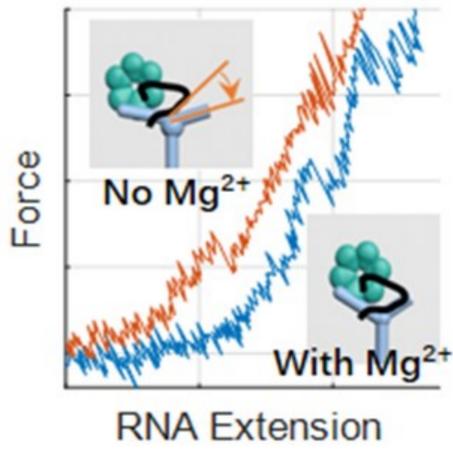


# 光镊研究 *rpoS* mRNA 5'-UTR 自抑制茎环的结构和力学特性



合作者 生科院 龚庆国教授 施蕴瑜教授

位于 *rpoS* mRNA 5'UTR 的自抑制茎环对细菌全局应激响应因子的表达具有重要的调控作用。因常规的晶体学和核磁共振均不适合研究RNA的空间结构，我们发展了一种通过光镊拉伸来考察RNA结构变化动态过程的方法。利用光镊测量出镁离子结合引起RNA局部结构结合的自由能变化，并以此推测镁离子导致了RNA结合更加紧密进而改变RNA stem loop的取向。这一猜想被X射线散射实验和AFM所证实。本研究对理解自抑制茎环空间结构及其生物学功能提供了支持。

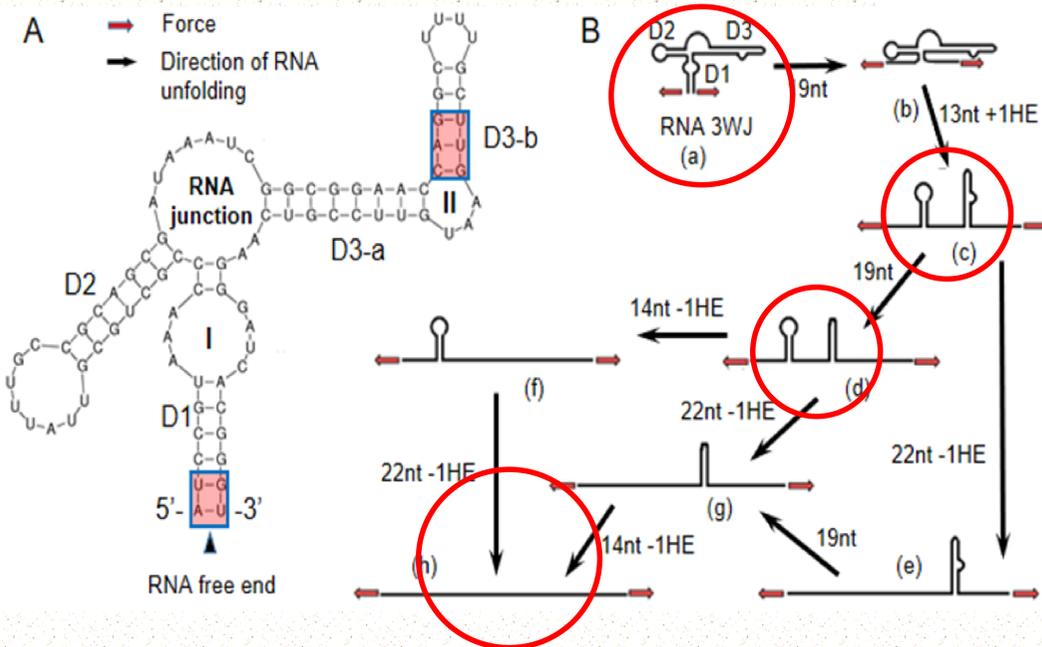
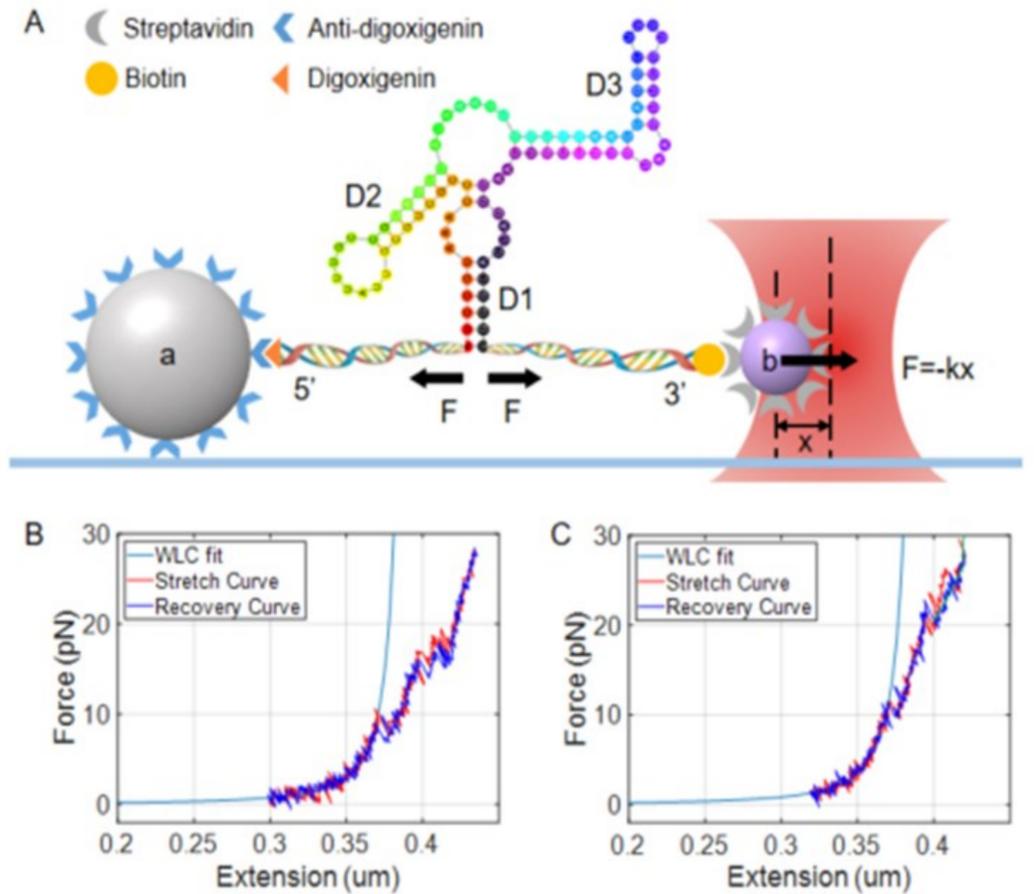


表1：RNA单分子断裂长度测量

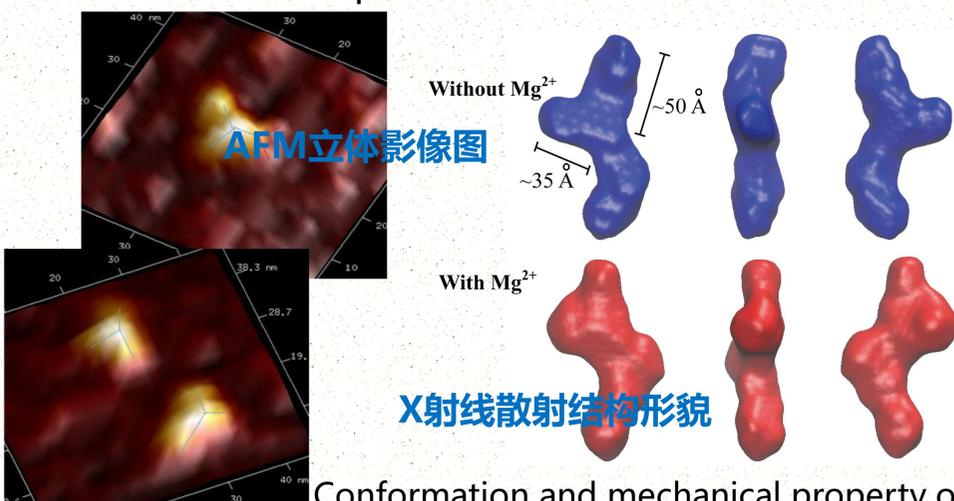
	Force (pN)	Rip length (nm): experimental/expected
First rip	9.16	7.38 / 7.45
Second rip	10.96	7.01 / 7.30
Third rip	17.55	8.12 / 8.49
Fourth rip	18.08	11.07 / 11.93

结合Mfold软件预测的RNA二级结构，我们精确的定位出光镊pN-um曲线上每一次断裂所打开的RNA内部结构。红圈指示RNA结构发生改变的起点、终点以及暂时停留的中间状态。

表2：RNA局部结构在有无镁离子下的自由能

	Rip force (pN)	Rip length (nm)	$\Delta G$ (kJ/mole)	$\Delta G_{Mfold}$ (kJ/mole)
D2	16.71±1.26	8.92±0.85	57.1	51.19
D3-a	11.74±0.49	8.86±1.61	48.3	51.61
RNA junction	6.62±1.39	7.01±0.79	18.9	N/A
D2 (10mM MgCl <sub>2</sub> )	24.15±2.28	7.56±0.68	62.9	N/A
D3-a (10mM MgCl <sub>2</sub> )	22.36±3.3	8.22±1.62	66.9	N/A
RNA junction (10mM MgCl <sub>2</sub> )	10.83±2.19	7.71±0.74	34.9	N/A

RNA局部结构打开时的曲线形状反应了对应区域核苷酸相互作用的自由能。我们计算了有无镁离子时RNA几个局部结构的自由能。数据显示最大的自由能变化发生在RNA junction部分。由于这一部分决定了RNA茎环的取向，我们推测镁离子在不影响RNA二级结构的情况下改变了RNA stem loop之间的夹角。



X射线散射实验和AFM形态表明RNA确实形成了如软件预测的3-way junction结构。X射线散射还发现有镁离子时RNA结合更加紧密，即D1茎环向D2茎环靠近。

由于D2茎环上通过Hfq蛋白招募的小分子RNA需要结合在D1茎环上以开启基因表达，我们认为这一结构变化减小了SRNA与D1茎环的距离，对RNA基因调控功能的行使具有重要意义。

Conformation and mechanical property of *rpoS* mRNA inhibitory stem studied by optical tweezers and X-ray scattering, Plos One, 14(9): e0222938

光镊技术研究组宣 2018