

# RNA 链延伸中 RNA 聚合酶对信息的加工

明镇寰

(浙江大学生命科学院, 杭州 310028)

**摘要:**本文在简述了转录循环和转录中间体、尤其是转录延伸复合物结构的基础上,就 RNA 聚合酶在转录延伸中的作用作了综述。RNA 聚合酶对转录调节作出抉择依赖于对转录延伸复合物内在的或外来的信息输入,其功能在很大程度上都像是一个信息加工者。

**关键词:**转录延伸复合物;RNA 聚合酶;信息加工

中图分类号: Q756

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2000)01-0047-50

## Information Processing by RNA Polymerase During RNA Chain Elongation

MING Zhen-huan

(College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou 310028, China)

**Abstract:** It is reviewed for the function of RNA polymerase during transcription elongation based on the description of transcription cycle and the structure of transcription intermediates, especially, the transcription elongation complex. The decision of RNA polymerase for transcriptional regulation depends on the intrinsic or extrinsic inputs of information to transcription elongation complex. Thus, the function of RNA polymerase looks like an information processor to a great extent.

**Key word:** Transcription elongation complex; RNA polymerase; Information processor

RNA 聚合酶在细胞中的基本功能是在特定环境下或特定的发育阶段中产生最适宜的转录产物。它通过决定基因的起始转录以及转录物延伸的速度和长度来完成这一选择。RNA 聚合酶在完成其转录功能每一步的抉择中都依赖于信息的输入,而产生的结果又进而影响它随后的抉择。所以细胞中 RNA 聚合酶的功能在很大程度上都像是一个信息加工者。

### 1 转录循环和转录中间物

转录可分为 4 个主要阶段: 启动子的选择、转录起始、RNA 链延伸和转录终止。在这些阶段中的转录中间物可以用循环的形式来表示。输入的信息可以通过对转录中间物的作用而改变 RNA 合成的过程(如图 1 所示)。

启动子的选择阶段包括启动子被 RNA 聚合酶全酶的识别, RNA 聚合酶对启动子最初可逆的结合即封闭复合物的形成和伴随构象的重大变化而形成开放复合物<sup>[2]</sup>。在开放复合物结合起始 NTPs 后,即转变成起始转录复合物(initial transcription complex, ITC)并能随之进入几种不同的反应途径。其

中一个途径是合成并释放长度为 2~8 个核苷酸的短 RNA 转录物,或称为流产起始;另一个途径是因子从启动子上释放出来,随着离开上游 DNA 而形成转录延伸复合物(transcription elongation complex, TEC)。这通常在转录物达 8~9 个核苷酸长时发生<sup>[6,4]</sup>,又被称为启动子逃逸(promotor escape)。上述两者的相对速率决定了产物 RNA 链延伸开始的速度以及启动子腾空以允许另一个 RNA 聚合酶分子结合的速率。

一旦 RNA 聚合酶从起始转录复合物转变成转录延伸复合物,它与 RNA 和 DNA 链的连系就变得稳固了,在体内能以每秒 30~100 核苷酸的速度延伸 RNA 链。与此相适应, TEC 中发生了两种类型的移位:一是新生 RNA 链 3'-末端在 TEC 内部的移位,二是 DNA 和 RNA 链通过 RNA 聚合酶从 TEC 内向外移位<sup>[6]</sup>。根据试验的结果对移位方式的解释有两种:连续的或不连续的。后者是指 DNA 和 RNA 链的移位可以是在 RNA 链 3'-末端连着加上几个核苷酸后才发生一次。关于移位的一种最新模式,假设 RNA 聚合酶通过快速滑动可以分布

收稿日期:1998-11-11;修回日期:1999-03-18

作者简介:明镇寰,男,54岁,硕士学位,副教授,专业方向为分子遗传学。

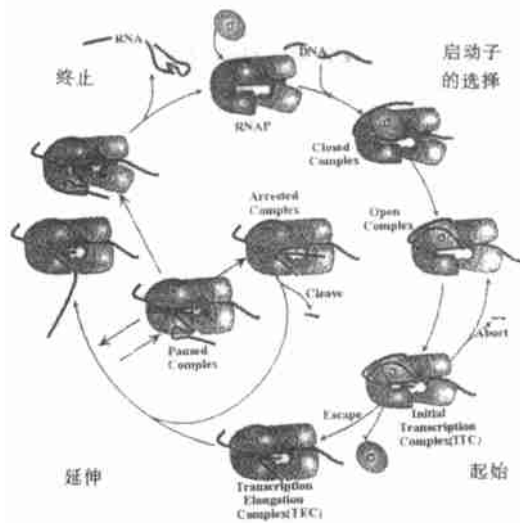


图1 转录循环

于所有可接近的位置<sup>6)</sup>。沿着 DNA 链定向移位的能量是由核苷酸的加入造成 TEC 构象改变所衍生的。也有可能 RNA 聚合酶是一种“机械酶”(mechano enzyme)，其通常保持与 RNA 和 DNA 的紧密接触并使用磷酸二酯键水解的能量产生内部的运动<sup>7)</sup>。

停滞(arrest)、暂停和终止。在某些位点,核苷酸的加入因暂停、停滞和终止信号而放慢,所以 RNA 链的延伸被不时打断。暂停信号引起 RNA 聚合酶从快速延伸的 TEC 状态异构化而改变其构象。在这种构象下, RNA 链的延伸被可逆地抑制。停滞信号只在体外试验中检测到,能不可逆地阻断 RNA 链的延伸。暂停和停滞可能反映了 TEC 在结构上的不同改变,终止信号引起 RNA 和 DNA 链的释出。

有几种类型的暂停转录复合物,其由不同的内在的或外来的相互作用所调节。某些停顿仅与 DNA 序列有关而无需别的调节物,而有些暂停信号则是特定的调节中间物,它们能阻止转录超出某一区域。处于大肠杆菌和沙门氏菌的氨基酸生物合成操纵子前导区中部的依赖于发夹结构的暂停位点即属于后者。这些位点使 RNA 聚合酶停止前进直至核糖体起始前导肽的合成,或者直到最终自发地逃逸并导致超衰减(superattenuation)。通过放慢 RNA 链延伸以允许 TEC 在结构上的调整,暂停看来是导向停滞和终止的一个起始步骤。暂停位点的存在有利于对缺陷的 mRNA 进行监视。在暂停位点放慢速度的 RNA 聚合酶或被翻译着的核糖体所释放,或者被终止因子所释放<sup>8)</sup>。如果把 RNA 聚合酶比作信息加工者,暂停信号则指示其停下来等待调节信号的输入。

当 RNA 聚合酶遇到终止信号时,其停止往 RNA 链上加入新的核苷酸,解开 DNA-RNA 杂交链,释放出新合成的转录物,自身也从 DNA 模板上解离下来。

## 2 转录延伸复合物的结构

转录延伸复合物是整个转录循环中一个重要的转录中间体,与转录循环中其它阶段的转录中间体一样, RNA 聚合酶通过其与 DNA、RNA 和蛋白质因子及其它因子的相互作用,以一种特定的空间构象,在 RNA 链延伸中起着接受信息输入和作出相关转录决定的信息加工者的作用。

### 2.1 RNA 聚合酶的三维结构

Kornberg 等人运用电子晶体学的方法,已经获得了低分辨率的 *E. coli* RNA 聚合酶全酶和核心酶及酵母 RNA 聚合酶和的三维结构<sup>9,10,11)</sup>,表明可能所有的 RNA 聚合酶都具有一些共同的特点:(1)在其结构中有一个宽度约为 25 埃的槽,在从 RNA 聚合酶与起始因子复合物向 TEC 的转变中处于紧邻下游双链 DNA 处;(2)结构上有一些适于跟 ssRNA 和 DNA 接触的特点;(3)两个几乎横贯 RNA 聚合酶的通道,其中一个作为 RNA 链的出口。整个结构与 DNA 聚合酶的手状结构基序(handlike motif)相似。

### 2.2 TEC 中的相互作用

在 RNA 链延伸中的 RNA 聚合酶由  $\sigma$  和  $\beta$  亚基的二体所组成,在所有已知的 RNA 聚合酶中  $\sigma$  亚基和  $\beta$  亚基均十分相似。 $\sigma$  和  $\beta$  在延伸中对与 DNA、RNA 的接触起主要作用,并决定酶的活性。这种相互作用影响暂停和终止<sup>12,13)</sup>。RNA 聚合酶也与几种金属离子结合,其中两个锌离子结合酶的  $\sigma$  和  $\beta$  亚基,两个或多个镁离子为酶充分发挥活性所需。在 TEC 中关键的相互接触可能发生在  $\sigma$  和  $\beta$  这两个亚基的界面上<sup>14)</sup>。

## 3 RNA 聚合酶:转录信息的加工者

RNA 聚合酶在发挥其功能时,沿着 DNA 链移动,从 DNA 链上识读信息,将其翻译到新生的 RNA 链上。很像第一代理论计算机,通过重复的逻辑操作进行其运算。RNA 聚合酶可以从新生的 RNA 链获得反馈的信息来决定选择新的起始位点,并对暂停及终止信号作出反应。RNA 聚合酶对转录调节作出抉择依赖于对转录延伸复合物的两种类型的信息输入:内在的(intrinsic)输入和外来的(extrinsic)输入。在这里,内在的输入指那些能与 RNA 聚合酶发生相互作用的 RNA 和 DNA 的特定序列。这种相互作用的结果产生不同构象的 TEC,从而影响 RNA 链的延伸,或使其快速转录,或使其停顿以至于终止转录。而且这些不同构象的 TEC 还是各种能增强或抑制 RNA 链延伸或终止的外来输入的靶目标。内在的或外来的输入信号或是些小分子物质,或是蛋白质及其它 RNA 分子。它们通过与 RNA 聚合酶直接接触或通过 RNA 或 DNA 的接触,能与 TEC 相互作用并调节其活性。表 1 列举了这些输入及其作用的靶目标和功能。TEC 的不同构象和上述各种不同的输入为转录加工提供了极大的调节灵活性。

## 4 内在的输入

有多重的内在输入控制着RNA链的延伸,它们包括:活化部位,下游DNA双链,非模板DNA链, RNA-DNA杂交物, RNA转录物的出口和新生RNA的发夹结构。

### 4.1 活化部位

RNA聚合酶的活性部位催化新生RNA链3'末端氧原子与NTP-焦磷酸间的亲核置换反应<sup>[65]</sup>。二价镁离子在催化反应中通过配位键使底物处于一种特定结构的过渡态而发挥作用。RNA链3'末端和NTP在活性部位的定位决定了由TEC作出的大多数调节抉择。不正确的定位会抑制核苷酸加入新生RNA链。活性部位外起调节功能的相互作用可能最终通过活性部位内的相互作用而对RNA链的延伸发挥作用。

### 4.2 下游DNA双链

指活性部位下游的约18bp的双链DNA。其序列至少影响对某些暂停位点和终止子的识别<sup>[66]</sup>。该序列与RNA 1230~1272(亚基的第1230个残基至第1272个残基)和30~102残基交联。这种相互作用为TEC提供了抗盐性。亚基的类锌指基序中Cys残基被Ala的替代会引起TEC在刚起始后即不加选择地终止。看来, RNA聚合酶和亚基中的这些片段与下游DNA的锁状(clamp)结构有关。它们间的相互作用使RNA聚合酶和DNA链保持相互接触。

### 4.3 非模板DNA

在解开的DNA链中,非模板链位于RNA聚合酶的外部。其碱基暴露,易于被核酸酶接近。随着DNA链的移位,它又会与模板链重新进行碱基配对。这种转录泡的推进几乎是等能量地进行的<sup>[67]</sup>。非模板链暴露的碱基是调节因子相互作用的一个诱人的靶目标。Ring等人最近报道,在晚期操纵子+16位上,由于因子对非模板链DNA的结合,造成了启动子近侧的暂停<sup>[68]</sup>。

### 4.4 RNA-DNA杂交物

关于RNA-DNA杂交物的长度和作用转录研究中热烈争论过的问题。基于RNA足迹法的一个模型认为,TEC中大约存在12bp的RNA-DNA杂交物。这个结论与热力学分析结合导致Yäger等人假设12bp的杂交物从能量上补偿了融解的DNA泡形成稳定的TEC<sup>[69]</sup>。发夹结构的介入导致的杂交减弱会使TEC不稳定和发生解离。但另一种模型则认为,杂交物的长度不是TEC稳定的主要原因,因为有实验表明,用RNase降解而留下只有2~3个bp的杂交物并未造成延伸能力的丧失。

### 4.5 RNA转录物的出口

在TEC中, RNA-DNA杂交物上游的单链RNA能与RNA聚合酶的亚基(904~905)和亚基(1~81)发生相互作用,新生的RNA链通过RNA聚合酶结构中的一个通道从TEC中逸出。实验表明,新生RNA进入这个出口为TEC提供了稳定,可能是其引发了下游DNA锁状结构的关闭。

### 4.6 新生RNA的发夹结构

表1 转录复合物与信息输入

信息输入	靶目标	作用
内在的输入		
新生RNA结构	RNA聚合酶	暂停、终止
	上游DNA	终止
RNA近3'端区	RNA聚合酶	暂停(10~11 nt) / 终止(富含U的7~9 nt) / 停滞(富含U)
C模板DNA链	RNA近3'端区、RNA聚合酶	?
非模板DNA链	Sigma因子、RNA聚合酶	暂停
活化部位碱基	RNA聚合酶	暂停
下游DNA双链	N端锌指、C端区	暂停、终止
外来的输入		
	非模板DNA链	暂停
	新生RNA、RNA聚合酶?	终止
	不详	终止
ppGpp	不详	暂停
NusA	C端区、或、RNA发夹	暂停、终止、反终止
NusB	新生RNA链的BoxA	反终止
NusE	新生RNA链的BoxA	反终止
NusG	RNA聚合酶	暂停、终止
GreA	RNA聚合酶、新生RNA	转录切割、反停滞、启动子逃逸
GreB	RNA聚合酶、新生RNA	转录切割、反停滞、启动子逃逸
基因特异调节物	RNA聚合酶、DNA或新生RNA	多种

转录物从 TEC 中出来后形成的 RNA 发夹结构是某些暂停信号组成的必要部分,也是不依赖于因子的终止子所要求的。它们能引起转录复合物的解离;RNA 发夹结构还能作为反终止子发挥作用。发夹结构如何调节 RNA 链生长的关键问题是:它们是通过与 RNA 聚合酶的直接接触发挥作用还是间接地通过干扰 ssRNA 与 RNA 聚合酶或 DNA 的相互作用而发挥作用。几方面的证据表明在暂停和终止中, RNA 发夹与 RNA 聚合酶倾向于发生直接的相互作用<sup>[20, 21]</sup>。

## 5 外来的输入

RNA 聚合酶和 RNA 或 DNA 的相互作用能够产生转录复合物的不同构象,这些构象能作为外来因子进一步调节的靶目标。这些外来因子能修饰 RNA 聚合酶对进一步的内在输入反应的规则,类似于早期计算机装置中依赖信息输入造成逻辑规则变化。对这些外来输入作用理解的关键在于解释它们是如何改变 RNA、DNA 和 NTPs 与 RNAP 的内在相互作用以及改变其酶学特性的。外来因子 NusA 对暂停和终止的影响是一个很好的例证<sup>[22]</sup>。NusA 是作为噬菌体依赖于 N 的反终止现象中必需的细胞因子而发现的。但是发现在所有已被测序的原核生物和古核生物中,在其它细胞或噬菌体蛋白缺失的情况下能增强暂停和不依赖于因子的转录。NusA 是一个相对分子质量为 55kDa [1Da = 1u(原子质量单位)]的酸性蛋白质,其能与因子、N 蛋白和 RNA 相互作用,也能与 RNA 聚合酶通过与亚基 C 端结构域或亚基及亚基的接触相互作用。其竞争 NTP 的结合和以一位点特异的、可能涉及与 RNA 二级结构发生相互作用的方式增强暂停,其稳定暂停中间物是通过进一步稳定 RNA 发夹与 RNA 聚合酶的相互作用来实现,还是直接影响 RNA 3 末端定位都有待于进一步研究。

## 参考文献:

- [1] Roe J, Burgess R, Record M. Temperature dependence of the rate constants of the *E. coli* RNA polymerase lambda R promoter interaction [J]. *J. Mol Biol*, 1985, 184: 441 ~ 453.
- [2] de Haseth P, Zupanic M, Record Jr M. RNA polymerase promoter interaction: the comings and goings of RNA polymerase [J]. *J. Bacteriol*, 1998, 180: 3019 ~ 3025.
- [3] Feng G, Lee D N, Wang D, Chan C L, Landick R. GreA - induced transcript cleavage in transcription complexes containing *E. coli* RNA polymerase is controlled by multiple factors, including nascent transcript location and structure [J]. *J. Biol Chem*, 1994, 269: 22282 ~ 22294.
- [4] Hsu L, Vo N, Chamberlin M. *E. coli* transcript cleavage factors GreA and GreB stimulate promoter escape and gene expression in vivo and in vitro [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 11588 ~ 11592.
- [5] Landick R. RNA polymerase slides home: pause and termination site recognition [J]. *Cell*, 1997, 88: 741 ~ 744.
- [6] Guajardo R, Sousa R. A model for the mechanism of polymerase translocation [J]. *J. Mol Biol*, 1997, 265: 8 ~ 19.
- [7] Celles J, Landick R. RNA polymerase as a molecular motor [J]. *Cell*, 1998, 93: 13 ~ 16.
- [8] Landick R, Carey J, Yanofsky C. Translation activates the paused transcription complex and restores transcription of the trp operon leader region [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985, 82: 4663 ~ 4667.
- [9] Darst S A, Edwards A M, Kubalek E W, Kornberg R D. Three-dimensional structure of yeast RNA polymerase at 16 Å resolution [J]. *Cell*, 1991, 66: 121 ~ 128.
- [10] Darst S A, Kubalek E W, Kornberg R D. Three-dimensional structure of *E. coli* RNA polymerase holoenzyme determined by electron crystallography [J]. *Nature*, 1989, 340: 730 ~ 732.
- [11] Polyakov A, Severinova E, Darst S. Three-dimensional structure of *E. coli* RNA polymerase: promoter binding and elongation conformations of the enzyme [J]. *Cell*, 1995, 83: 365 ~ 373.
- [12] Jin D J, Walter W A, Gross C A. Characterization of the termination phenotypes of rifampicin-resistant mutants [J]. *J. Mol Biol*, 1988, 202: 245 ~ 253.
- [13] Tavromina P, Landick R, Gross C. Isolation and characterization of defective *E. coli* RNA polymerase rpoB mutations [J]. *J. Bacteriol*, 1996, 178: 5263 ~ 5371.
- [14] Landick R, Roberts J. The shrewd grasp of RNA polymerase [J]. *Science*, 1996, 273: 202 ~ 203.
- [15] Erie D A, Yäger T D, von Hippel P H. The single-nucleotide addition cycle in transcription: a biophysical and biochemical perspective [J]. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 1992, 21: 379 ~ 415.
- [16] Lee D N, Phung L, Stewart J, Landick R. Transcription pausing by *E. coli* RNA polymerase is modulated by downstream DNA sequences [J]. *J. Biol Chem*, 1990, 265: 15145 ~ 15153.
- [17] Wang D, Landick R. Nuclease cleavage of the upstream half of the nontemplate strand DNA in an *E. coli* transcription elongation complex causes upstream translocation and transcriptional arrest [J]. *J. Biol Chem*, 1997, 272: 5989 ~ 5994.
- [18] Ring, B, Yarnell, W, Roberts J. Function of *E. coli* RNA polymerase factor 70 in promoter-proximal pausing [J]. *Cell*, 1996, 86: 485 ~ 493.
- [19] Yäger T D, von Hippel P H. A thermodynamic analysis of RNA transcript elongation and termination in *E. coli* [J]. *Biochemistry*, 1991, 30: 1097 ~ 1118.
- [20] Chan C, Landick R. Effects of neutral salts of transcript elongation and pausing suggest the his leader pause RNA hairpin interacts with an easily disordered region of RNA polymerase [J]. *J. Mol Biol*, 1997, 268: 37 ~ 53.
- [21] Wilson K, von Hippel P. Transcription termination at intrinsic terminators: the role of the RNA hairpin [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 8793 ~ 8797.
- [22] Liu K, Zhang Y, Severinov K, Das A, Hanna M M. Role of *E. coli* RNA polymerase alpha subunit in modulation of pausing, termination and anti-termination by the transcription elongation factor NusA [J]. *EMBO J*, 1996, 15: 150 ~ 161.