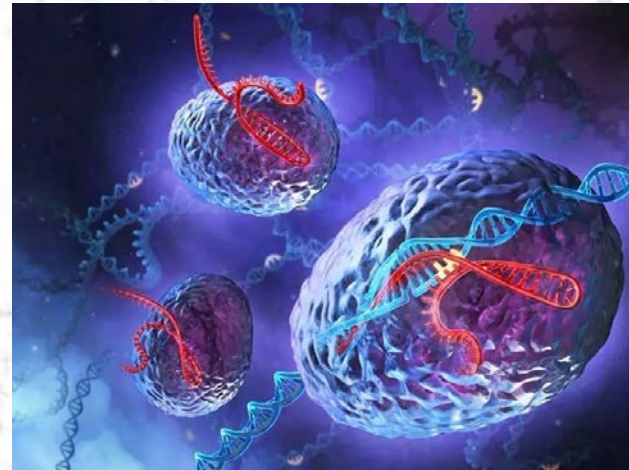




# 第十章 基因表达的调控机制

REGULATION MECHANISM OF GENE EXPRESSION





# 本章的主要内容

4

一 基因表达调控的多水平性

二 原核基因的表达调控

三 真核基因的表达调控

四 表观遗传调控和表观遗传学



# 本章的几个重要概念

- 基因表达(gene expression):

DNA将遗传信息转换成基因产物即**RNA**或者**蛋白质**的过程。

- 基因表达调控(regulation of gene expression):

细胞控制各个基因产物（蛋白质或RNA）的**量**及其产出**时间**和表达**空间的过程**。

- 看家基因(housekeeping gene):

也称持家基因，指负责合成一些与**维持细胞生命**及**增殖**所必需的一些**蛋白质**如组蛋白、核糖体蛋白、代谢酶、结构蛋白等的基因。



# 本章的几个重要概念

## 结构基因(structure gene):

负责编码细胞中**组成型蛋白的基因**，其编码的蛋白质一般不作为调节因子。**广义上的结构基因也包括编码RNA的基因。**

## 顺式作用元件(*cis*-acting elements):

指基因旁侧序列中能影响基因表达（转录）的**DNA序列**，包括**启动子**、**增强子**和**沉默子**等。他们的作用是参与基因表达的调控。

## 反式作用因子(trans-factors):

指能直接或间接地**识别或结合**在各类**顺式作用元件**核心序列上，参与**调控靶基因转录效率**的蛋白质，大部分为**转录因子**。



# 一、基因表达调控的多水平性

在真核和原核细胞中，**基因表达**过程是通过**转录**和**翻译**而产生RNA或蛋白质产物的过程，该过程中有许多地方受到调控。

基因表达调控

**转录前调控**：染色质水平和DNA水平的调控  
(主要是表观遗传调控)

**转录调控**：以DNA为模板合成RNA的调控

**转录后调控**：RNA转录后对基因表达的调控

RNA加工调控

翻译调控

mRNA降解调控

蛋白质活性调控



# 1、转录后调控的类型

**(1) RNA加工调控：**它仅在真核细胞中发生。由它控制初级转录物如何及何时进行剪接形成可用的mRNA。

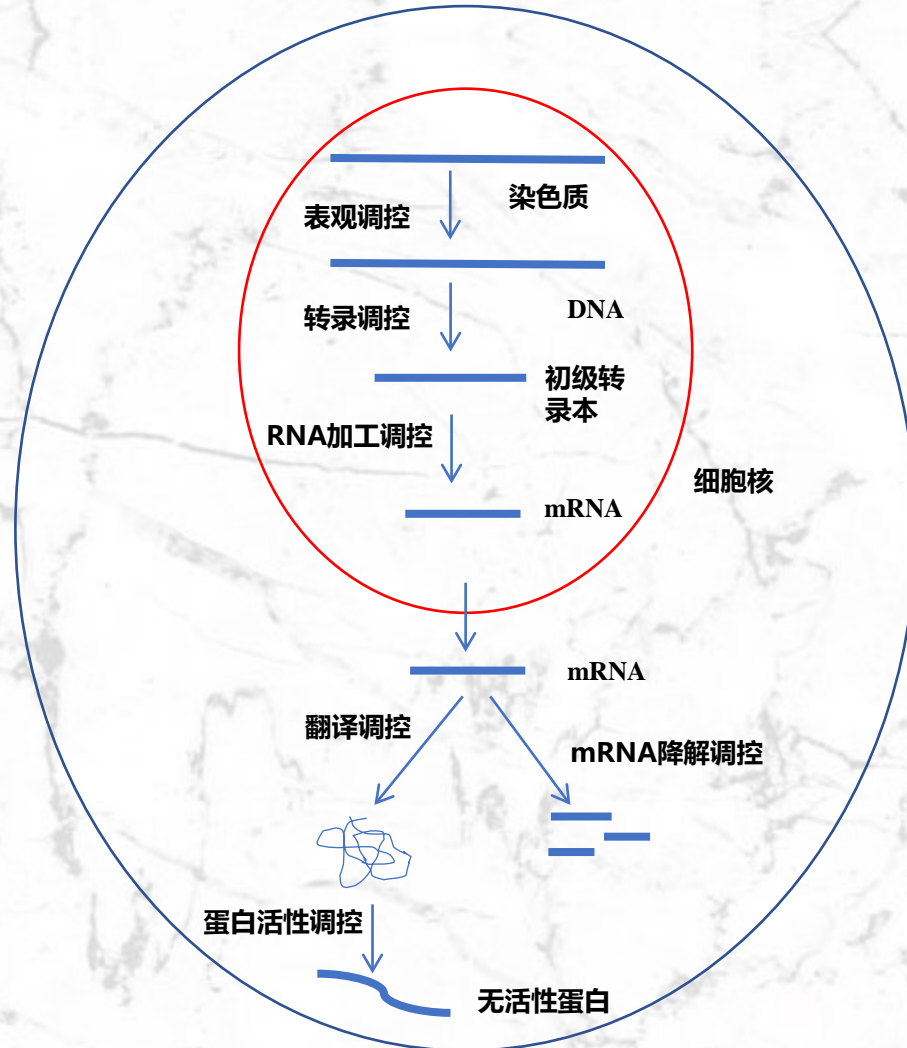
**(2) 翻译调控：**通过该调控确立哪些mRNA翻译成蛋白质及什么时候翻译。

**(3) mRNA降解调控：**通过降解mRNA调控某些种类mRNA的稳定性。

**(4) 蛋白质活性调控：**可选择性地使某些特异的蛋白分子激活、失活、修改或区域化，从而影响到蛋白质怎样或何时起作用。



## 2、基因表达调控点示意图



转录前调控、转录调控  
和转录后调控



## 二、原核基因的表达调控

原核基因的表达调控**主要**发生在**转录水平**上，通常采用一种所谓的“开-关”（on-off）活性调节机制来调控基因的表达。除了转录水平的调控外，在其他水平上如**mRNA加工**、**反义RNA调控**、**翻译**和**翻译后调控**等也参与基因表达的调控。

### 转录水平调控机制的不同：

**负转录调控**：调节基因的产物是**阻遏蛋白**，起阻遏结构基因转录的作用；

**正转录调控**：调节基因的产物是**激活蛋白**，起激活结构基因转录的作用；

### 代谢物调节基因表达活性的作用方式的不同：

**可诱导调节**：指相关基因和特殊代谢物或化合物的诱导作用下，基因由关闭状态变为工作状态，如乳糖分子；

**可阻碍调节**：由于一些代谢物或化合物的积累而使**基因表达由开启状态变成阻遏状态**，如色氨酸；

# 原核基因的表达调控-操纵子



- 原核生物**操纵子**属于典型的转录水平上的调节。
- 法国巴斯德研究院的**F. Jacob**和**J. Monod**通过对*E. coli* 乳糖代谢的多年研究，于1960年在法国科学院院报(Proceeding of the French Academy of Sciences)上发表的论文，**提出乳糖代谢中的两个基因被一个靠近它们的遗传因子所调节**，并在文中首次提出了**操纵子(operon)**和**操纵基因(operator)**的概念。
- 他们于1961年提出了**操纵子学说(operon theory)**,并因此而获得1965年Nobel Prize。

# The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1965



Photo from the Nobel Foundation archive.

**François Jacob**

Prize share: 1/3



Photo from the Nobel Foundation archive.

**André Lwoff**

Prize share: 1/3



Photo from the Nobel Foundation archive.

**Jacques Monod**

Prize share: 1/3

For their discoveries concerning genetic control of enzyme and virus synthesis.

# 操纵子概念



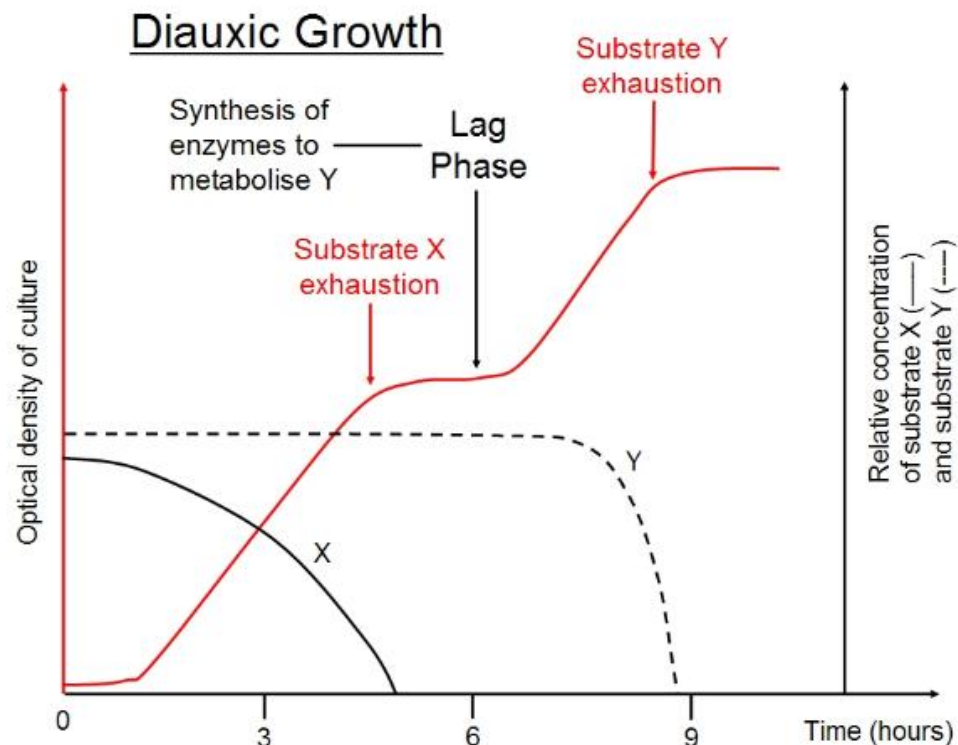
- An operon is a group of structural genes whose expression is coordinated by an operator.
- **操纵子**：在单一操纵基因控制下的一群邻接的结构基因总结构，**是基因表达的协同单位**。如乳糖操纵子、阿拉伯糖操纵子、组氨酸操纵子、色氨酸操纵子等。
- **注意**：**真核生物中通常不存在操纵子结构！**

# 乳糖操纵子



- *E. coli* 细胞代谢过程:

- 首先利用葡萄糖
- 葡萄糖耗尽时才利用乳糖



大肠杆菌二阶段生长

- ✓ *E. coli* 能对环境的变化做出反应, 打开或者关闭某一特定基因



# 乳糖操纵子

- *E. coli* 代谢乳糖过程需要两种酶：

- $\beta$ -半乳糖苷酶（能把乳糖水解成葡萄糖和半乳糖）

- $\beta$ -半乳糖苷透性酶（可运送乳糖分子渗入细胞）

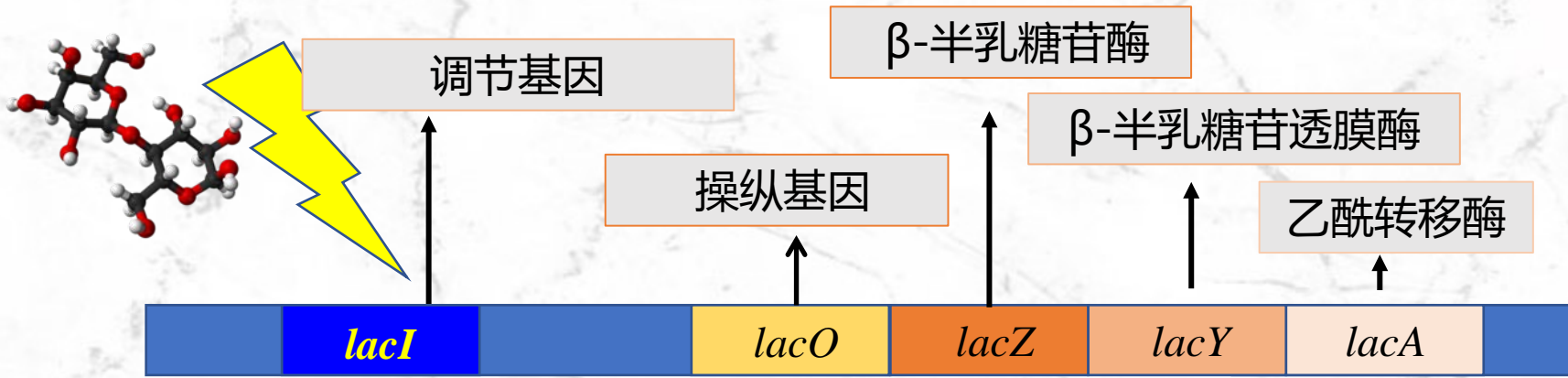
大肠杆菌细胞只是在以乳糖为唯一碳源消耗时才产生这两种酶。在不需利用乳糖时就不合成，以节省能量。



**诱导型基因：**在有诱导物（如乳糖）存在时，被诱导表达的基因。

**组成型基因：**总是能表达且其合成速率不受环境变化或代谢状态影响的基因。

# 乳糖操纵子



乙酰转移酶将乙酰辅酶A上的乙酰基转移到β-半乳糖苷上

- 野生型：乳糖诱导下，lacZ，lacY和lacA的合成量是成正比的
- 突变型：不管诱导物是否存在，三种酶都可以大量表达（组成型突变株）

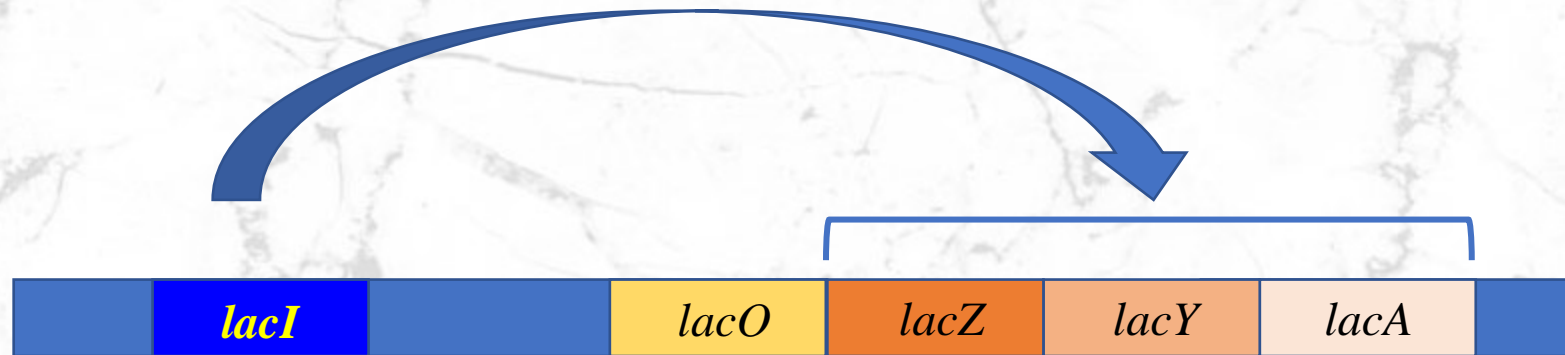
说明了

三种酶（结构基因产物）的合成受一个共同的调节基因*I*控制

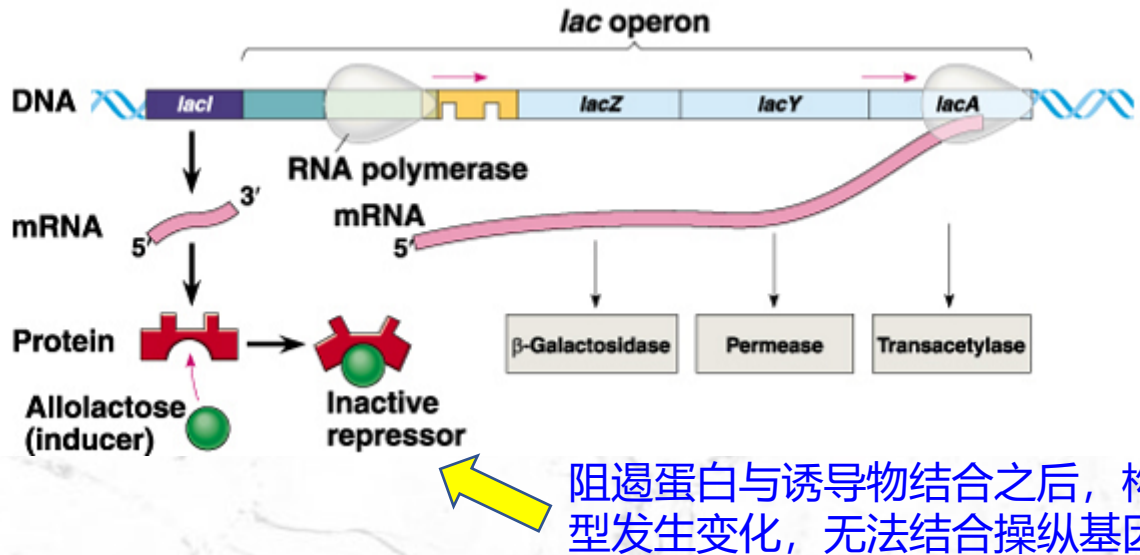
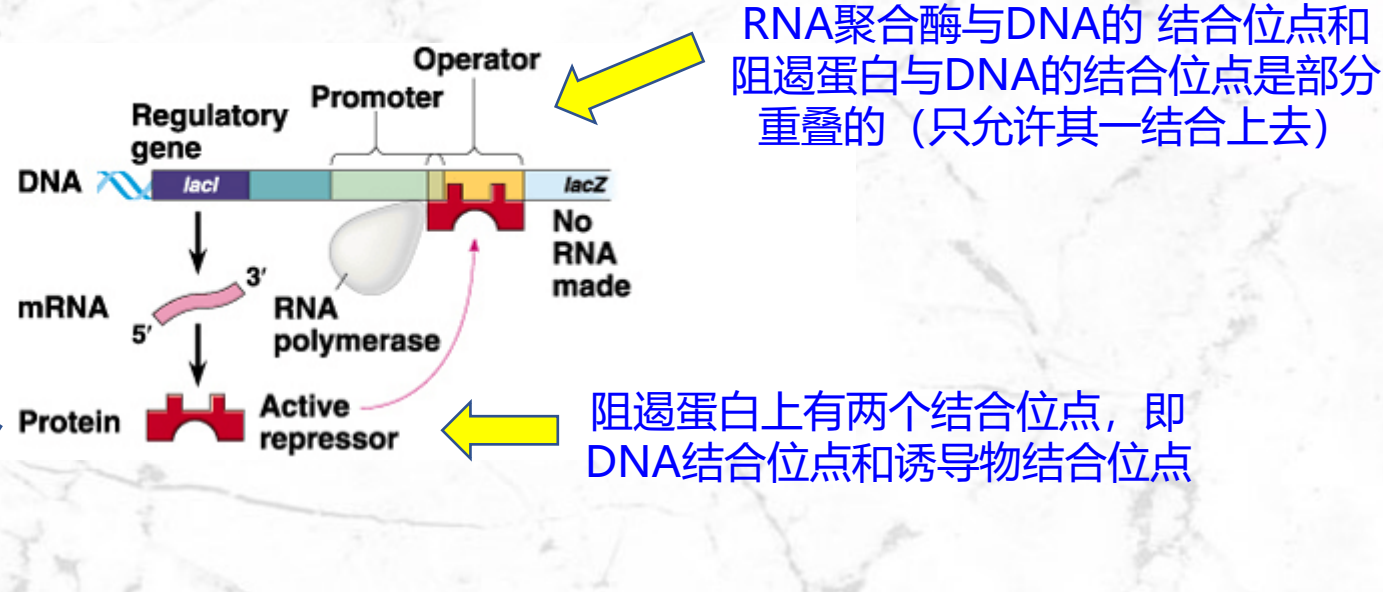
# 乳糖操纵子



调节基因*i*是如何调节这三个结构基因的表达的呢？



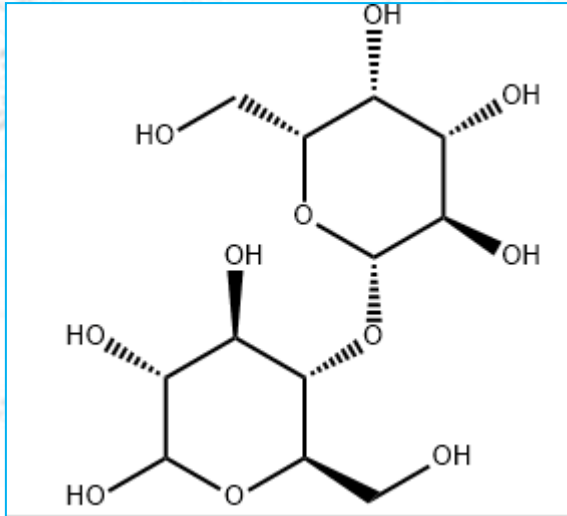
# 无葡萄糖存在时，乳糖操纵子的两种调节机制



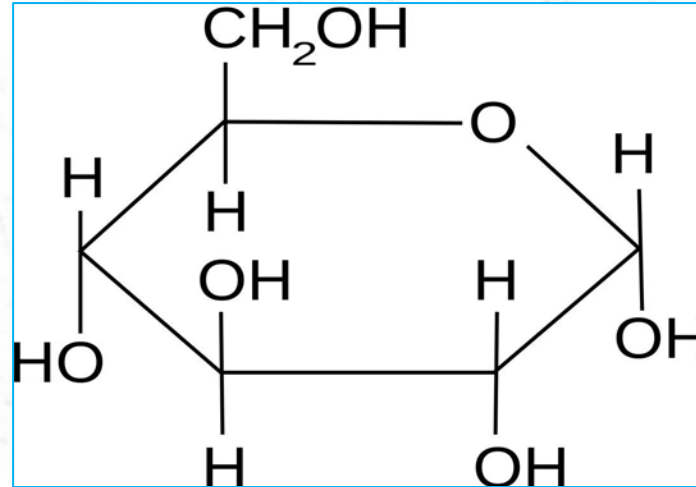
# 分解代谢阻遏系统



**问题：当大肠杆菌生长在含有葡萄糖和乳糖的混合培养基上时，优先利用哪种糖？**



**乳糖：**二糖，由一个葡萄糖和一个半乳糖分子组成。



**葡萄糖：**单糖，经糖酵解途径（EMP）可被细胞直接利用，因此是细胞内优先利用的碳源。

分解代谢阻遏系统是加在乳糖操纵子系统之上的一个控制系统，允许细胞优先利用葡萄糖。

**分解代谢阻遏系统：**当两种同类物质同时存在时，如果一种是快速利用物质，另一种是慢速利用物质，则前者的某种代谢产物阻遏后者酶的生成，使生物利用快速利用物质。这一系统称为分解代谢阻遏系统。

# 分解代谢阻遏系统



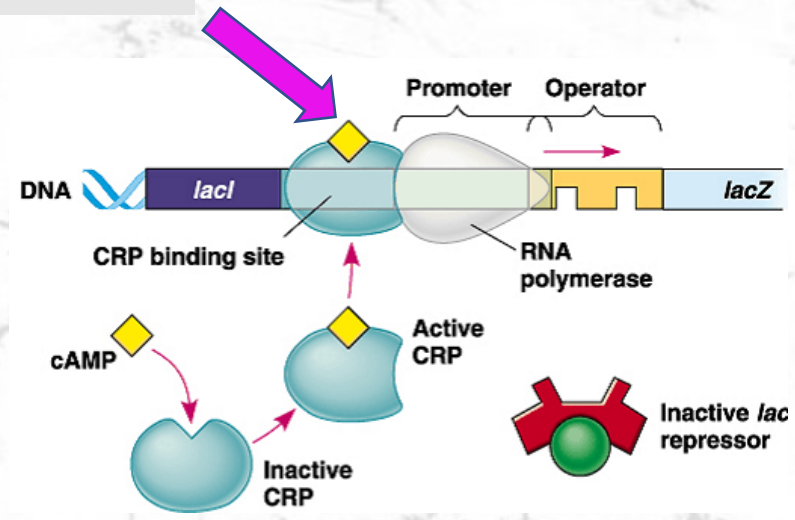
- *E. coli* 中环磷酸腺苷(Cyclic Adenosine monophosphate, **cAMP**)的浓度受葡萄糖调节：
  - 缺乏葡萄糖时，在腺苷环化酶的作用下，由ATP合成cAMP;
  - 葡萄糖存在时，腺苷环化酶失活，cAMP浓度降低。
- 乳糖操纵子上有一个**cAMP受体蛋白(CRP蛋白)结合位点**
- CRP能与cAMP分子结合并被激活，然后**CRP-cAMP复合物结合到乳糖操纵子的CRP位点上，RNA聚合酶才能起始转录。**

# 葡萄糖缺乏或充足时乳糖操纵子的两种调节机制

被激活的CRP结合到在 *lacI* 和启动子之间的CRP结合位点，激活操纵子转录

缺乏葡萄糖

cAMP与CRP结合后，激活CRP



cAMP浓度受葡萄糖的调节:

- 缺乏葡萄糖时，在腺苷环化酶的作用，由ATP合成cAMP;
- 葡萄糖存在时，腺苷环化酶失活，cAMP浓度降低

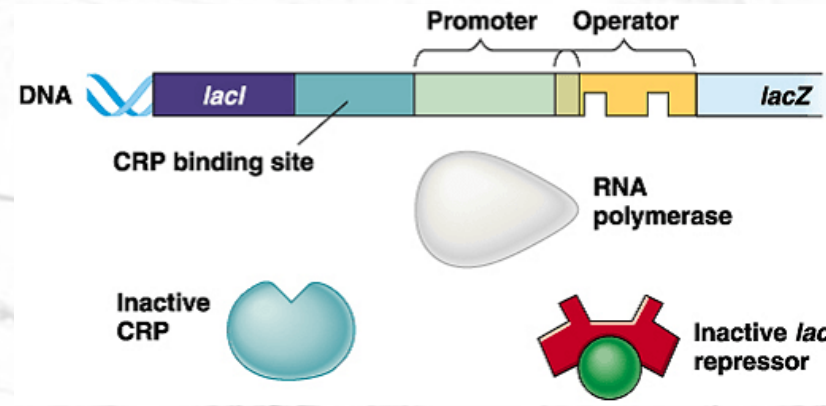
□ 葡萄糖缺乏时，cAMP浓度增高，形成cAMP-CRP复合物，激活操纵子转录



# 葡萄糖缺乏或充足时乳糖操纵子的两种调节机制

葡萄糖充足

cAMP浓度低,  
CRP失活



□ 葡萄糖充足时，cAMP浓度降低，无法形成cAMP-CRP复合物，即使存在诱导物，也不能激活操纵子转录



# 例题解析

将大肠杆菌培养在以甘油为唯一碳源的培养基中，lac操纵子表达吗？加入乳糖之后呢？除了乳糖，再加入葡萄糖呢？为什么？

## 参考答案：

(1) 将大肠杆菌培养在以甘油为唯一碳源的培养基中，lac操纵子是不表达的。因为细胞内没有乳糖作为诱导物，调节基因lacI产生的阻遏蛋白与操纵子结合，阻止了相关基因的转录。

(2) 当加入乳糖后，由于细胞内缺少葡萄糖，腺苷酸环化酶将ATP转化成cAMP，cAMP与其受体蛋白CRP结合成复合物，这个复合物再与启动子上的CRP位点结合，这样启动子上的进入位点方能与RNA聚合酶结合。此时，乳糖与阻遏蛋白结合，变成无活性的阻遏蛋白复合物，从操纵子上解离下来。RNA聚合酶与操纵子结合，开始转录，合成分解乳糖的相关酶。

(3) 当除了乳糖再加入葡萄糖时，cAMP不能形成，CRP也就不能与启动子上的CRP位点相结合，启动子上的RNA聚合酶位点就不能结合RNA聚合酶，与乳糖分解利用相关的酶就不能转录。



# 乳糖操纵子的调节机制小结

- 乳糖操纵子的调节作用：
  - **无诱导物（乳糖）时**：转录作用被调节基因产生的**阻遏蛋白**阻断。
  - **加入诱导物后**：诱导物与阻遏蛋白形成复合物使其失活无法结合操纵基因，基因开放，**转录出多顺反子mRNA**，翻译出三种相关的酶。
  - **cAMP-CRP复合物的调节作用**：**与CRP结合位点结合后激活/促进基因转录的起始。**
- 半乳糖、麦芽糖、阿拉伯糖、山梨醇等的降解均由可诱导的操纵子控制，并都受cAMP-CRP的调节。



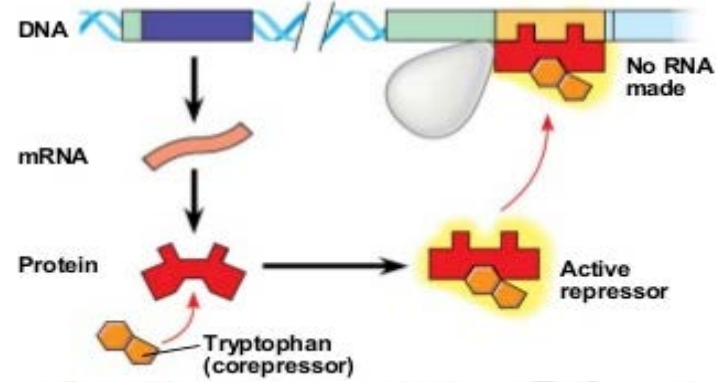
# 色氨酸操纵子

(1) 与乳糖操纵子不同，色氨酸操纵子参与生物合成而不是生物降解，因此它不受葡萄糖或cAMP-CRP的调控。

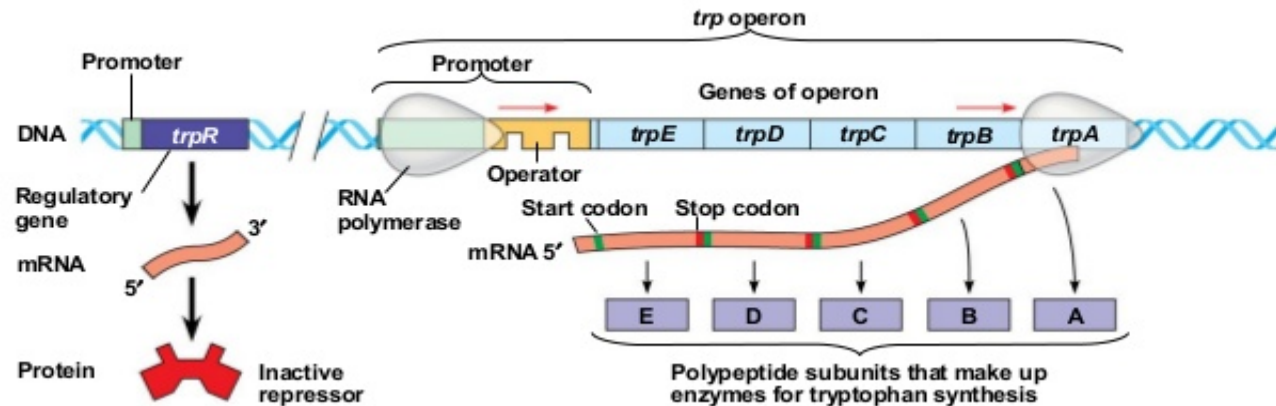
(2) 色氨酸操纵子中有一个叫做弱化作用 (attenuation) 的次级基因表达调控机制，它是细菌辅助阻碍作用的一种精细调控，弱化机制的参与使基因表达调控达到更高一级的水平。

# 色氨酸操纵子第一水平上的调控

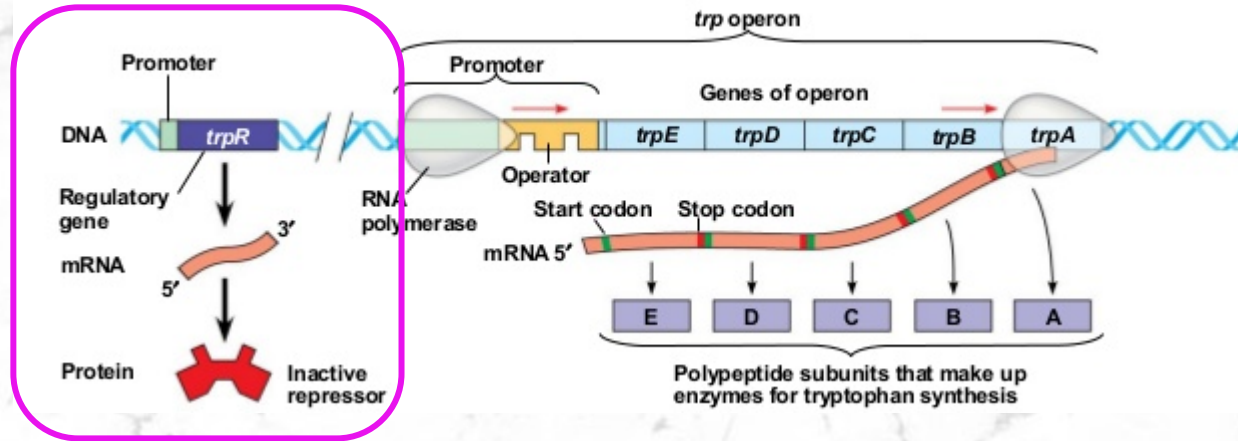
- 调节基因产生阻遏蛋白
- 色氨酸水平高，与阻遏蛋白形成复合物
- 阻遏蛋白被活化
- 活化后与trp操纵基因结合
- 基因不转录



- 色氨酸水平低
- 不与阻遏蛋白形成复合物
- 阻遏蛋白没有活性
- 基因转录



# 色氨酸操纵子第二水平上的调控



- 当 *trpR* 基因突变时，不产生阻遏蛋白，理论上基因的转录情况如何？
- 是否不管有没有色氨酸存在，基因都100%转录呢？

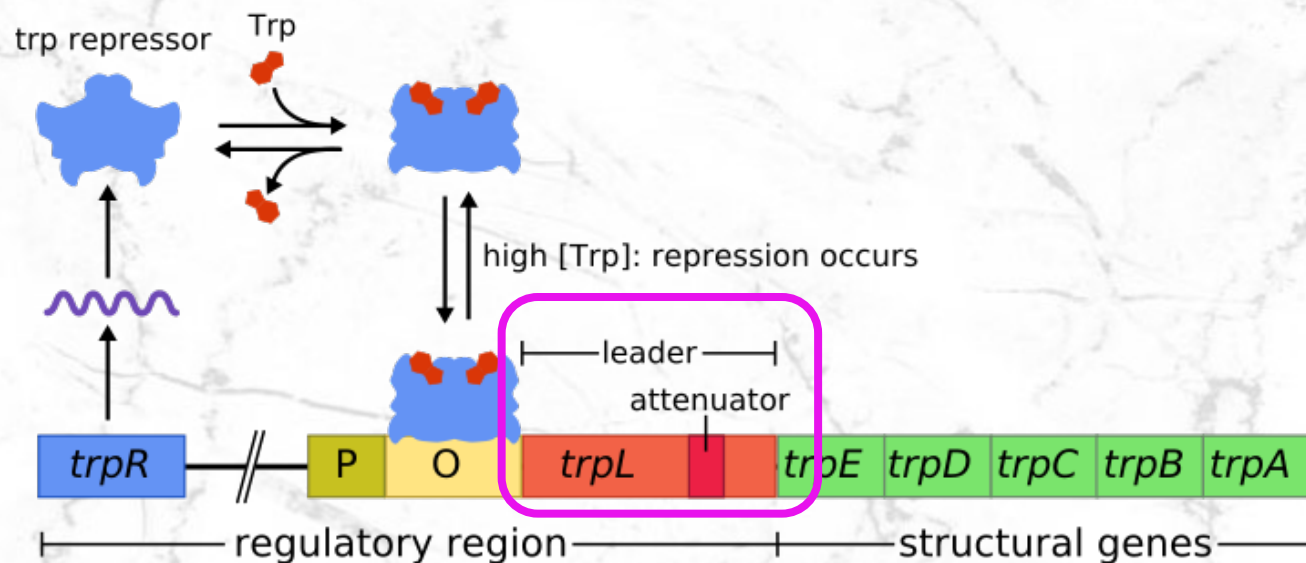
<i>trpR</i> 基因型	添加色氨酸时 (%)	无色氨酸时 (%)
<i>trpR</i> <sup>+</sup>	8	100
<i>trpR</i> <sup>-</sup>	33	100

□ 色氨酸操纵子存在一个**弱化作用**，即色氨酸操纵子在第二水平上的调控

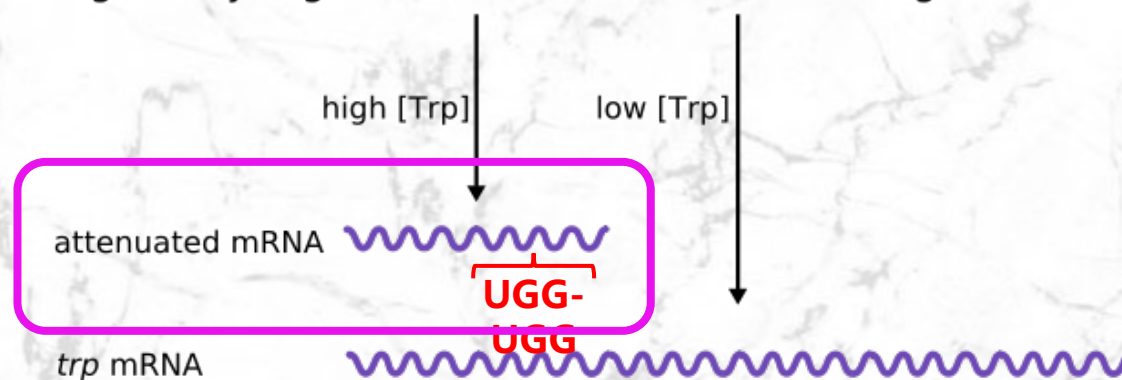


# 色氨酸操纵子的弱化子

第一水平上的调控



第二水平上的调控



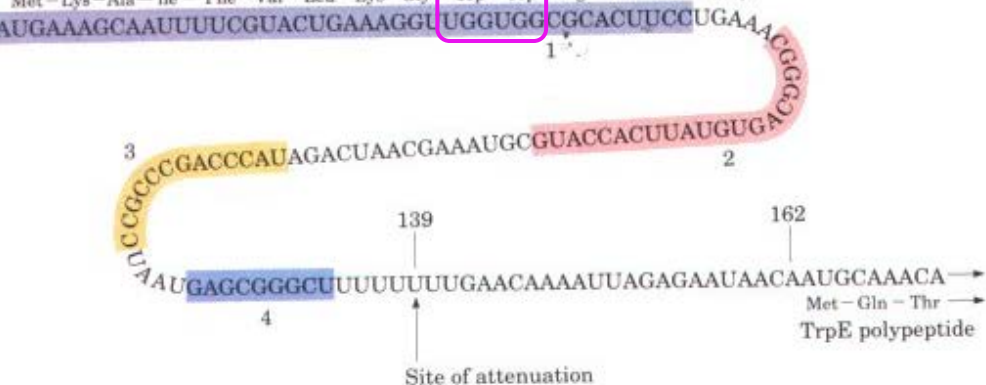


# 色氨酸操纵子的弱化子

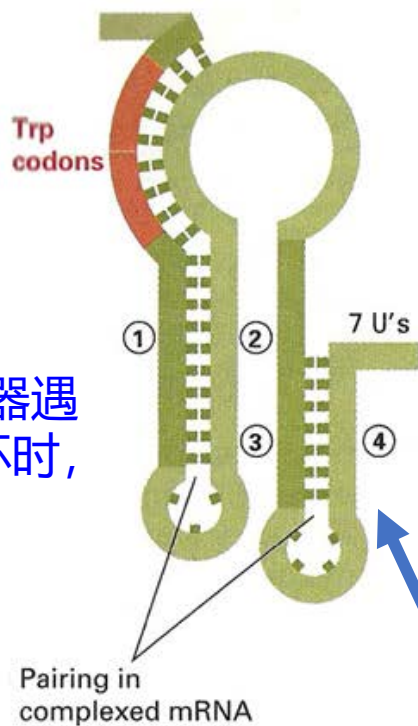
mRNA pppAAGUUCACGUA

MAAAGGUGUUCGACA

Leader peptide  
Met-Lys-Ala-Ile-Phe-Val-Leu-Lys-Gly-Trp-Trp-Arg-Thr-Ser-(stop)



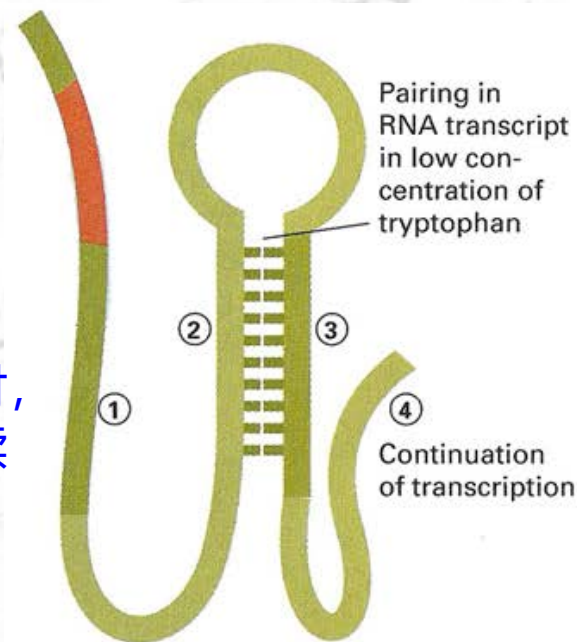
TrpL polypeptide



当转录机器遇到3-4茎环时，转录终止

形成转录终止子结构

当2-3茎环形成时，转录继续



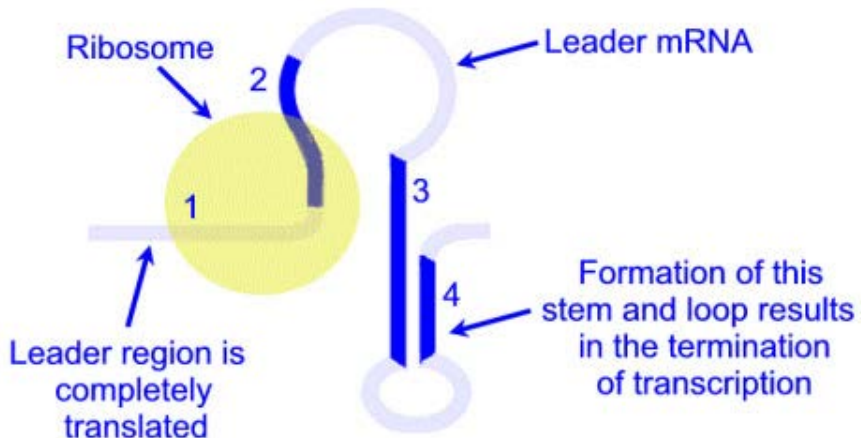


# 弱化子的作用机制

背景：原核一边转录一边翻译

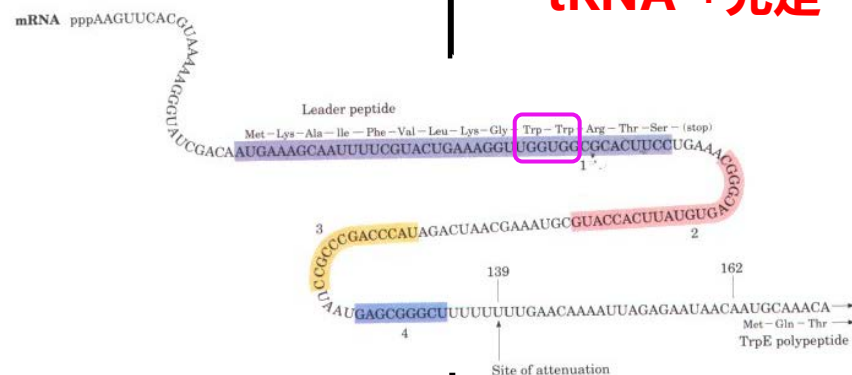
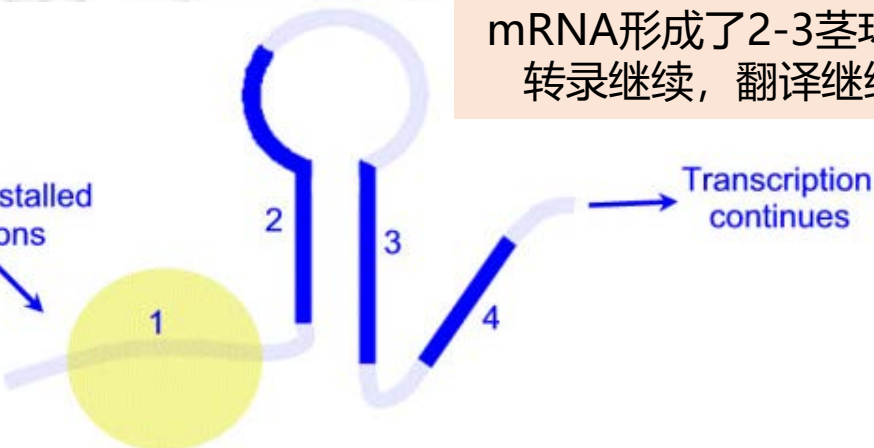
核糖体迅速通过了2xTrp密码子并迅速往前翻译，则无法形成2-3茎环，mRNA形成3-4茎环导致转录终止

高色氨酸水平  
tRNA<sup>Trp</sup>充足



核糖体缓慢通过2xTrp密码子，则新转录产生的mRNA形成了2-3茎环，转录继续，翻译继续

低色氨酸水平  
tRNA<sup>Trp</sup>缺乏



# 色氨酸操纵子小结



- 前导区的功能域与 *trpR* 基因的作用方式不一样;
- 弱化子对RNA聚合酶的影响依赖于前导肽翻译中核糖体所处的位置, 实质是通过前导肽基因的翻译来调节的;
- 弱化作用是原核生物中独特的基因表达调控方式。细菌通过弱化作用辅助了阻遏作用的不足。因为阻遏作用只是一个一级开关, 只能使转录不起始。对于已经起始的转录, 只能通过弱化作用使它中途停顿下来;
- 阻遏作用的信号是细胞内色氨酸, 弱化作用的信号是细胞内载有色氨酸的 tRNA;
- 采用类似弱化作用的还有组氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸、亮氨酸操纵子等。

# 原核生物的其他基因表达调控方式



- 转录水平上的基因表达调控是主要的方式
  - 操纵子的方式
  - $\sigma$ 因子的调控
  - 转录因子的调控
  - 蛋白因子（组蛋白类似蛋白）的调控
  - 抗终止因子调控

# 原核生物的其他基因表达调控方式



## • 转录后调控也发挥重要作用

- 不同的起始密码子
- mRNA的结构
- mRNA的稳定性
- 调节蛋白的调控作用
- 反义RNA的表达
- 稀有密码子
- 翻译阻遏
- 表观遗传调控



# 三、真核基因表达调控的方式

## • 基因表达调控的复杂性

- 基因组大，结构复杂
- 基因的转录和翻译在细胞的不同区域
- 真核生物由功能差别很大的不同组织器官构成

## • 基因表达的特点

- 细胞的全能性
- 基因表达的时空性





# 三、真核基因表达调控的方式

- 1、染色质结构与基因表达调控
- 2、DNA结构对基因表达的影响
- 3、基因数目及其重排方式调控基因表达
- 4、调控序列和调控蛋白调控
- 5、非编码RNA调控
- 6、选择性剪接
- 7、RNA编辑
- 8、mRNA稳定性与基因表达调控
- 9、蛋白质修饰在基因表达调控中的作用

# 1、染色质结构与基因表达调控



- ◆ 染色质结构状态
- ◆ 染色质上的组蛋白
- ◆ 染色质上的非组蛋白
- ◆ 染色质的螺旋化程度
- ◆ 染色质重塑

# 染色质结构状态



真核生物中，DNA的染色质结构在有潜在转录活性的状态（**常染色质，euchromatin**）和转录抑制的凝聚状态（**异染色质，heterochromatin**）之间转换。

常染色质：指细胞间期核内染色质纤维折叠压缩程度低，**处于伸展状态**，用碱性染料**染色时着色浅**的那些染色质。

**常染色质并非所有基因都具有转录活性**，处于常染色质状态**只是基因转录的必要条件**，而不是充分条件。

异染色质：指在细胞周期中，间期、早期或中、晚期，**某些染色体或染色体的某些部分的固缩常较其他的染色质早些或晚些**，其染色较深或较浅，具有这种固缩特性的染色体称为异染色质。

异染色质具有强嗜碱性，与常染色质相比**是转录不活跃部分**，为非活性转录区，**真核生物可以通过异染色质化而关闭基因的表达**。

# 染色质上的组蛋白

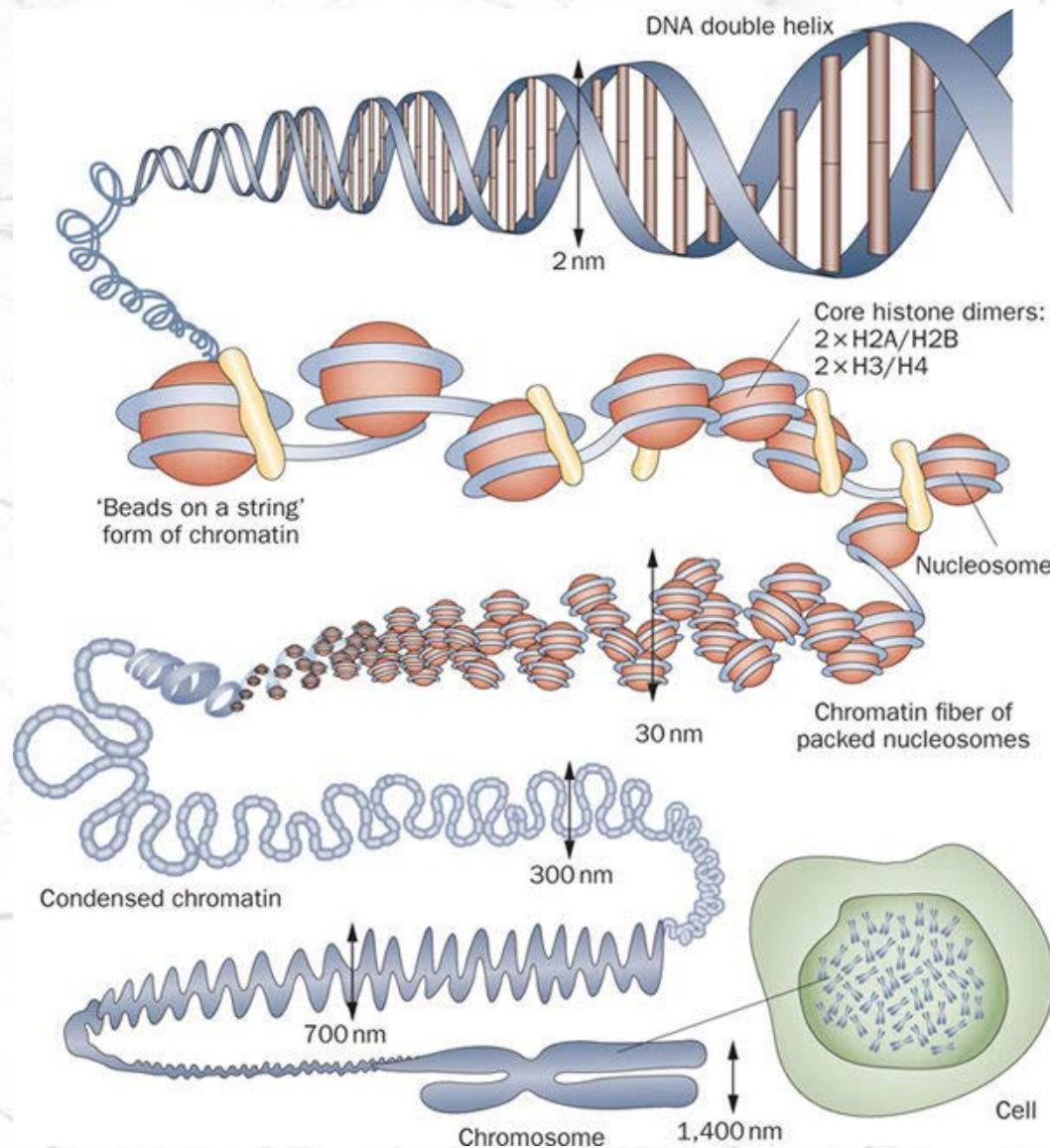


- 组蛋白在基因表达调控中起重要作用

- 组蛋白与DNA紧密结合，抑制了基因的转录功能。

- 组蛋白能与DNA紧密结合的原因？

- 如何使组蛋白与DNA的结合变得松散？



组蛋白N端碱性氨基酸区域与DNA磷酸基团的**静电作用**，使组蛋白与DNA紧密结合。

组蛋白修饰，比如乙酰化，可以中和赖氨酸的正电性，从而削弱了组蛋白与DNA的结合能力。

# 染色质上的非组蛋白



- 染色质上的非组蛋白

- 酶，比如DNA合成和修复过程中的酶；

- 核酸和蛋白修饰过程中的酶

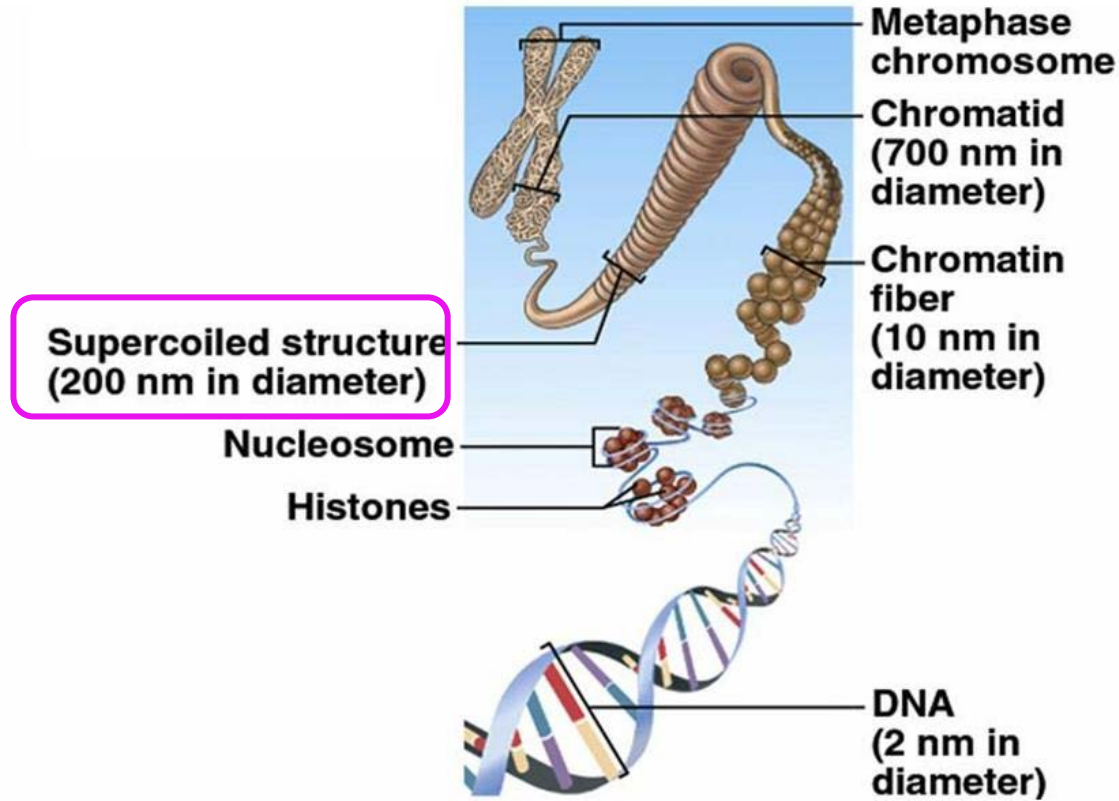
- 在染色质中起结构作用的蛋白

- 其他功能未知的蛋白

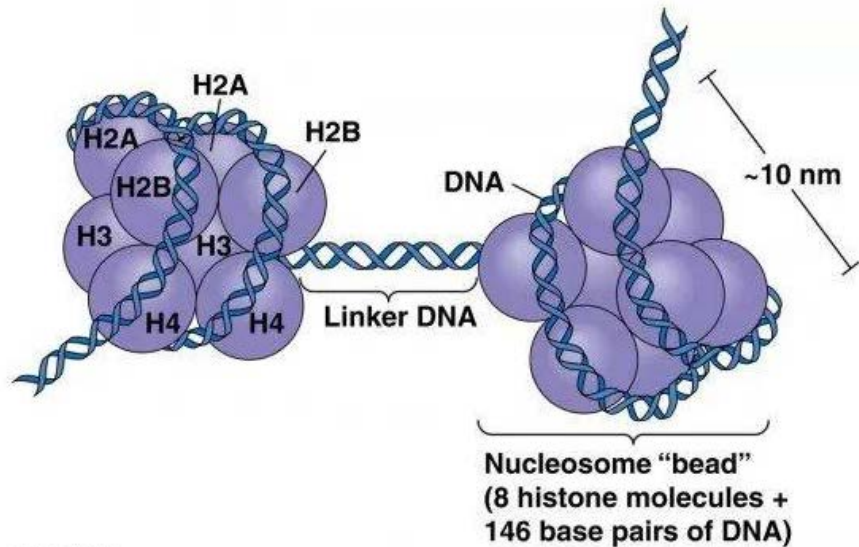
# 染色质的螺旋化程度



- 染色质紧密的超螺旋结构限制了**转录因子**对DNA的接近与结合，从而抑制基因的转录



# 核小体 (nucleosome)

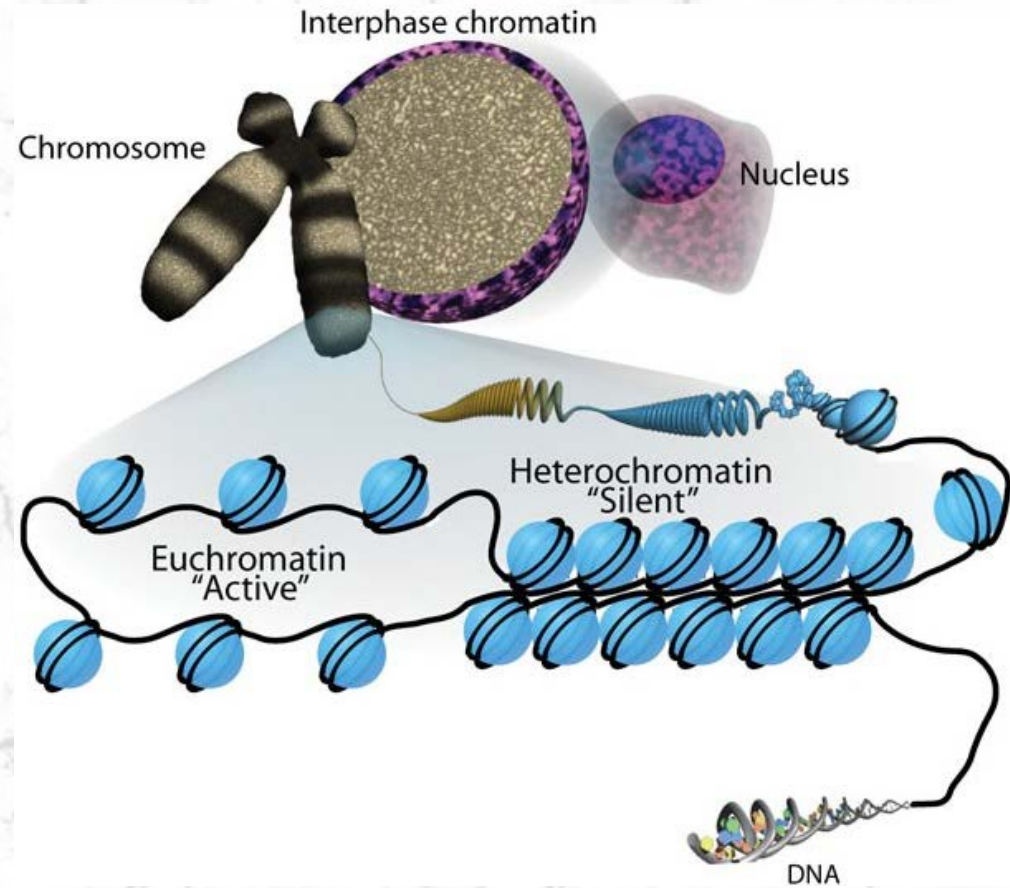


核小体是由DNA和组蛋白形成的染色质基本结构单位。每个核小体由146bp的DNA缠绕组蛋白八聚体1.75圈形成。核小体核心颗粒之间通过50bp左右的连接DNA相连。染色质就是由一连串的核小体所组成。

# 染色质重塑



- 基因的活化和转录需要染色质发生一系列变化，如染色质去凝集、核小体变成开放式的疏松结构，使转录因子更易于接近到核小体DNA。这种染色质结构的变化叫染色质重塑(chromatin remodeling)。
- 真核生物中，起关键调节作用的转录因子表达模式的建立和维持需要染色质重塑。



# 染色质结构的基因表达调控方式小节



## 染色质结构

- ◆ 染色质结构状态
- ◆ 染色质上的组蛋白
- ◆ 染色质上的非组蛋白
- ◆ 染色质的螺旋化程度
- ◆ 染色质重塑



## 2、DNA结构对基因表达的影响

- DNA分子携带了编码信息和构象信息。
- DNA结构与功能密切相关，基因的表达与否与DNA的一级结构有关，也与DNA的高级结构有关。

DNA分子的核苷酸排列顺序是一级结构；

DNA分子的两条链绕轴卷曲成双螺旋（二级结构）；

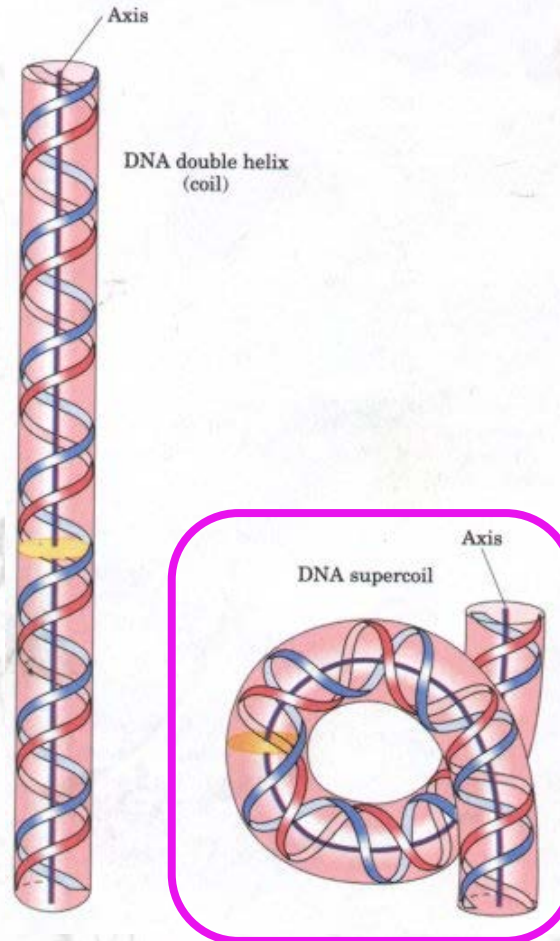
双螺旋再卷曲成超螺旋（三级结构）；

超螺旋还可以卷曲成更高级的结构。

# DNA的超螺旋度

- DNA超螺旋度适合与否决定基因能否表达

- DNA分子的两条链绕轴卷曲成双螺旋，双螺旋再卷曲成超螺旋
- 需表达的基因，其超螺旋度恰好符合该段DNA解链的要求



癌细胞可以无休止地增殖，而衰老的细胞生长缓慢或根本不能增殖，可能与癌细胞DNA比正常细胞DNA有更高的超螺旋度有关。正常人体细胞DNA的超螺旋度会随细胞年龄增加而下降。

能否通过提高老年人细胞DNA的超螺旋度而延长其寿命？



### 3、基因数目及其重排方式调控基因表达

- 在个体发育的某一阶段或细胞分化过程中**急需某种蛋白质**时，或为了对抗某些环境因素时，细胞会以**基因扩增**的方式来调节基因的表达。它是细胞在短期内为满足某种需要而产生足够基因产物的一种调控手段。
  - 非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)的卵母细胞在减数分裂I的粗线期时，rDNA的基因拷贝数由平时的500拷贝扩增为 $2 \times 10^6$ 拷贝。
- **基因丢失**也是DNA水平基因表达调控的形式。
  - 小麦瘦蚊(*Phytophaga destructor*)在卵裂时，卵一端的细胞保持完整基因组全部40条染色体，而另一端则只保留8条染色体。

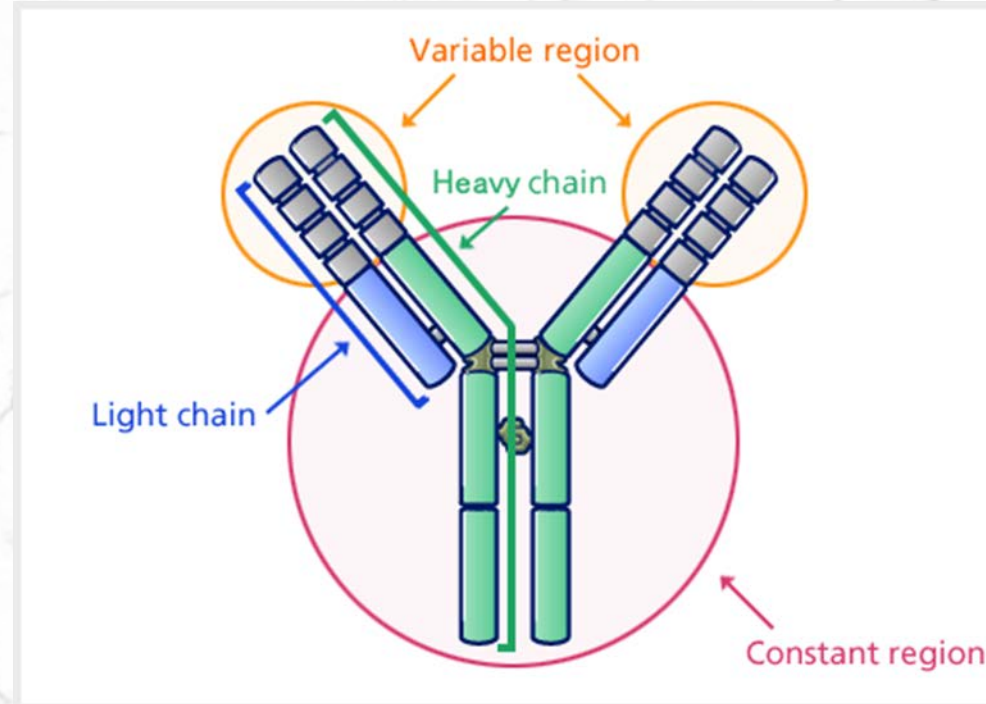
# 抗体重排



- 染色体上基因的重排是DNA水平基因表达调控的另一种形式，也叫做**体细胞重排(somatic recombination)**，是**抗体多样性发生机制**之一。

- 免疫球蛋白有关基因：

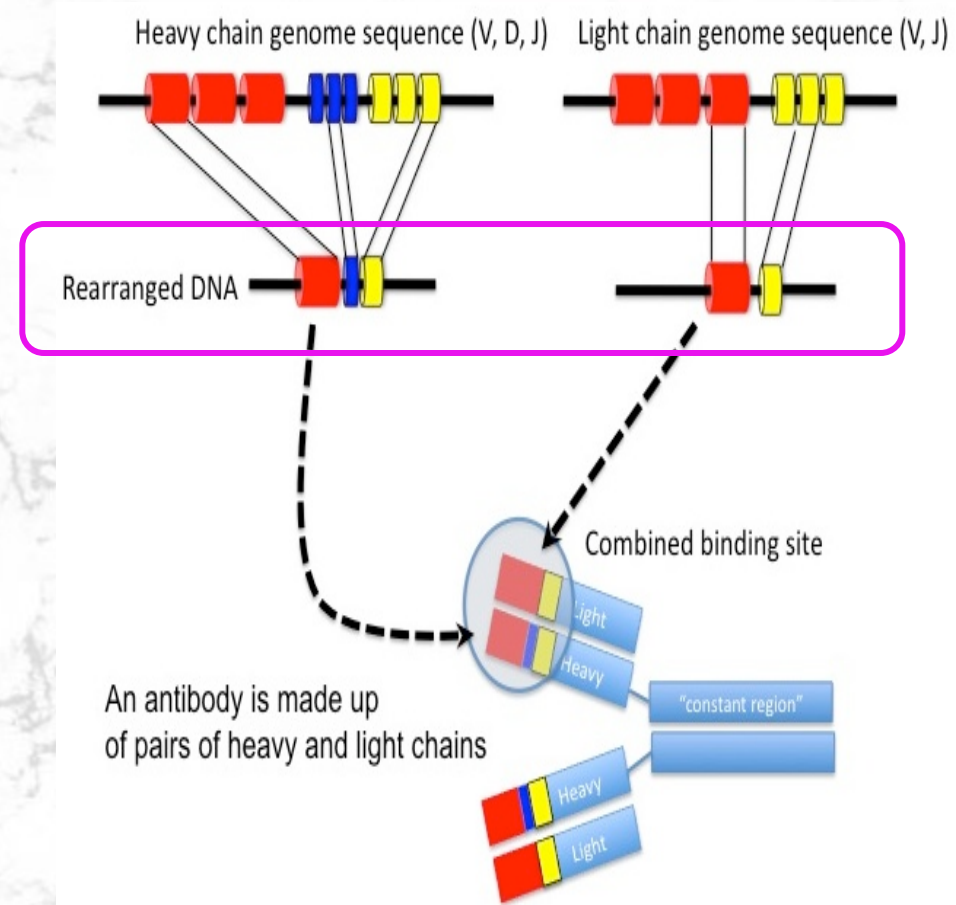
- 编码恒定区
- 编码可变区
- 编码连接物



# 抗体重排



- **淋巴细胞**发育过程中，其胚系细胞（淋巴细胞前体细胞）中的DNA序列会发生剪接，形成重排的基因（体细胞重排），其**基因重排所形成的多样性是抗体多样性发生的主要机制**。
- 胚系基因中，比如重链基因片段上，V区，D区，J区和C区中各有众多片段，通过体细胞重排，将VDJC的各一片段连在一起

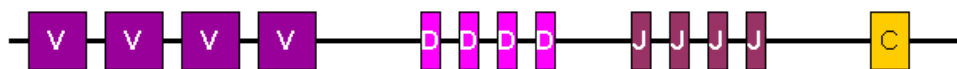


V: Variable  
D: Diversity  
J: Joining  
C: Constant

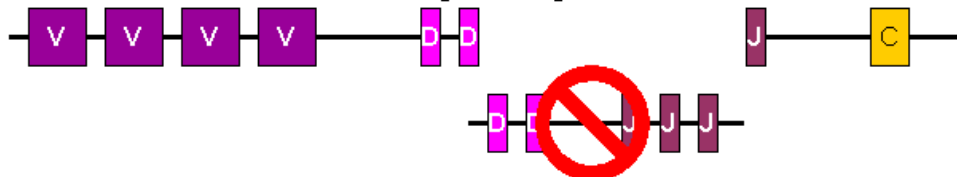
# 抗体重排



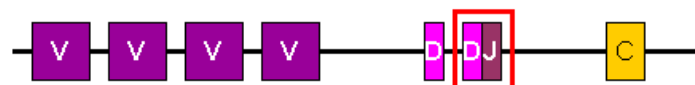
Genes in heavy chain locus



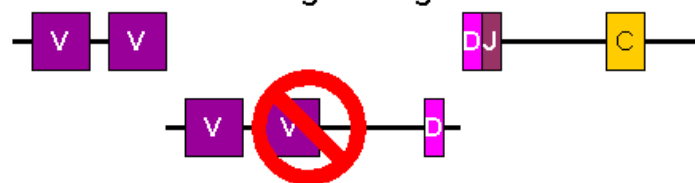
Removal of unwanted D and J gene segment



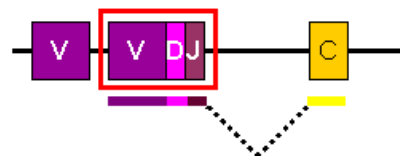
Recombination of D and J exons – DJ recombination



Removal of unwanted V and D gene segment



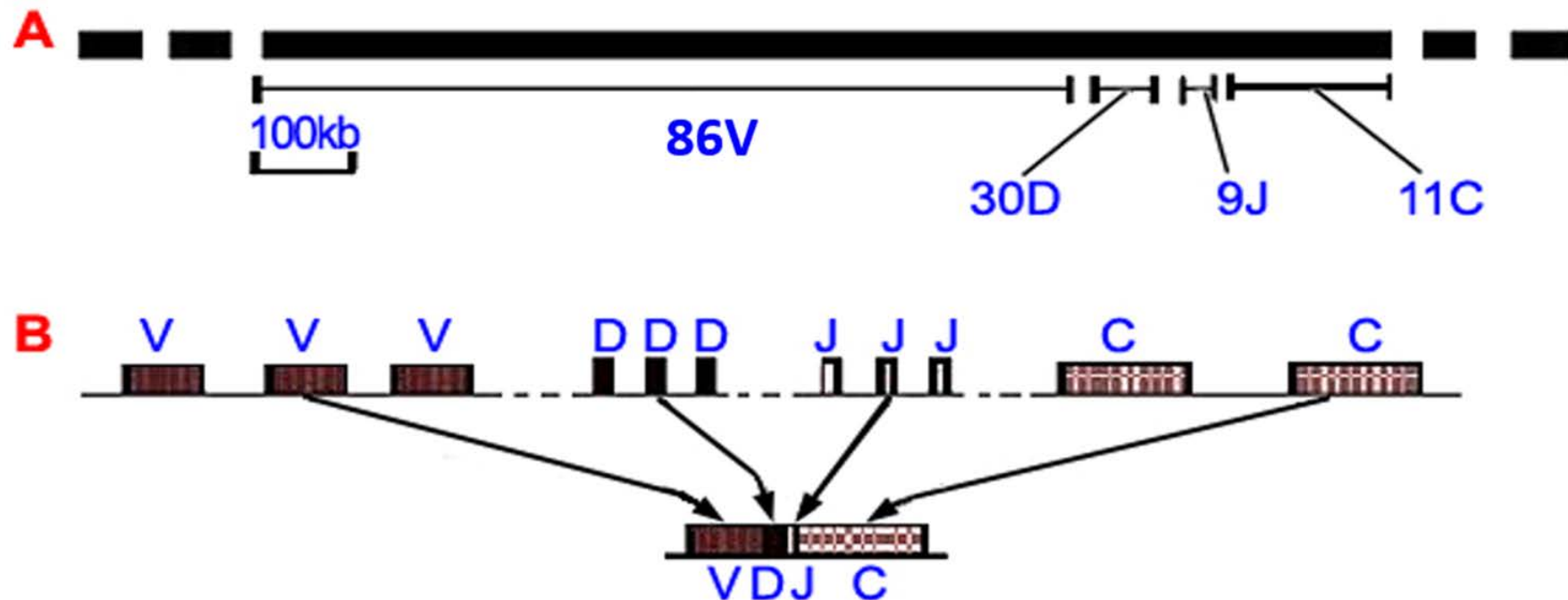
Recombination of V and DJ exons – VDJ recombination



Antibody transcript will also include constant domain gene

抗体的重链重排，  
产生不同的抗体分子，  
以对抗自然界不同的抗原。

# 抗体重排的另外一个例子



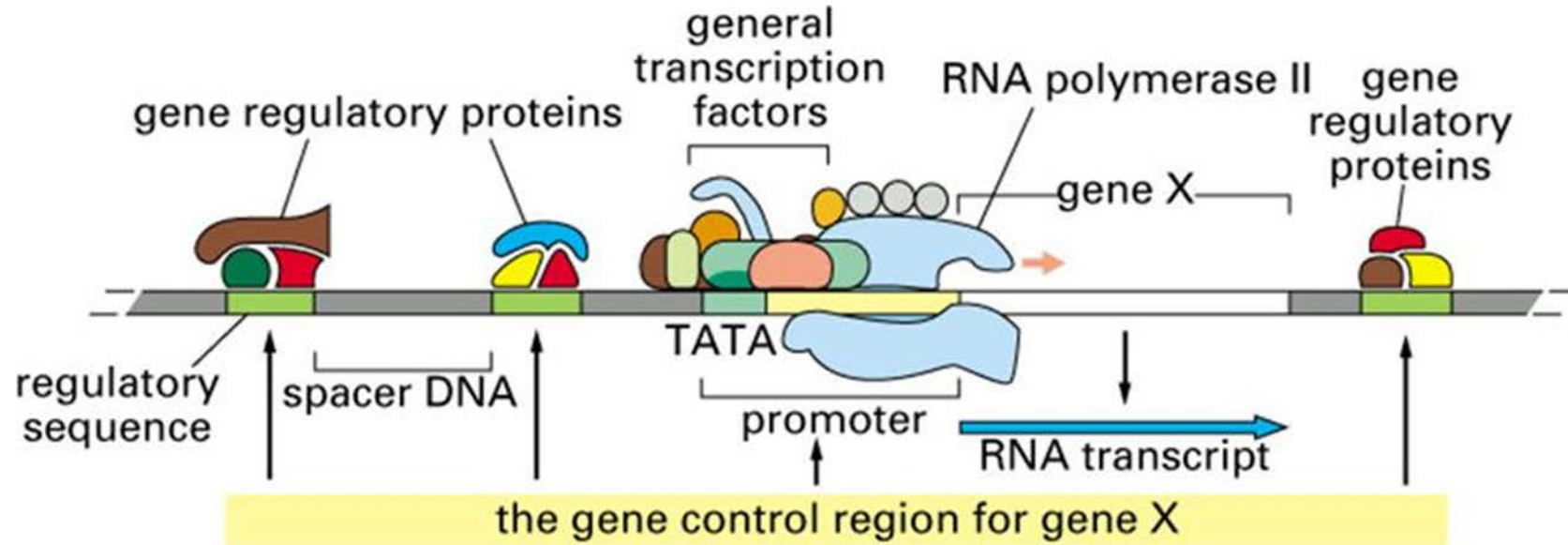
人类第 14 号染色体上抗体重链基因片段 (A)  
和抗体重链基因的构建 (B)

- A**、该染色体上具有 86 个变异区 (V) 片段，30 个多样区 (D) 片段，9 个连接区 (J) 片段和 11 个恒定区 (C) 片段。
- B**、重排后形成完整抗体重链基因。

# 4、调控序列和调控蛋白的调控



转录调控是真核生物基因调控的最重要途径



**基因调控区的顺式作用元件及其反式作用因子示意图**  
(顺式作用原件为反式作用因子提供了作用位点)

# 4、调控序列和调控蛋白的调控



参与转录调控的反式作用因子通常可分为：

□通过DNA-蛋白质相互作用而调节转录活性

- 识别启动子
- 识别增强子或沉默子

□通过蛋白质-蛋白质相互作用而调节转录活性



# 4、调控序列和调控蛋白的调控

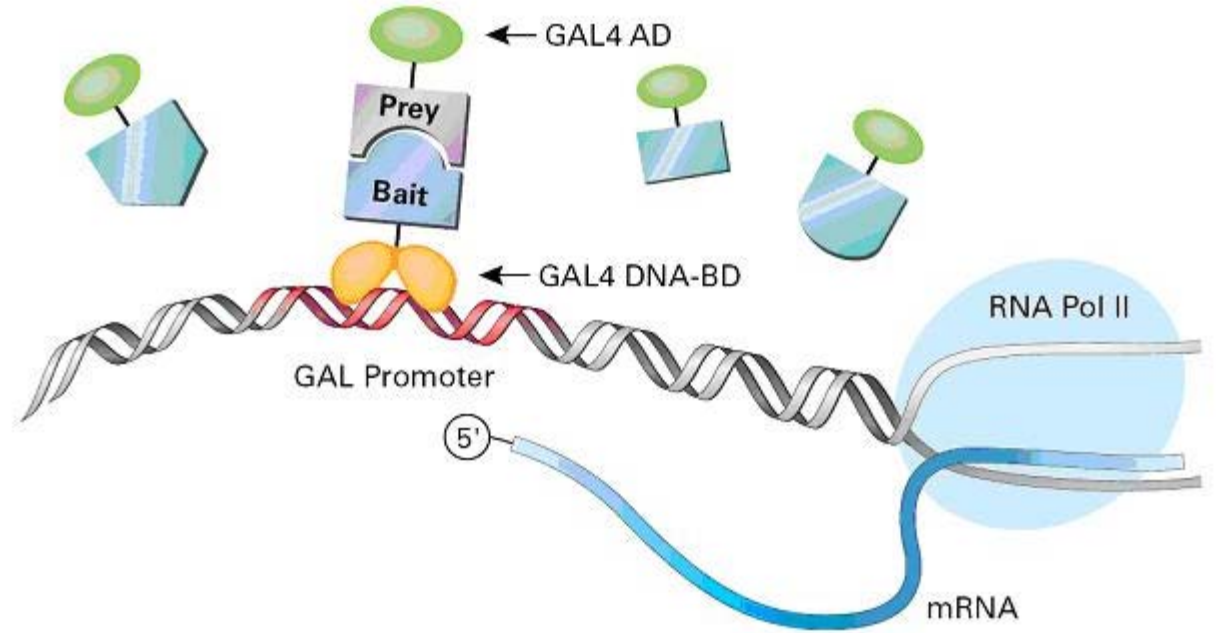
- **基因活化蛋白(gene activator protein)**: 起正调控作用的调控蛋白, 通常具有两个功能域, **DNA结合域**(DNA-binding domain, **BD**)和**转录激活结构域**(transcription-activating domain, **AD**)。
- **基因抑制蛋白(gene repressor protein)**: 基因转录抑制蛋白, 其作用机制如下:
  - 1) 与活化蛋白竞争结合位点;
  - 2) 掩盖活化蛋白的活化表面;
  - 3) 直接与转录因子作用而起抑制作用。



# 酵母双杂交系统的原理 (yeast two-hybrid system, Y2H)

酵母双杂交系统是1989年fields等根据**顺式作用元件能与反式作用因子发生相互作用的原理和反式作用因子的结构性质**所创造的一种系统，用于**研究蛋白质之间的相互作用**。

原理：先将编码“**诱饵**”蛋白X的基因克隆到**DNA-BD载体**中，表达BD-X融合蛋白；然后将文库DNA（编码待测蛋白Y）克隆至**AD载体**中，表达出AD-Y融合蛋白；再将两种载体**共转化酵母系统**，如果X与Y蛋白之间存在相互作用，则由于X和Y的结合使**BD和AD被牵引接近，从而激活启动子**，表达报告基因，由此可筛选出存在相互作用的蛋白。



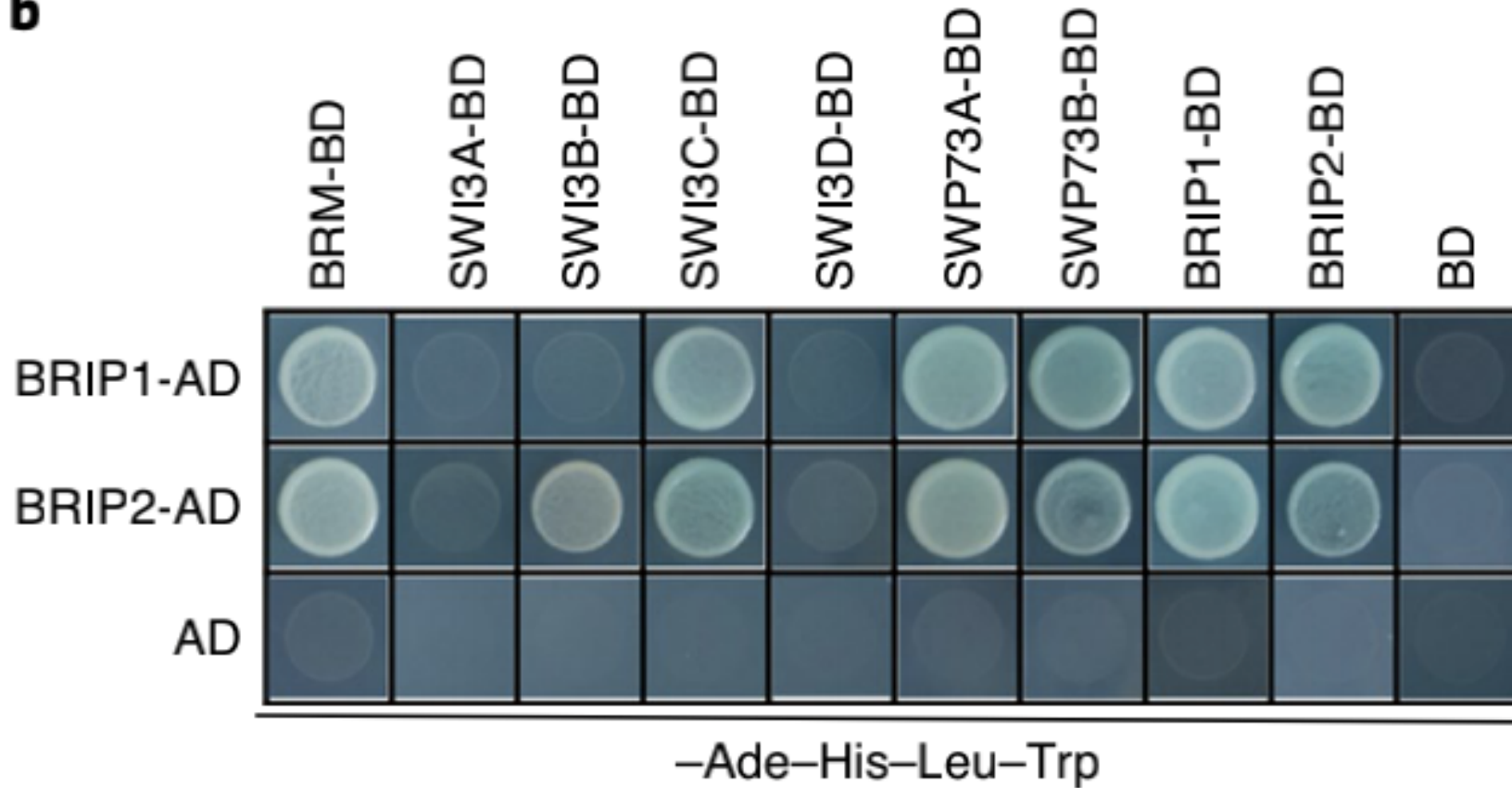
酵母双杂交系统原理示意图

AD（转录激活结构域）：激活转录；  
BD（DNA结合功能域）：与启动子DNA直接相互作用



# 利用酵母双杂交系统研究蛋白质相互作用的一个例子

**b**





# 5、非编码RNA调控

- RNA可根据其是否含有编码蛋白质信息而分为mRNA和非编码RNA (noncoding RNA, ncRNA)。真核细胞中97%的转录物为ncRNA，可由自己的基因（RNA基因）编码，可由内含子产生。
- ncRNA大致可分为“看家RNA”和“调控RNA”：
  - 看家RNA：一般为组成型表达，是细胞生存及基本功能所必需，主要有rRNA、tRNA、snRNA、snoRNA和端粒RNA等。
  - 调控RNA：一般在组织发育或细胞分化的特定阶段表达或对环境的应激表达。



# 5、非编码RNA调控

- ncRNA对基因表达的调控包括：
  - mRNA的稳定
  - 翻译水平的调节
  - 蛋白质运输
  - RNA加工和修饰
  - 影响染色体结构



# 5、非编码RNA调控

---

- microRNA (miRNA)
- Small interfering RNA (siRNA)
- PIWI-interacting RNA (piRNA)
- Antisense RNA
- Circular RNA (circRNA)



# MicroRNA (miRNA) 与Small interfering RNA(siRNA)

- microRNA (miRNA)和small interfering RNA (siRNA) 均可通过RNA interference (RNAi) 机制抑制mRNA的转录或诱导降解来调控基因表达。
- miRNA是细胞内源性的，而siRNA是外源性的。

# RNA interference(RNAi)

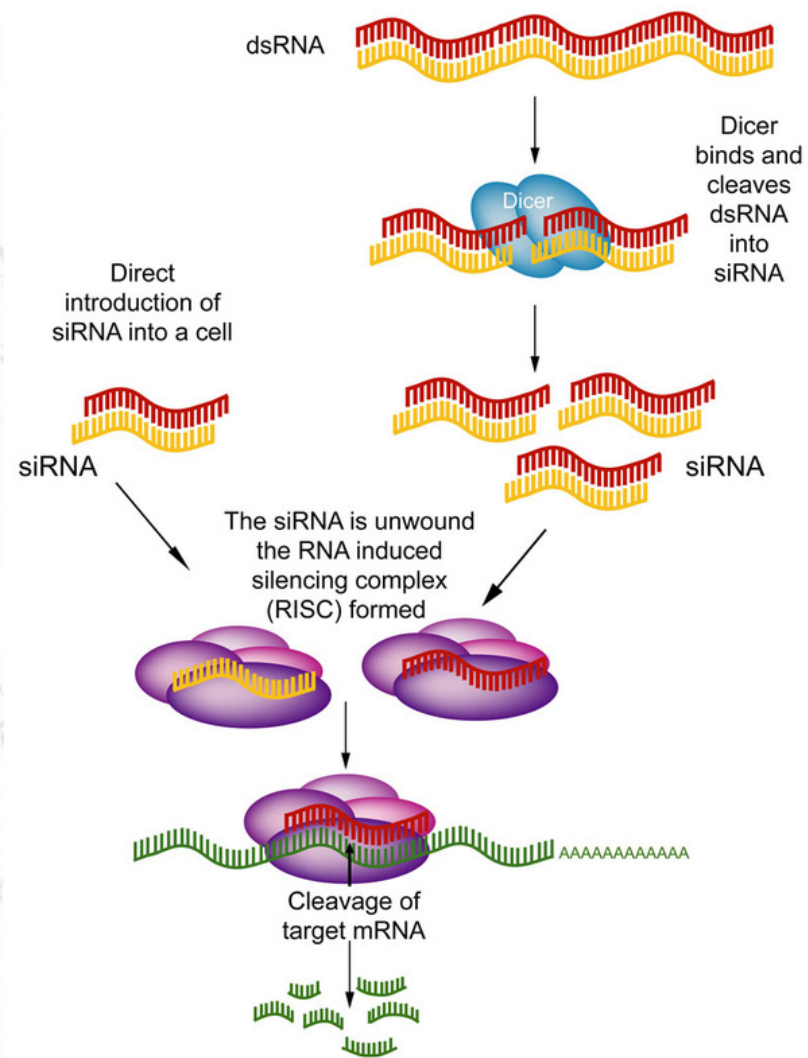


- **RNA干扰**(RNA interference, RNAi):是指在进化过程中高度保守的、由双链RNA (double-stranded RNA, dsRNA) 诱发的、同源mRNA高效特异性降解的现象。它是生物进化过程中遗留下来的一种在转录后通过RNA调控基因表达的机制。
- 其发现者AZ Fire和CC Mello由于在RNA干扰和基因沉默领域所做的贡献，于**2006年被授予诺贝尔奖**。

# RNAi原理示意图



外源导入的双链RNA被一个称为Dicer的酶（RNase III家族中特异识别双链RNA的一个成员）逐步切割成21-23 nt的小分子干扰RNA片段（siRNAs）。siRNA双链结合多种核酸酶从而形成所谓的RNA诱导沉默复合物（RNA-induced silencing complex, RISC）。激活的RISC通过碱基配对定位到同源mRNA转录物上，并在距离siRNA 3'端12个碱基的位置切割mRNA，从而完成RNA干扰的过程。





# 5、非编码RNA调控

- miRNA的调控：

- 一个miRNA可以有多个靶基因，多个miRNA可以有共同的靶基因
- 可作用于编码区或非编码区
- 有约30%的人类基因受miRNA的调控

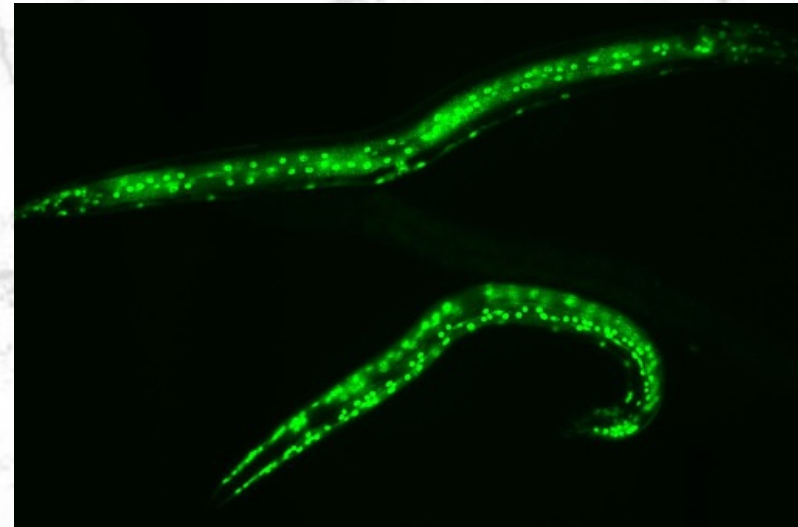
# 5、非编码RNA调控

## The discovery of microRNA



microRNA was **first** discovered in 1993 by Victor Ambros (*lin-4*)

- **Victor Ambros**
- University of Massachusetts Medical School





- 在2008年，维克托·安博斯（左）、加里·鲁弗肯（中）以及戴维·鲍尔库姆三人获得了包括富兰克林奖章（Franklin Medal）以及拉斯克奖（Lasker Awards，美国最具声望的生物医学奖，被誉为美国的诺贝尔奖）在内的很多荣誉

# Victor Ambros

- Victor Ambros was born in New Hampshire, grew up in Vermont and graduated from MIT in 1975.
- He did his graduate research (1976-1979) with David Baltimore at MIT, studying poliovirus genome structure and replication.
- He began to study the genetic pathways controlling developmental timing in the nematode *C. elegans* as a postdoc in H. Robert Horvitz 's lab at MIT, and continued those studies while on the faculty of Harvard (1984-1992), Dartmouth (1992-2007), and the University of Massachusetts Medical School (2008-present).
- In 1993, members of the Ambros lab identified the first microRNA, the product of *lin-4*, a heterochronic gene of *C. elegans*.
- Since then, the role of microRNAs in development has been a major focus of his research.
- Ambros was elected to the National Academy of Sciences in 2007

# Victor Ambros

Current Biology Vol 15 No 15  
R580

## Q & A

### Victor Ambros

***What is your greatest research ambition?*** I hope to keep doing it as long as I can — as long as I feel that I am still learning and progressing as a scientist, and making some sort of contribution. I love to do experiments with my own hands, so I imagine myself ending up in some special home for aged scientists, with wheelchair accessible lab benches, and large-print computer screens, and so forth.

The background of the page is a classic marbled paper pattern, featuring intricate, organic shapes in shades of grey, brown, and black against a light cream or off-white base. The pattern resembles natural stone or biological cells.

## Victor Ambros



# 5、非编码RNA调控

PIWI-interacting RNA (piRNA): 与PIWI蛋白相互作用的小分子RNA。

是从哺乳动物生殖细胞中发现的一类与PIWI类蛋白相互作用的长度为26-31nt的小分子单链RNA，主要存在于哺乳动物的生殖细胞和干细胞。

主要功能是沉默基因转录、维持生殖系和干细胞功能、调节翻译和mRNA的稳定性。

piRNA与siRNA及miRNA均可通过一套相应的机制进行RNA干扰，在转录、转录后甚至翻译水平对靶基因和蛋白进行调节。



# 5、非编码RNA调控

**反义RNA (antisense RNA):** 与mRNA分子特异互补结合，从而抑制mRNA加工和翻译。

反义RNA是反义基因或基因的反义链转录的产物，它不必具有和mRNA等长的核苷酸链。短的片段（例如50个核苷酸）就能起到抑制加工和翻译，从而调控基因表达的作用。

**Small modulatory RNA (smRNA):** 神经元分化过程中起关键作用的小双链RNA，通过与转录因子互作，启动神经元特异基因表达。

# 5、非编码RNA调控

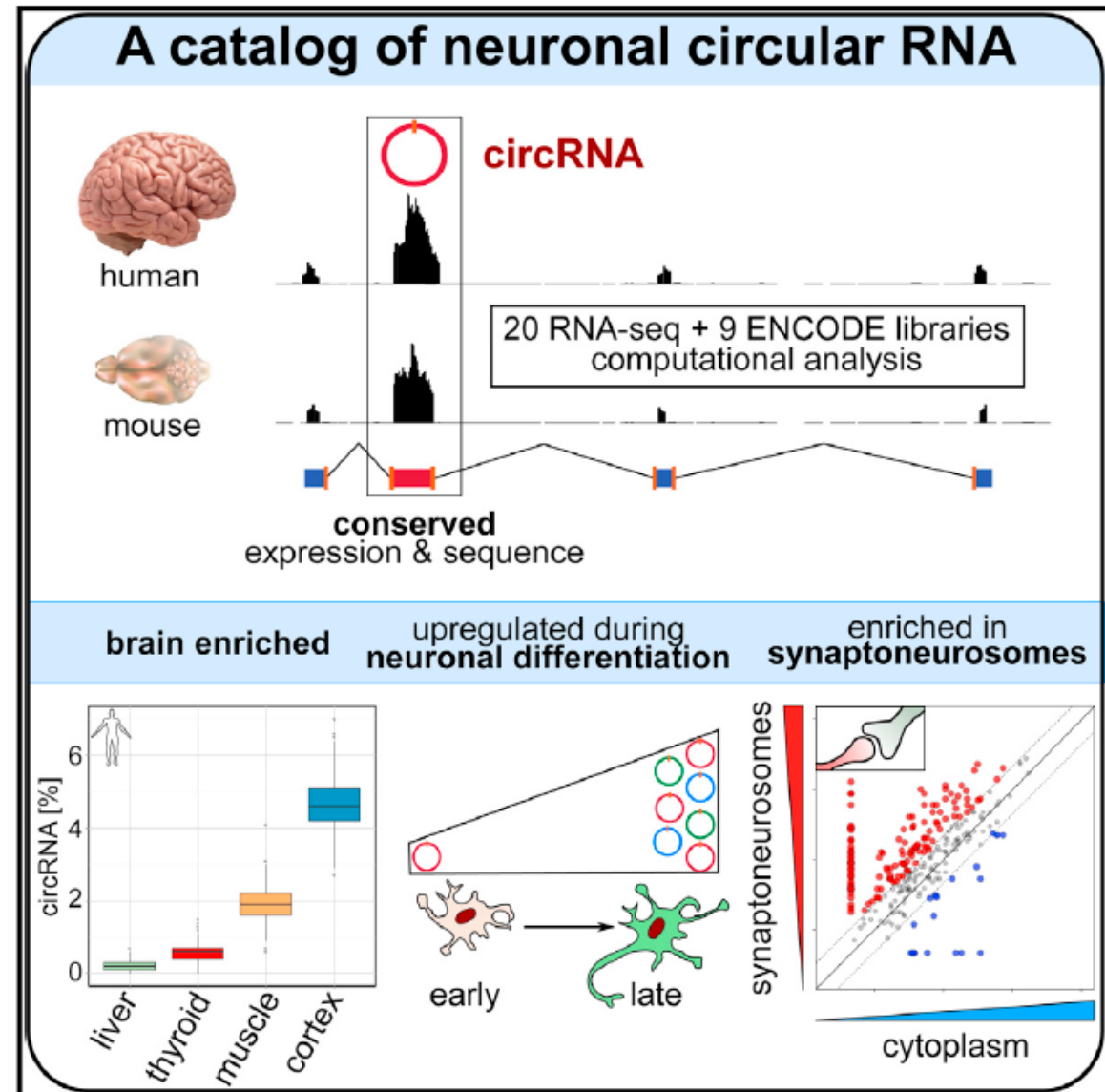
## Circular RNA (circRNA)

### Circular RNAs in the Mammalian Brain Abundant, Conserved, and Dynamic

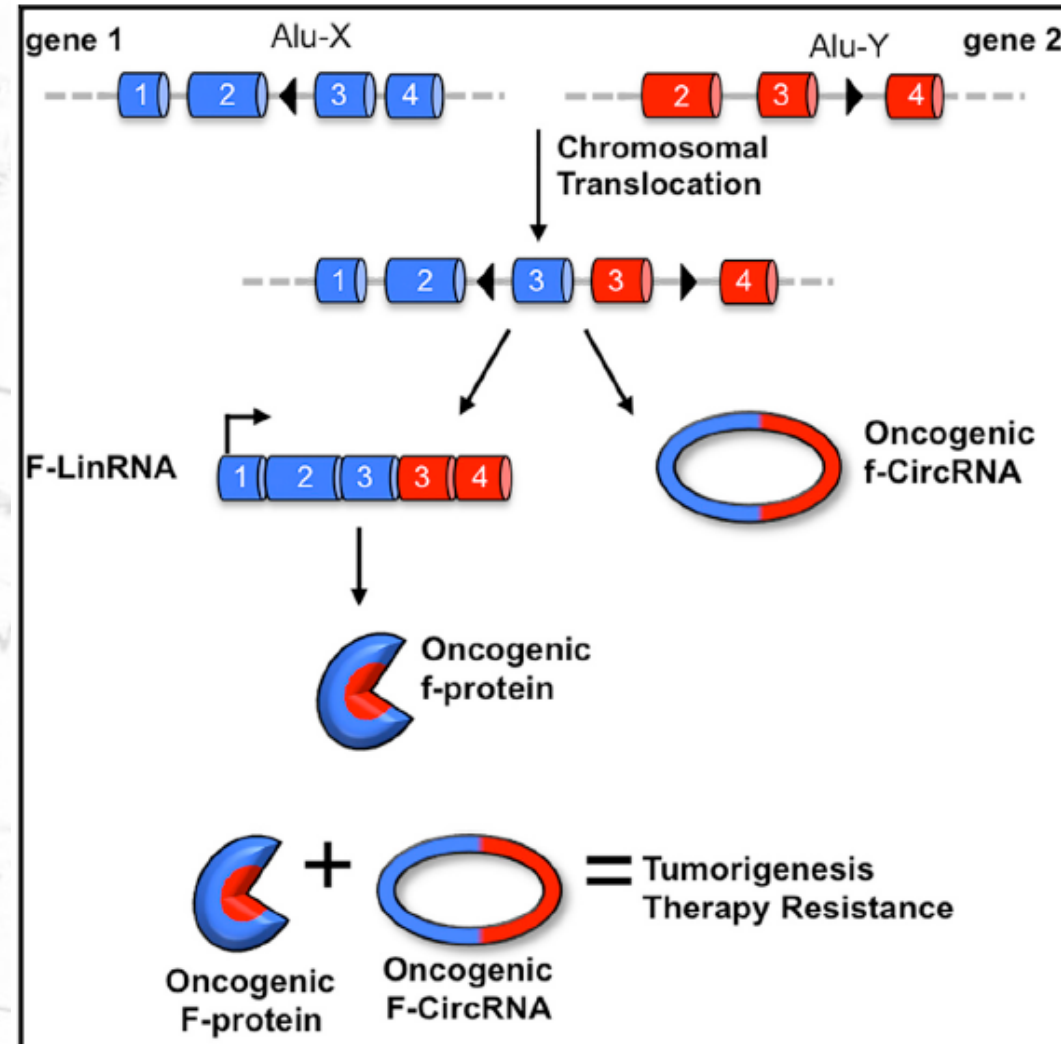
Agnieszka Rybak-Wolf,<sup>1,6</sup> Christin Stottmeister,<sup>1,6</sup> Petar Glažar,<sup>1,6</sup> Marvin Jens,<sup>1</sup> Mor Hanan,<sup>2</sup> Mikaela Behm,<sup>3</sup> Osnat Bartok,<sup>2</sup> Reut Ashwal-Fluss,<sup>2</sup> Margareta Hejblum,<sup>1</sup> Panagiotis Papavasileiou,<sup>1</sup> Andranik Ivanov,<sup>1</sup> Marie Öhman,<sup>3</sup> Damian Refojo,<sup>4,5</sup> and Nikolaus Rajewsky<sup>1,\*</sup>

Molecular Cell 58, 870–885, June 4, 2015 ©2015 Elsevier

#### Graphical Abstract



# Oncogenic Role of Fusion-circRNAs Derived from Cancer-Associated Chromosomal Translocations





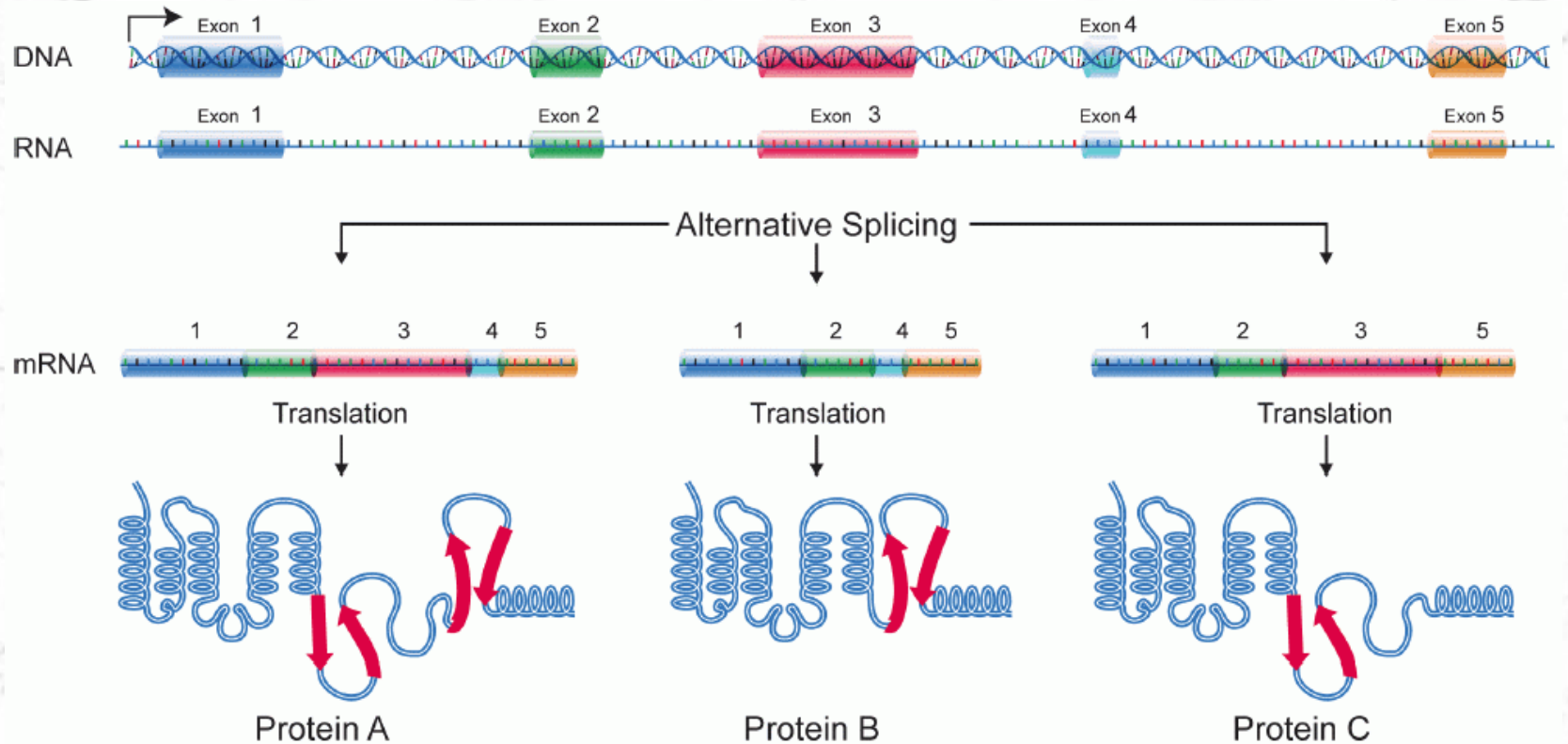
## 6、选择性剪接

- **组成型剪接(constitutive splicing)**: 通常总是把所有的内含子剪掉, 然后将外显子依次连接起来, 因此, 一种断裂基因只能产生一种成熟的mRNA, 合成一种多肽。这一过程称为组成型剪切。
- **选择性剪接(alternative splicing)**: 断裂基因在其转录本剪接中, 通过不同的剪接方式从一个基因产生多种不同的多肽或蛋白质, 以适应不同的需求。

# 选择性剪接的原理



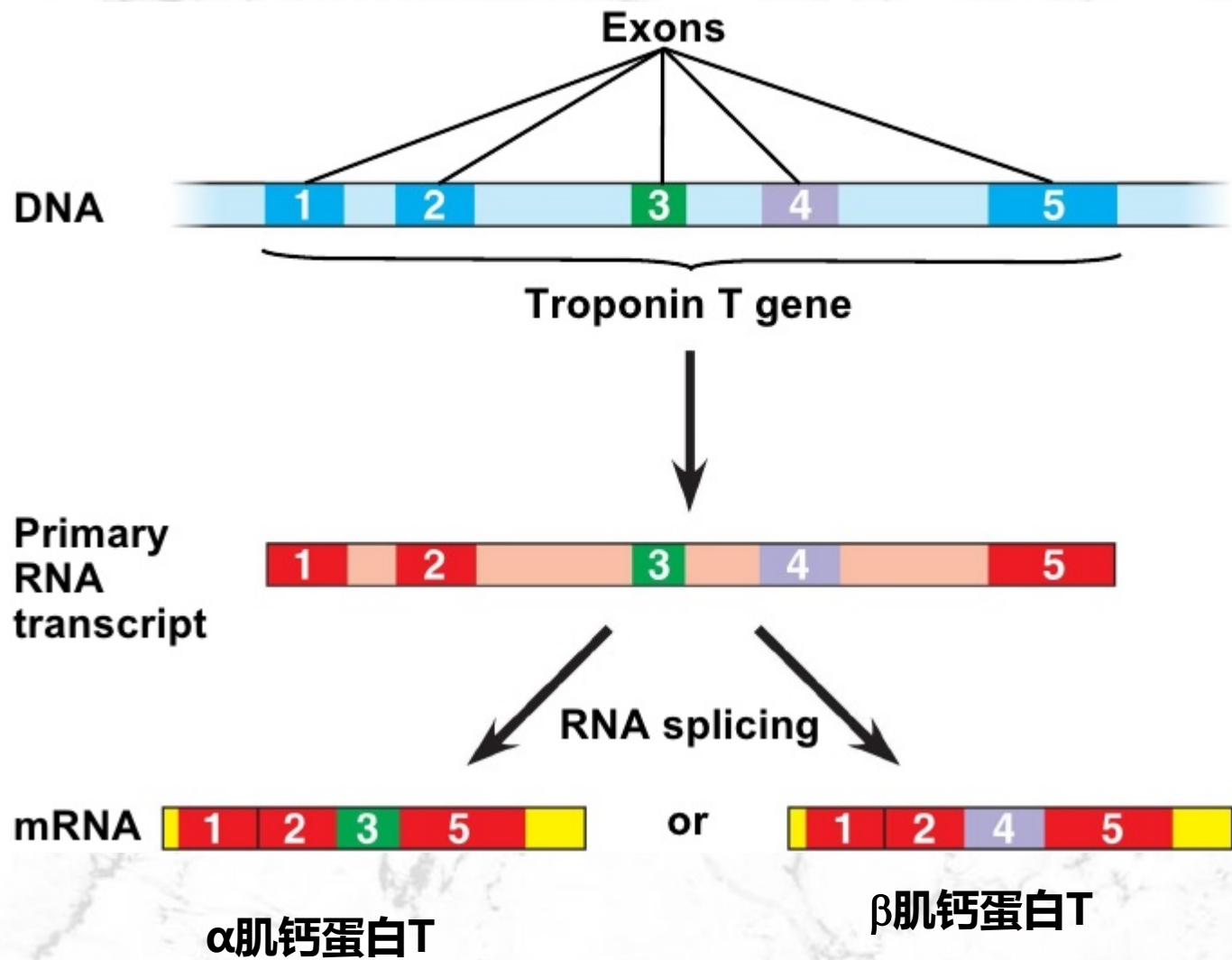
在**某个组织里**利用**某些外显子**，而在另一组织里，选择另外一些外显子来组成成熟的mRNA；  
或者，在**不同发育阶段**或**不同组织中**利用不同的启动子；  
甚至，**某些内含子并不被剔除而是被当作外显子**，这样就可能产生完全不同的mRNA和蛋白质，甚至打破了内含子与外显子的界定，从而产生不同的蛋白质。



**选择性剪接实际上是在转录后水平上对基因表达的调控!**

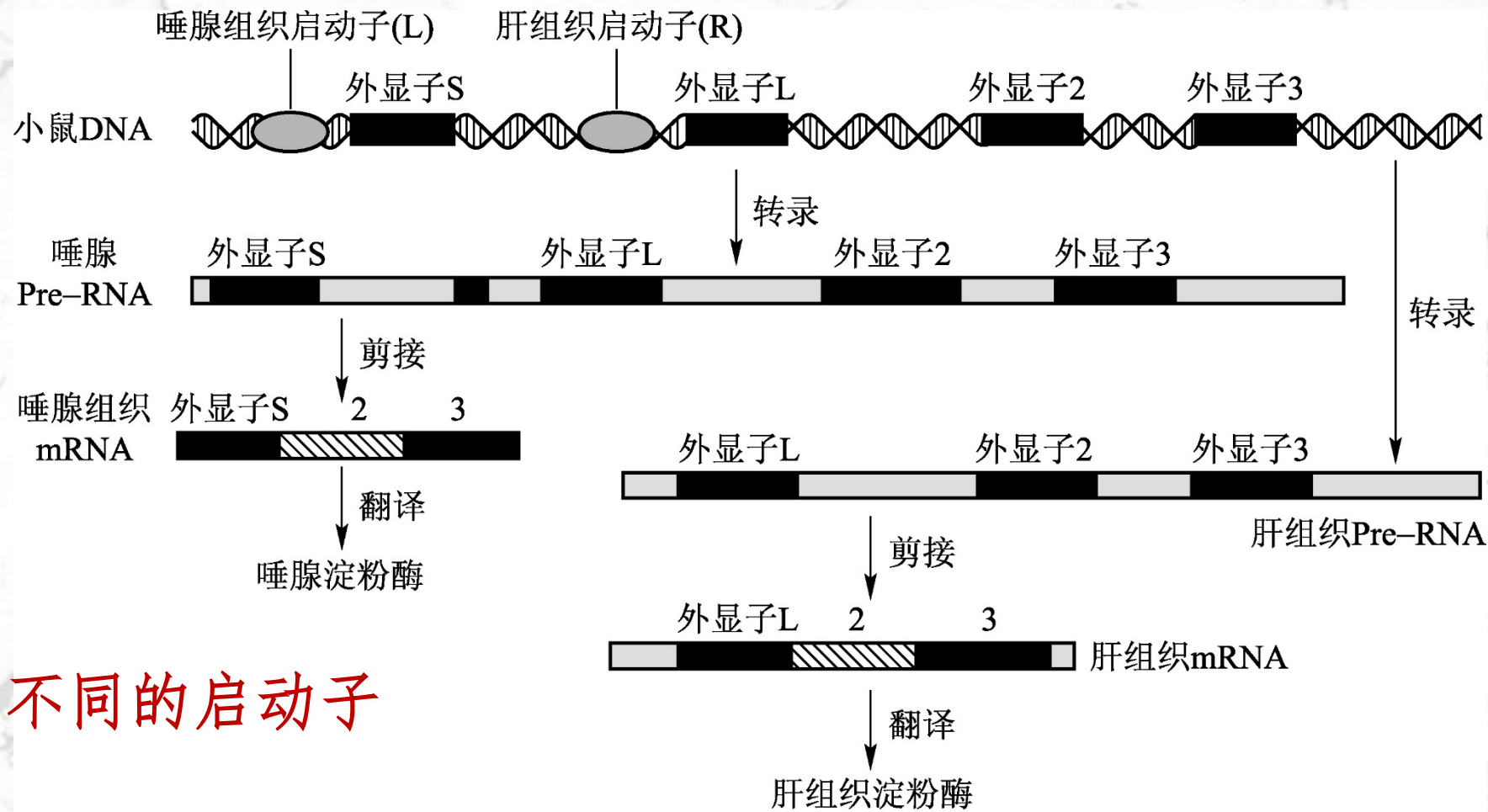
同一种基因的选择性剪接

# 选择性剪接的例子



利用同一启动子

# 选择性剪接的例子



利用不同的启动子

小鼠淀粉酶在不同组织中mRNA的选择性剪接



## 6、选择性剪接

- RNA是如何进行选择性的剪接的呢?

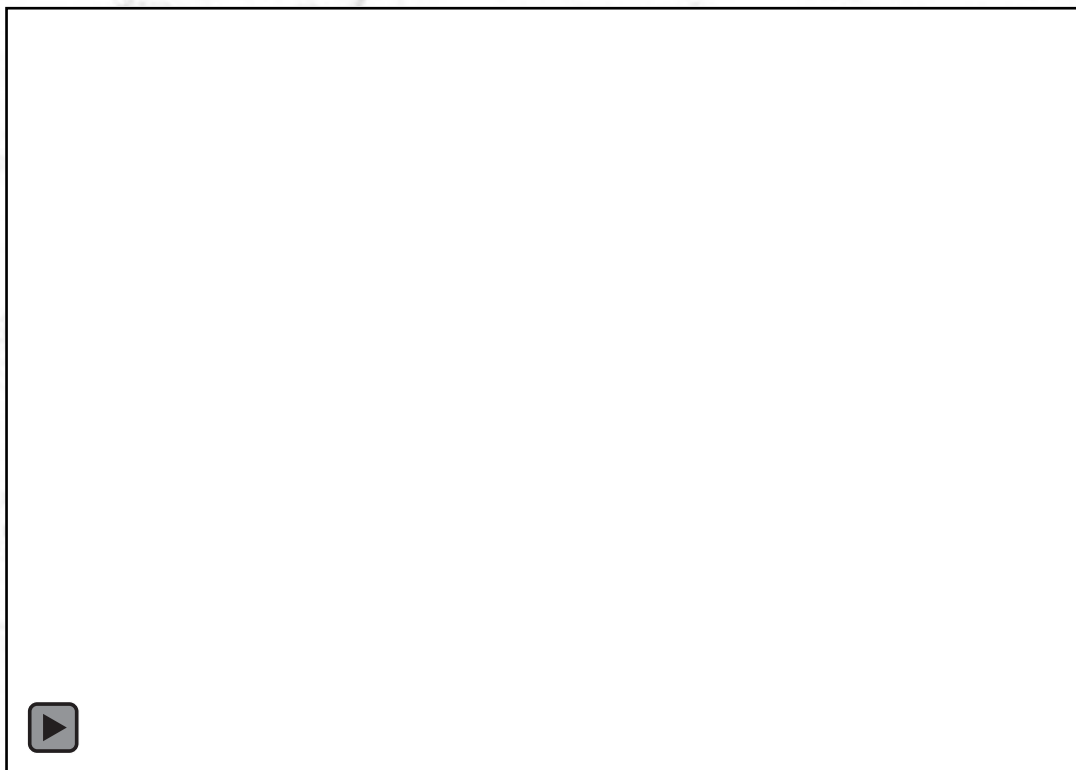
- **SR蛋白**: **SR proteins** are a conserved family of proteins involved in RNA splicing. SR proteins are named because they contain a protein domain with **long repeats** of **serine** and **arginine** amino acid residues, whose standard abbreviations are "S" and "R" respectively.

- 剪接位点的选择是由SR蛋白结合到正在延伸的RNA转录物上，为新的mRNA转录物选择了特异的剪切方式。

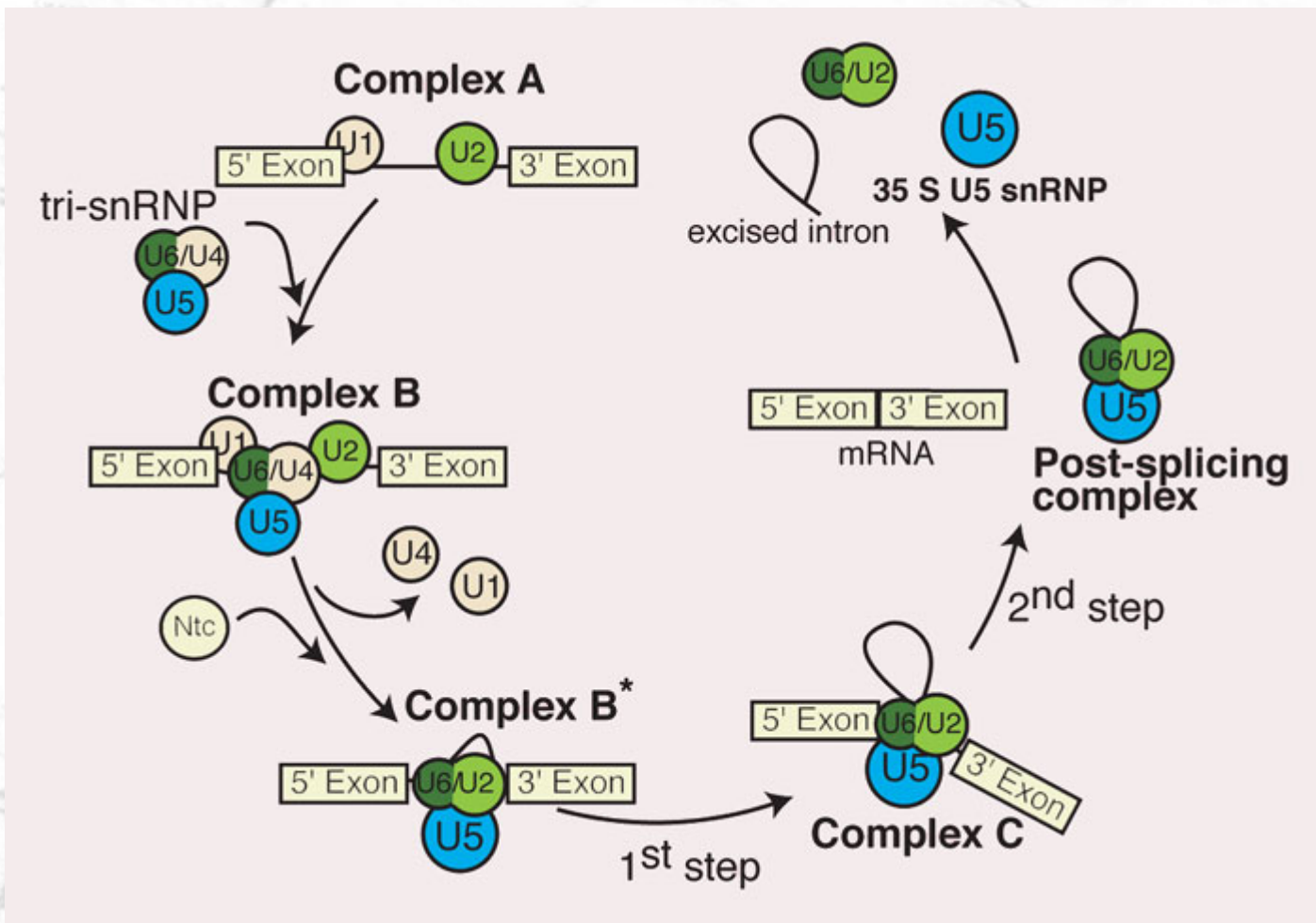
- **剪接体(spliceosome)**: 核小核糖体蛋白**snRNPs** (small nuclear ribonucleo proteins)(U1, U2, U4/U6, and U5)与**非snRNP剪接因子**组成。

- snRNAs (small nuclear RNA, snRNA, 核小RNA) : 富含U, 分为7类, 编号U1-U7。

# 选择性剪接小视频



# 剪接体的装配及剪接过程





## 6、选择性剪接

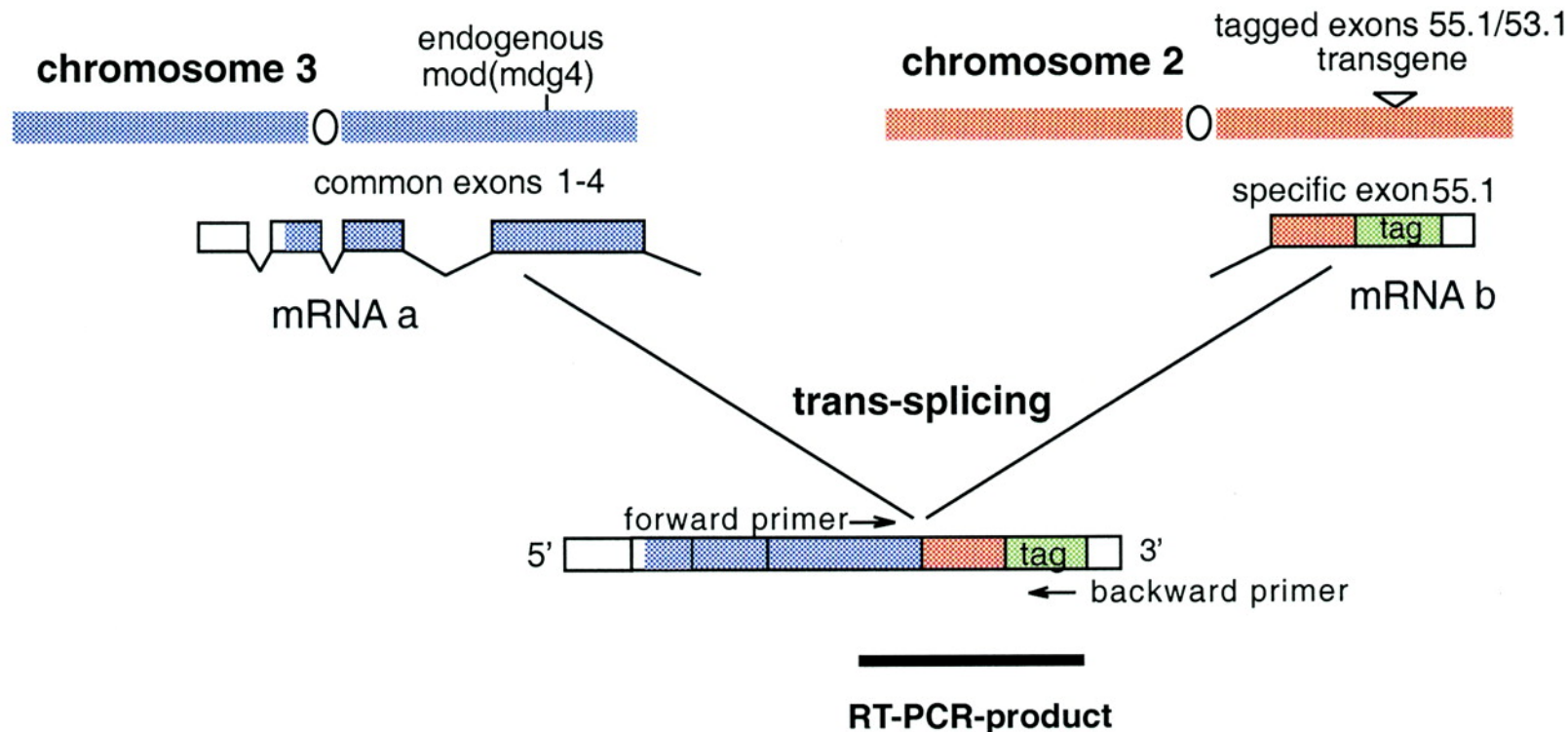
- **顺式选择性剪接**：利用同一Pre-mRNA上的外显子发生剪接。
- **反式选择性剪接(trans-splicing)**：利用不同Pre-mRNA上的外显子剪接成为不同的成熟mRNA。
- **组成型选择性剪接(constitutive alternative splicing)**：前体mRNA通过选择性剪接总能生产多种不同的mRNA。
- **调节型选择性剪接(regulative alternative splicing)**：前体mRNA在不同的发育阶段、不同的环境、不同细胞组织中经选择性剪接产生不同的成熟mRNA。

# 反式选择性剪接的鉴定



如何知道一个成熟的mRNA中发生了反式选择性剪接呢？

方法：进行转录组测序分析，RT-PCR验证等。



已知的反式剪接基因数量相对较少，但普遍存在于真核生物中。  
**低等真核生物**，如锥虫与线虫，其绝大多数基因都需要进行反式剪接的加工。



# 选择性剪接的生物学意义

- 选择性剪接是一种转录后加工的过程，**扩大了基因编码蛋白质的能力**，通过选择性剪接可产生多种不同的多肽，打破了“一个基因，一条多肽”的概念。
- **超过90%的人类基因通过选择性剪接**，平均每个基因产生**2-3种不同的转录产物**，从而大大扩展了20,000个左右人类基因的遗传信息。

# 7、RNA编辑



前面介绍的内容中，内含子的发现，RNA的选择性剪接，都并没有直接改变基因（DNA）产物RNA的序列。

请思考1个问题：

RNA序列能与编码它的DNA的序列不一致吗？

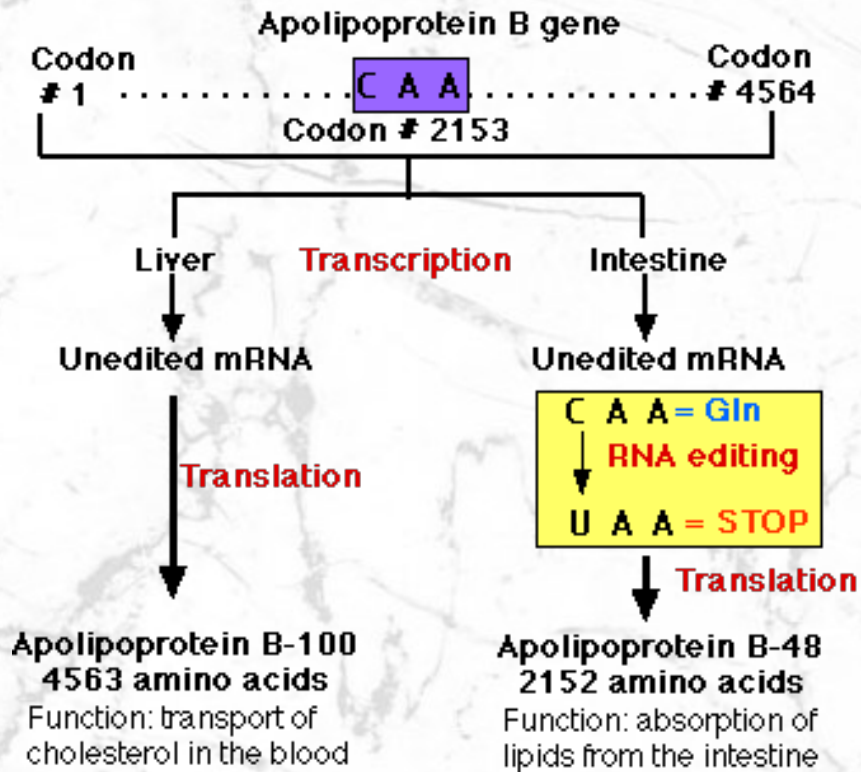
或者DNA模板的遗传信息能在RNA水平上被改变吗？

# 7、RNA编辑



- RNA编辑的两种主要方式:

## 位点特异性脱氨基作用



载脂蛋白B基因的RNA编辑

这种C到U的编辑由胞嘧啶脱氨酶所催化

# 7、RNA编辑



- **RNA编辑**：在产生mRNA分子后，通过在选择的转录物区域内**添加、去除或者置换核苷酸**，从而改变来自DNA模板的遗传信息，**使其翻译成不同于模板DNA所规定的氨基酸序列的现象**。
- RNA编辑使得一个基因序列有可能产生几种不同的蛋白质，**使得遗传信息更加经济有效**。

# 7、RNA编辑



- RNA编辑的两种形式：
  - 核苷酸的插入或删除
  - 碱基的替换

例子：

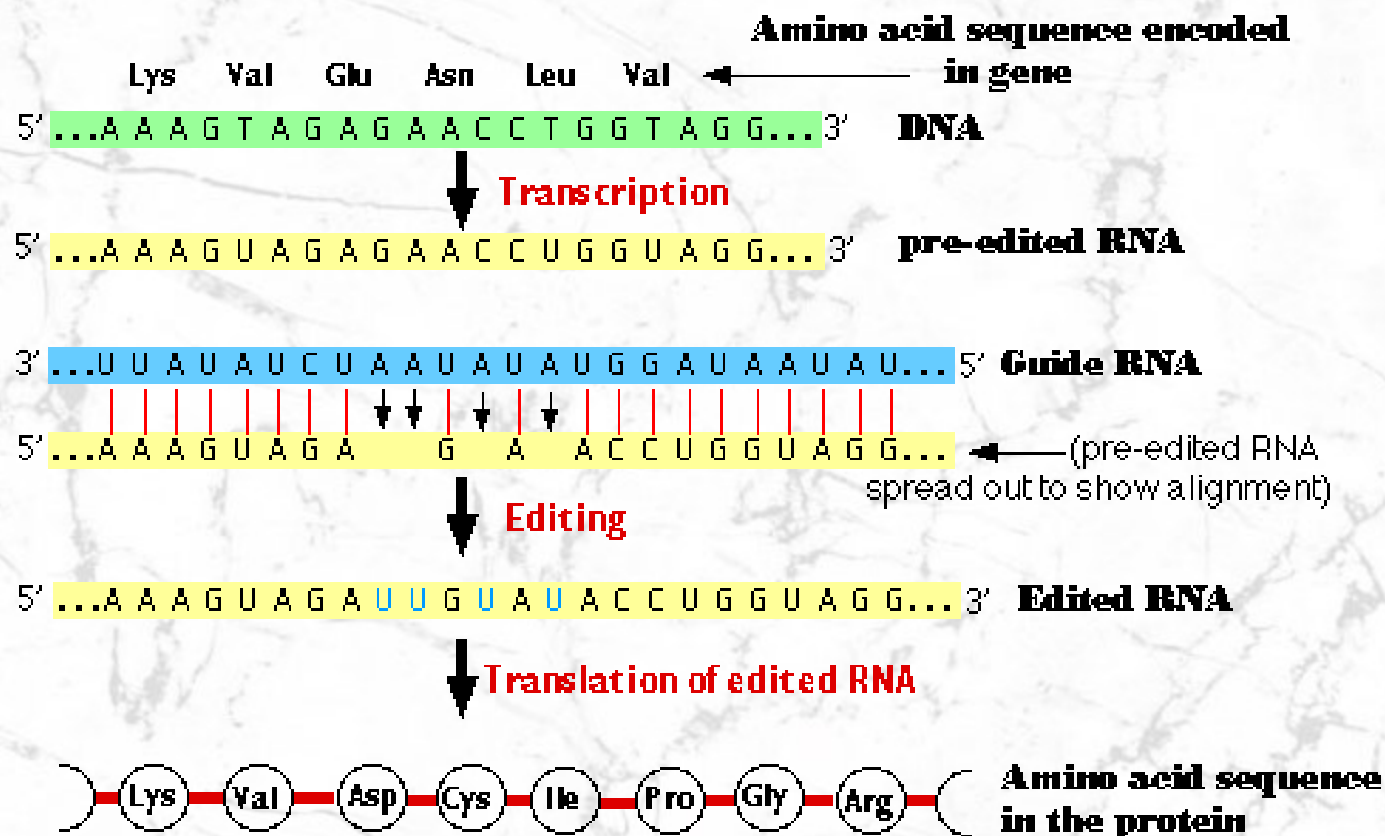
- 高等生物中最主要的RNA编辑是A → I，而翻译的时候，I被识别成G，因此这种编辑的结果相当于A被G替换了。



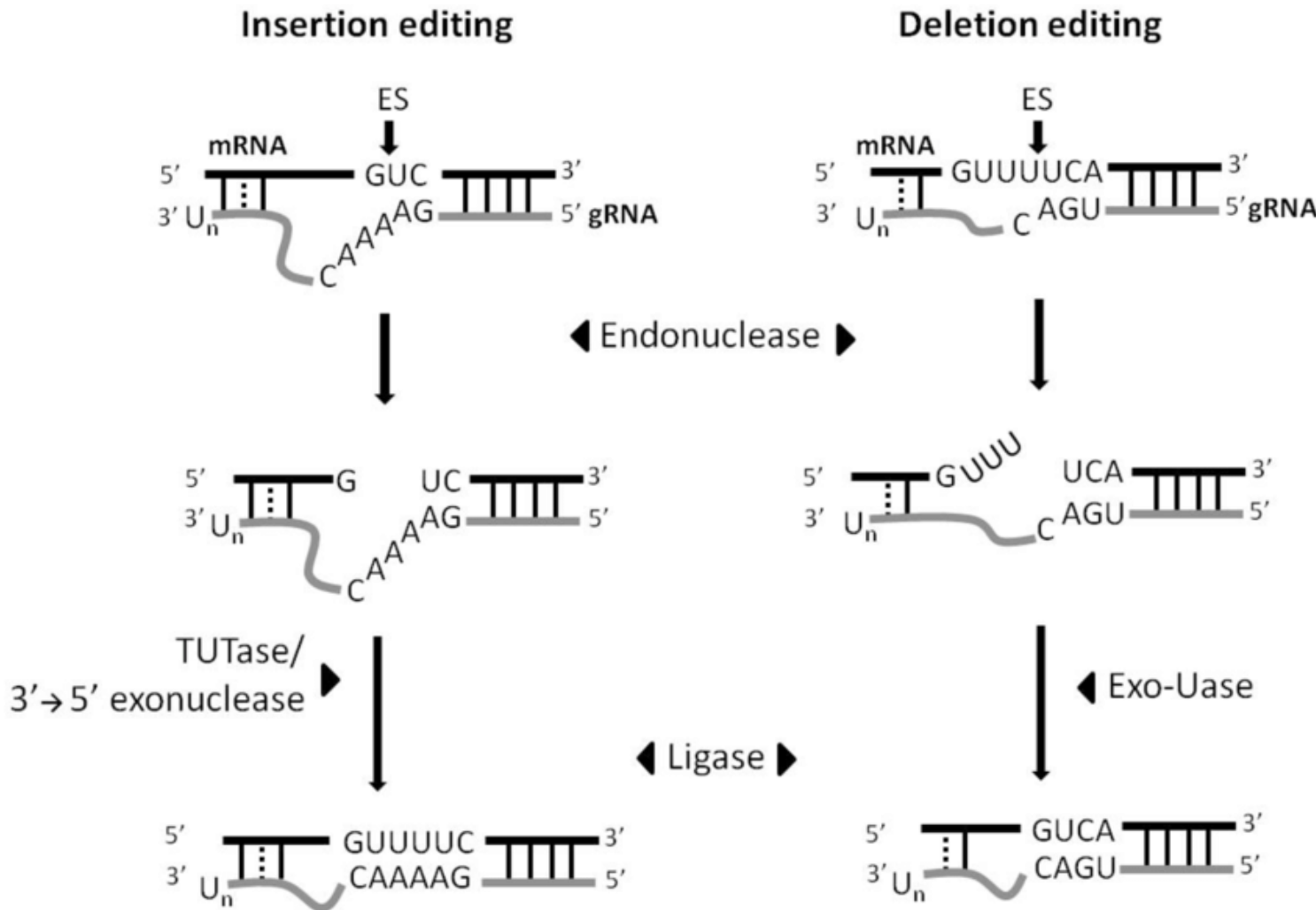
# 7、RNA编辑

- RNA编辑的两种主要方式:

## 引导RNA介导



# 7、RNA编辑



由gRNA介导的RNA编辑

# 7、RNA编辑



## RNA编辑的生物学功能

- (1) 引起编码**蛋白序列的改变**;
- (2) 引起RNA结构改变从而**产生不同的蛋白结合位点**;
- (3) 使mRNA能被**通读**;
- (4) 在一些转录物中可能创造**生成起始密码子或终止密码子**,是基因表达调控方式的补充;
- (5) 非编码区的RNA编辑可**影响RNA的选择性剪接和细胞定位**;
- (6) 可能造成**RNA的降解**;
- (7) **造成RNA复制错误**从而引起病毒基因组的突变;
- (8) **修复基因突变**。

# 7、RNA编辑



RNA编辑是否偏离了中心法则呢？

答案：并不偏离中心法则，因为mRNA及提供编辑信息的gRNA都来源于基因组中的遗传信息，并且通过RNA编辑获得新的基因产物，有利于生物进化。

# 8、mRNA稳定性与基因表达调控



细菌mRNA的平均寿命仅3 min左右，这种mRNA的迅速转换可使细菌适应环境的快速变化；

真核生物mRNA较为稳定，一般寿命长达数小时。寿命极长的mRNA可以长时间积累，经过一个静止期后，当需要的时候，它们才被激活。例如莲子在1700年后仍能萌发，可见其mRNA可存活相当长的时间。

mRNA的稳定性除与转录后加工以及与其结合的蛋白种类有关外，还与mRNA编码的蛋白质功能和其他多种因素有关。

# 8、mRNA稳定性与基因表达调控



mRNA是由RNA酶降解的:

mRNA上的降解信号: 5' 和3' 端序列, 内部二级结构及polyA尾等。

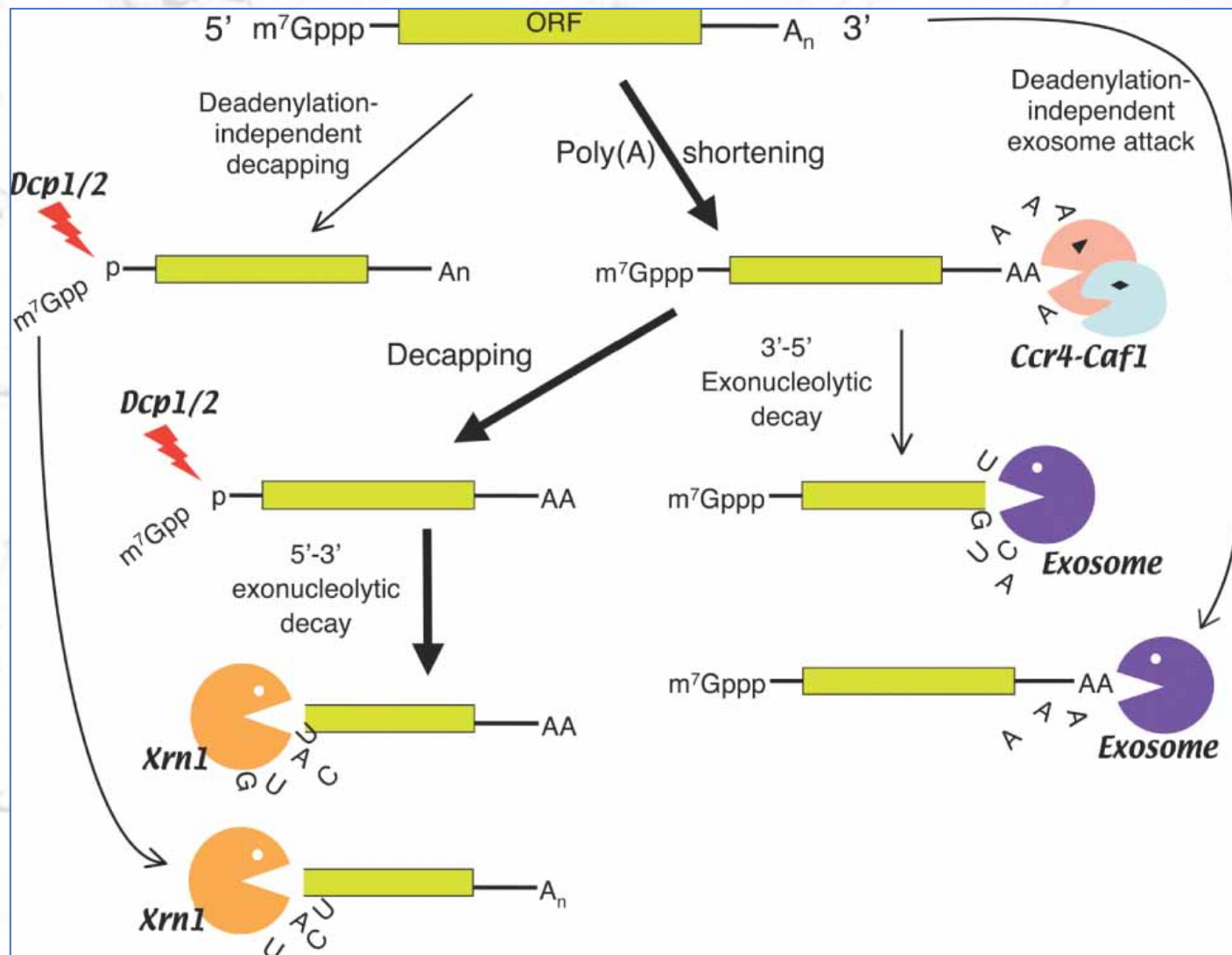
mRNA降解的过程: 由RNA酶(Rnase)降解, 起始于3' 端, 并通过核酸内切酶对mRNA进行消化。

mRNA降解发生的空间: 通常在细胞质内被降解, 但无义突变RNA在加工输出过程中在核内被降解。

ncRNA也参与RNA稳定性的调控, 如siRNA、miRNA均可通过相应的机制降解同源的mRNA;

研究发现, 真核生物mRNA中含量最丰富的6-甲基腺嘌呤 (N6-methyladenosine, m6A) 修饰能够调控RNA的稳定性、定位、运输、剪切和翻译。

# mRNA的主要降解途径



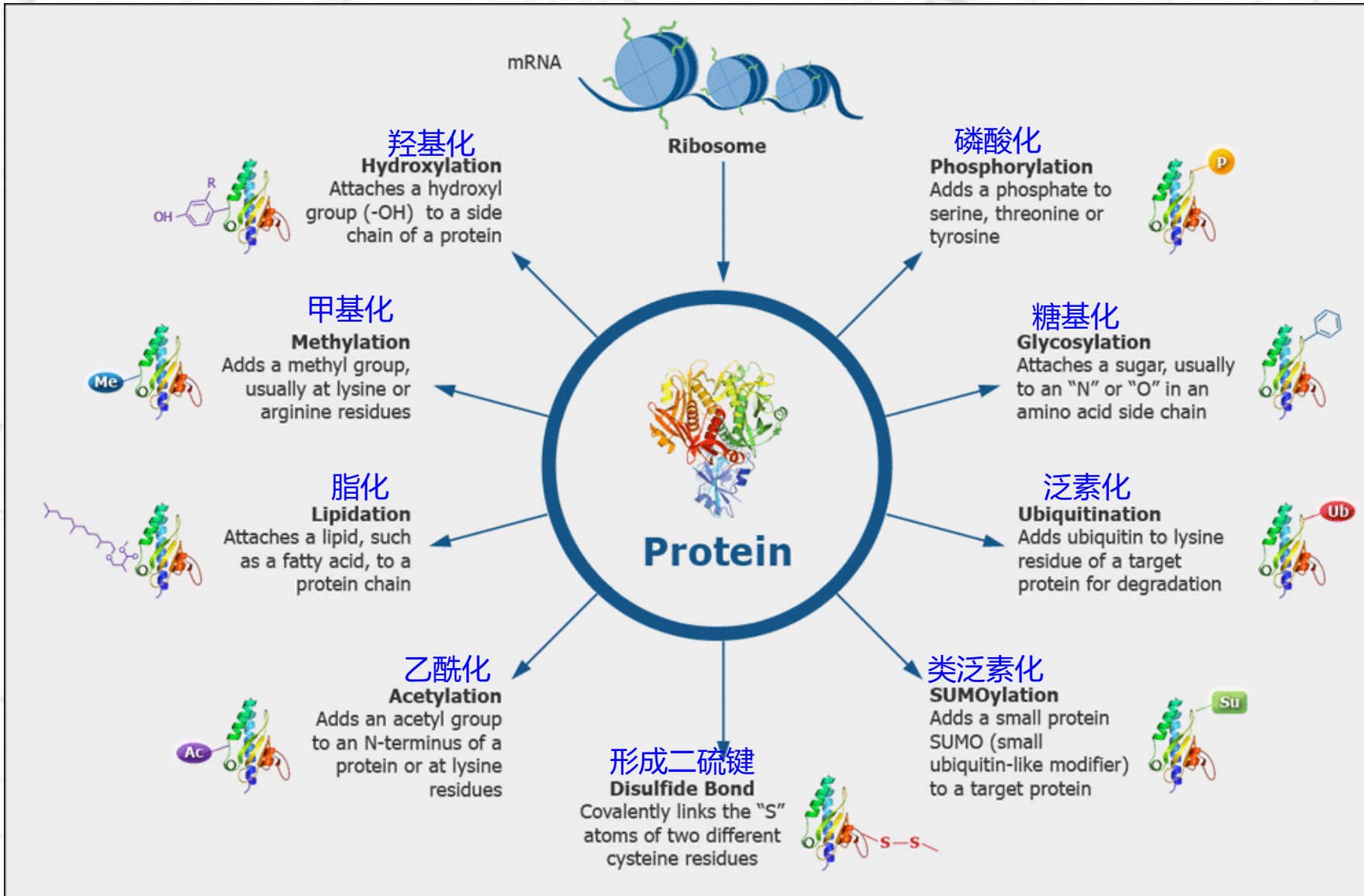
粗箭头表示由去腺苷酸化引发的细胞质mRNA 降解的主要途径。细箭头表示其他步骤或途径。



# 9、蛋白质修饰在基因表达调控中的作用

- 蛋白质翻译后修饰(post-translation modification, PTM)也是基因表达调控的一种方式。
- PTM有各种形式, 如**羟基化**、**磷酸化**、**乙酰化**、**糖基化**等等。

# 蛋白质修饰的种类



为什么不直接翻译出相关功能蛋白，而采取各种翻译后修饰呢？

- 1、密码子只有64种，只能编码20种氨基酸，很多修饰过的氨基酸只能通过翻译后加工得到；
- 2、某些修饰是为了活性表现区域化的需要，即到了需要表现活性的区域内才加工成为有活性的酶；
- 3、是基因表达调控的一种方式，扩大了生物对环境的适应性。



## 四、表观遗传调控和表观遗传学

**表观遗传** (epigenetic inheritance) : **非DNA序列遗传信息改变**产生的**基因功能或表型变化**可通过有丝分裂或减数分裂而**保持**, 这种遗传学现象叫做表观遗传。

表观遗传学 (epigenetics) : 研究不涉及DNA序列改变、而基因表达或细胞表型却发生了稳定和可遗传变化的**基因表达和调控的可遗传修饰的遗传规律的科学**。

**表观遗传调控主要在转录前**, 通过DNA修饰、组蛋白修饰、染色质重塑等方式对基因表达进行调控。**表观遗传调控也作用于其他调控位点, 如转录水平甚至翻译水平的调控**。

(1) **可遗传**。即这类改变通过有丝分裂或减数分裂能在细胞或个体世代间遗传;

(2) **有基因表达的改变**;

(3) **没有DNA序列的变化**或不能用序列变化来解释。



# 表观遗传学的主要研究范畴

□DNA甲基化

□基因沉默（下一章讲）

□基因组印记（下一章讲）

□染色质重塑

□RNA剪接（前面讲过）

□RNA编辑（前面讲过）

□RNA干扰（前面讲过）

□X染色体失活（前面讲过）

□组蛋白修饰

□核糖开关



# DNA甲基化

DNA甲基化(DNA methylation)：是指在**甲基转移酶**(DNA methyltransferase, DNMT)的作用下，将一个甲基添加到DNA分子中的碱基上的**化学修饰**。

DNA甲基化在由转座子引起的突变、染色体畸变等**生物防御过程**中、**生物个体发育**及**异常疾病产生**中都起到极为重要的作用。是一类**高于基因水平**的基因调控机制。

在真核生物中，**CpG二核苷酸**是DNA甲基化(5-甲基胞嘧啶)发生的主要位点。**CpG常成簇存在**，人们将基因组中富含**CpG的一段DNA序列**称为**CpG岛**。

**启动子的甲基化**可以抑制基因的表达，而**基因本体的甲基化**与**基因表达水平**及**选择性剪切**有关。

**DNA甲基化异常常导致疾病的发生**。甲基化状态的改变是**致癌作用**的一个关键因素，它包括基因组整体甲基化水平降低和**CpG岛局部甲基化程度的异常升高**，这将导致**基因组的不稳定**(如可移动遗传因子的激活、**原癌基因的表达**等)。

# DNA甲基化的三种可能作用机制



1、DNA甲基化直接**干扰特异转录因子**与各自启动子的识别位置结合。

2、通过在甲基化DNA上结合特异的转录阻遏物（甲基CpG结合蛋白），**与转录因子竞争甲基化DNA结合位点**而起作用。

3、影响染色质结构，认为**DNA甲基化后与组蛋白结合更紧**，使核小体结构更紧密，结果影响转录。



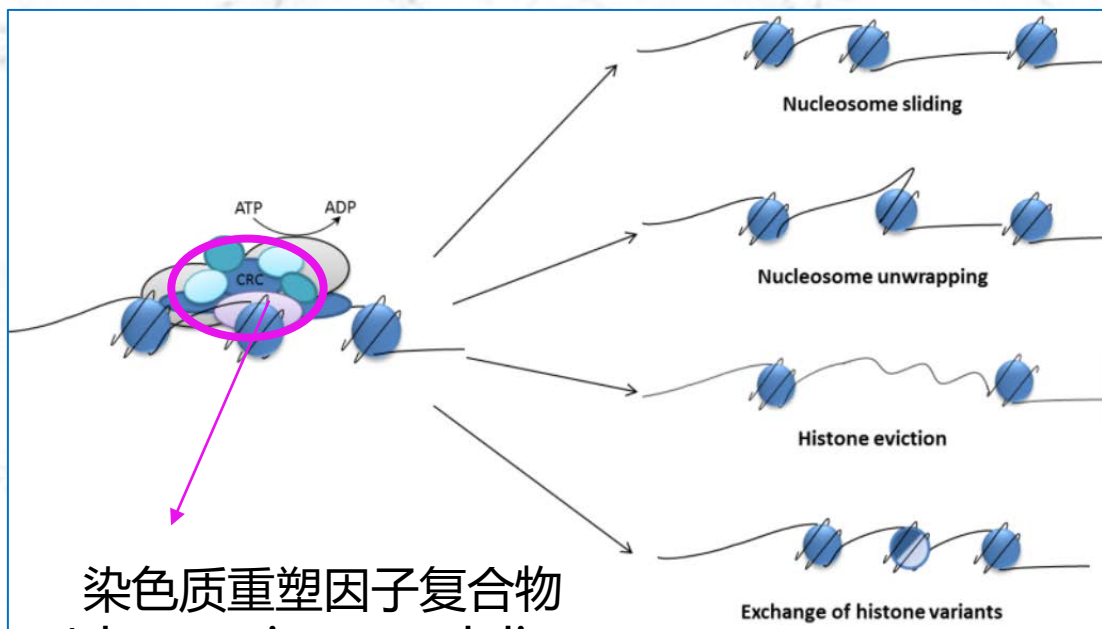
# 染色质重塑调控基因表达

- 染色质结构的**改变**和**修饰**与DNA复制、转录、修复和重组有着密切的关系。
- 染色质重塑已经成为目前生物学中最重要和最前沿的研究领域之一，在**基因表达调控**、**细胞命运决定**等过程中发挥着重要的作用。
- 染色质重塑主要有两种类型：
  - **依赖ATP的物理修饰**
  - **核心组蛋白N端尾部的共价修饰**

# 染色质重塑的两种类型



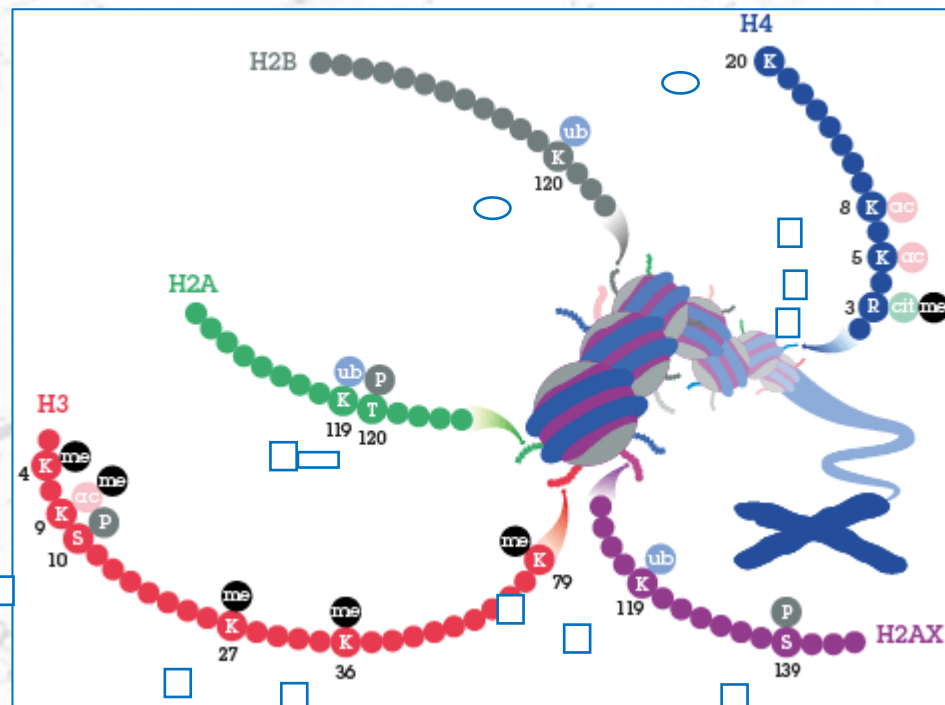
## □ 依赖ATP的物理修饰



染色质重塑因子复合物  
(chromatin remodeling complex)

具有ATP酶活性  
通过ATP水解释放能量  
暂时改变核小体的结构

## □ 核心组蛋白N端尾部的共价修饰

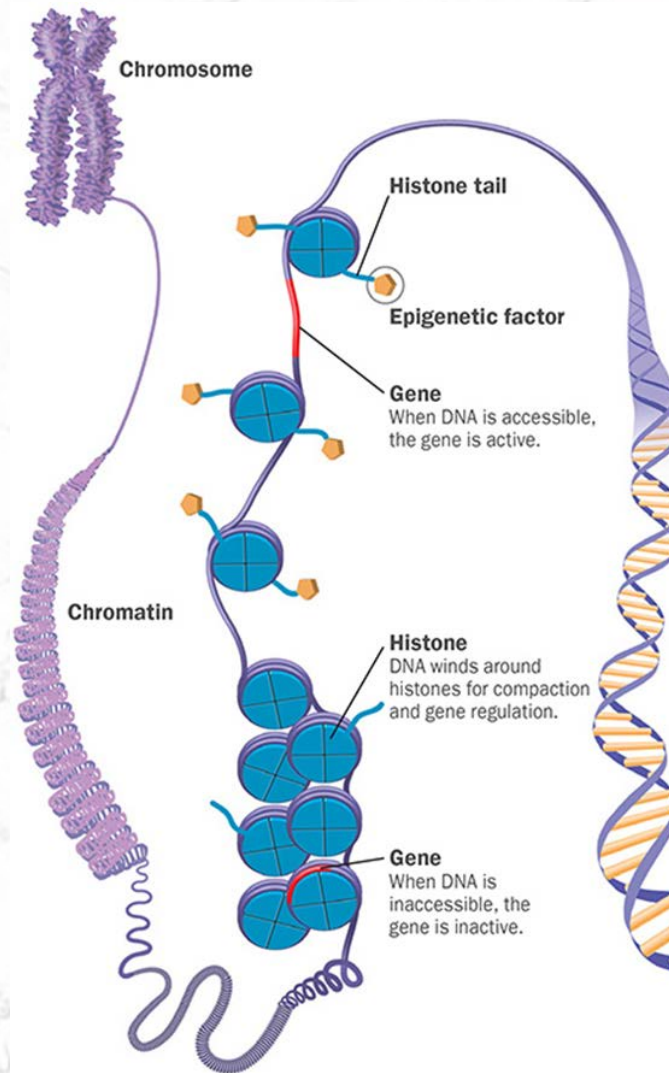


共价修饰直接影响核小体的结构，并为其他蛋白提供了与DNA作用的结合位点。

# 4、组蛋白修饰对基因表达的影响



- 组蛋白翻译后修饰 (HPTM) 是染色质结构对基因表达调控的核心机制：
  - 控制着转录复合物的靠近
  - 影响基因的表达活性
  - 调节着染色质转录活跃或沉默状态的转换
  - 为其他蛋白因子与DNA的结合产生协同或拮抗效应



# 4、组蛋白修饰对基因表达的影响

- 每个组蛋白都有进化上保守的**N端拖尾**伸出核小体外
- 这些拖尾是许多**信号转导通路的靶点**
- 拖尾靶点的常见修饰

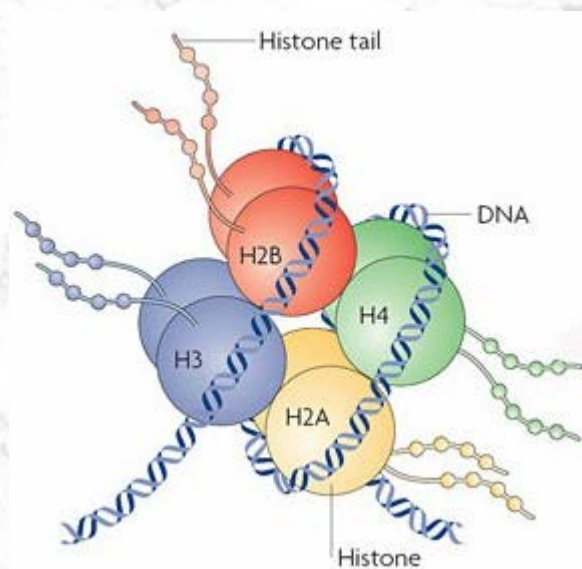
□磷酸化

□乙酰化

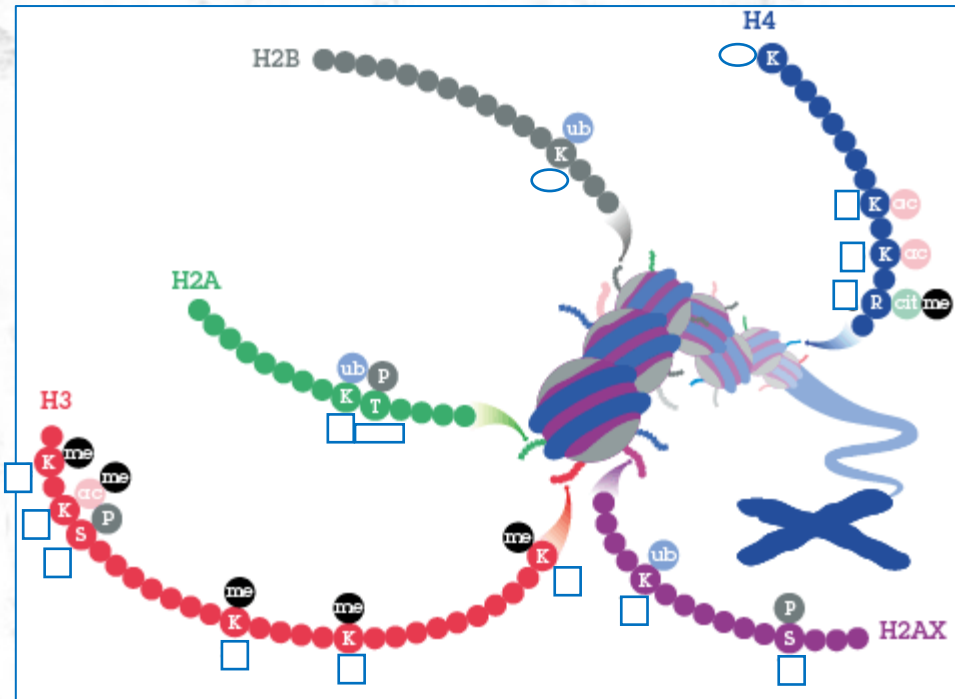
□甲基化

□ADP-核糖基化

□泛素化



# 4、组蛋白修饰对基因表达的影响



**组蛋白密码:** 组蛋白中被修饰氨基酸的种类、位置和修饰类型称为**组蛋白密码(histone code)**。

如H3K4me3表示组蛋白H3上的第四位氨基酸Lys上发生有3个甲基化修饰。

组蛋白N端拖尾上往往有多个修饰位点，而**单一一位点上**可发生多种共价修饰。

组蛋白**乙酰化修饰**与**甲基化修饰**往往互相排斥。



## 4、组蛋白修饰对基因表达的影响

- HPTM影响基因组的调节和功能的三种机制：
  - 影响染色质结构。
  - 破坏染色质或组蛋白结合蛋白的结合。
  - 提供不同的结合表面给某些效应蛋白。

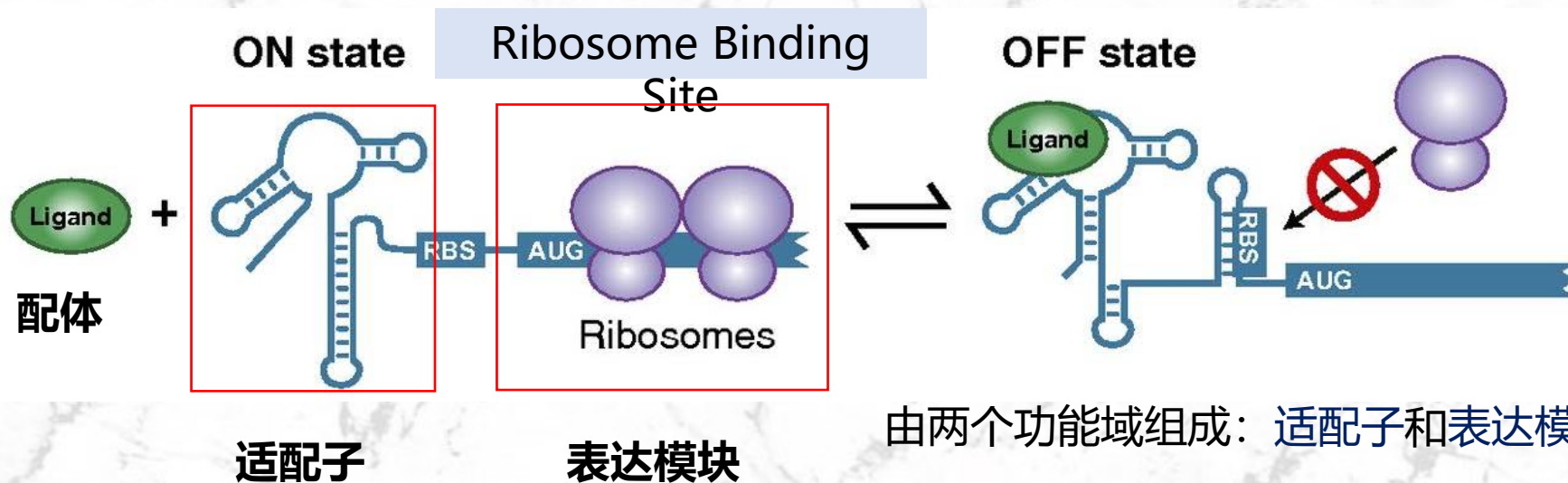


# 5、核糖开关调控基因表达

**核糖开关** (riboswitch)：指mRNA上的一个可以直接与小分子结合来影响相应基因表达的区域。这种调控方式无需任何蛋白质的参与，是2002年发现的一种全新的转录后基因表达调控机制。

参与作用的小分子通常是所调控的酶的代谢产物。

核糖开关可以位于mRNA的5' UTR，前体RNA的3' UTR和内含子区域。



由两个功能域组成：适配子和表达模块。



## 5、核糖开关调控基因表达

- 核糖开关的发现，使人们更加关注RNA中除了ORF以外的区域的功能。
- 核糖开关可作为人工合成配体型**药物的作用靶点**。
- 在其他方面（**调控外源基因表达、生物探测器等**）也有巨大的应用潜能。

谢谢!



# 2班闭卷小测

**填空题（每空3分，共24分）：**

- 1、证明DNA是遗传物质的三个著名实验：\_\_\_\_\_、\_\_\_\_\_和\_\_\_\_\_。
- 2、证明DNA双向复制的实验方案依次是：\_\_\_\_\_、\_\_\_\_\_和\_\_\_\_\_。
- 3、1902年Sir Archibald Edward Garrod在研究\_\_\_\_\_病时首次提出一基因一酶假说，1941年Beadle和Tatum在研究\_\_\_\_\_时提出一基因一酶概念。

**名词解释（每个10分，共20分）：**

- 1、性导
- 2、中断杂交作图

**计算与问答（（1）24分，（2）8分，（3）24分，共56分，题目见下页）**

10. 用 T4 病毒的两个品系感染大肠杆菌细胞,一个品系是小噬菌斑( $m$ )、快速溶菌( $r$ )和噬菌斑浑浊( $tu$ )突变型;另一个品系对这 3 个标记都是野生型(+ + +)。把上述感染的溶菌产物涂平板,资料如下:

基因型			噬菌斑数
$m$	$r$	$tu$	3 467
+	+	+	3 729
$m$	$r$	+	853
$m$	+	$tu$	162
$m$	+	+	520
+	$r$	$tu$	474
+	$r$	+	172
+	+	$tu$	965
共计			10 342

- (1) 计算各基因间的连锁距离。
- (2) 你认为这三个基因的连锁顺序如何?
- (3) 这个杂交的并发系数是多少? 它意味着什么?

# 1班闭卷小测

**填空题（每空5分，共25分）：**

- 1、基因定位的基础或原理是\_\_\_\_\_。
- 2、遗传作图的三条原则是\_\_\_\_\_、\_\_\_\_\_和\_\_\_\_\_。
- 3、1940年Oliver首次报道了基因内重组现象，利用\_\_\_\_\_实验进一步证明了其推测。

**判断题（每题5分，共10分）：**

- 1、染色体上三个基因之间发生双交换的理论双交换率是两个单交换概率的乘积。
- 2、基因越近，干涉越强，双交换越少，作图越精准。

**名词解释（每个10分，共20分）：**

- 1、转导
- 2、内蛋白质归巢

## 问答题 (共45分)

11. 脉孢霉的许多不同的营养缺陷型能在加有精氨酸的基本培养基上生长,其中一些也能在加有其他物质的基本培养基上生长(+号),实验结果如下表所示:

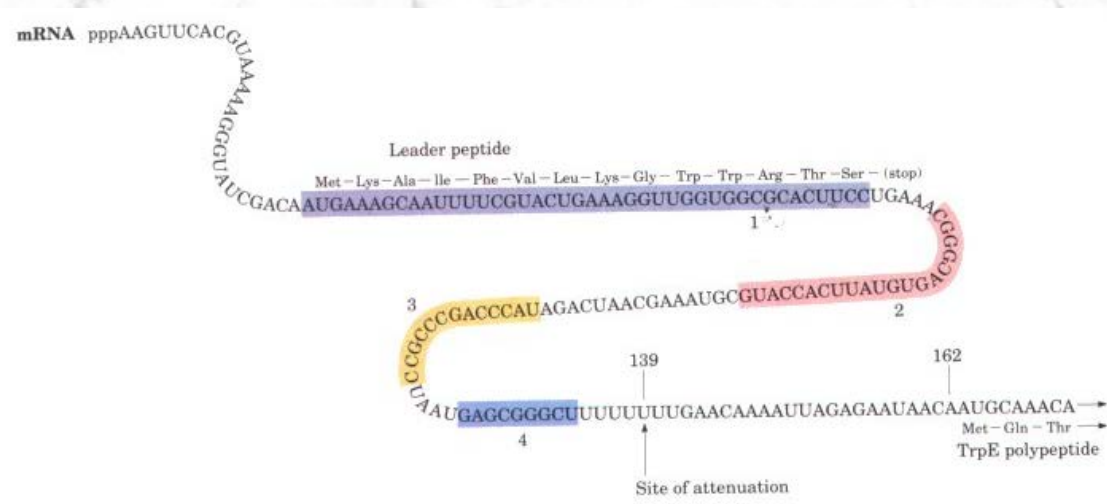
突变种类	生长反应				
	基本培养基	谷氨半醛	鸟氨酸	瓜氨酸	精氨酸
<i>Arg</i> - 8, - 9	-	+	+	+	+
<i>Arg</i> - 4, - 5, - 6, - 7	-	-	+	+	+
<i>Arg</i> - 3, - 12	-	-	-	+	+
<i>Arg</i> - 1, - 10	-	-	-	-	+

- (1) 请问精氨酸合成的代谢途径是怎样的?
- (2) 在 *Arg* - 12 突变中,可能有何种产物积累?
- (3) 已发现 *Arg* - 1 突变也能利用精氨琥珀酸生长,但 *Arg* - 10 突变只能利用精氨酸。这两个突变在精氨酸合成的代谢途径中,哪一个在前面? 精氨琥珀酸是在哪一步合成的?

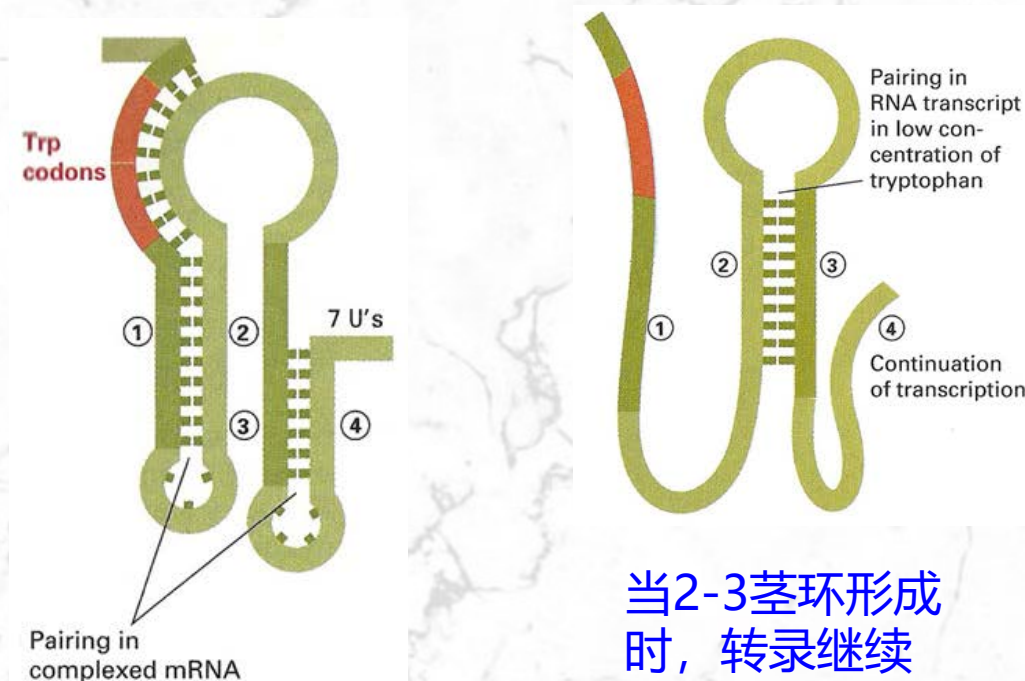


# 开卷小测 (2班)

下图是色氨酸操纵子中的弱化子序列和基因表达调控作用机制示意图，请通过弱化子中2区与3区、3区与4区的碱基配对图（其中G既可以与C配对也可以与U配对），推测3区趋向于与2区还是4区形成更稳定的二级结构，并说明理由。



弱化子序列



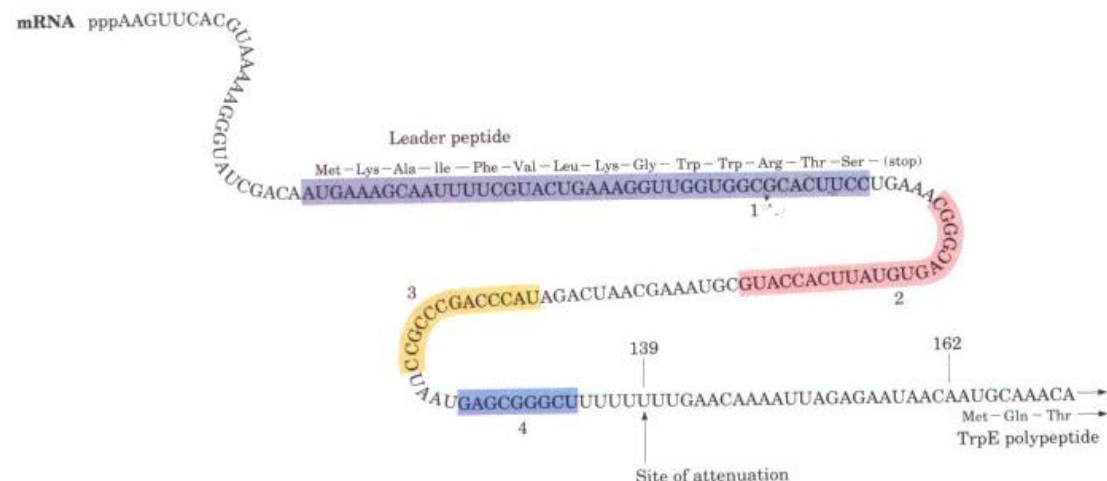
当转录机器遇到3-4茎环时，转录终止

当2-3茎环形成时，转录继续

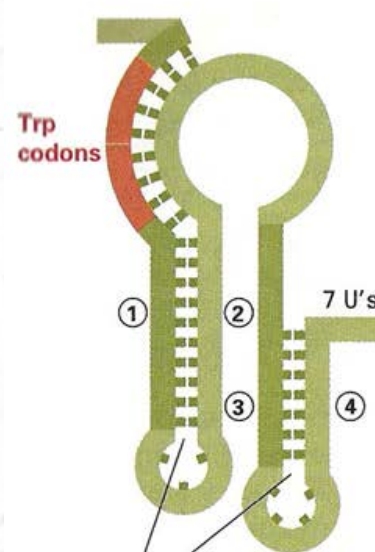


# 开卷小测 (1班)

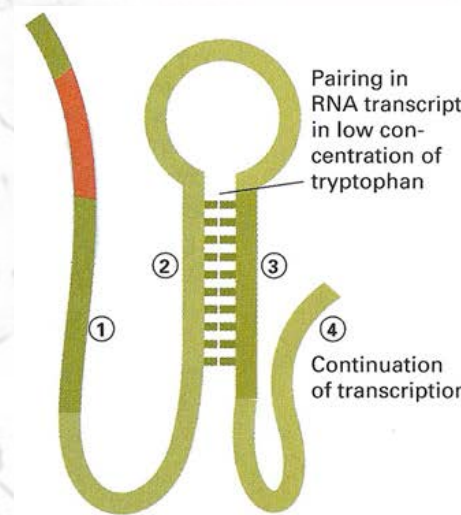
下图是色氨酸操纵子中的弱化子序列和基因表达调控作用机制示意图，请画出弱化子中2区与3区、3区与4区的碱基配对图（其中G既可以与C配对也可以与U配对），说明该机制的合理性。



弱化子序列



当转录机器遇到3-4茎环时，转录终止



当2-3茎环形成时，转录继续

## 参考答案

### 填空

- 1 肺炎双球菌转化实验、噬菌体感染实验和烟草花叶病毒重建实验
- 2 低浓度3H培养基培养、高浓度3H培养基培养和放射自显影检测。
- 3 黑尿、脉孢霉突变体

### 1班

#### 填空

- 1 遗传重组
- 2 基因型都是杂合体、表型对应基因型、子代数量足够多
- 3 (突变位点) 侧翼标记

#### 判断都对

#### 名词解释

- 1以病毒作为载体把遗传信息从一个细菌细胞传到另一个细菌细胞的过程。
- 2 P77