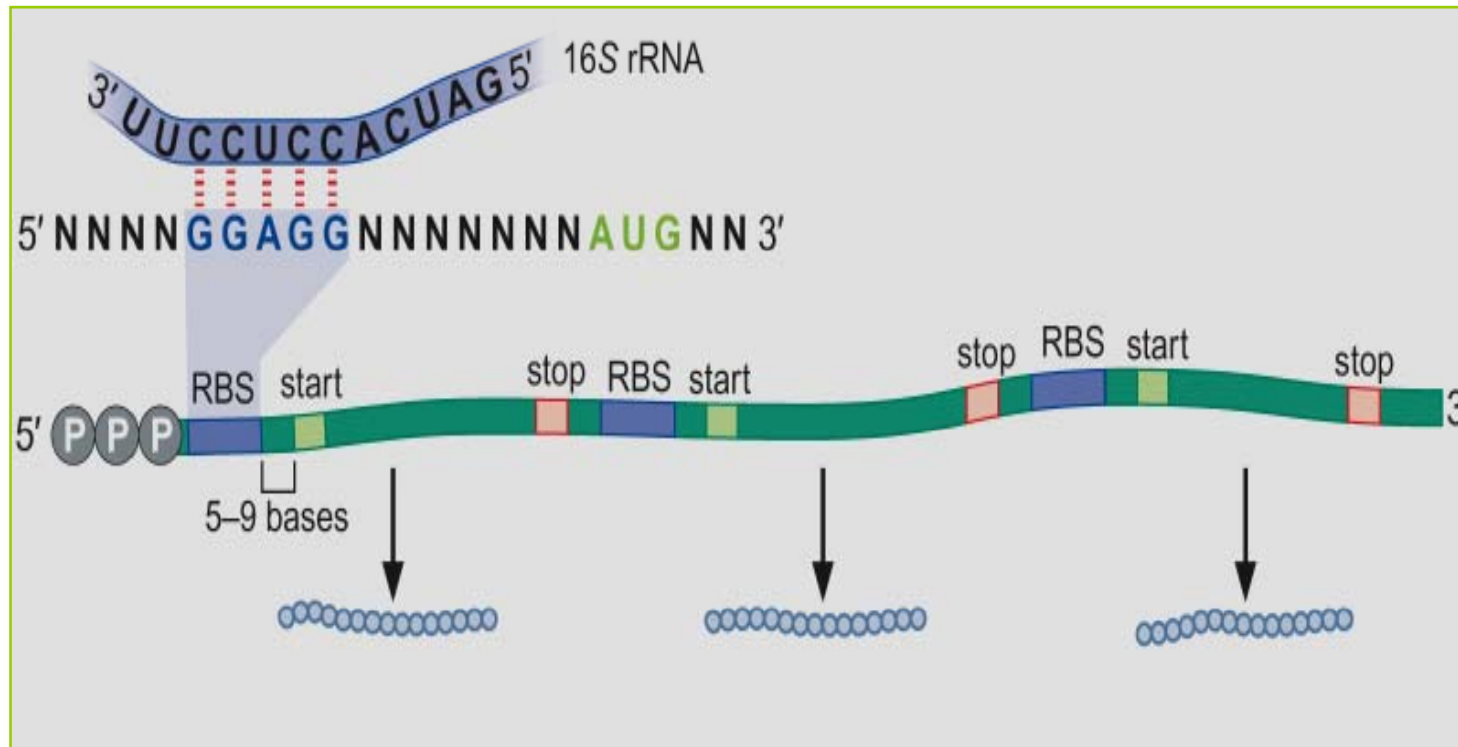


Prokaryotic mRNA (polycistronic)

单顺反子mRNA (monocistronic mRNA):
只编码一个蛋白质的mRNA。

多顺反子mRNA (polycistronic mRNA):
编码多个蛋白质的mRNA。

3. 原核生物mRNA的5'端无帽子结构，3'端没有或只有较短的多聚（A）结构。



原核生物起始密码子AUG上游有一被称为**Ribosome Binding Site (RBS)**或**SD序列**（Shine –Dalgarno sequence）的保守区，因为该序列与**16S-rRNA 3'端反向互补**，所以被认为在核糖体-mRNA的结合过程中起作用。

4. 原核生物常以**AUG**（有时**GUG**，甚至**UUG**）作为起始密码子；

真核生物几乎永远以**AUG**作为起始密码子。

真核生物mRNA的特征

RNA capping and polyadenylation

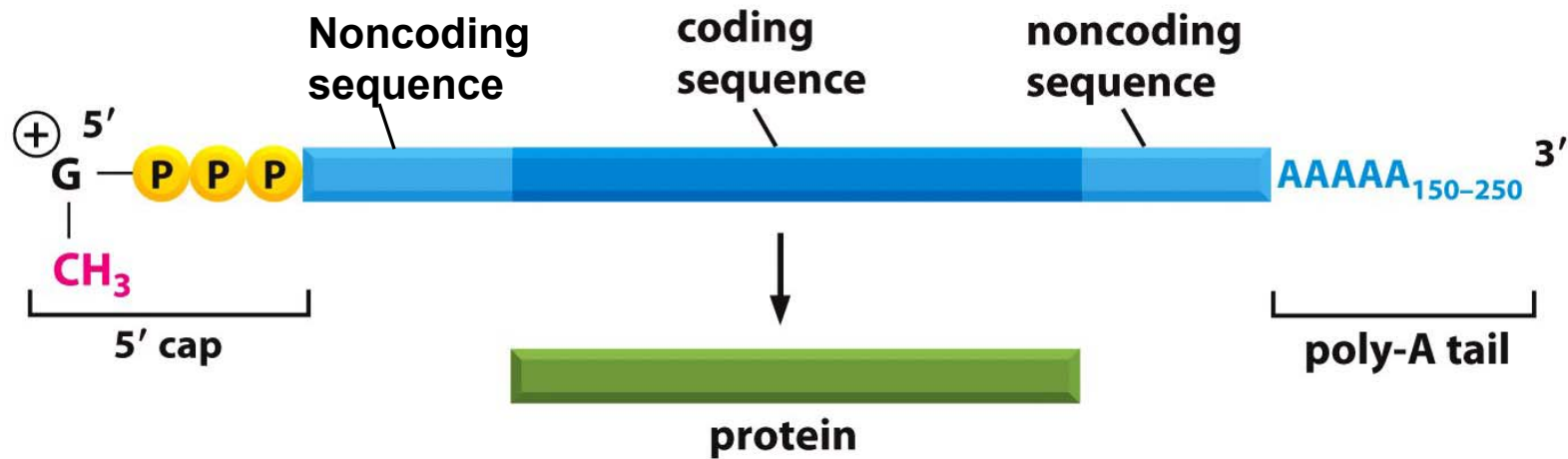
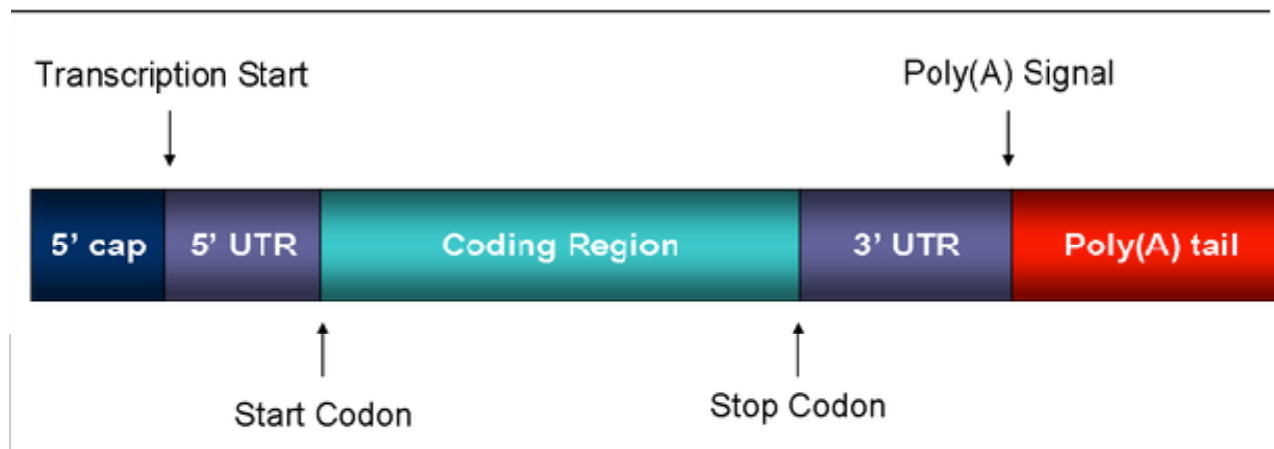
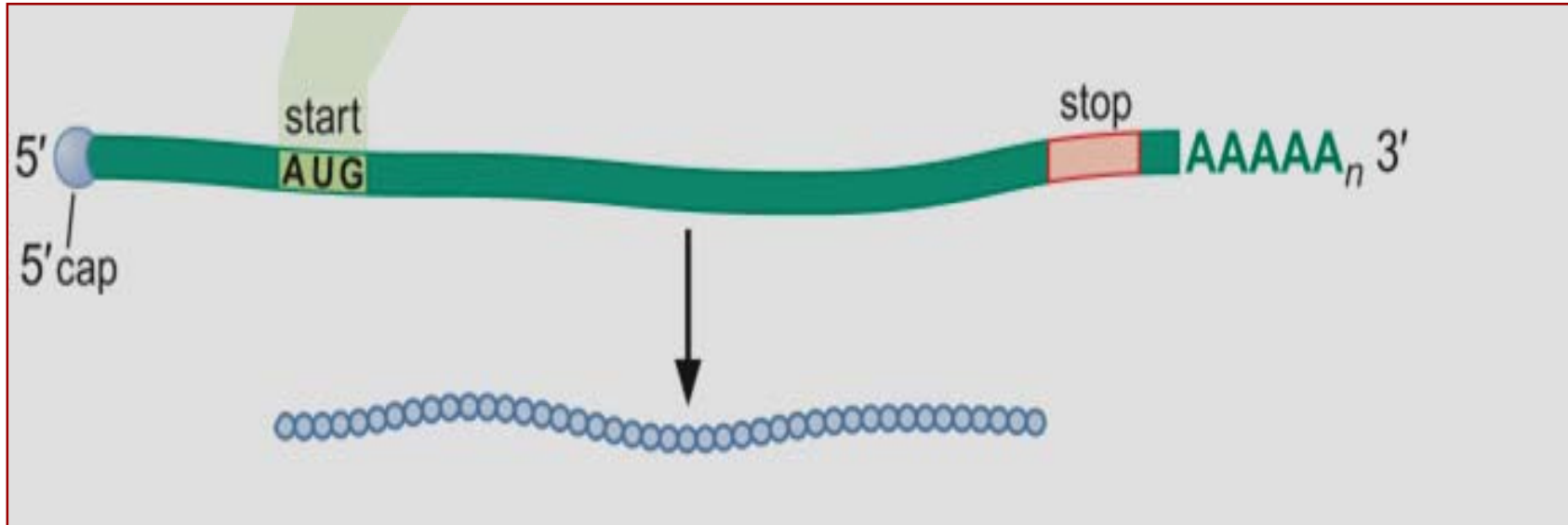


Figure 7-16a Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

- 单顺反子形式存在。
- 5'端存在“帽子”结构。
- 绝大多数具有多聚(A)尾巴。

真核生物mRNA的结构模式

Eukaryotic mRNA (monocistronic)



“**基因**”的分子生物学定义：

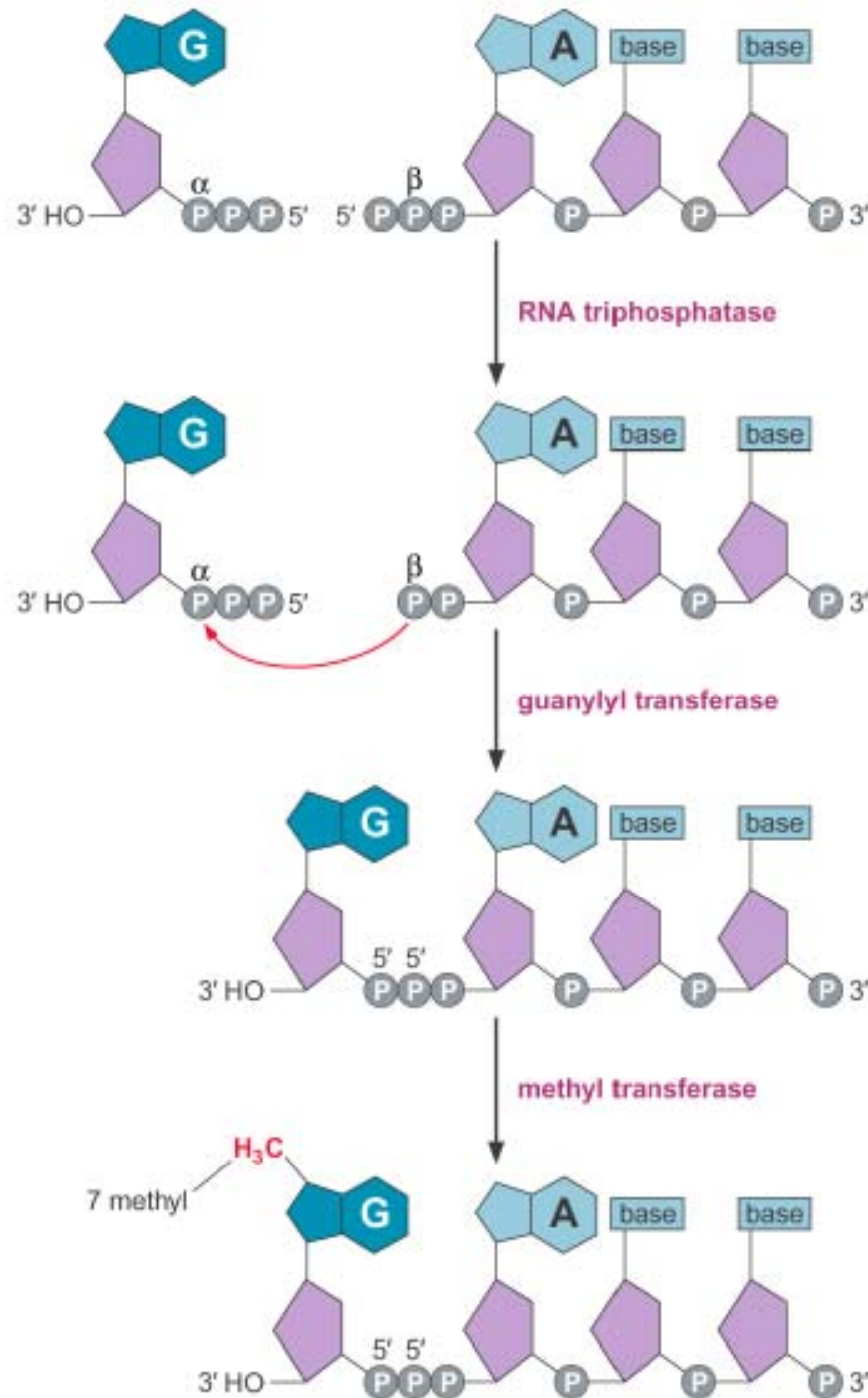
产生一条多肽链或功能RNA所必需的全部核苷酸序列！

**A gene can be defined as following:
The entire nucleic acid sequence
that is necessary for the synthesis
of a functional polypeptide or RNA
molecule.**

1. 真核生物mRNA的5'端存在“帽子”结构。

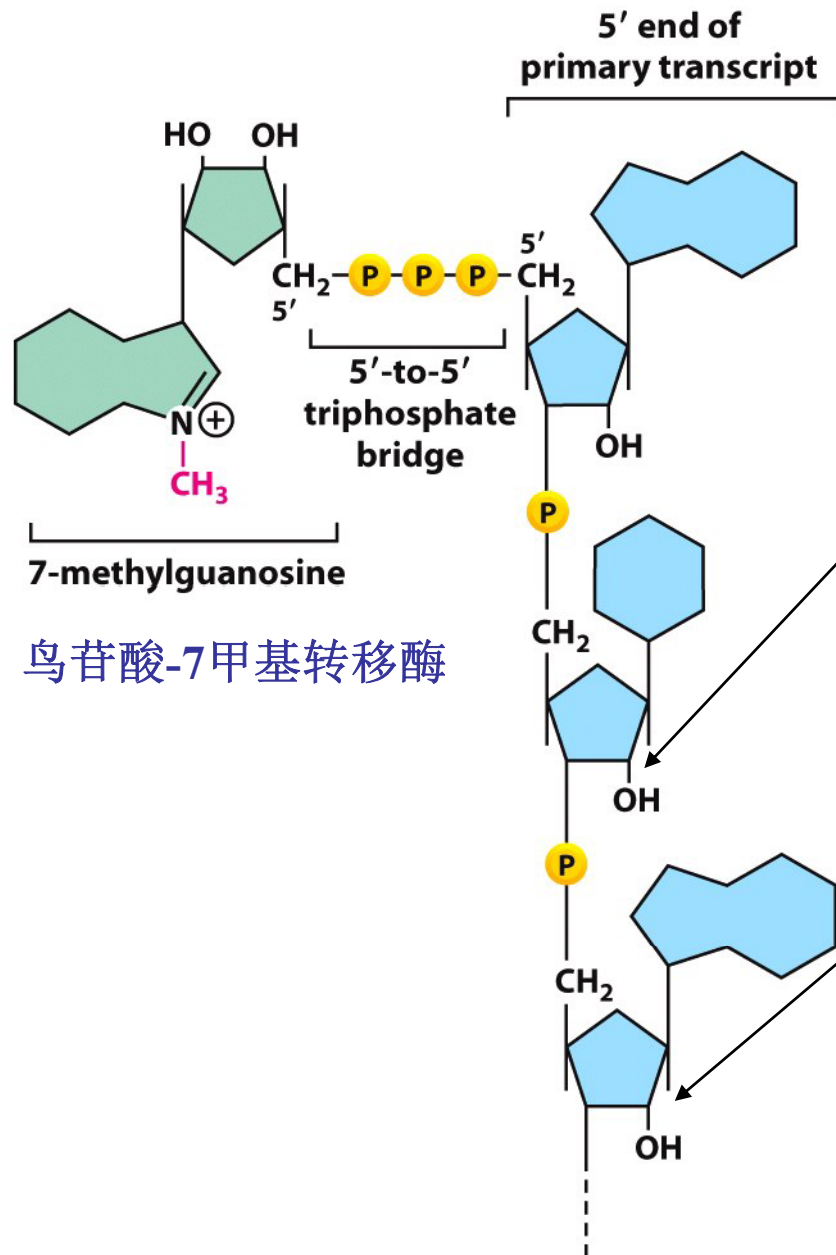
真核生物基因转录一般从嘌呤起始，其5'端大都经过修饰。

5' Capping



- 通过 **5'→ 5'**磷酸二酯键在原初 **mRNA**的**5'**端倒扣一个“**G**”。
- 包括三个连续的酶促反应。
- **5'**末端加上鸟苷是由**鸟苷转移酶**催化的。
- 帽子结构是**GTP**和原**5'**三磷酸腺苷(或鸟苷)缩合反应的产物。
- **mRNA**的帽子结构常常被**甲基化**,是蛋白质合成起始信号的一部分。
- 加帽反应发生的很早。

真核生物mRNA的“帽子”结构



零类帽子 (cap0)：第一个甲基出现在所有真核细胞的mRNA中（单细胞真核生物mRNA主要是这个结构），由**鸟苷酸-7甲基转移酶**催化，称为零类帽子。

1类帽子 (cap1)：如在第二个核苷酸(原mRNA 5'第一位)的**2'-OH**位上加另一个甲基，这步反应由**2'-O-甲基转移酶**完成。一般把有这两个甲基的结构称为1类帽子。真核生物中以这类帽子结构为主。

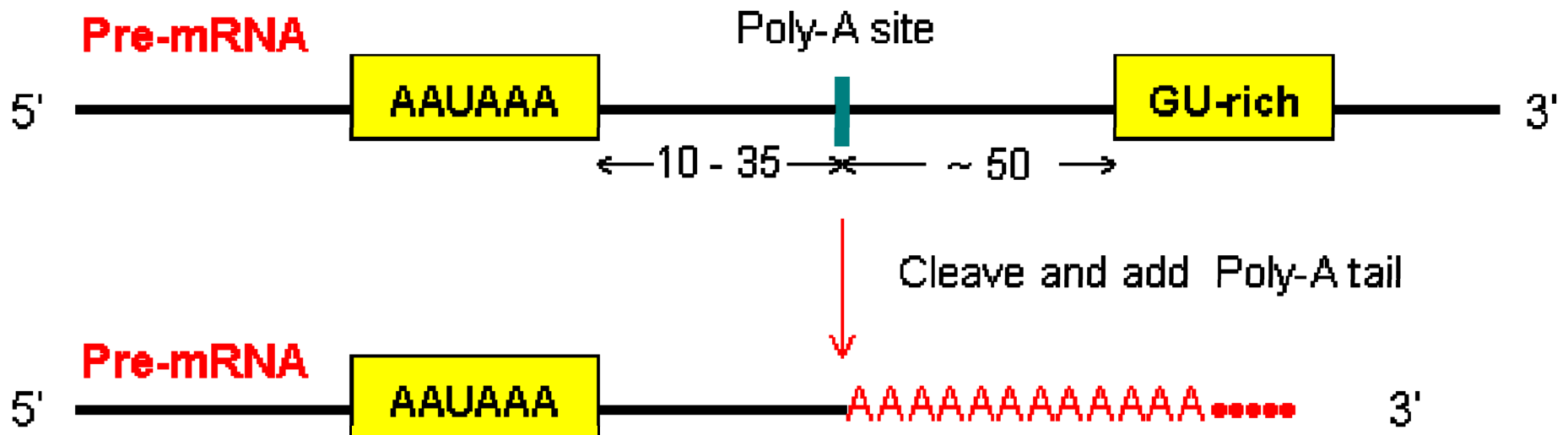
2类帽子 (cap2)：在某些生物细胞内，mRNA链上的**第三个核苷酸的2'-OH**位也可能被甲基化，因为这个反应只以带有1类帽子的mRNA为底物，所以被称为2类帽子。只占有帽mRNA总量的10%-15%以下。

帽子结构的功能

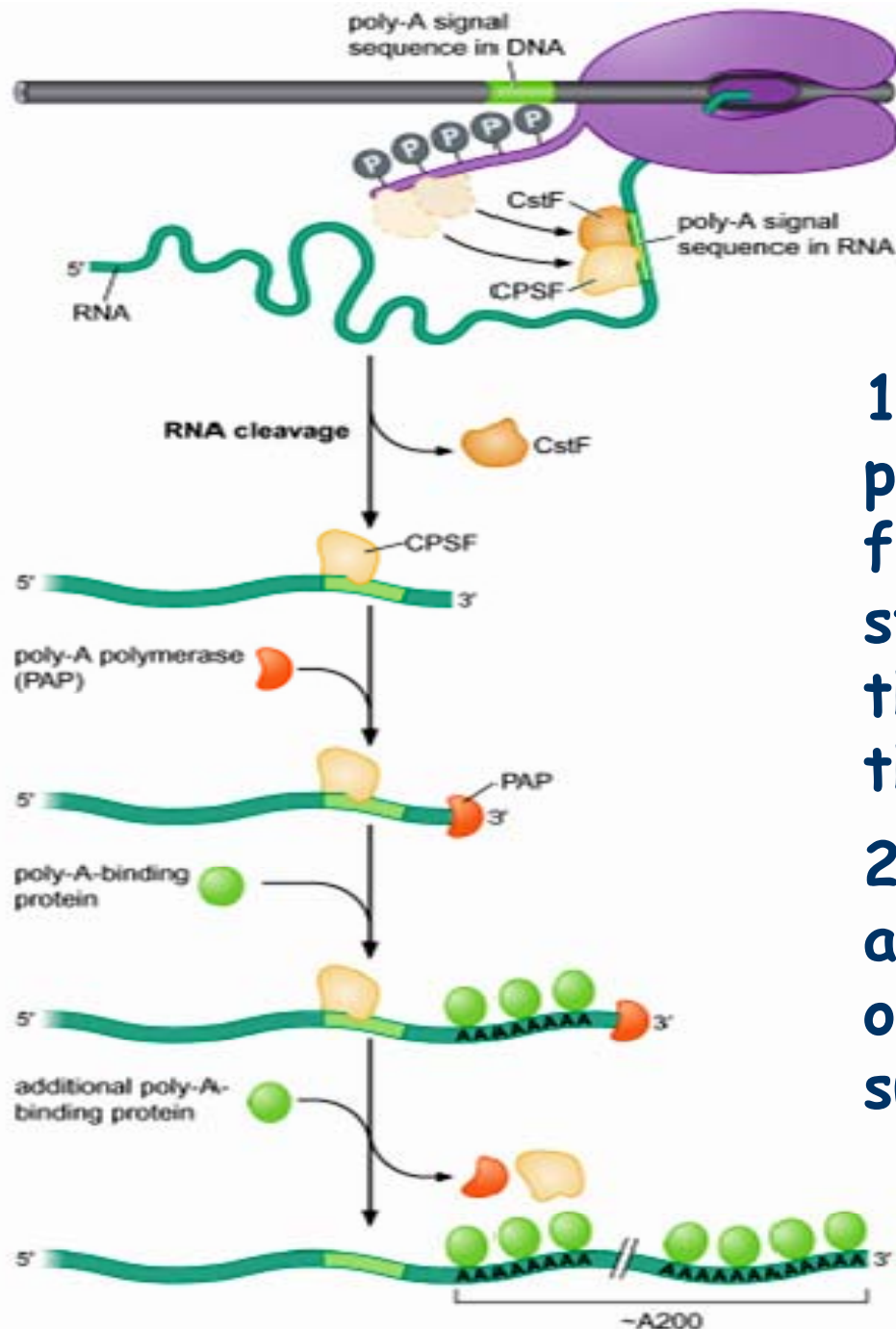
- (1)有助于**mRNA**越过核膜，进入胞质；
- (2)保护**5'**不被核酶降解；
- (3)翻译时供**IFIII**（起始因子）和核糖体识别，是翻译所必需的。

2. 绝大多数真核生物mRNA具有多聚(A)尾巴。

- 除组蛋白基因外，真核生物mRNA的3'末端都有多聚(A)序列，其长度为40-200个左右。
- 由多聚(A)聚合酶催化的；
- 它是在转录后加上的；
- Poly(A)被特异的蛋白质PABP结合。



- 在高等生物中(酵母除外)在poly(A)上游11-30nt处有一特殊序列**AAUAAA**，这一序列是高度保守的。
- 对于初级转录产物的准确切割及加多聚(A)是必需的。



Polyadenylation and termination

1. **CPSF** (cleavage and polyadenylation specificity factor) & **CstF** (cleavage stimulation factor) bind to the poly-A signal, leading to the RNA cleavage.
2. Poly-A polymerase (**PAP**) adds ~ 200 As at the 3' end of the RNA, using ATP as a substrate.

多聚腺苷化(polyadenylation)

反应要经过2个阶段

(1)首先将一个短的寡聚A序列(10nt)加到3'端，
此反应绝对依赖于AAUAAA序列，这是由
poly(A)聚合酶在特殊因子指导下完成的。

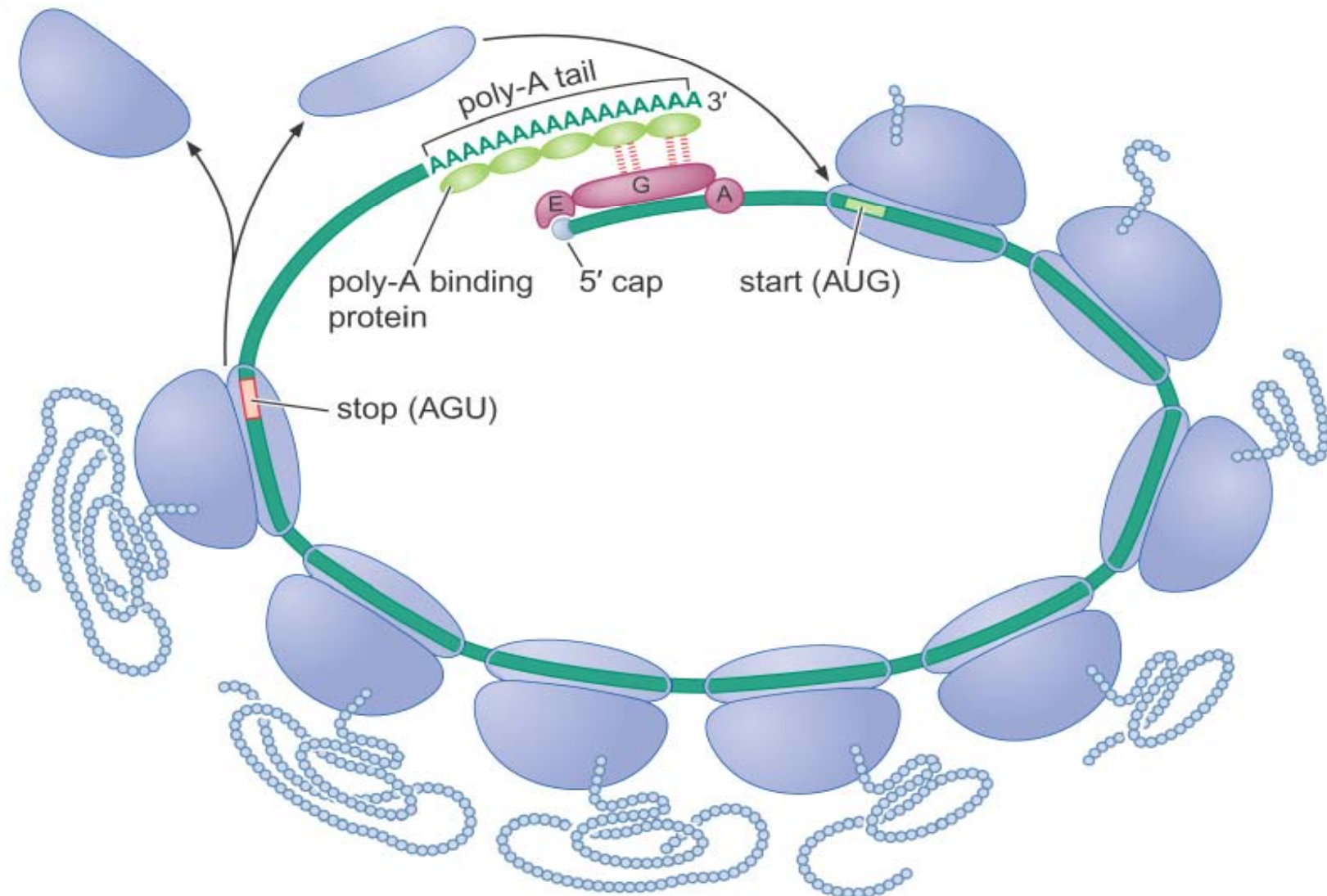
(2)寡聚A尾巴延伸到240nt的长度。

此反应并不需要AAUAAA序列，但需要一个
识别寡聚A并指导poly(A)聚合酶延伸的刺
激因子。

多聚(A)的功能

- 是mRNA由细胞核进入细胞质所必需的形式；
- 它大大提高了mRNA在细胞质中的稳定性。
mRNA刚从细胞核进入细胞质时，其多聚(A)尾巴一般比较长，随着mRNA在细胞质内逗留时间延长，多聚(A)逐渐变短消失，mRNA进入降解过程。
- 它可促进核糖体的有效循环。

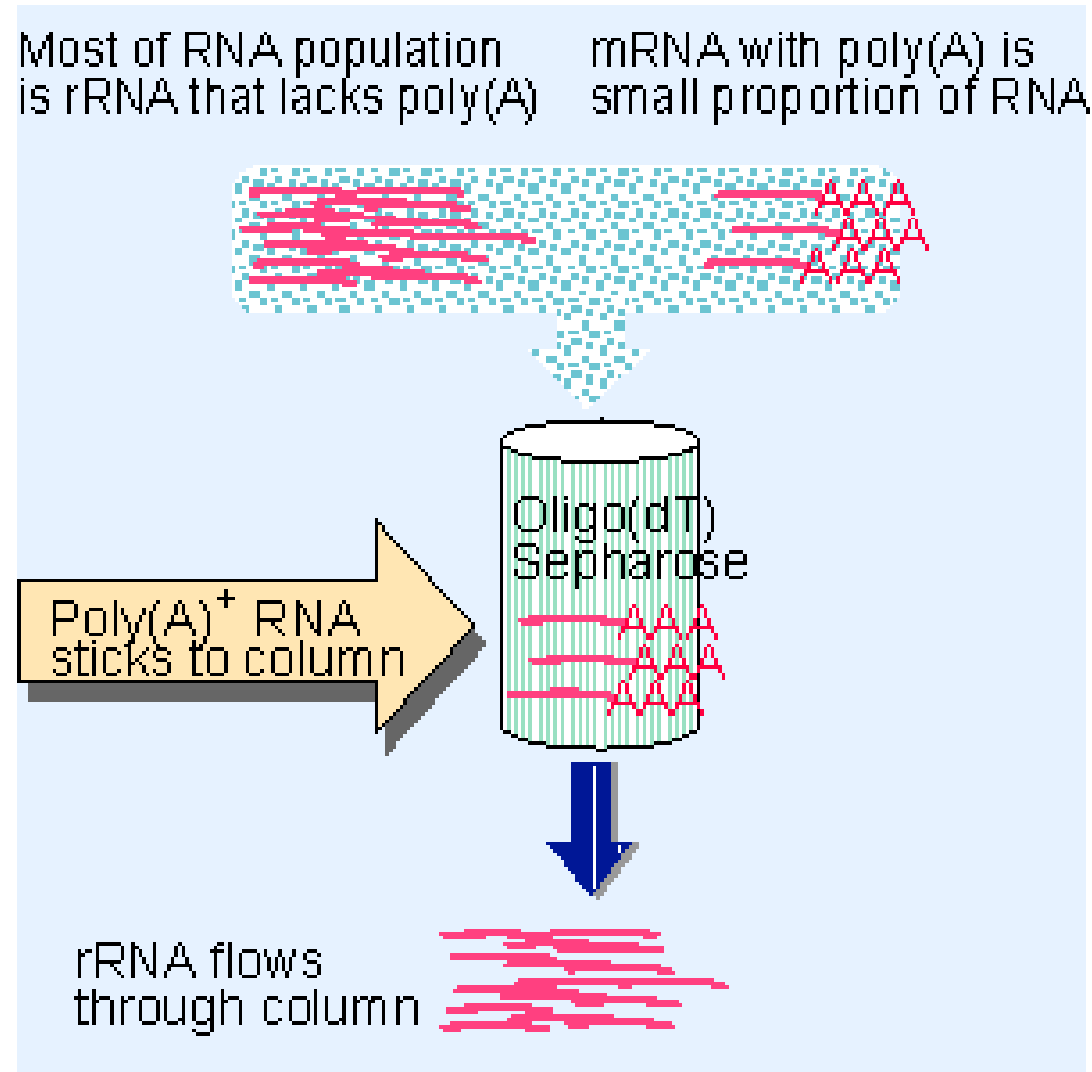
Poly-A in the 3' end promotes the efficient recycling of ribosomes



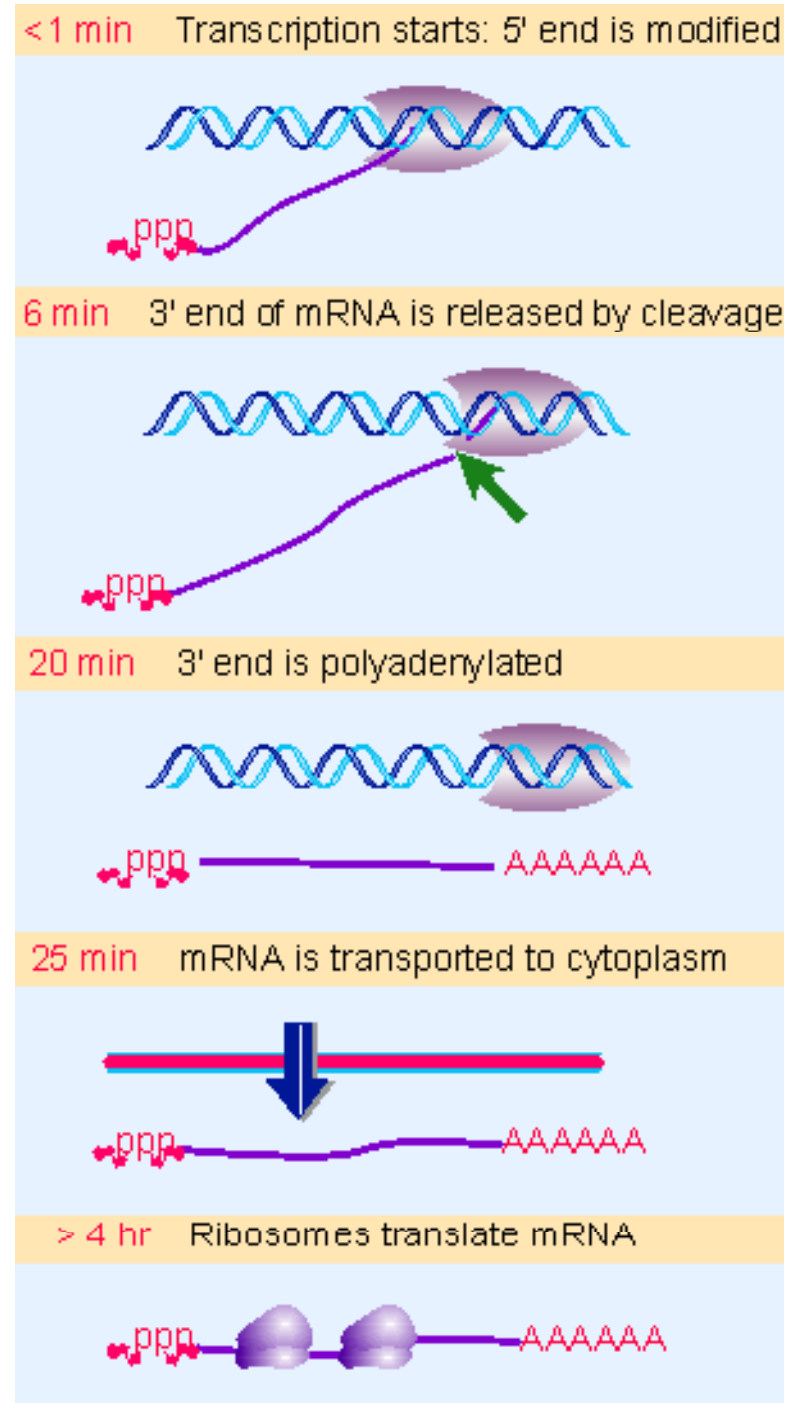
Poly (A) -

- 尽管大部分真核mRNA有poly (A)尾巴，细胞中仍有多大1/3没有poly (A)的mRNA，将其称为Poly (A) -
- 约1/3的Poly (A) -mRNA编码了不同形式的组蛋白。

Poly(A)⁺ RNA can be separated from other RNAs by fractionation on Sepharose-oligo(dT)



在动物细胞中，mRNA
的表达需转录、修饰、
加工、核质转运和翻译



一组特殊的RNA结合蛋白标示mRNA已成熟， 可以运送到细胞质中

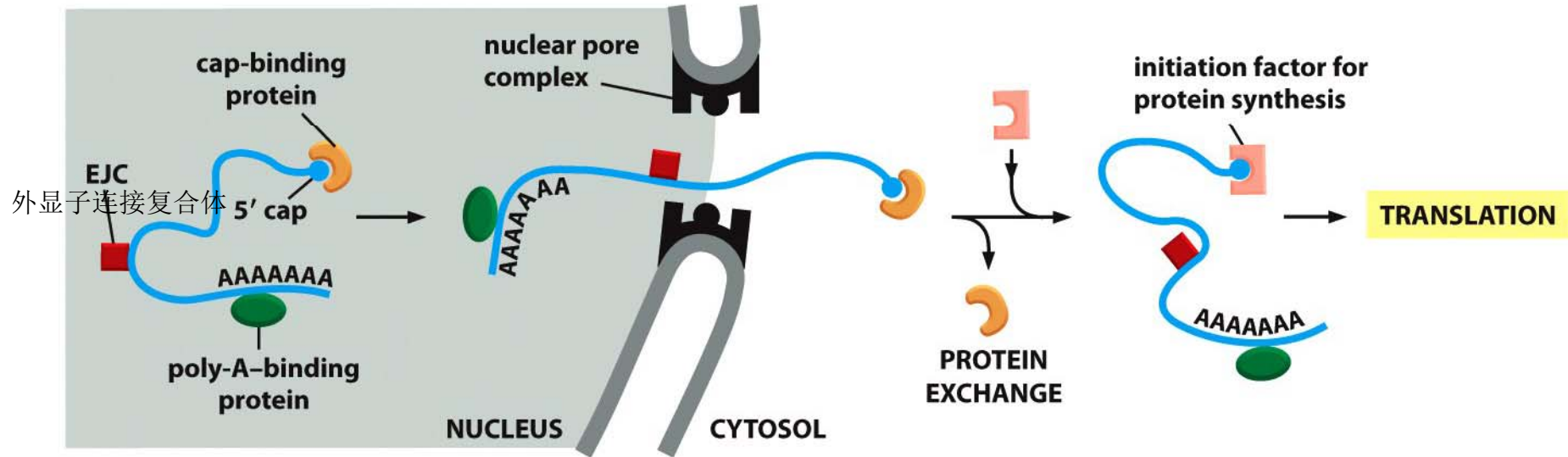
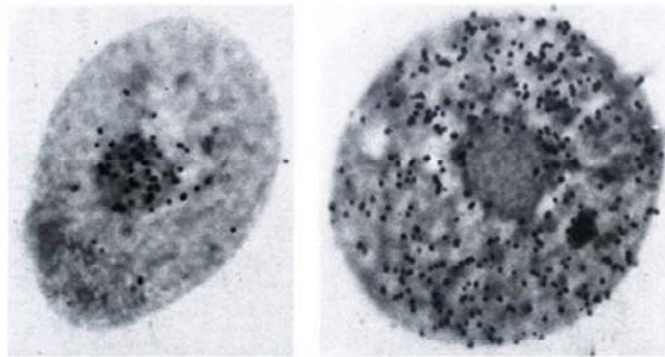


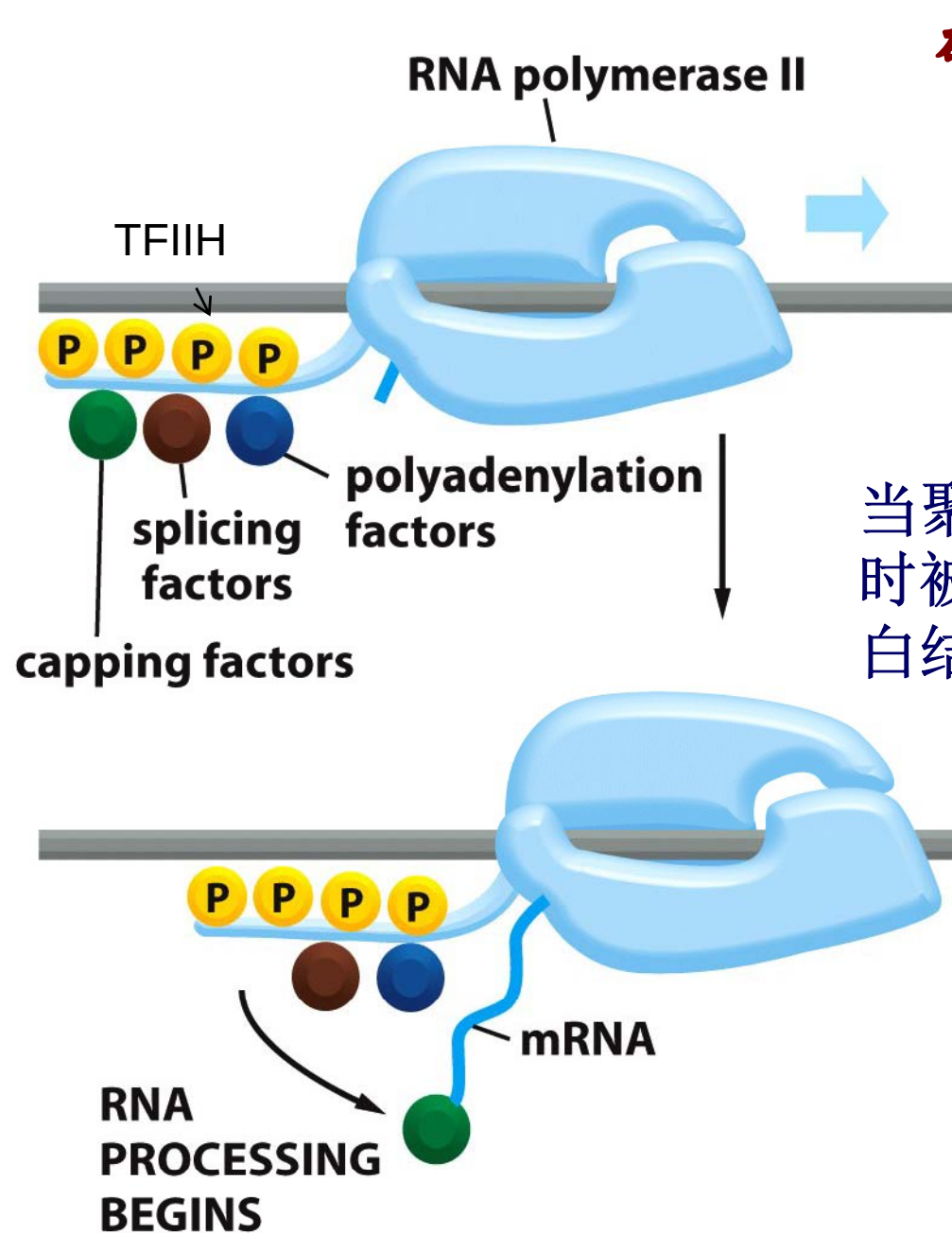
Figure 7-22 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)



2-18

Demonstration that RNA is synthesized in the nucleus and moves to the cytoplasm

内含子的剪接、编辑及化学修饰



磷酸化的RNA聚合酶II
允许RNA加工蛋白聚
集到其尾部

当聚合酶在转录起始过程晚期
时被磷酸化，一些RNA加工蛋
白结合到RNA聚合酶尾部。

Figure 7-15 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

RNA中的内含子

真核基因大多是断裂的：

- 一个基因可由多个内含子和外显子间隔排列而成。
- 内含子在真核基因中所占的比例很高，甚至超过99%。

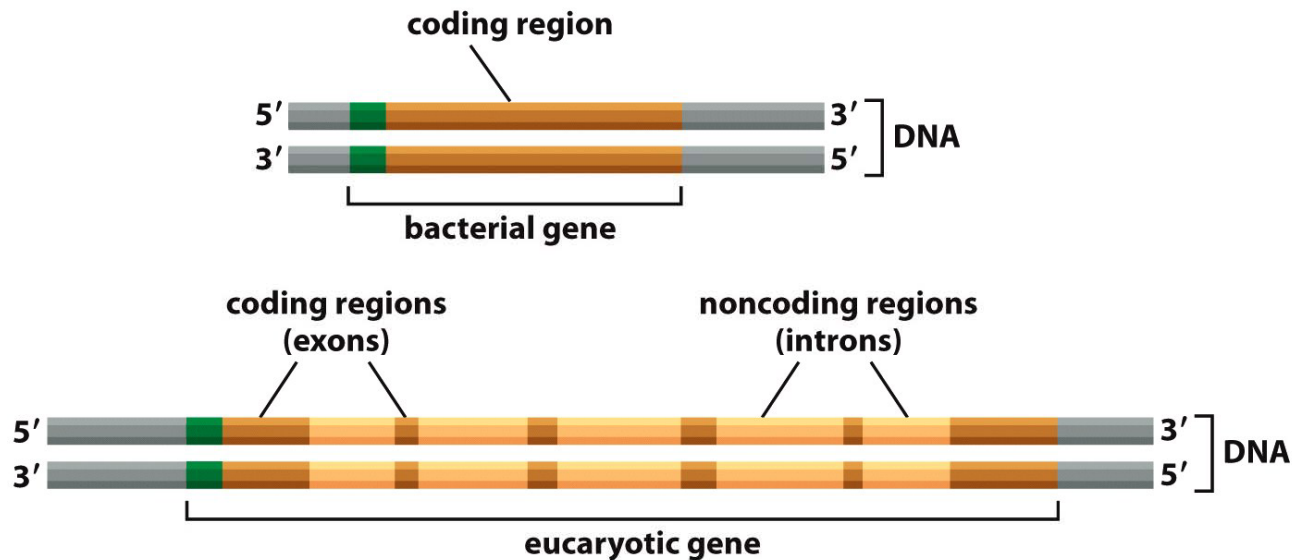


Figure 7-17 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

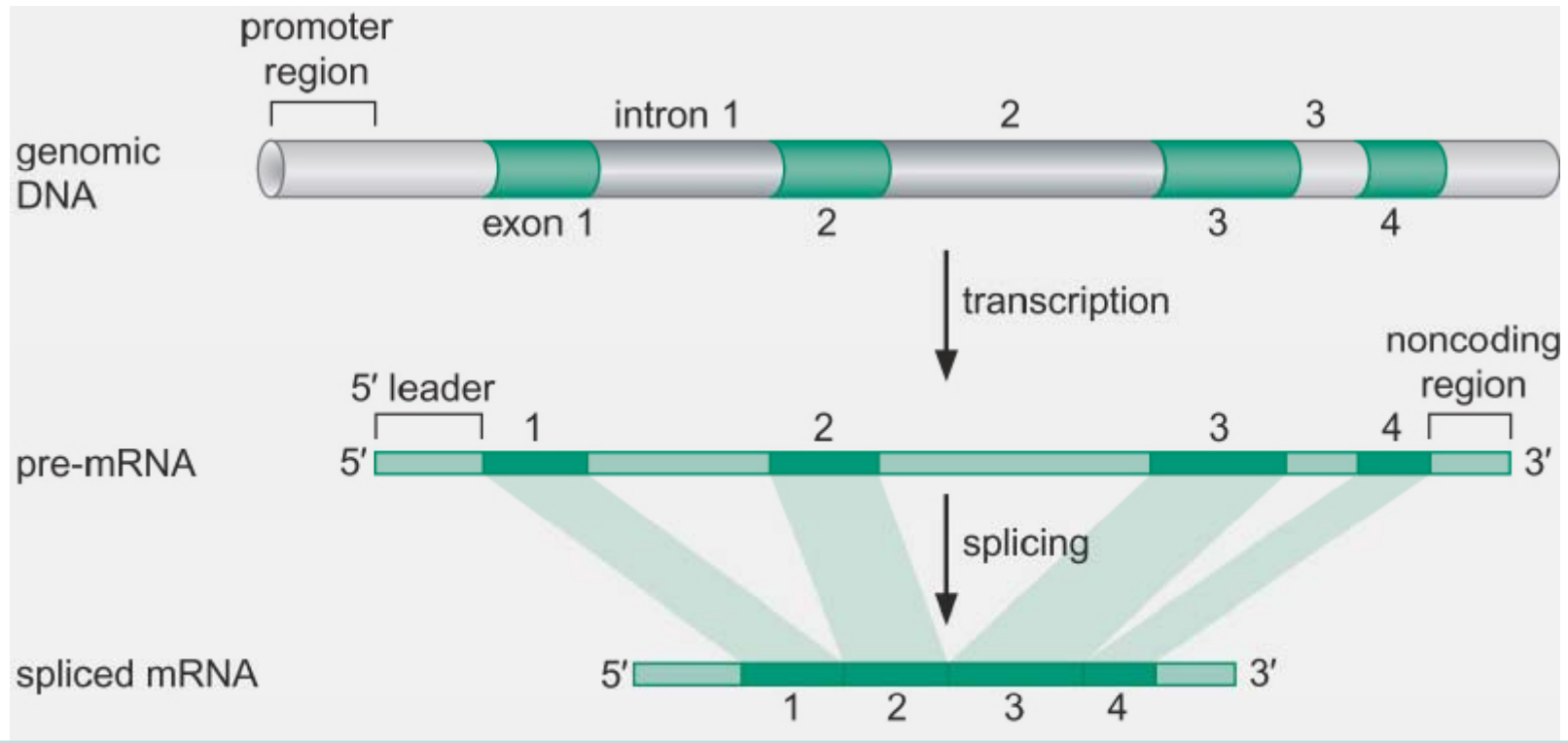
Exons (外显子): the coding sequences

Introns (内含子): the intervening sequences

部分人类基因中内含子序列所占的比重分析

基因	长度 (kb)	内含子数量	内含子所占比重 (%)
胰岛素	1.4	2	67
β -球蛋白	1.4	2	69
血清蛋白	18	13	89
胶原蛋白组分VII	31	117	71
VIII因子	186	25	95
萎缩性肌强直因子	2400	78	>99

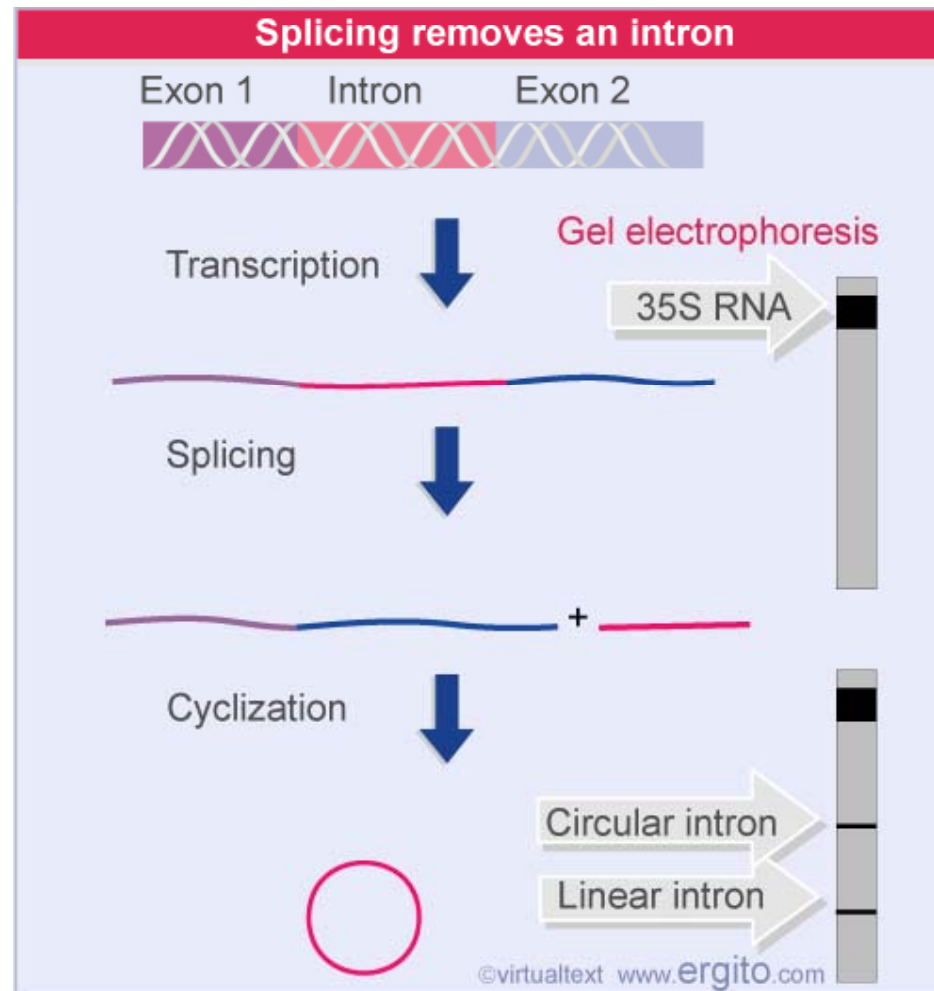
剪接 (Splicing)



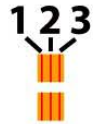
RNA splicing: removal of introns and joining of exons.

- It takes place **in the nucleus** before the mature mRNA can be exported to the cytoplasm.
- Catalyzed by **spliceosome** (RNA +protein)

RNA splicing 可通过体外 凝胶电泳进行分析



human β -globin gene

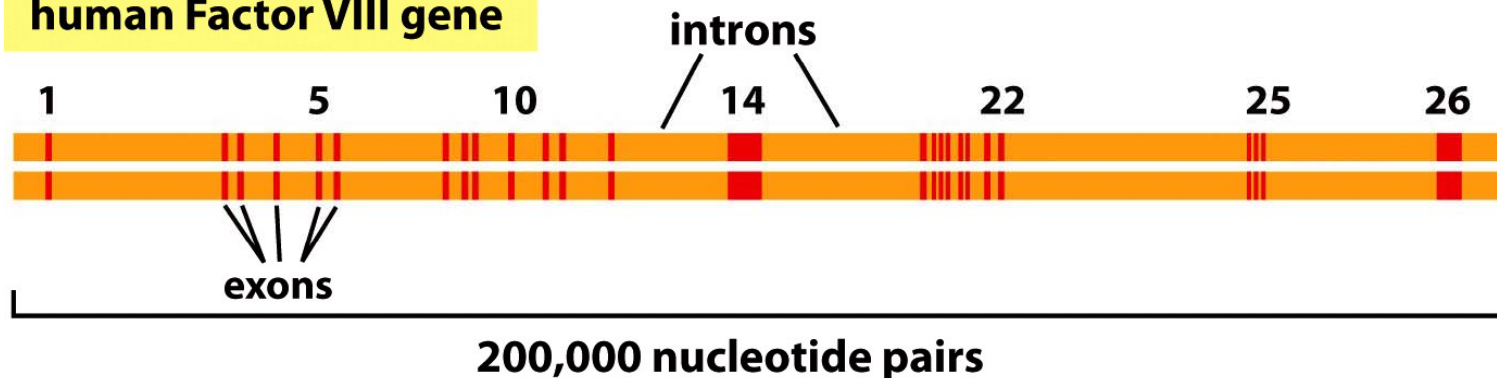


□
2000

(A) nucleotide pairs

• 真核基因平均含有**8-10个内含子**，前体分子一般比成熟mRNA大**4-10倍**。

human Factor VIII gene



(B)

Figure 7-18 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

内含子的“功能”及其在生物进化中的地位是一个引人注目的问题。

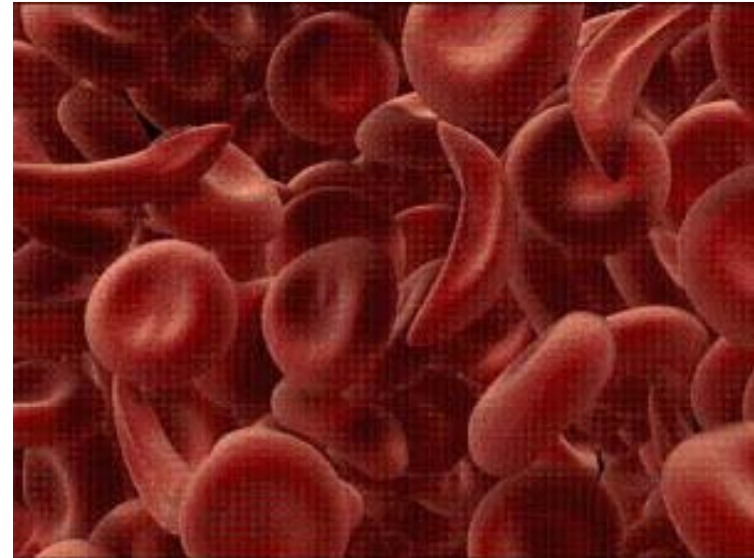
生物体内的各种内含子

内含子类型	细胞内定位
GU-AG	细胞核，前体 mRNA （真核）
AU-AC	细胞核，前体 mRNA （真核）
I类内含子	细胞核，前体 rRNA （真核）， 细胞器 RNA ，少数细菌 RNA
II类内含子	细胞器 RNA ，部分细菌 RNA
III类内含子	细胞器 RNA
双内含子	细胞器 RNA
tRNA 前体中的内含子	细胞核， tRNA 前体（真核）

GU-AG或**AU-AC**分别代表了不同内含子的5'和3'边界序列。

内含子剪接异常引起疾病

地中海贫血病人的珠蛋白基因中，大约有**1/4**的核苷酸突变发生在内含子的**5'**或**3'**边界保守序列上，或者直接干扰了前体**mRNA**的正常剪接。



慢性进行性溶血性贫血

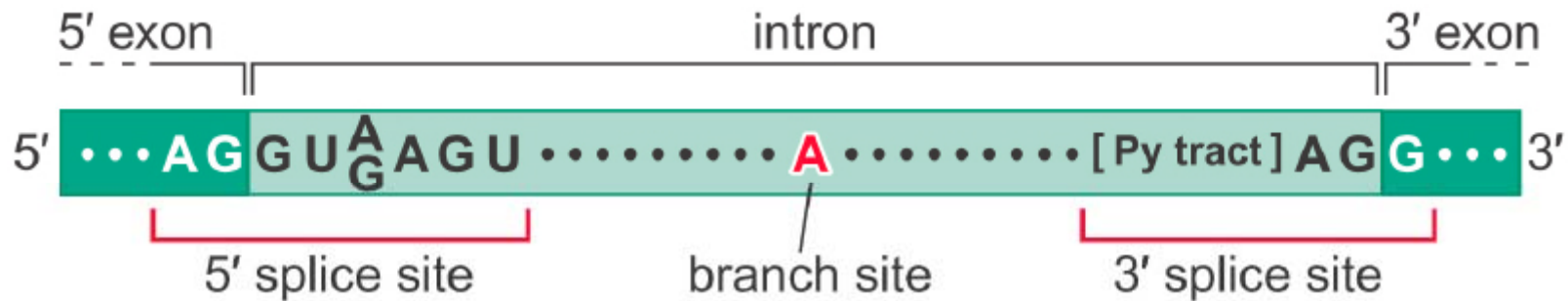
断裂基因发现不久，**Crick**（1978年）就提出了一系列发人深思的问题：

（1）剪切作用若是通过酶来进行的，那么这种剪接酶是怎样识别**RNA**上特定的位点？

（2）剪切酶有没有特异性？对不同的**RNA**是否需要不同的酶？

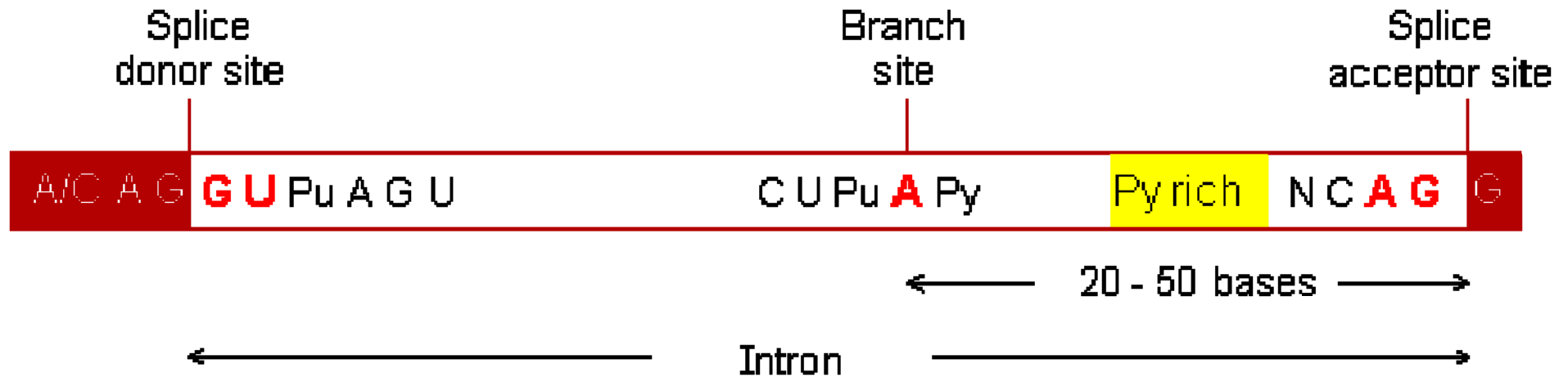
（3）切除的**RNA**是以线状还是环状存在的？切下的**RNA**的命运将如何？

Chambon等分析比较了大量结构基因的内含子切割位点，发现有**2**个特点：



- (1) 内含子的两个末端并不存在同源或互补。
- (2) 连接点具有很短的保守序列,亦称**边界序列**。
100种内含子的5'端都是GU；3'端都是AG，
因此称为**GU-AG法则**（**GU-AG rule**），又称为**Chambon法则**。

脊椎动物前体mRNA中常见内含子 剪接所必需的保守序列

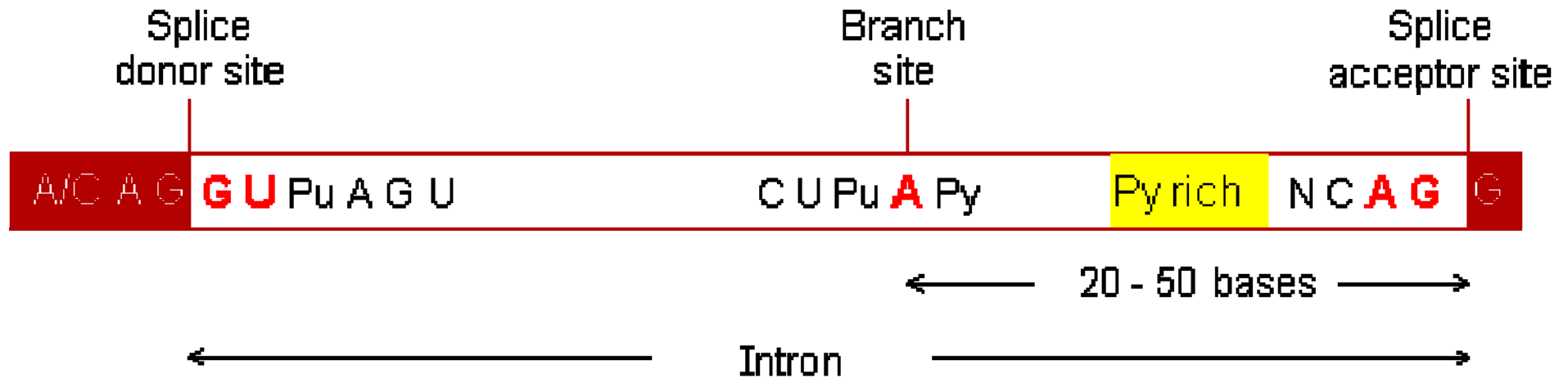


两个剪接位点的序列是不同的：

- 左边的剪接位点称**供体(donor)**位点，
- 右边的剪接位点称**受体(acceptor)**位点。

GU-AG法则 (**GU-AG rule**) 不适用于线粒体、叶绿体的内含子, 也不适用于酵母的**tRNA**基因。

核mRNA结构特点



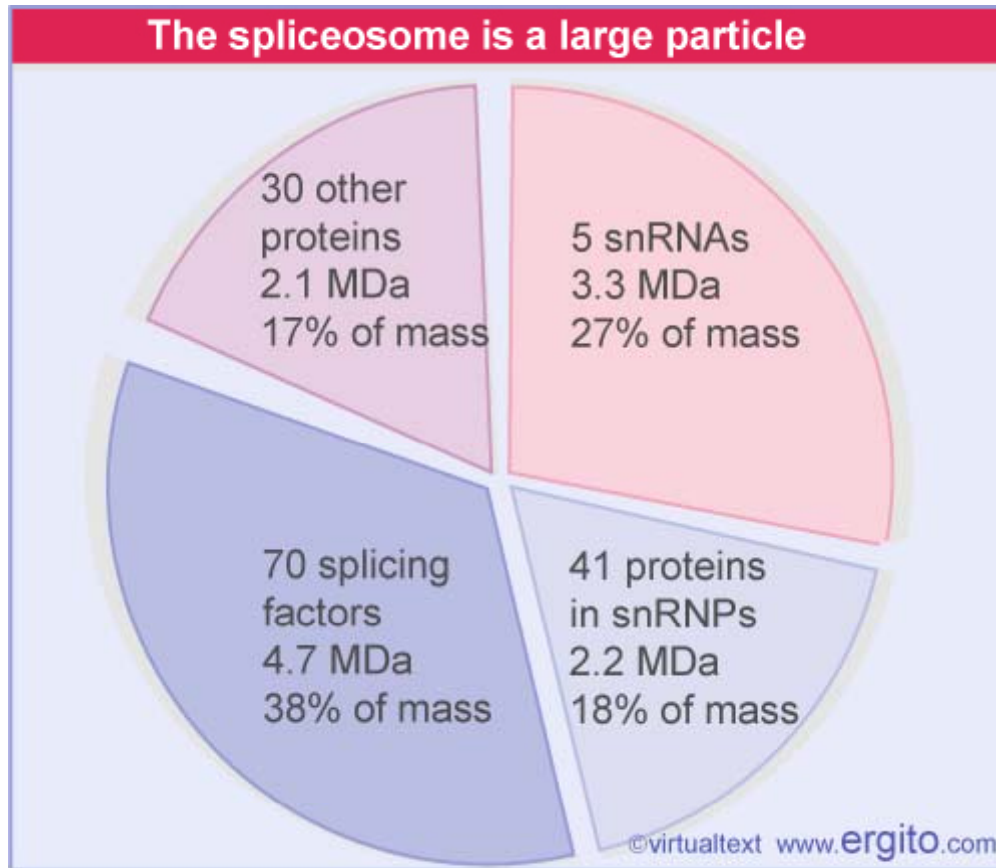
1. 边界序列:其边界序列是完全符合**GU-AG**法则
2. 分枝点序列: 具有分枝点序列, 位于内含子**3'**端上游**18-50nt**处, 序列为**Py₈₀NP₈₇Pu₇₅AP₉₅**, 其中**A**为百分之百的保守, 且具有**2'-OH**。
3. 内含子**5'**端有一保守序列(**5'GUAAGUA3'**)可以和**U1 snRNA**的**5'**端的保守序列**3'CAUUUCAU5'**互补。

核mRNA的剪接

- 转录产生的核内mRNA前体分子与蛋白质结合，形成RNA和蛋白质组成的snRNP复合物（ribonucleo-protein）。
- 随着RNA链的延伸，每个内含子5'和3'两端的复合物成对联结，产生60S的颗粒—剪接体（spliceosome），进行RNA前体分子的剪接。

- 细胞核中的小分子RNA称为**细胞核小RNA** (small nuclear RNA, **snRNA**);
- 位于细胞质中的称为**细胞质小RNA** (small cytoplasmic RNA, **scRNA**)。
- 在自然状态下，它们以**核糖核蛋白颗粒** (SnRNP和**scRNP**) 的形式存在，俗称**snurps**和**scurps**。
- 在核仁中也存在着一类小的RNA，称为**核仁小RNA** (small nucleolar RNA, **snoRNA**),它们在rRNA的加工中起作用。
- snRNA**参与剪接过程，并与其它蛋白一起构成一个大的颗粒复合体,称为**剪接体(spliceosome)**。

Spliceosome (剪接体)



- Catalyzes pre-mRNA splicing in nucleus.
- The spliceosome comprises about **150 proteins** (splicing factors etc.) and **five snRNAs** (U1, U2, U4, U5 and U6), and the pre-mRNA being assembled.

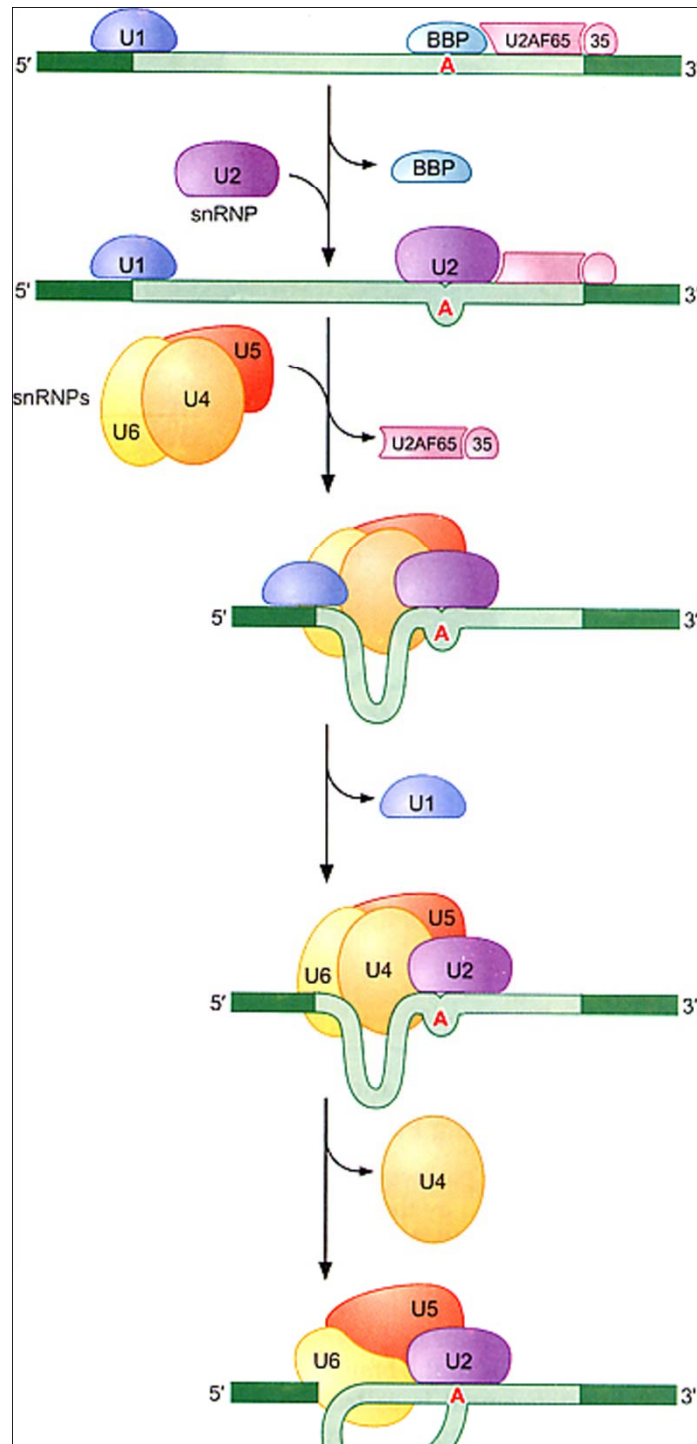
The complexes of snRNA and proteins are called **small nuclear ribonuclear proteins (snRNP)**

Three roles of snRNPs in splicing

1. **Recognizing** the 5' splice site and the branch site.
2. **Bringing** those sites together.
3. **Catalyzing** (or helping to catalyze) the RNA cleavage.

RNA-RNA, RNA-protein and protein-protein interactions are all important during splicing.

真核生物mRNA前体中 内含子剪接过程

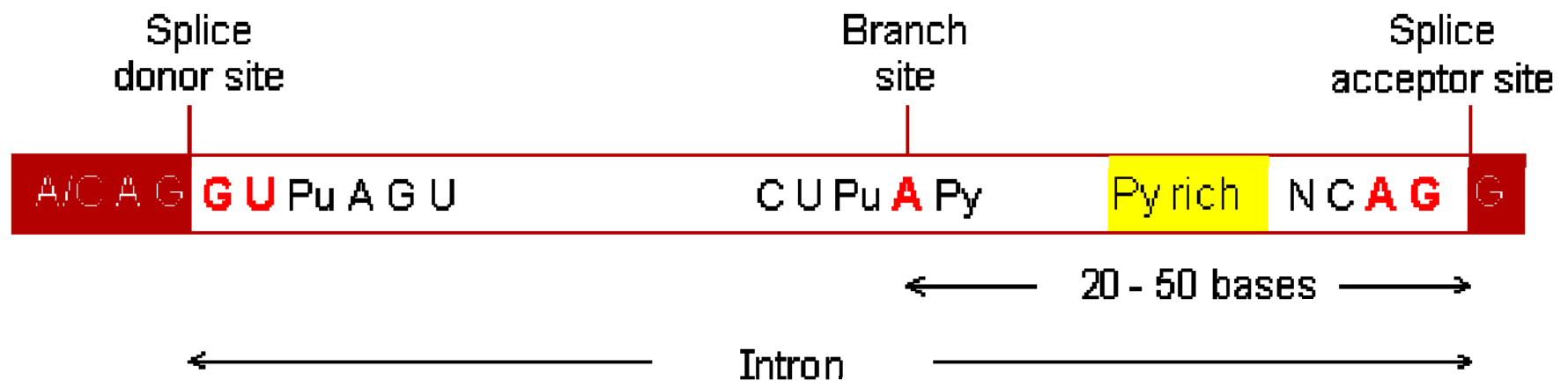


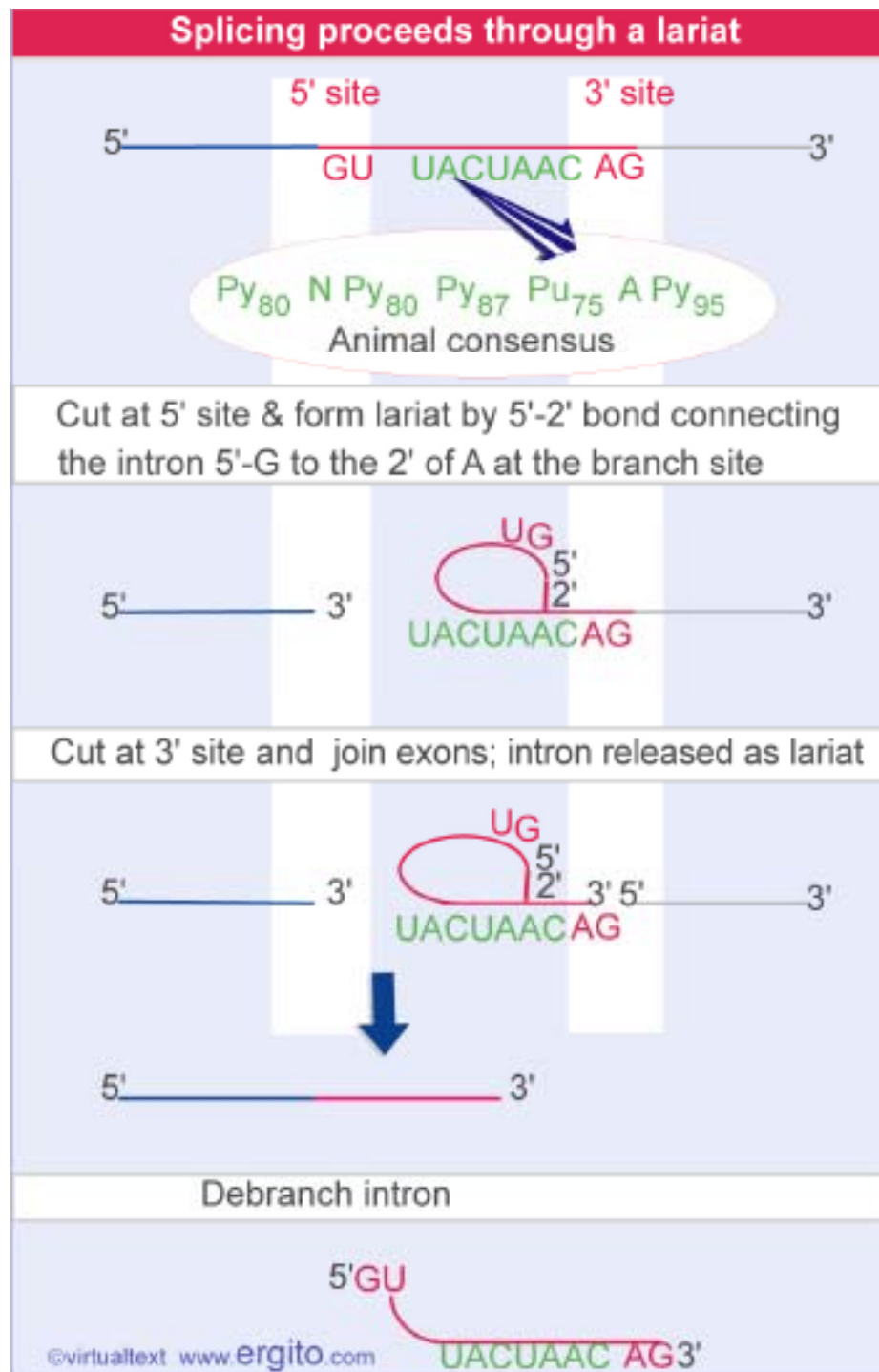
由U1 snRNA以碱基互补的方式识别mRNA前体5'剪接点，由结合在3'剪接点上游富嘧啶区的U2AF（U2 auxiliary factor）识别3'剪接点并引导U2 snRNP与分支点相结合，形成剪接前体（pre-spliceosome）。

剪接前体进一步与U4、U5、U6 snRNP三聚体相结合，形成剪接体。

The **lariat** (套索) is an intermediate in RNA splicing in which a circular structure with a tail is created by a 5' -2' bond.

The **branch site** (分支点) is a short sequence just before the end of an intron at which the lariat intermediate is formed in splicing by joining the 5' nucleotide of the intron to the 2' position of an Adenosine.

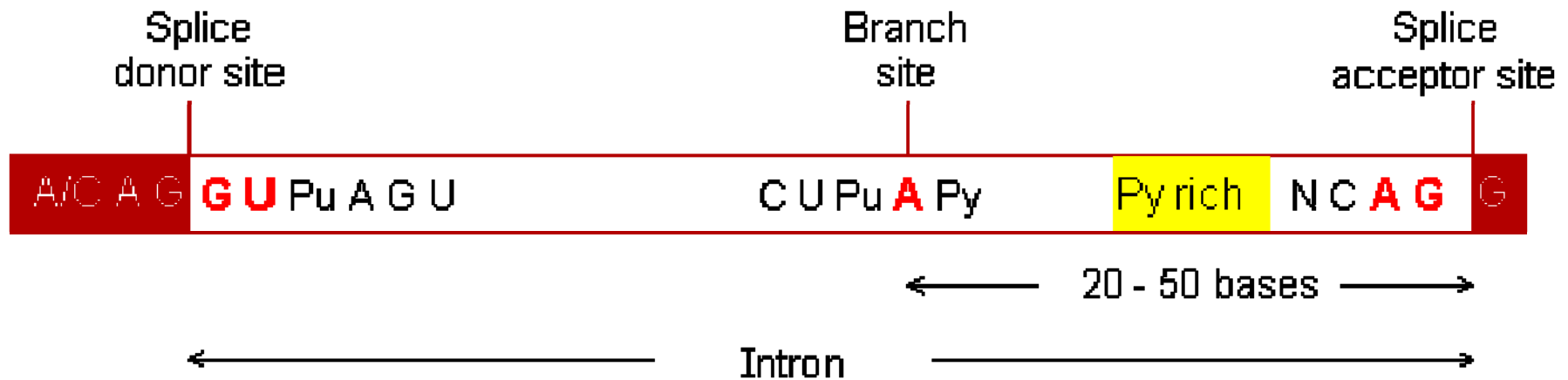




pre-mRNA剪接的生物化学步骤

Step 1: a cut is made at the 5' splice site, separating the left exon and the right intron-exon molecule.

Step 2: cutting at the 3' splice site releases the free intron in lariat form, while the right exon is ligated (spliced) to the left exon.

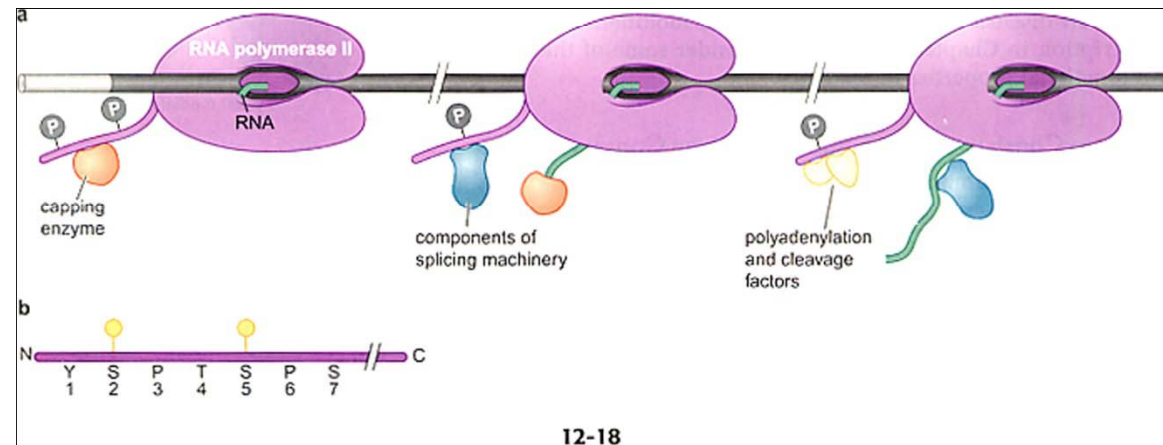


哺乳动物细胞中mRNA前体上的snRNP是从5'向下游“扫描”，选择在分支点富嘧啶区3'下游的**第一个AG**作为剪接的3'受点。

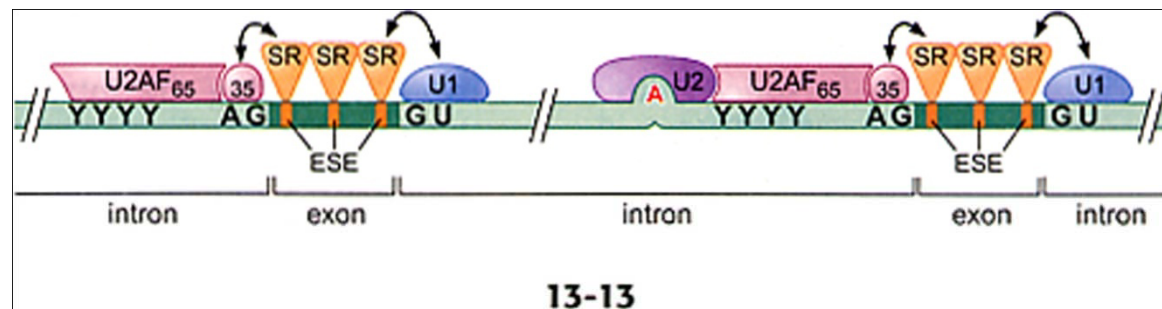
AG前一位核苷酸可以影响剪接效率，一般说来，**CAG=UAG>AAG>GAG**。

如果mRNA前体上同时存在几个AG，可能发生剪接竞争。

能够增加剪接位点选择准确性的两种机制



转录过程中，**RNA polymerase II**携带了多种具有**RNA**加工功能的蛋白质。当在新合成的**RNA**分子遇到**5'** 剪接位点时，那些蛋白质就从**RNA polymerase II**的**C**端转移到**RNA**上。剪接体成分一旦结合了**5'** 剪接位点，就会做好准备与那些结合即将转录出来的、下一个**3'** 剪接位点的剪接体成分相互作用。这种与转录同时进行的剪接体组装方式极大地减少了外显子遗漏的可能性。

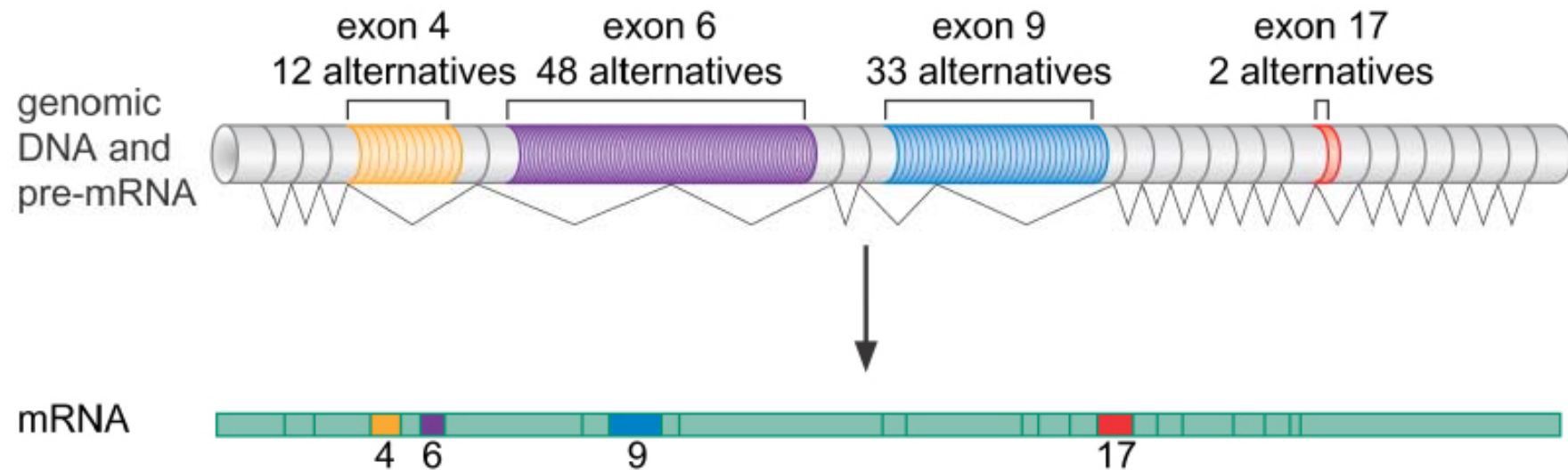


确保优先识别邻近外显子的剪接位点，以防止使用错误的剪接位点。一种富含丝氨酸和精氨酸的**SR**蛋白结合到外显子中的外显子剪接增强子（**ESE**），并与剪接机器的组分相互作用，将其引导到附近的剪接位点。

内含子的变位剪接 Alternative Splicing

- 在高等真核生物个体发育或细胞分化过程中可以有选择性地越过某些外显子或某个剪接点进行变位剪接，产生出组织或发育阶段特异性mRNA。
- 脊椎动物中大约有5%的基因能以这种方式进行剪接，保证各同源蛋白质之间既具有大致相同的结构或功能域，又具有特定的性质差异，进而拓展了基因所携带的遗传信息。

Drosophila DSCAM gene can be spliced in 38,000 alternative ways



Alternative splicing (可变剪接): some pre-mRNAs can be spliced in more than one way, generating alternative mRNAs.

α -原肌球蛋白基因可以以不同方式剪接

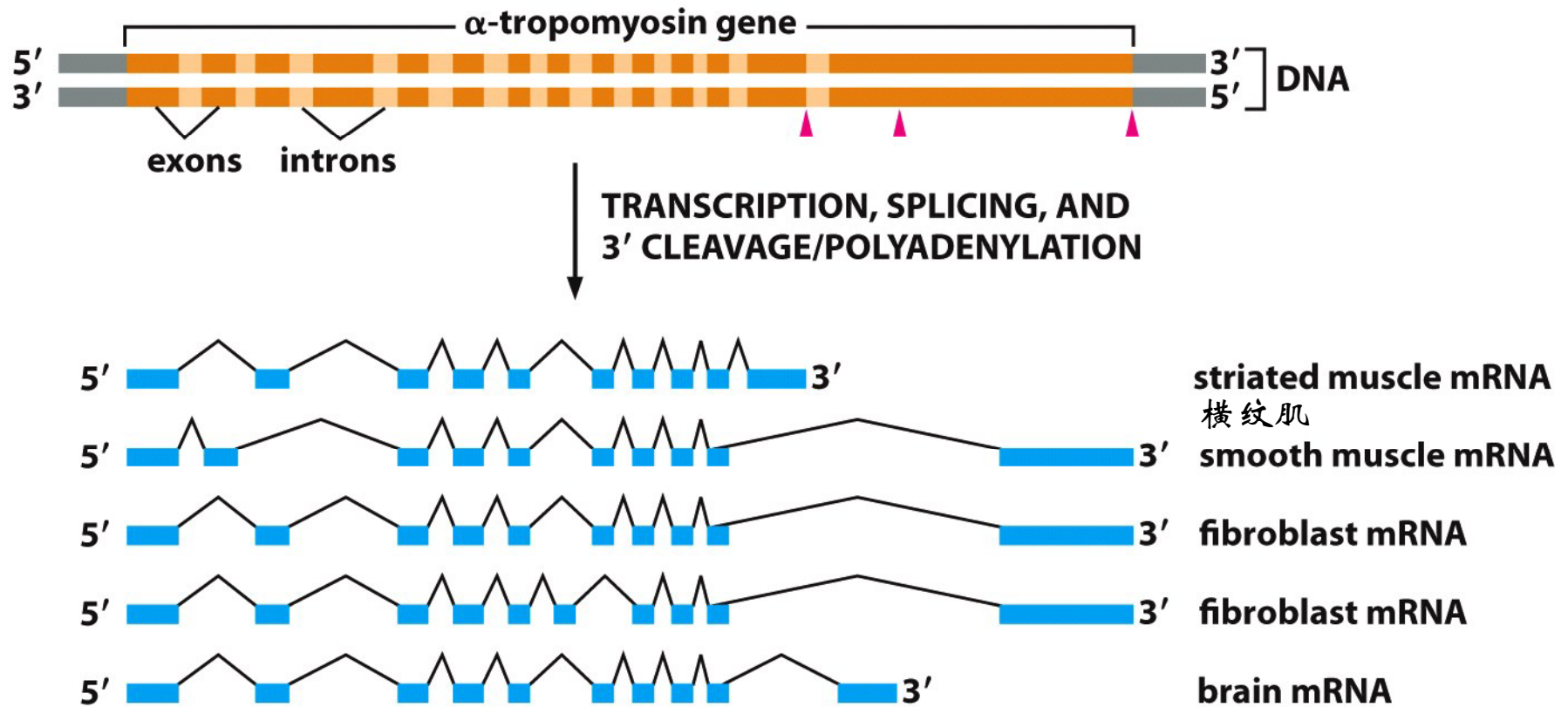
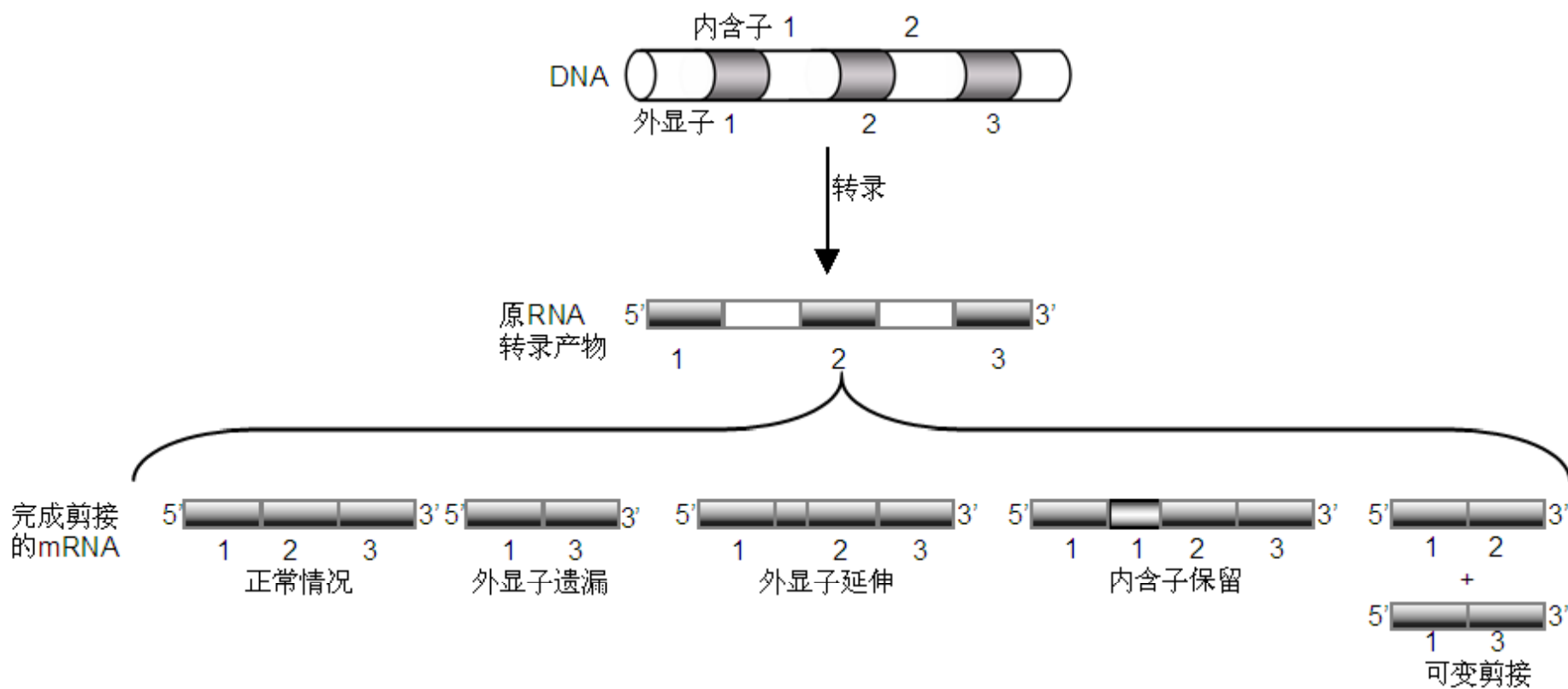


Figure 7-21 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

RNA剪接的5种模式



Self-splicing introns

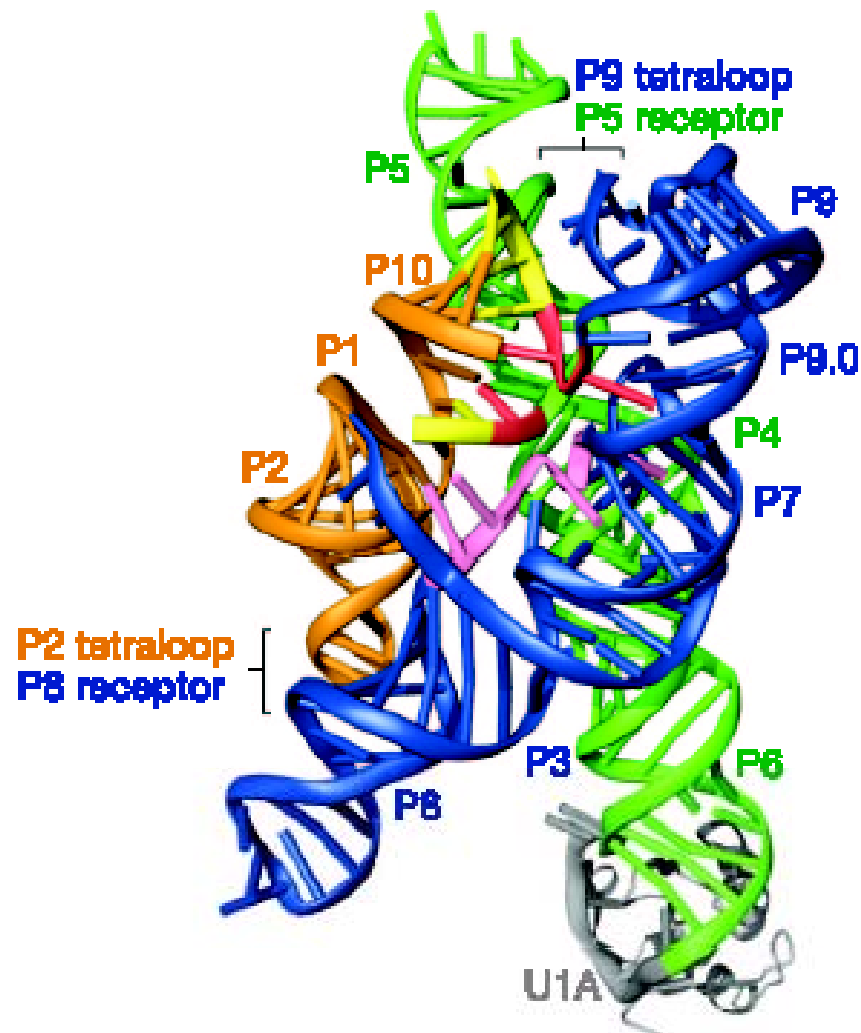
-I、II类内含子

带有这些内含子的RNA本身具有催化活性，能进行内含子的自我剪接。

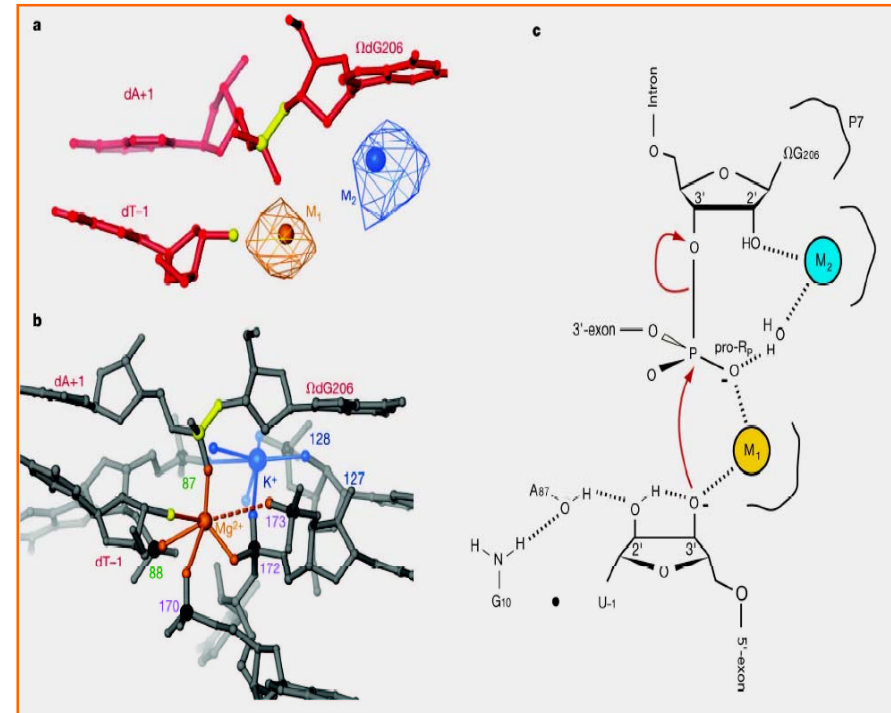
Autosplicing (Self-splicing, 自我剪接)

describes the ability of an intron to excise itself from an RNA by a catalytic action that depends only on the sequence of RNA in the intron.

Self-splicing introns



fold into a specific
conformation

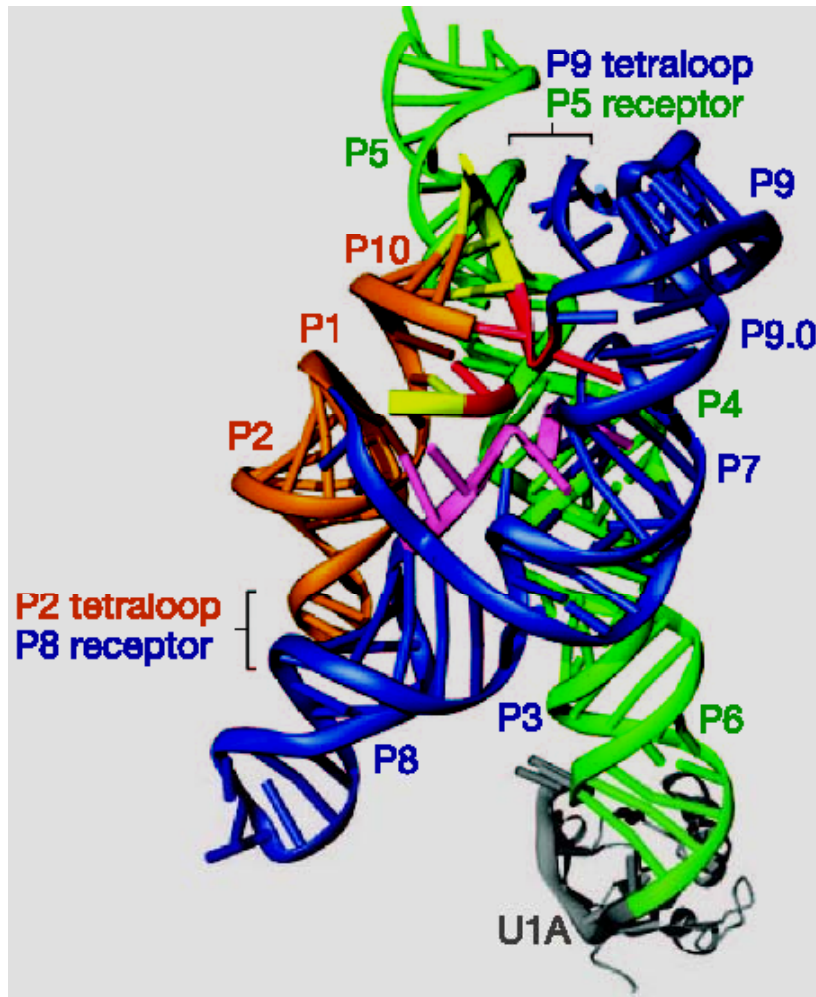


catalyze the chemical
reaction using metal
ions as cofactors

There are two classes of self-splicing introns:

- **group I** self-splicing introns
- **group II** self-splicing introns.

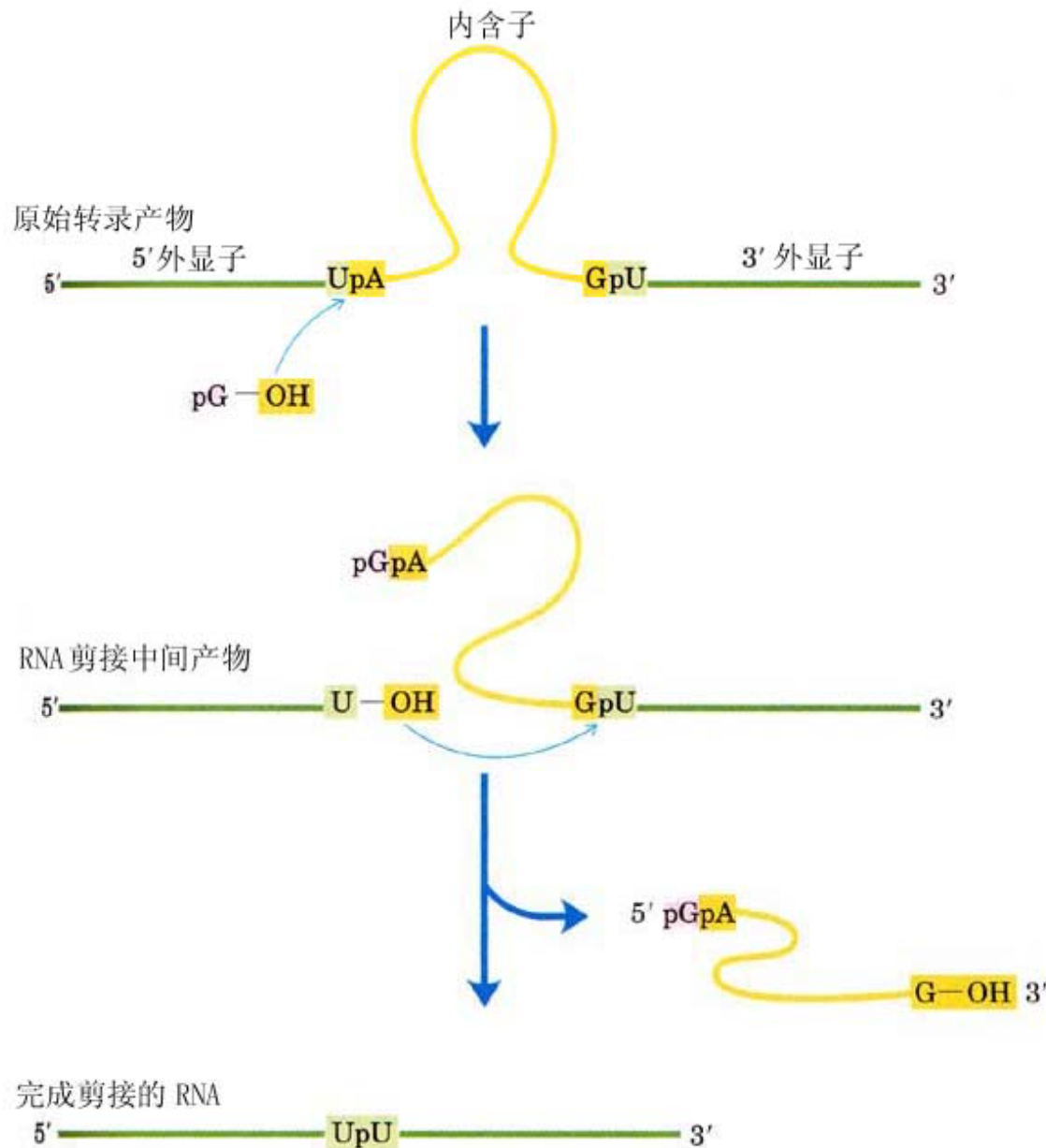
I 类内含子 (group I intron) 的结构特点



1. 其边界序列为5'U-G 3'
2. 内含子中具有中部核心结构 (Central core structure that contains a guanine-binding pocket and internal guide sequence)

I 类内含子常分布于低等真核生物的细胞器中，如四膜虫、绒泡菌的rRNA等

I类内含子的自我剪接过程



自由鸟苷酸的**3'-OH**作为亲核基团攻击内含子**5'**端的磷酸二酯键，从上游切开RNA链。

上游外显子的自由**3'-OH**作为亲核基团攻击内含子**3'**位核苷酸上的磷酸二酯键，使内含子被完全切开。

上下游两个外显子通过新的磷酸二酯键相连

II 类内含子 (group II intron)

和I类内含子剪接不同；
和核**mRNA** 内含子的剪切有些相似，但也有不同之处。

II 类内含子分布在：

- 酵母**mtRNA**，
- 细胞色素氧化酶的 α 亚基， β 亚基，
- 玉米**mitochondrial RNA (mtRNA)**，**tRNA**
- 真核**mRNA**前体中

II类内含子的剪接无需鸟苷的辅助，
但需镁离子的存在。

II类内含子的自我剪接过程

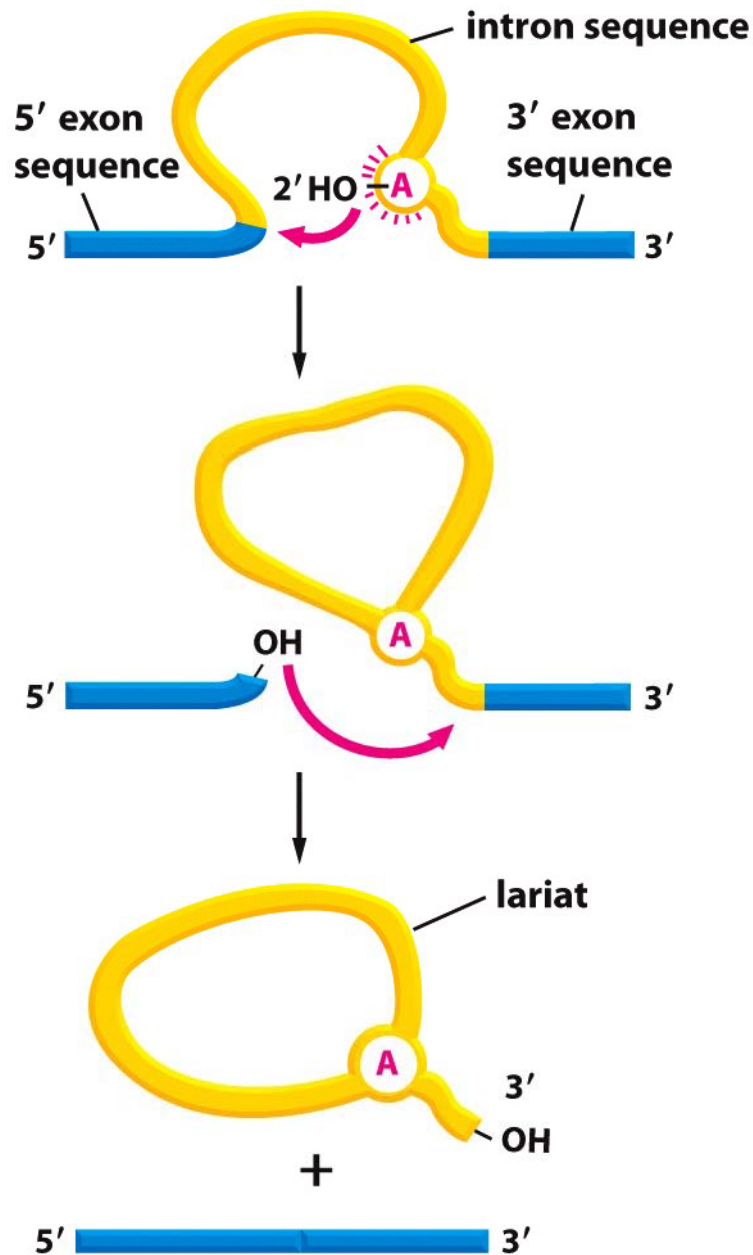


Figure 7-20 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

分枝点腺苷酸的2'-OH作为亲核基团攻击内含子5'端的磷酸二酯键，内含子5'的边界序列上的G以5'磷酸和分枝点A的2'-OH形成磷酸二酯键，从而产生了套索（**lariat**）结构。

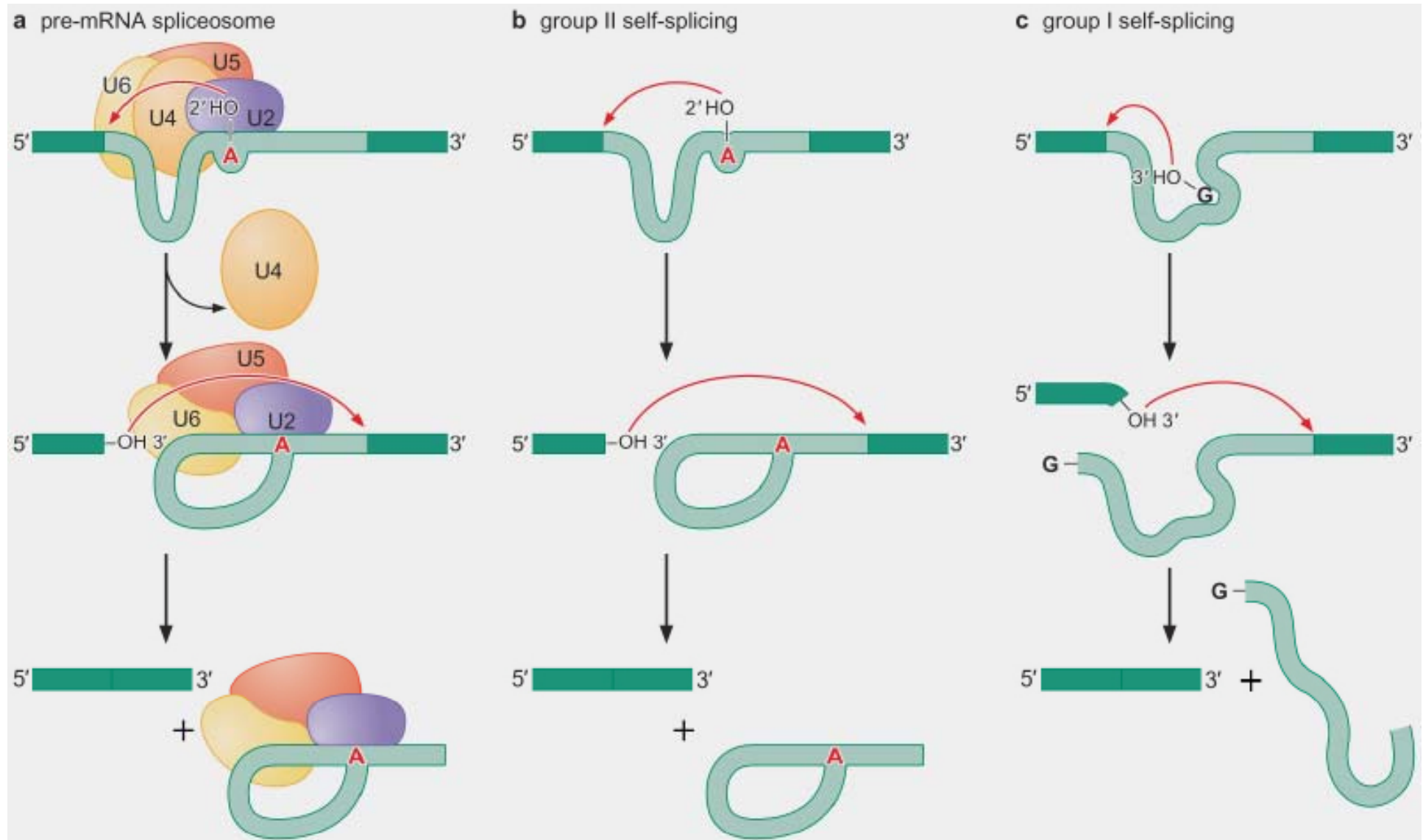
上游外显子的3'-OH作为亲核基团攻击内含子3'位核苷酸上的磷酸二酯键，使套索结构完全解离。

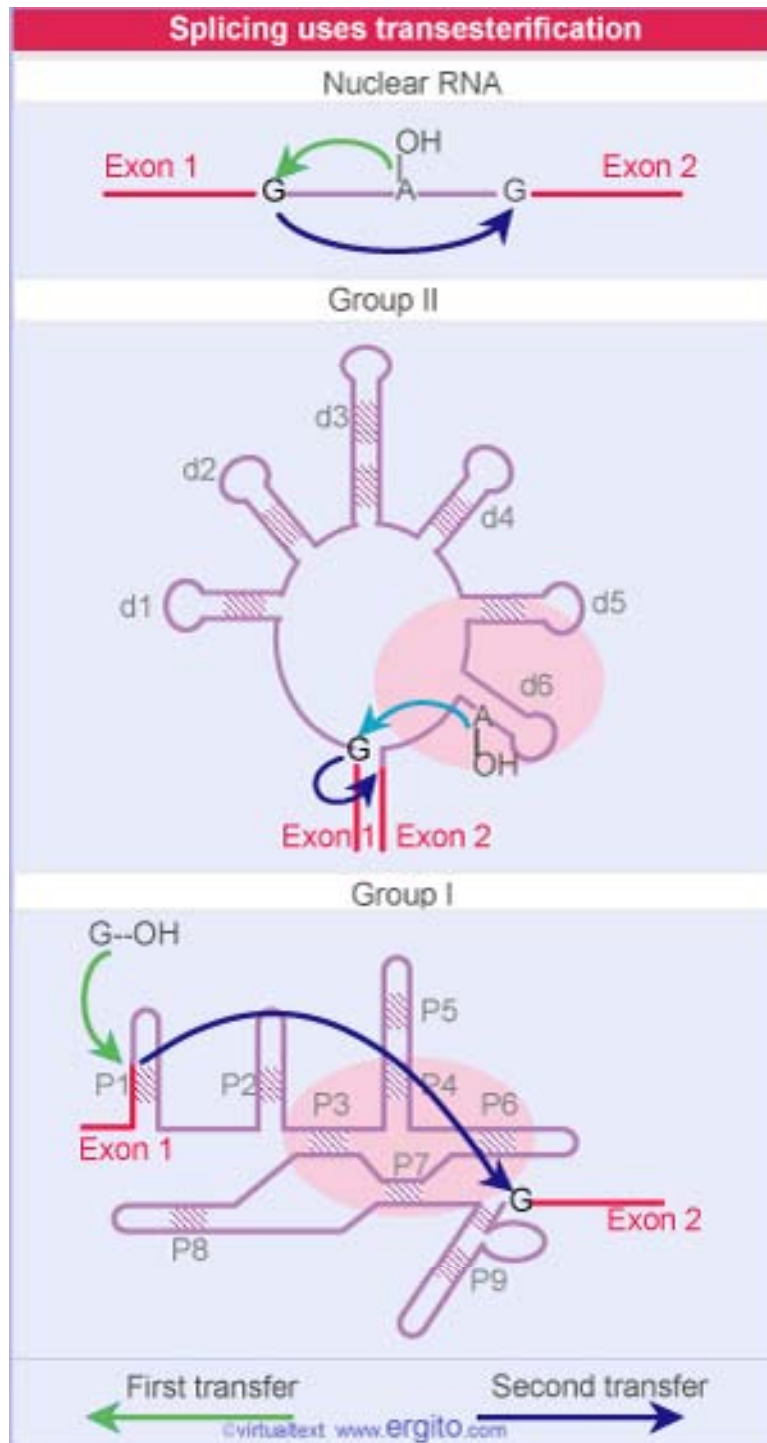
上下游两个外显子通过新的磷酸二酯键相连。

几种不同内含子剪接反应的区别

	酵母tRNA	I类内含子	II类内含子	核mRNA前体
边界顺序	无	5'U↓-G↓3'	5'↓GU-AG↓3'	5'↓GU-AG↓3'
特殊顺序	C（茎上）—G(环上)	内部引导顺序	分支点序列	分支点序列,5' 外显子顺序
二级结构	茎环构象	核心结构	5、6功能区	连接体
基因外的成分	内切酶，连接酶	自由鸟苷， 镁离子	镁离子	U1U2,U4,U5,U6
能量要求	ATP	不	不	ATP
中间型分子	半分子tRNA	环状L-19 IVS	套索	套索

The chemistry of group II intron splicing and RNA intermediates produced are the same as that of the nuclear pre-mRNA.

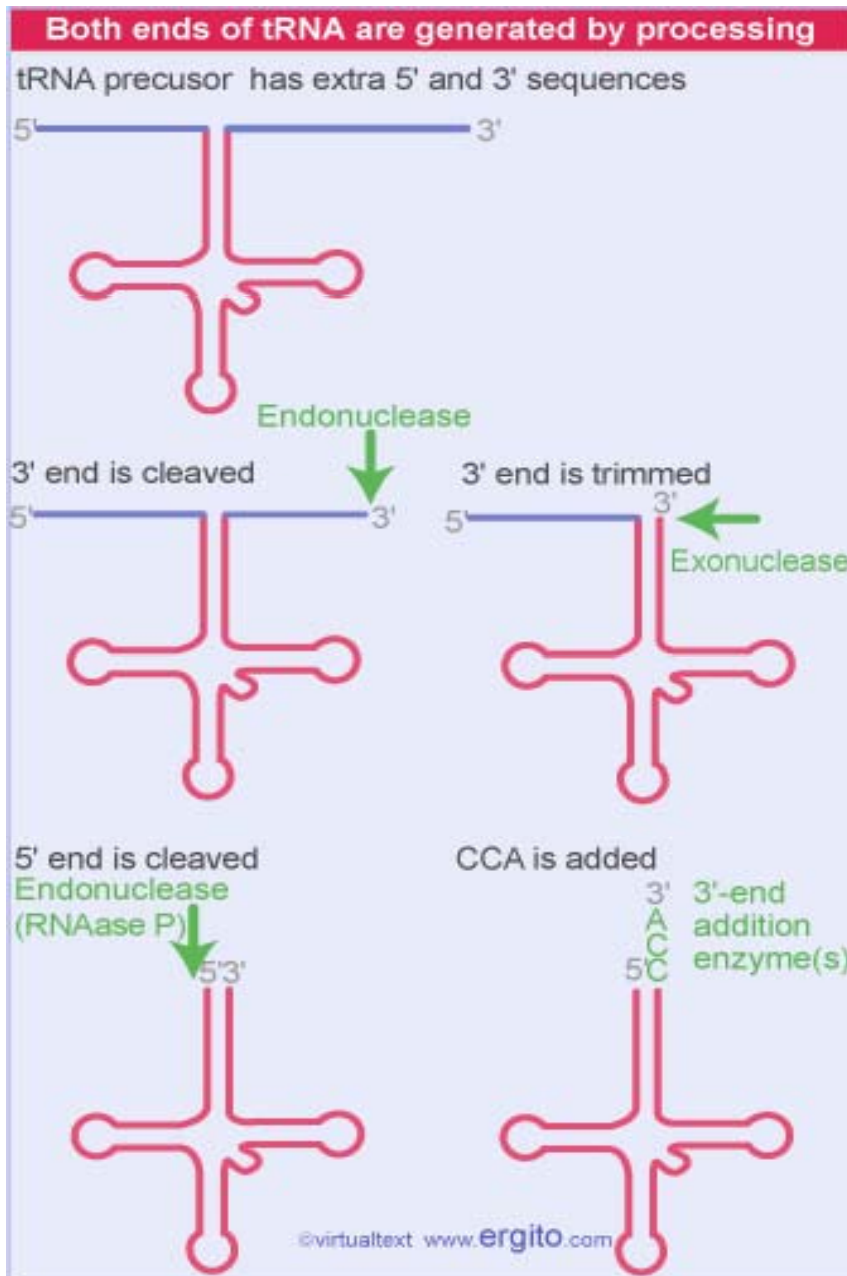




三类剪接反应都是通过 两次连续的 转酯反应进行的

第一次转酯反应中，由一个游离的2'-羟基提供，发动对5'外显子-内含子连接点的攻击。

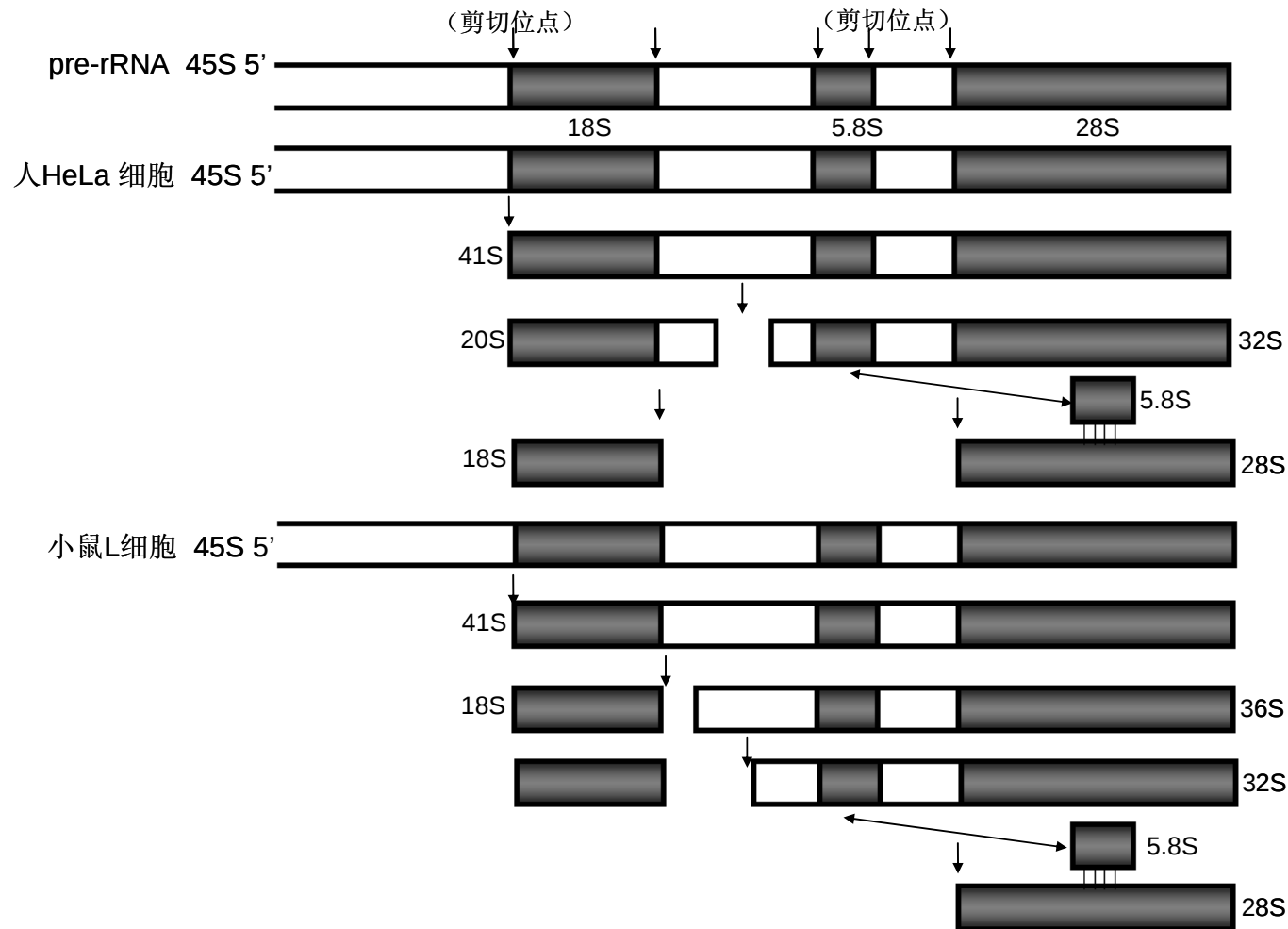
第二次转酯反应中，已经释放的外显子末端的游离3'-羟基接着攻击3'内含子-外显子的连接点。



tRNA由较长的前体加工而来

- 1) **tRNA**的切割和连接是独立的反应，内含子的剪接由**tRNA**内切核酸酶和**RNA**连接酶完成；
- 2) 3'端添加**CCA**是在**tRNA**核苷酸转移酶的催化下进行的；
- 3) 核苷酸修饰。

rRNA的产生需要切割反应



- 大小**rRNA**都通过从共同的**RNA**前体切割下来而释放的。
- **5'**端大多直接由切割产生，**3'**端大多由切割及其后的**3'-5'**修整反应产生的。

RNA的编辑和化学修饰

- RNA的编辑 (RNA editing) 是某些RNA，特别是mRNA的一种加工方式。
- 它导致了DNA所编码的遗传信息的改变。

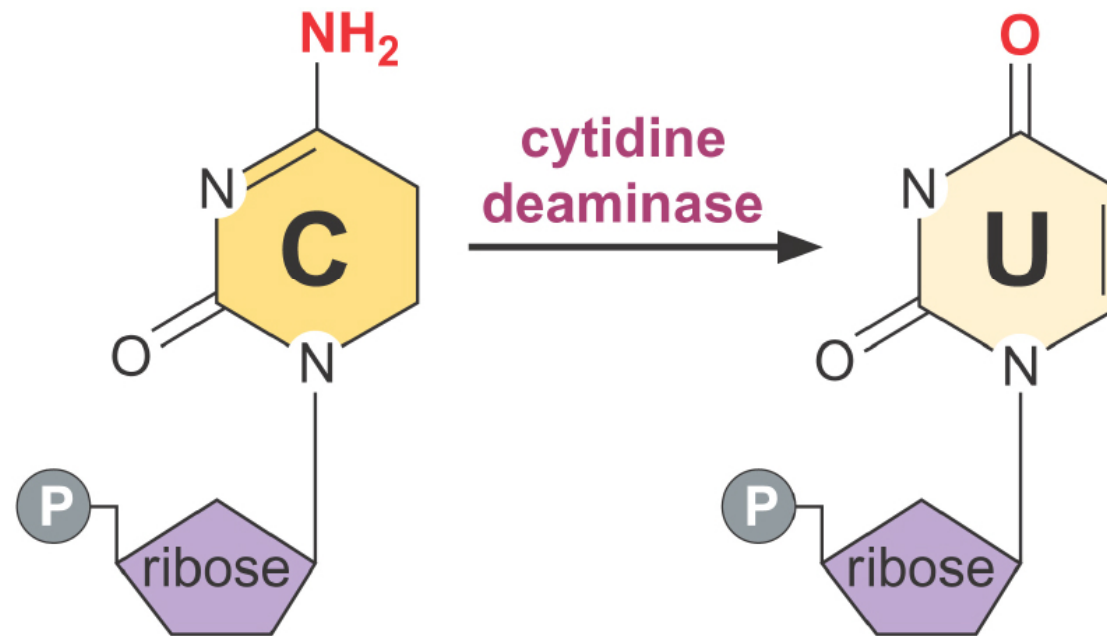
RNA的编辑(RNA editing)

编辑（**editing**）是指转录后的**RNA**在编码区发生碱基的加入，丢失或转换等现象。

介导**RNA**编辑的**两种机制**：

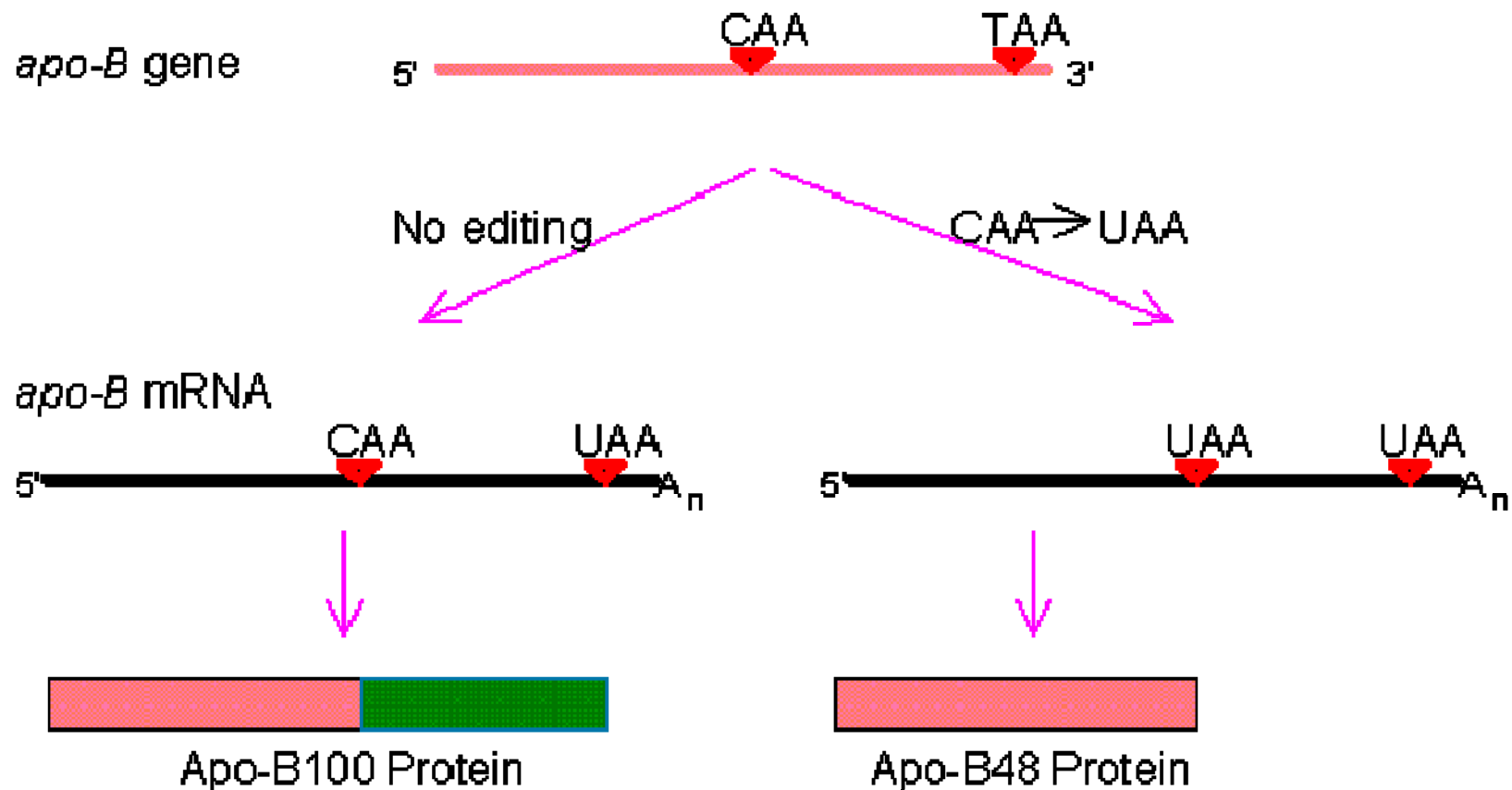
- 位点特异性**脱氨基**作用；
- 引导**RNA**指导的**尿嘧啶插入或删除**。

A specifically targeted **C** residue within mRNA is converted into **U** by the deaminase (脱氨酶).



The process occurs only in certain tissues or cell types and in a regulated manner.

哺乳动物载脂蛋白基因转录产物的编辑



In Liver

肝中剪接的mRNA编码
含4563 aa的蛋白质

In Intestine

肠mRNA有UAA密码子在
第2153位密码子终止合成

哺乳动物中RNA编辑的实例

组织	靶标RNA	所改变的碱基	结果
肝脏, 肠	载脂蛋白B	C→U	谷氨酰胺密码子→终止子
肌肉	半乳糖苷酶	U→A	苯丙氨酸密码子→酪氨酸
睾丸, 肿瘤等	Wilms肿瘤基因-1	U→C	亮氨酸密码子→脯氨酸
肿瘤	神经纤维瘤基因-1	C→U	精氨酸密码子→终止子
脑	谷氨酸受体蛋白	A→I	多个谷氨酸密码子→精氨酸

RNA编辑的另一种形式是尿苷酸的缺失和添加。

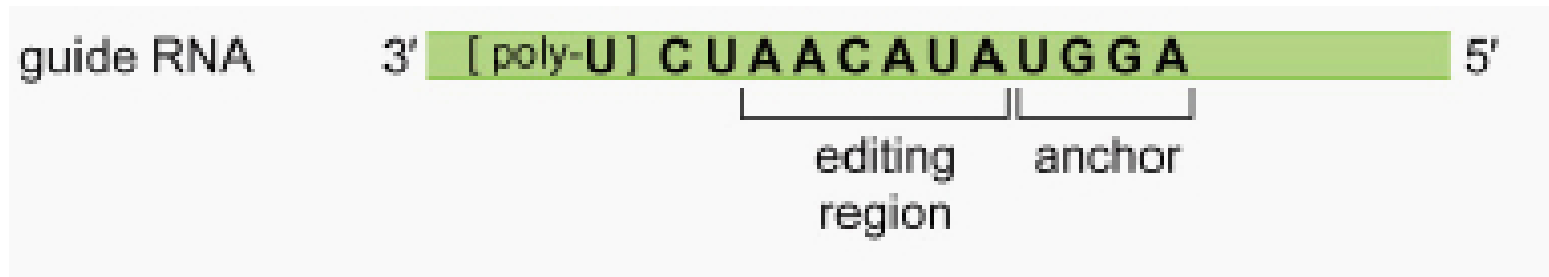
研究发现，利什曼原虫属细胞色素b mRNA中含有许多独立于核基因的尿嘧啶残基，而特异性插入这些残基的信息来自指导RNA（guide RNA）。

指导RNA (guide gRNA)

1990年, L.Simpson等在研究锥虫线粒体mRNA时发现了一类新的小分子RNA:

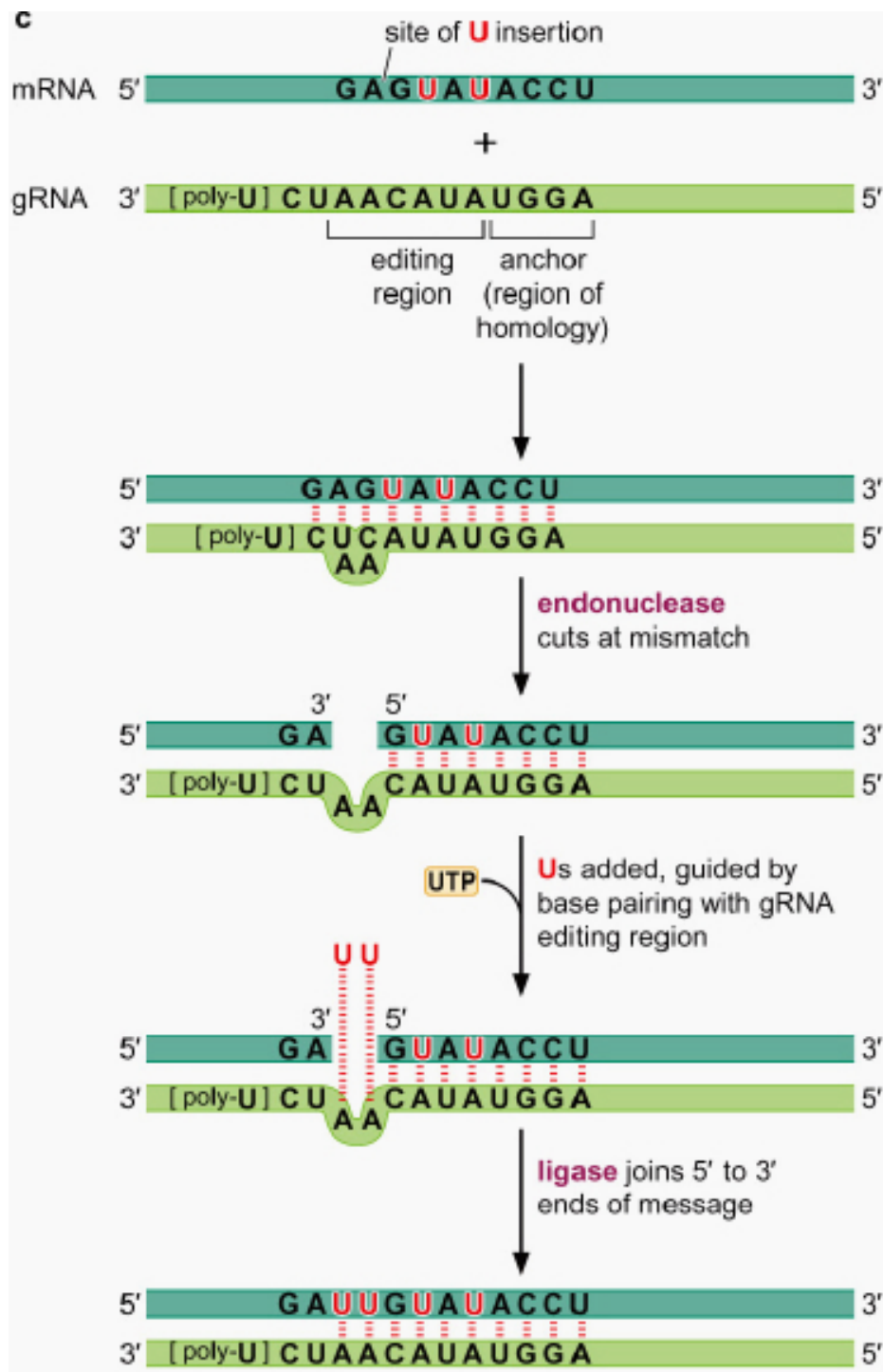
- 可以和**mRNA**分子被编辑的部分发生非常规的互补, **G-U**配对,
- 对**mRNA**前体分子的编辑起了指导作用, 故称其为**指导RNA (guide gRNA)**。

gRNAs



Having three regions:

- **anchor**– directing the gRNAs to the region of mRNAs it will edit.
- **editing region** – determining where the Us will be inserted
- **poly-U stretch**



指导RNA和RNA的 编辑机制

指导RNA与被编辑区及其周围部分核酸序列虽然有相当程度的互补性，但该RNA上存在一些未能配对的腺嘌呤，形成缺口，为插入尿嘧啶提供了模板。

反应完成后，指导RNA从mRNA上解离下来，而mRNA则被用做翻译的模板。

RNA编辑的生物学意义

(1) 校正作用。

(2) 调控翻译。

通过编辑可以构建或去除起始密码子和终止密码子。

(3) 扩充遗传信息。

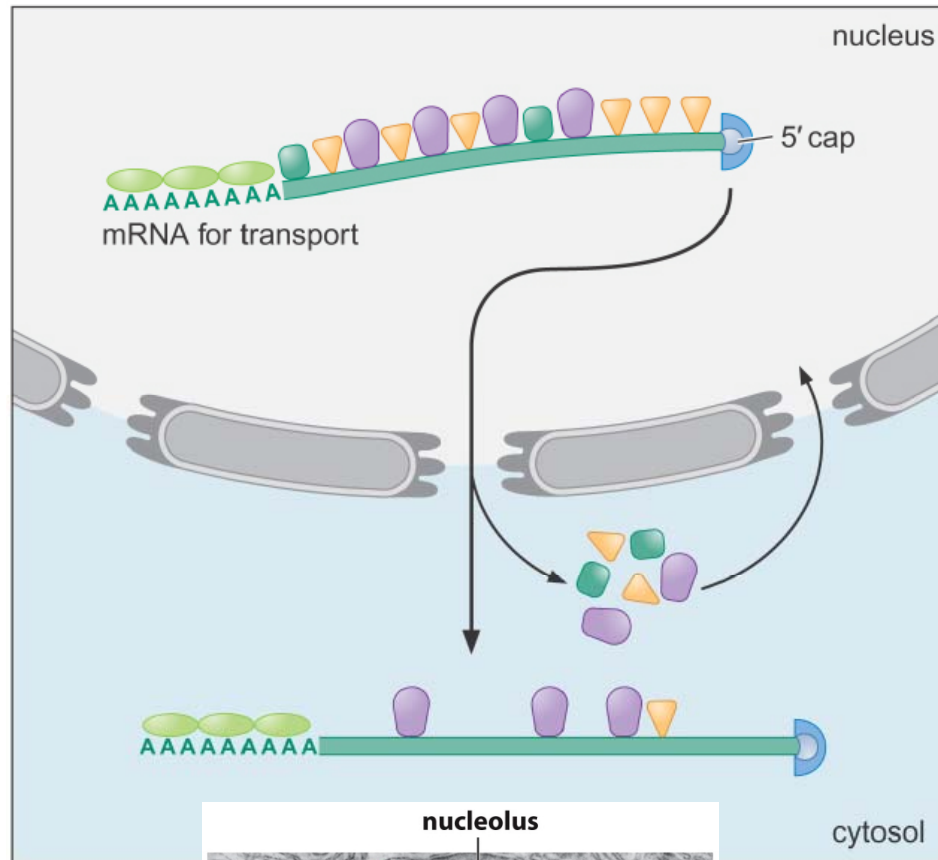
RNA的再编码

RNA的再编码(RNA recoding):

RNA编码和读码方式的改变,可以从一个 **mRNA**产生两种或多种相互关联但又不同的蛋白质，可能是蛋白质合成的一种调节机制。

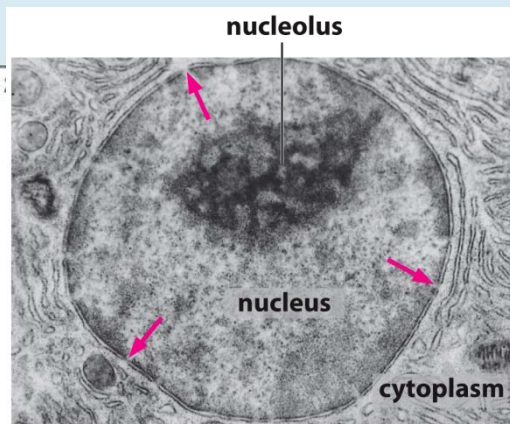
- 核糖体程序性**+1/-1**移位: **mRNA**的读码信号发生**+1/-1**移位。
- 核糖体跳跃: 核糖体跳过**50**个核苷酸。
- 终止子通读: 硒代半胱氨酸 (**21st aa**) 和吡咯赖氨酸 (**22nd aa**)

mRNA Transport



Copyright ©

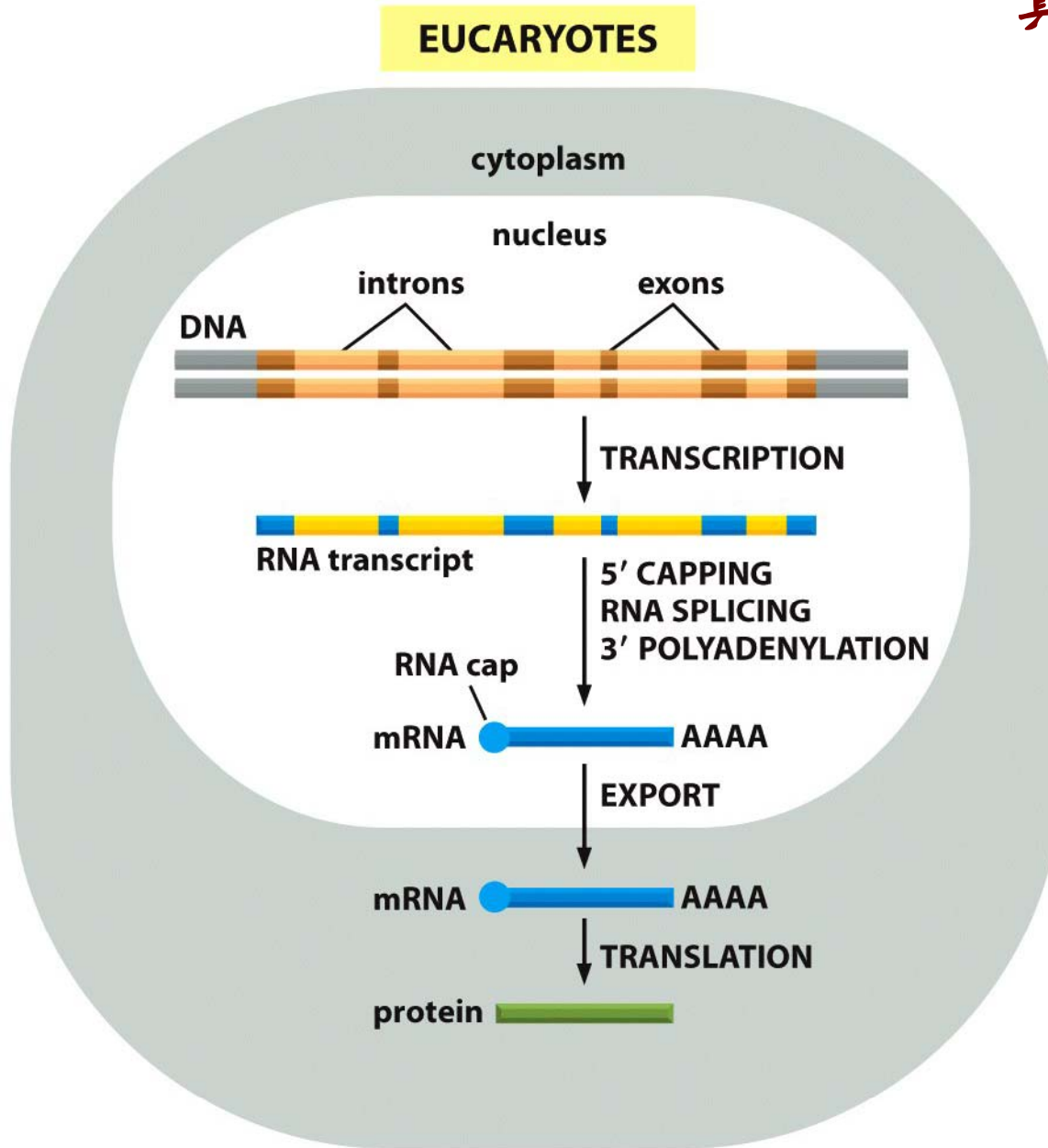
Jamin Cummings



5 μ m

- Movement from the nucleus to the cytoplasm is an **active** and carefully **regulated** process.
- The damaged, misprocessed and liberated introns are retained in the nucleus and degraded.
- Once in the cytoplasm, some proteins are discarded and are then imported back to the nucleus for another cycle of mRNA transport. Some proteins stay on the mRNA to facilitate translation.

真核细胞RNA转录



mRNA的前体
(核不均一RNA,
hnRNA)

5'加“帽”和
3'酶切加多聚腺苷酸

RNA的剪接

连续的可译框(ORF)
(open reading frame)

通过核孔进入细胞质

蛋白质合成的模板

Figure 7-23a Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

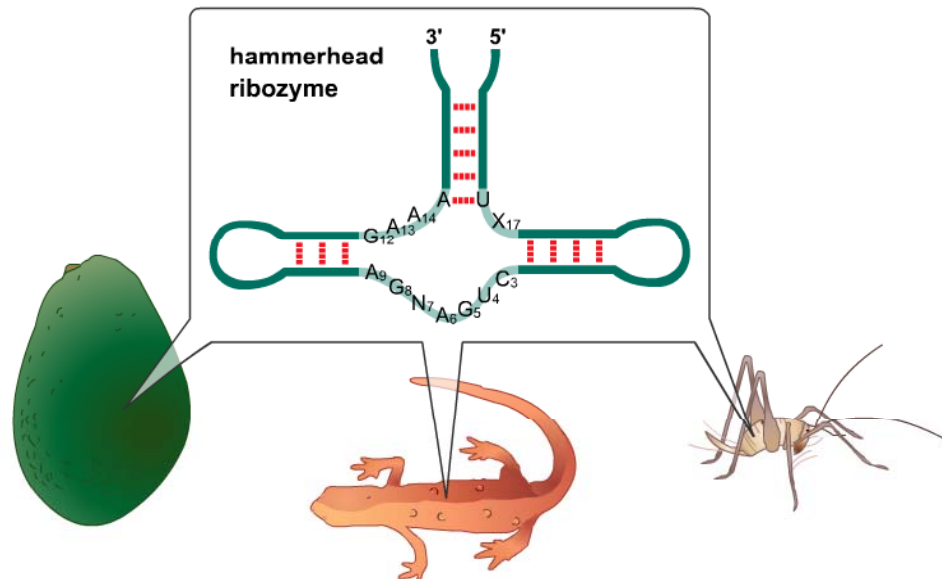
RNA加工过程及其生理功能

加工过程	推测的生理功能
加帽子反应	mRNA从细胞核向细胞质运转， 翻译起始
加多聚A反应	转录终止，翻译起始和mRNA降解
RNA的剪接	从mRNA, tRNA和rRNA分子中切除 内含子
RNA的切割	从前体RNA中释放成熟tRNA和 rRNA分子

核 酶 (ribozyme)

核酶是指一类具有催化功能的**RNA**分子，通过催化靶位点**RNA**链中磷酸二酯键的断裂，特异性地剪切底物**RNA**分子，从而阻断基因的表达。

ribozyme是核糖核酸和酶两个词的缩合词。



RNA as Catalysts



Tom Cech

In 1982 Tom Cech and his research group announced that an RNA molecule from *Tetrahymena*, a single-celled pond organism, cut and rejoined chemical bonds in the complete absence of proteins.

This discovery of self-splicing RNA provided the first exception to the long-held belief that biological reactions are always catalyzed by proteins.

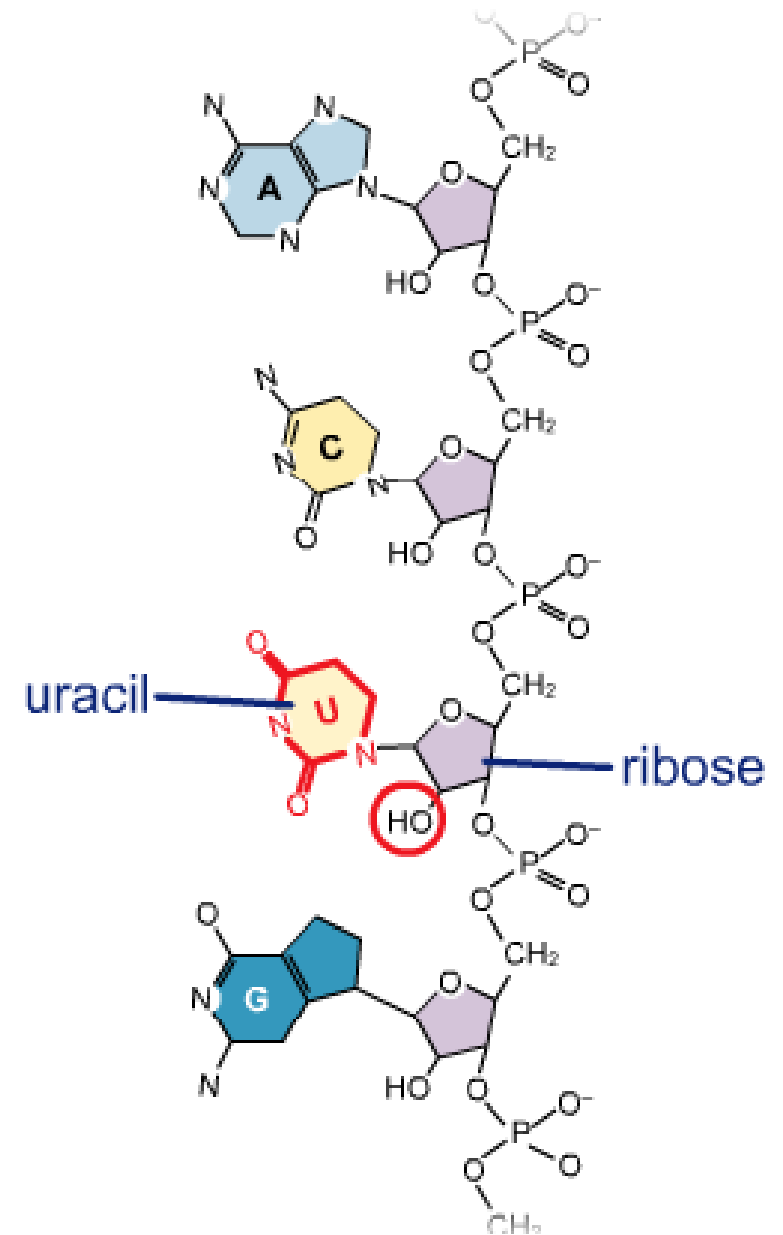
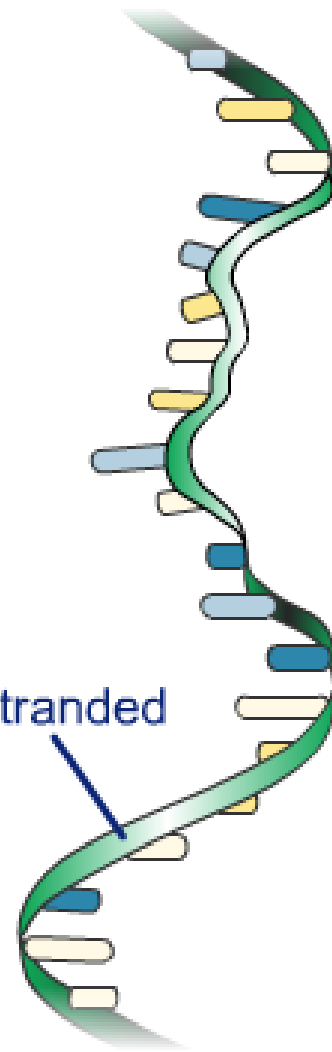
The RNA subunit in the RNaseP

Altman

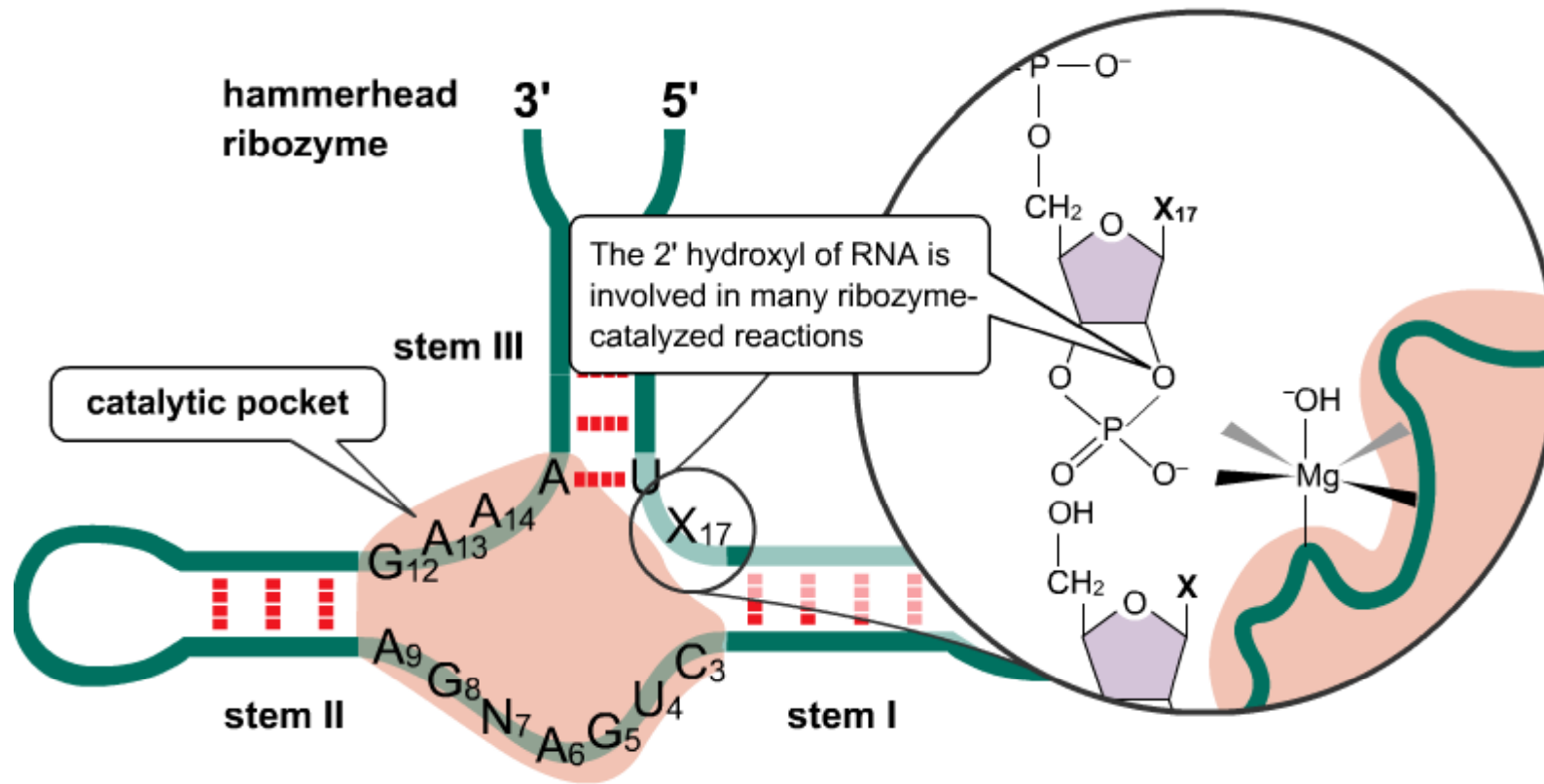


The structural differences between RNA and DNA help RNAs act as catalysts.

single-stranded

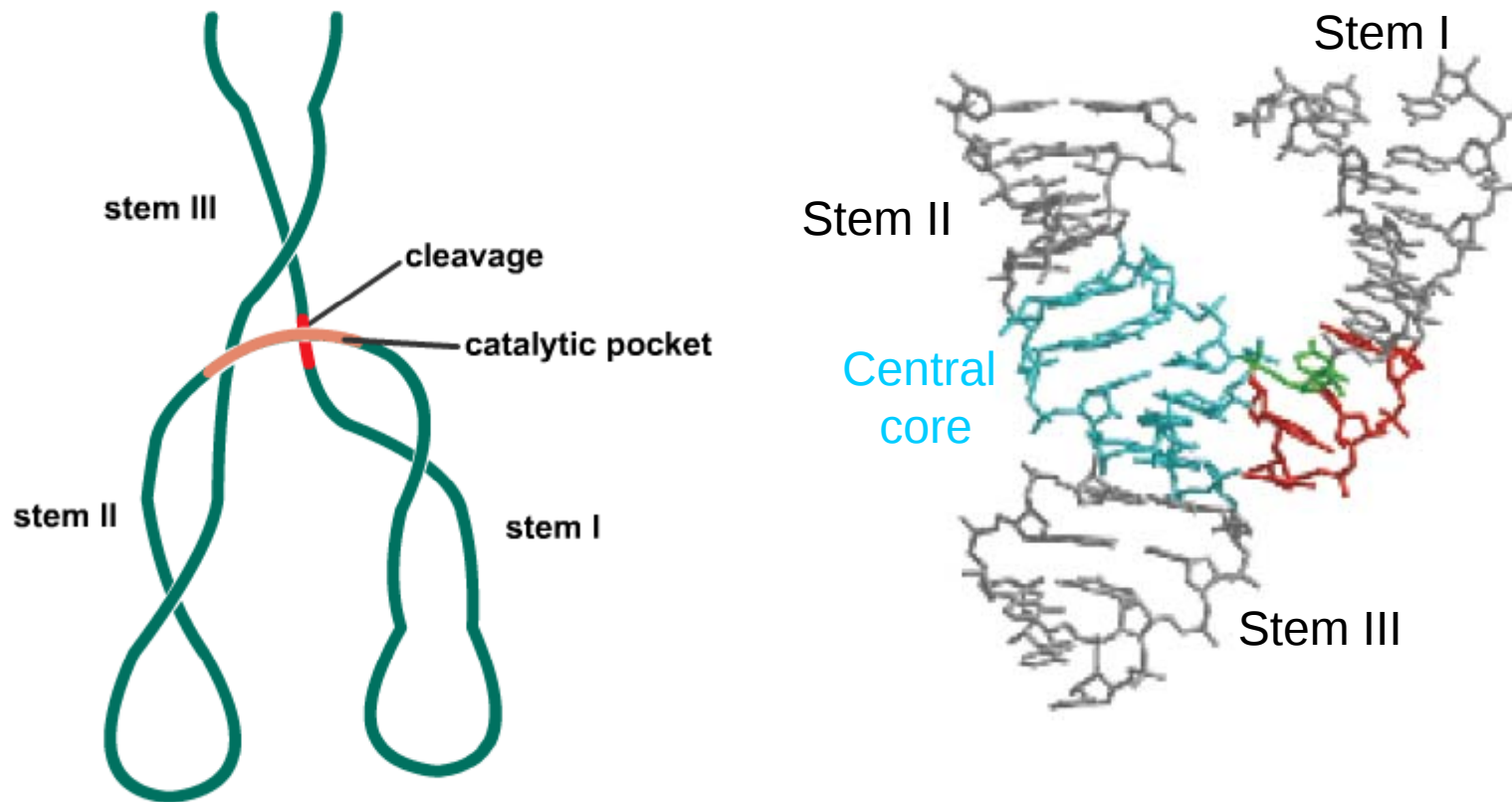


核酶的锤头结构



- 该酶包括三个茎环区，其间有一个11-13个保守核苷酸构成的催化中心。
- N代表该位置上可以为任意碱基，
- 在类病毒中，茎III的顶部并没有被环连接起来。

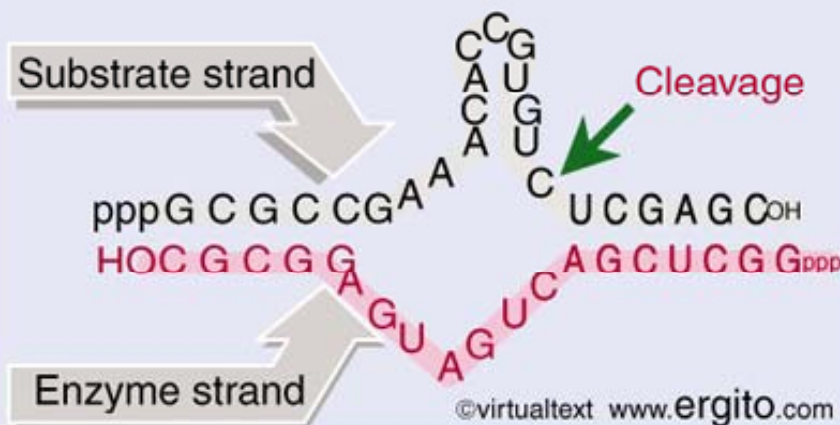
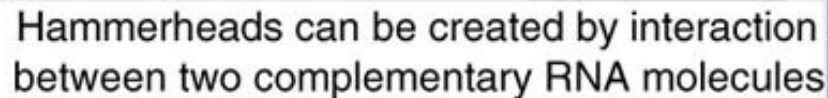
核酶的三级结构



The conserved bases are highlighted in cyan, the CUGA uridine turn highlighted in red, and the active site cytosine (cut site at position 17) in green.

(Scott et al. 1995. *Cell* 81: 991.)

Consensus hammerheads have 3 stem loops and conserved bases

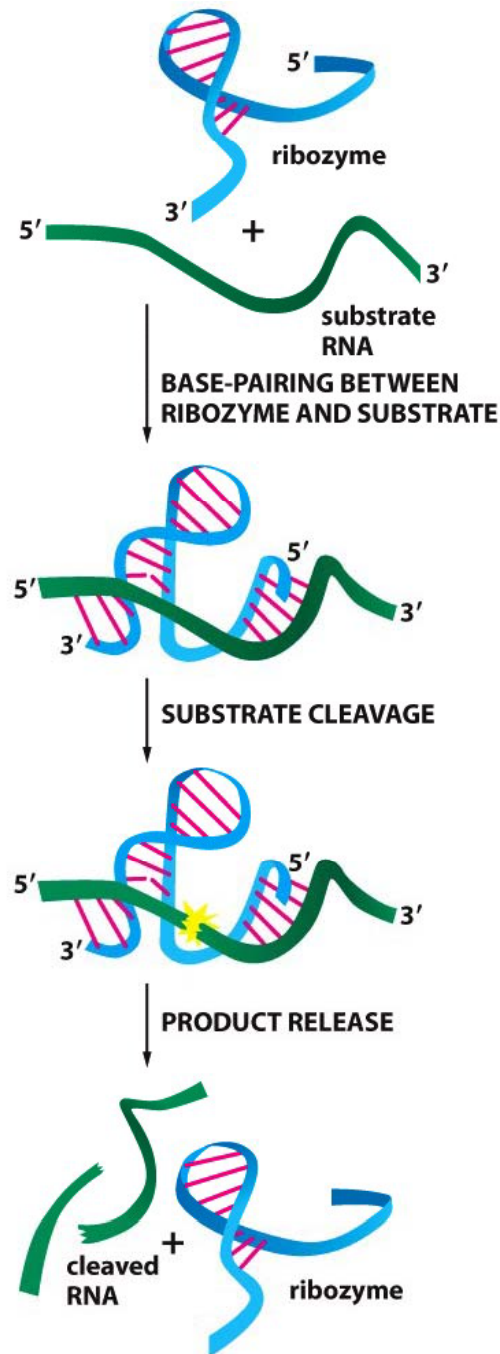


- 类病毒和拟病毒形成一种锤头状二级结构，具有催化活性。

- 当酶链被引入细胞时，它可与底物链配对，并将其切割。

- 为基因治疗提供了新的策略。

核酶是具有催化活性的RNA分子



这种简单的**RNA**分子催化另一个**RNA**在特定位点断裂。

核酶的分类

- 剪切型核酶:

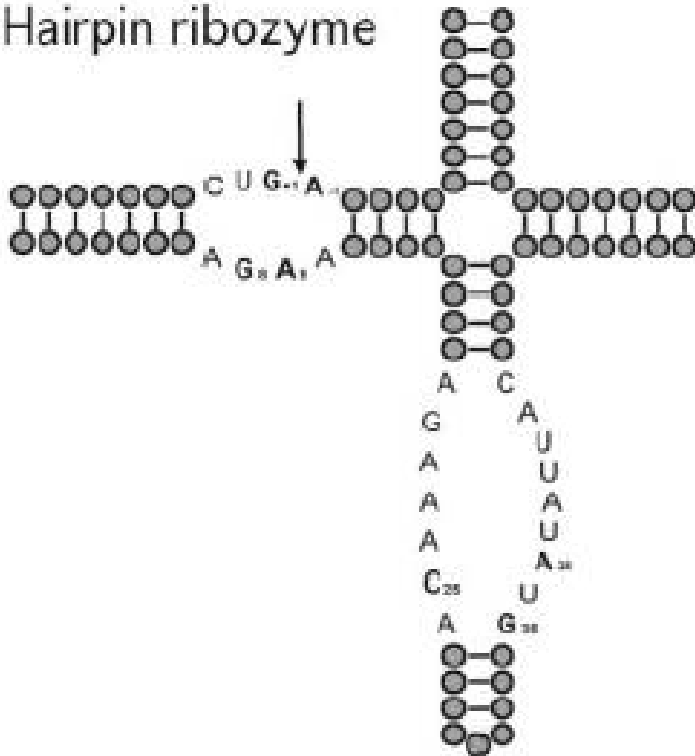
只剪不接；如**RNaseP**的**RNA**亚基，四膜虫**rRNA**前提的剪接产物**L19**等。

- 剪接型核酶:

又剪又接，具有序列特异的内切核酸酶、**RNA**连接酶等多种酶的活性。如**I**、**II**类内含子、锤头型核酶、发夹型核酶等。

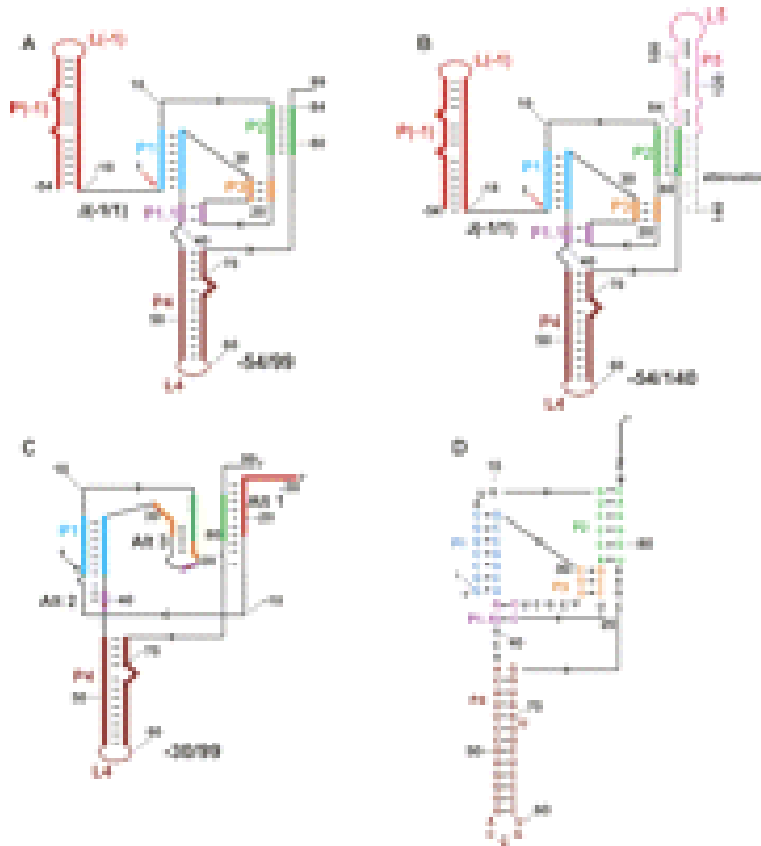
Hairpin ribozyme

- Hairpin ribozyme



- Target to nucleases & RNA ligase.
- It's self-splicing is reversible.
- It's ability to catalyze ligation is higher than that of cleavage.

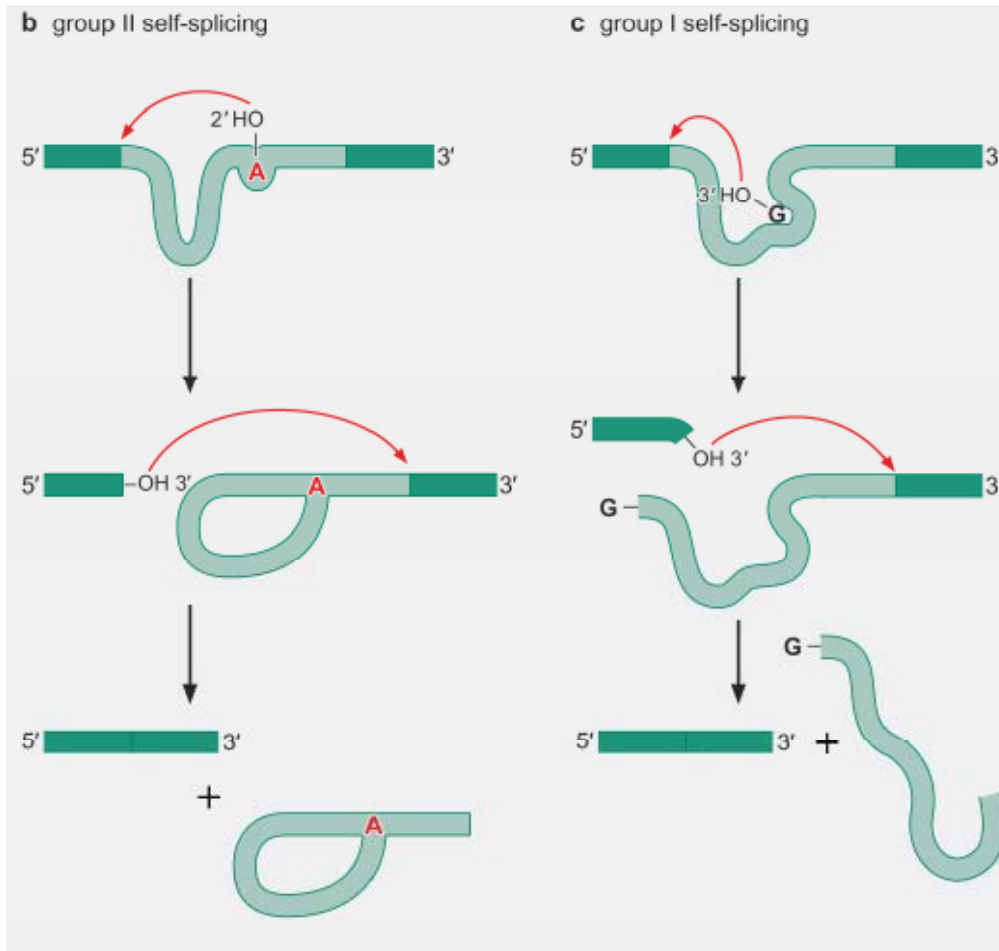
The hepatitis delta RNA



Secondary structures present in HDV ribozyme-containing transcripts

- It comes from hepatitis delta genomic RNA and anti-genomic RNA
- The fastest RNA catalyst
- It's self-splicing ability is 100 times higher than that of hammerhead ribozyme.

Group I & II intron



- Group I intron exist in the cellular gene and nuclear gene in all organisms, such as Tetrahymena pre-mRNA, the precursor of mitochondrial mRNA and tRNA, pre-rRNA.
- Group II intron were found in the precursor of eukaryotic snRNA and yeast mitochondrial mRNA.

核酶的生物学意义

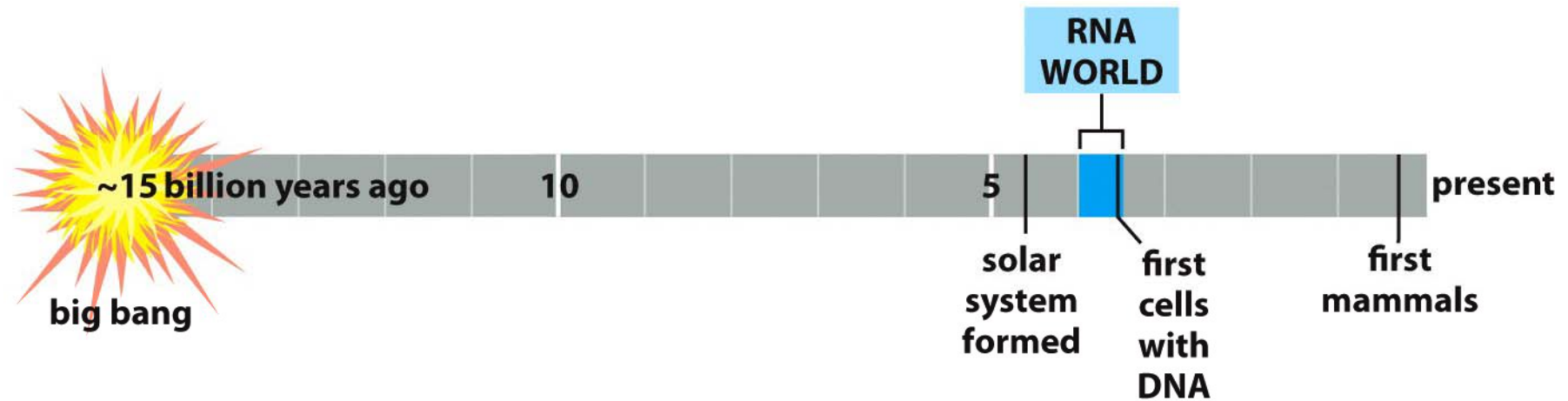
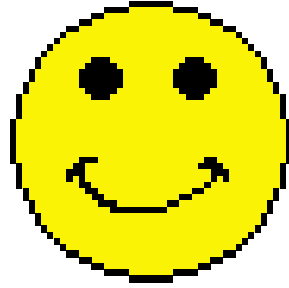


Figure 7-42 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

- 核酶的发现使我们对**RNA**的重要功能又有了新的认识。
- 核酶是继逆转录现象之后对中心法则的又一个重要修正，说明**RNA**既是遗传物质又是酶。
- 核酶的发现为生命起源的研究提供了新思路，也许曾经存在以**RNA**为基础的原始生命。照这么说，蛋白质世界也可能（仅仅是可能）起源于**RNA**世界！

思考题

- 1.什么是编码链？什么是模板链？
- 2.简述**RNA**转录的概念及其基本过程。
- 3.大肠杆菌的**RNA**聚合酶由哪些组成成分？各个亚基的作用如何？
- 4.什么是封闭复合物、开放复合物以及三元复合物？
- 5.简述 σ 因子的作用。
- 6.什么是**Pribnow box**？它的保守序列是什么？
- 7.什么是上升突变？什么是下降突变？
- 8.简述原核生物和真核生物**mRNA**的区别。
- 9.大肠杆菌的终止子有哪两大类？请分别介绍一下它们的结构特点。
- 10.真核生物的原始转录产物必须经过哪些加工才能成为成熟**mRNA**，以用作蛋白质合成的模板。
- 11.简述I、II类内含子的剪接特点。
- 12.什么是**RNA**编辑？其生物学意义是什么？
- 13.核酶具有哪些结构特点？其生物学意义是什么？



Thank You