1. 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？简述σ因子的作用。
2. RNA聚合酶全酶由5种亚基组成，2个α亚基，1个β亚基，1个β’亚基和1个ω亚基组成核心酶，加上1个σ亚基/因子后成为聚合酶全酶。
3. α亚基可能和核心酶的组装与启动子的识别有关，并可以参与RNA聚合酶和部分转录调控因子的相互作用。β和β’亚基共同形成聚合酶的催化中心，与DNA模版结合催化RNA中磷酸二酯键的形成。ω亚基的功能未知。以上四种亚基共同组成了RNA聚合酶核心酶，在转录起始RNA聚合酶离开启动子区域后负责转录延伸。
4. σ亚基/因子主要负责识别启动子，通过与DNA上的启动子特异性结合增加聚合酶对启动子的亲和力，降低其对非专一位点的亲和力，使RNA聚合酶能够选择DNA中的一条链作为模版，开始合成RNA；转录正式开始后σ亚基/因子脱离，由核心酶负责RNA链的延伸。
5. 与DNA复制不同的是，RNA聚合酶不使用滑动钳来保证它的进行性，为什么？
   1. RNA聚合酶具有较强的DNA结合能力，并且在转录过程中可以相对独立地完成转录的起始、延伸和终止，因此不需要滑动钳来增强过程性。同时由于转录过程受到高度调控，细胞需要在不同条件下快速启动或终止转录，使用滑动钳可能会降低转录的灵活性与可变性。
   2. 与DNA复制相比，DNA转录只需要对特定的基因区域进行转录，RNA聚合酶不需要长时间与DNA结合以进行大规模的核酸合成，因此不需要滑动钳来提升其持续合成能力和延伸能力（processivity）；而DNA聚合酶则需要在短时间内完成对整个DNA双链的半保留复制，因此需要滑动钳辅助，提高复制效率。
6. 转录忠实性是如何维持的，请详细说明。

转录忠实性的维持主要依赖RNA聚合酶的特性。

* 1. 选择正确的核糖核苷酸。
     1. 通过trigger loop结构识别碱基对的构象，判断新进入转录复合体的NTP是否为可以与模版连正确配对的NTP，功能类似于卡尺。
     2. 通过诱导-契合作用提升转录的忠实性。当没有NTP结合时，RNA聚合酶处于开放构象，便于NTP进入并与之结合；当正确的NTP作为底物与其结合后，其构象发生变化，由开放状态转变为封闭状态，防止NTP从酶上自发脱离下来。构象变化也可以使RNA聚合酶活性位点上的氨基酸残基正确定位，形成有效催化。
  2. 转录延伸过程中的校对功能（proofreading）。
     1. 通过焦磷酸解实现校对。焦磷酸解是聚合反应的逆反应，通过这种动力学校对过程，可以降低NTP错误插入的概率。与模版链错误结合的NTP更容易从RNA链上解离下来。
     2. 真核生物的RNA聚合酶具有内在的RNA剪切活性。在两个Mg2+的参与下，RNA聚合酶可以剪切RNA链上的单个NTP或寡聚核苷酸片段，从而实现有效的RNA链校对，提升转录忠实性。

1. 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的模板。

真核生物的原始转录产物需要经过剪接、修饰等加工过程才能成为成熟的mRNA。

1. 剪接
2. 真核生物的pre-mRNA中包含交替出现的内含子和外显子，剪接的主要作用是去除内含子并把外显子连接起来。这一过程主要发生在细胞核中，剪接体在这一过程中发挥重要作用。
3. 剪接体结构非常复杂，由大约150种蛋白质和5种snRNA组成。转录过程中产生的pre-mRNA与不同的蛋白质结合形成snRNP复合物，随着转录延伸的进行，每个内含子的5’和3’（分支点处）两端的snRNP复合物成对联结，形成剪接体。
4. 剪接体首先从5’端剪切内含子，剪切下来的内含子5’端与分支点的2’-OH之间形成共价键，产生套索结构。之后剪接体再从内含子的3’末端将内含子从RNA链上完整地切割下来，并将两侧的外显子连接起来。
5. 修饰
   1. 真核生物mRNA在离开细胞核进入细胞质前需要经过大量的化学修饰，如5’端的加帽反应和3’端的poly A修饰。这些修饰对于pre-mRNA的剪接和mRNA进入胞质与核糖体结合进行翻译来说都是必需的。
6. 简述I、II类内含子的剪接特点。
   1. I类内含子
      1. 内含子的边界特征：5’U-G3’
      2. 序列特征：具有中部核心结构，包括鸟苷（酸）结合口袋和内部引导序列IGS
      3. 剪接需要的辅助因子：游离的鸟苷酸（和镁离子）
      4. 不需要ATP供能
      5. 被剪接序列的结构/功能：可以转变为核酶，通过IGS与剪接位点配对，确定口袋中鸟苷亲核攻击的精确位点，实现精确切割。
   2. II类内含子
      1. 内含子的边界特征：5’GU-AG3’
      2. 序列特征：存在分支点
      3. 剪接需要的辅助因子：镁离子
      4. 不需要ATP供能
      5. 被剪接序列的结构/功能：形成套索结构