

结构便失去和化学吸引剂梯度相关的方向性，并且不能形成伪足，细胞变成球形。因此认为，细胞主动移动时，微管与移动的方向有关，细胞

膜内面的微丝则与细胞移动的运动有关。
[本文于 1978 年 12 月 25 日收到]

真核细胞 mRNA 5'-末端和 3'-末端的结构与功能

林 万 禄
(中国科学院生物物理研究所)

迄今所知，极大多数真核细胞 mRNA 的 5'-末端含有“帽子”，即 7-甲基鸟苷-5'-三磷酸-2'-甲基核苷-3'-磷酸， $m^7G(5')pppNmp$ 。3'-末端含有多聚腺苷酸 poly(A)。具有这种修饰的末端序列是真核细胞 mRNA 结构的显著特征。此外，真核细胞 mRNA 所含的核苷酸数目远比它实际为蛋白质编码所需要的核苷酸多。这些“额外”的核苷酸均位于编码区的两端，称为 5'-非编码区和 3'-非编码区（见图 1）。本文略述真核细胞 mRNA 5'-末端的“帽子”和 3'-末端的 poly(A) 及 5'-非编码区和 3'-非编码区的结构与功能。

一、5'-末端的“帽子”

1. “帽子”的结构

真核细胞 mRNA 的 5'-末端含有 7-甲基鸟苷-5'-三磷酸-2'-甲基核苷-3'-磷酸， $m^7G(5')pppNmp$ ，称为“帽子”。如图 2 所示，通过 m^7G 的 5'-碳上的三个磷酸同下一个 2'-甲基核苷的 5'-碳相连。2'-甲基化核苷中的核苷部分可为四种核苷(A、G、C、U)中的任何一种。有时在同一核苷上出现双甲基化，如 N^6 -甲基-2'-O-甲基腺苷。

帽子结构分两种类型：

- $m^7G(5')pppNmpNp\cdots\cdots$
(类型 I);
- $m^7G(5')pppNmpNmp\cdots$
(类型 II)。

另外，在植物病毒 mRNA 和酵母 mRNA 的 5'-末端“帽子”结构中无 2'-甲基化核苷。

哺乳动物细胞 mRNA 有着多种不同修饰的 5'-末端序列，如小鼠骨髓瘤细胞 mRNA 的 5'-末端就有二十七种(见表 1)。mRNA 5'-末端的不同修饰序列，可能意味着功能上的差异，如对核糖体的结合作用或对 mRNA 本身的代谢速度等有所不同。

5'-末端“帽子”在真核细胞 mRNA 中是普遍存在的。就

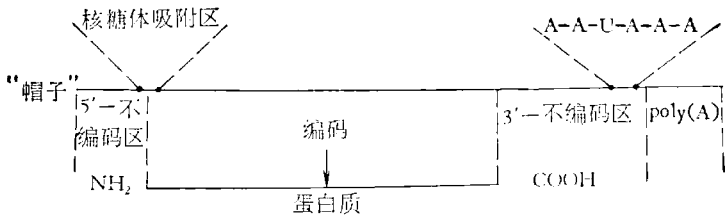


图 1 真核细胞 mRNA 一般结构示意图

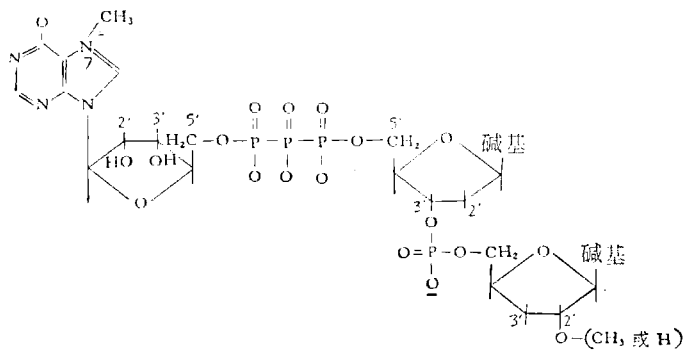


图 2 真核细胞 mRNA 5'-末端“帽子”结构

现在所分析过的极大多数真核细胞 mRNA，如小鼠骨髓瘤细胞 mRNA，L 细胞 mRNA，HeLa 细胞 mRNA，Erlich 腹水肿瘤细胞 mRNA，Novikoff 肝癌细胞 mRNA 和鸭子的珠蛋白 mRNA，丝纤维蛋白 mRNA，组蛋白 mRNA 等都含有修饰的 5'-末端“帽子”^[1]。一些 DNA 病毒和 RNA 病毒的 mRNA 也含有修饰的 5'-末端“帽子”。但也有少数真核细胞的病毒 mRNA，如脊髓灰白质炎病毒 mRNA 和脑脊髓炎病毒 mRNA 等的 5'-末端不含有这种“帽子”。

表 1 在小鼠骨髓瘤细胞 mRNA 中修饰的 5'-末端序列

序 列	各种修饰序列所占%
m ⁷ GpppCmpUp	19
m ⁷ GpppGmpCp	11
m ⁷ GpppAmpGp	12
m ⁷ Gpppm ⁶ AmpGp	
m ⁷ GpppGmpGp	8
m ⁷ GpppGmpAp	6
m ⁷ GpppGmpUp	6
m ⁷ GpppCmpUmpCp	5
m ⁷ GpppGmpUp	5
m ⁷ GpppAmpCp	5
m ⁷ Gpppm ⁶ AmpCp	
m ⁷ GpppAmpAp	4
m ⁷ Gpppm ⁶ AmpAp	
m ⁷ GpppAmpUp	4
m ⁷ Gpppm ⁷ AmpUp	
m ⁷ GpppCmpUmpUp	4
m ⁷ GpppUmpCp	2
m ⁷ Gppp(Am.Gm)pAp	2
m ⁷ Gppp(A. C. G)p	1
m ⁷ Gppp(A. G. U)p	1
m ⁷ GpppUmpUp	1
m ⁷ Gppp(U.G) mpUp	1
m ⁷ GpppUmpUmpUp	1
m ⁷ GpppCmpCmpCp	1
m ⁷ GpppCmpAp	<1
m ⁷ Gppp(A. A. C)p	<1
m ⁷ GpppAmpAmpAp	<1

2. 修饰的 5'-末端基团的功能

真核细胞 mRNA 修饰的 5'-末端“帽子”在翻译时起重要作用。实验表明，具有“帽子”m⁷G 的呼肠弧病毒 mRNA 和兔珠蛋白 mRNA 在麦胚系统中促进蛋白质的合成大大超过无 m⁷G 的 mRNA。用化学方法去除病毒 RNA 和兔珠蛋白 mRNA 的 m⁷G 后，其模板活性大部分丧失。

但也有例外，没有“帽子”m⁷G 的，在体外翻译系统中也有模板活性。

mRNA 的 5'-末端“帽子”同蛋白质合成的起动有关。把呼肠弧病毒 mRNA 5'-末端的 m⁷G 去除后，它便不能同 40S 核糖体亚基结合形成起始复合物，而未去除 5'-末端 m⁷G 的就能结合。实验还证明，一些“帽子”类似物可强烈抑制 mRNA 同核糖体的结合，如 7-甲基-，7-乙基-，和 7-苯甲基-GDP 可抑制呼肠弧病毒 mRNA 同麦胚 40 S 核糖体亚基的结合 70—80 %^[2]。这些“帽子”类似物的抑制作用在于咪唑环上阳电荷的存在，因为当 7-甲基-，7-乙基-和 7-苯甲基-GDP 用强碱处理后，消去阳电荷，其抑制活性随之消失。由于咪唑环上的阳电荷与磷酸基团的阴电荷之间的静电反应而提供一个活化的帽子构型，有利于同核糖体的结合。推测 mRNA 的 5'-末端“帽子”在蛋白质合成的起动过程中也具有同样构型^[2]。m⁷GDP 等“帽子”类似物的抑制作用，可能是它们与 mRNA 的 5'-末端“帽子”竞争的结果。居于上述观察，5'-末端“帽子”，m⁷G(5')p，可能是核糖体识别信号的部分。

另外，某些病毒 mRNA 虽不具有修饰的 5'-末端(即无 m⁷G(5')p)，但也是有活性的信使。实验表明，m⁷G(5')p 只能竞争性地抑制 5'-末端具有 m⁷G(5')p 的 mRNA 的翻译，而对 5'-末端无 m⁷G(5')p 的 mRNA 的翻译却无抑制作用。因此，推测真核细胞中，有两种方式启动合成蛋白质，其中一种是不需要 m⁷G(5')p 的。

3. 修饰末端基团的来源

HnRNA (非均一核 RNA) 的 5'-末端结构与细胞质 mRNA 的 5'-末端结构相同。并发现有些 HnRNA 5'-末端“帽子”的成分相似于细胞质中 mRNA 5'-末端“帽子”的成分。如果 HnRNA 是 mRNA 的前体，推测细胞质 mRNA 的“帽子”是在细胞核中形成的。通过对 5'-末端 mRNA 甲基化的动力学研究，证明 5'-末端“帽子”类型 I 的结构是来自 HnRNA，是在加工过程中保留下来的。而“帽子”类型 II 的结构在细胞核中没有发现，可能是 mRNA 在进入细胞

质后进行的第二次甲基化。

现以牛痘病毒 mRNA 为例,说明真核细胞 mRNA 5'-末端修饰反应的发生(图 3)。

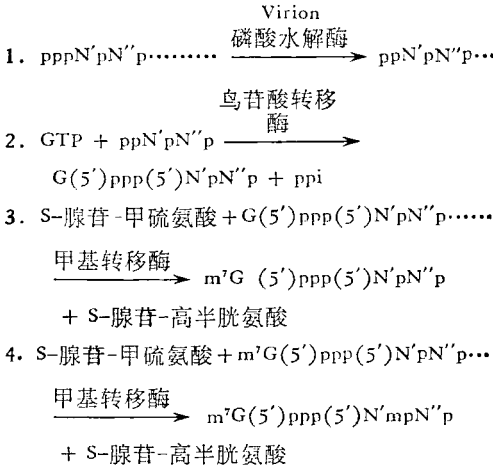


图 3 牛痘(Vaccinia)病毒 mRNA 的 5'-末端修饰反应
(1) γ -磷酸从新生 RNA 链的 5'-末端除去。
(2) 从 GTP 上转移一个 GMP 到 ppN'-末端上。
(3) 从 S-腺苷-甲硫氨酸转移一个甲基到 G 的 7-N 上。
(4) 下一个核苷的核糖甲基化,也通过相似的方式进行。

二、3'-末端 poly(A)

极大多数真核细胞 mRNA 的 3'-末端带有 poly(A),它是在细胞核中转录后加上去的。但也有少数真核细胞 mRNA 无 poly(A),或 poly(A) 片断很短。

1. poly(A) 的长度和代谢

mRNA 中的 poly(A) 在细胞质中随着时间的增长而减短。例如对哺乳动物细胞中的所有 mRNA 标记较短时间(1 小时),测定出来的 poly(A) 大约 200 个残基长。而标记几小时 mRNA, poly(A) 的平均长度就变小了。其长度从 200 减到小于 50 个残基。这种变短的过程是否与 mRNA 的翻译有联系,尚不清楚。

在哺乳动物细胞 mRNA 中处于稳定状态大小的 poly(A),平均是 130—150 个残基。低等真核细胞 mRNA 的 poly(A) 更短,如昆虫卵壳 mRNA 的 poly(A) 仅有 19—34 个残基长。酵母多糖体 mRNA 的 poly(A) 为 20—60 个残基。

2. poly(A) 的功能

当小鼠的 L 细胞 mRNA 中的 poly(A) 或

纯化的珠蛋白 mRNA 中的 poly(A),用有关的酶切除后,发现它们在无细胞系统中的模板活性无显著减少。这似乎说明 poly(A) 对 mRNA 的翻译无多大影响。但又有人发现,在细胞质中复制的病毒 RNA 中的 poly(A) 对翻译有明显作用。还发现具有 poly(A) 序列的珠蛋白 mRNA 和去除了 poly(A) 序列或 poly(A) 序列少于 20 个残基的珠蛋白 mRNA,在蛙的卵母细胞中翻译,开始活性相同,但是后者的活性下降比前者早得多。如果用有关的酶在去除 poly(A) 的 mRNA 上又重新装上 poly(A) 序列(至少 30 个残基以上),则其活性又得到恢复并稳定。很显然, mRNA 活性下降,是由于它本身的降解所引起的。而从上述实验观察, mRNA 的降解同 poly(A) 序列的长度之间存在着某种关系。

原来普遍认为,真核细胞 mRNA 中的 poly(A) 对于 HnRNA 的加工和转运 mRNA 到细胞质是需要的,但是这一观点难于解释现在已发现的一些无 poly(A) 片断或 poly(A) 片断很短的 mRNA 存在的这一问题。

由于 mRNA 中 poly(A) 的存在,为人们分离、纯化 mRNA 提供了极为有利的条件。

三、5'-末端和 3'-末端非编码区

真核细胞 mRNA 除普遍具有修饰的末端序列这一显著结构特征外,还在 5'-端和 3'-端具有长度不定的非编码序列。如兔 α -珠蛋白 mRNA 的 5'-端,在起始密码子 AUG 之前有 39 个核苷酸, 3'-端有 89 个核苷酸(包括终止密码子)。其他所测定过的真核细胞 mRNA,如茼蒿黄花叶病毒(TYMV)外壳蛋白 mRNA 和鸡卵清蛋白 mRNA 等的 5'-端和 3'-端也同样具有一大段非编码序列^[3-5]。就同一种 mRNA 而言,它的 3'-非编码序列比 5'-非编码序列长。对这两个非编码区的功能,目前只知道 5'-非编码区(包括“帽子”结构在内)同核糖体结合从而与起初蛋白质的合成有关。已经证明,大肠杆菌 16S 核糖体 RNA 的 3'-末端序列与噬菌体 RNA 的 5'-末端序列结合位点序列之间是部分互补的。

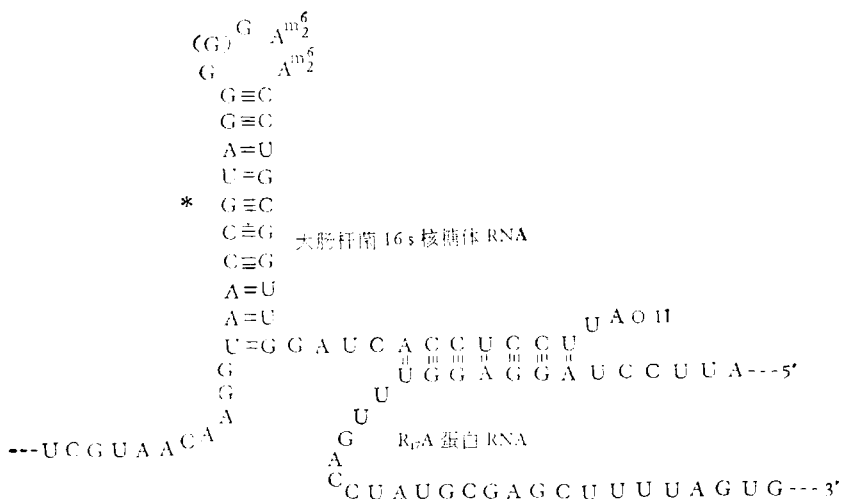


图4 大肠杆菌 16S 核糖体 RNA 的 3'-末端核苷酸序列与 R₁₇A 蛋白的 RNA 5'-末端核苷酸序列之间所形成的互补碱基对

[注] *部分的碱基对为大肠杆菌 16S 核糖体 RNA 的二级结构区

如图 4 所示,大肠杆菌 16S 核糖体 RNA 的 3'-末端序列与 R₁₇A 蛋白 RNA 的 5'-末端序列之间可形成连续的 7 对互补碱基对。在至今所测定过的所有原核细胞 mRNA 的起始序列之中,在起始密码子之前的 7—10 个核苷酸与 16S 核糖体 RNA 序列之间能够形成 3—7 个连续的碱基对。30S 核糖体亚基附着到 mRNA 的特异性位置上,推测是通过 16S 核糖体 RNA 和 mRNA 序列之间的这种碱基配对。是否真核细胞 18S 核糖体 RNA 也与 mRNA 形成类似的碱基配对,还有待进一步证明^[6]。

关于真核细胞 mRNA 3'-非编码区的功能,无直接资料。通过对多种 mRNA 3'-末端的序列测定(包括兔和人的 α -和 β -珠蛋白 mRNA,小鼠的免疫球蛋白 mRNA 和鸡卵清蛋白 mRNA 等),发现在离 poly(A) 约 20 个核苷酸前,有短的序列 A-A-U-A-A-A 存在。它存在的普遍性,说明它可能具有为不同 mRNA 所共有的某种特殊生物功能。除此以外,不同的 mRNA 之间,3'-非编码区的序列是不同的。可以推测,这

些不同的序列所具有的生物功能,对不同的 mRNA 是不相同的。另外,还普遍发现在 A-A-U-A-A-A 和 poly(A) 之间存在着 U-丰富的序列,这种序列对 mRNA 翻译的起动的终止或对 poly(A) 的降解与装上是否有作用,也不清楚。

从上述看出,比较起来,目前对真核细胞 mRNA 5'-末端的结构与功能了解较多,而对 3'-末端了解甚少。随着研究核酸结构与功能新方法的突破,在不久的将来,对真核细胞 mRNA 的结构与功能将会有更多更深的了解。

参 考 文 献

- [1] Stewart, P. R. and Letham, D. S.: *The Ribonucleic Acids*, 2nd. ed., 1977.
- [2] Adams, B. L. et al.: *J. Biol. Chem.*, **253**, 8, 2589—2595, 1978.
- [3] Heindell, H. C. et al.: *Cell*, **15**, 43—54, 1978.
- [4] Guilley, H. and Briand, J. P.: *Cell*, **15**, 113—122, 1978.
- [5] Givol, D. and Fields, S. et al.: *Nature*, **273**, 5665, 723—728, 1978.
- [6] Kozak, M.: *Cell*, **15**, 1109—1119, 1978.

[本文于 1979 年 3 月 27 日收到]