

生物化学讲义

下 册

中国人民解放军五九一七〇部

第七章 核酸的代谢

自从1868年 *Friedrich Miescher* 氏首次从废弃的外科绷带上的脓细胞中分离出核蛋白(当时,他称之为“核素”)以来,经过整整一个世纪的研究,特别是二十世纪四十年代以来,由于分离、鉴定及测定方法的不断发展,对核酸的生物学意义的认识逐渐趋于完善。现在大家已能普遍接受这样的观点:组成核酸的两种成分之一的脱氧核糖核酸(DNA)是遗传信息的载体,由它把特定核苷酸(或碱基)的顺序转录到核酸的另一种成分——核糖核酸(RNA)分子上,然后再通过RNA中的信使RNA(mRNA)指导特定的蛋白质(包括酶)的合成。

由于对核酸结构和功能研究的进展,促进了一些新兴学科的发展,例如分子生物学及分子遗传学。同时,在医学科学领域中,核酸的结构和功能变化在疾病发生和发展中的作用颇受重视,并应用一些核酸类的药物或一些干扰核酸合成制剂作为治疗措施在临床中应用。

本章中将讨论核酸代谢的一些最基本的问题。

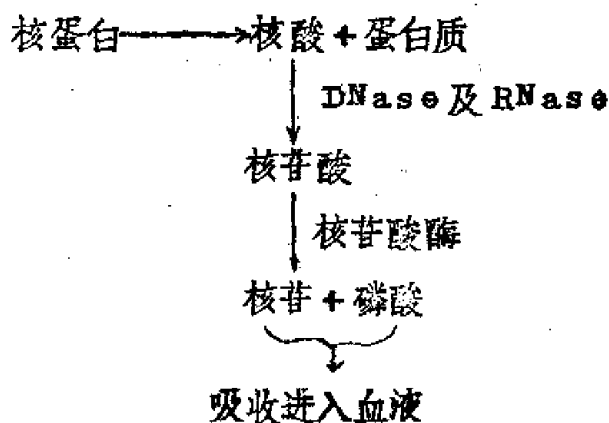
第一节 核酸的消化与吸收

食物中的核酸可以是游离的,也可以是与蛋白质相结合的(即核蛋白)。

核蛋白在胃和小肠中被分解为核酸及蛋白质。核酸在小肠中受胰液及肠液中的脱氧核糖核酸酶(DNase)及核糖核酸酶(RNase)的作用,分别将DNA及RNA水解为各种核苷酸。后者进一步被肠液中核苷酸酶水解为核苷及磷酸。核苷可直接被吸收,也可继续水解为碱基及戊糖而被吸收。但核酸水解产物主要为核苷及磷酸。

已被水解的核酸各种成分被肠绒毛上皮细胞吸收后，由门静脉进入肝脏。

即



第二节 水解核酸的酶

为了叙述方便，先介绍一种多核苷酸链的简化表示方法。图7-1是一个三核苷酸的详细表示方法与简化法。在简化法中，以垂直线表示戊糖的碳链，上端为C-1'位，下端为C-5'位，中间为C-3'位。以P表示磷酸基团，当把它放在垂直线左边时，表示磷酸在戊糖环的C-5'上酯化，而放在右边时则表示它被酯化在戊糖环的C-3'上。

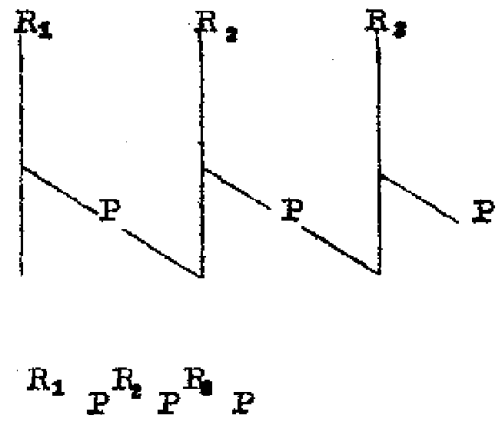
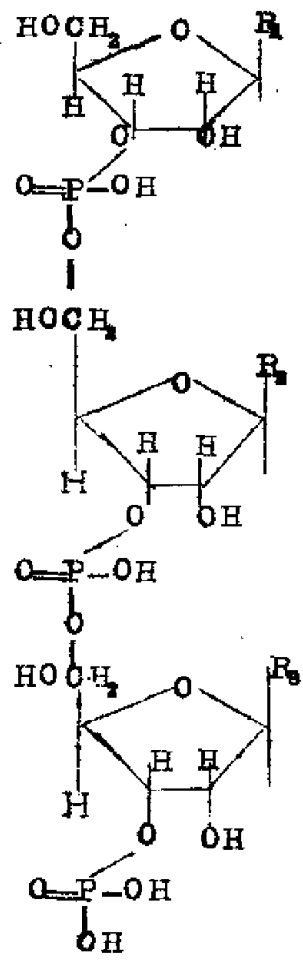
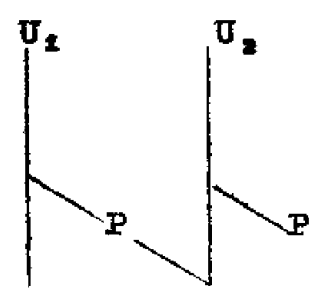


图7—1 含有 R_1 R_2 及 R_3 碱基的三核苷酸表示法

例如 $U_P U_P$ 表示一个二核苷酸，在第二个尿苷的 C-3' 上带有一个磷酸单酯。在第二个尿苷的 C-5' 和第一个尿苷的 C-3' 之间有一个磷酸二酯键。



为确定核酸的核苷酸排列顺序（即一级结构）以及测定多核苷酸的末端基团。常用不同的酶将其水解。现将常见的核酸酶介绍如下。

水解多核苷酸的酶都是切断核苷酸间的磷酸二酯键。因此可把它们看作是磷酸二酯酶。核酸酶主要有两种类型。

一、内切核酸酶

又称核酸解聚酶或核酸磷酸二酯酶。它们可作用于核酸链内部的键，将其切断成各种小的片段。这一类酶又包括作用于RNA的核糖核酸酶（RNase）和作用于DNA的脱氧核糖核酸酶（DNase）。

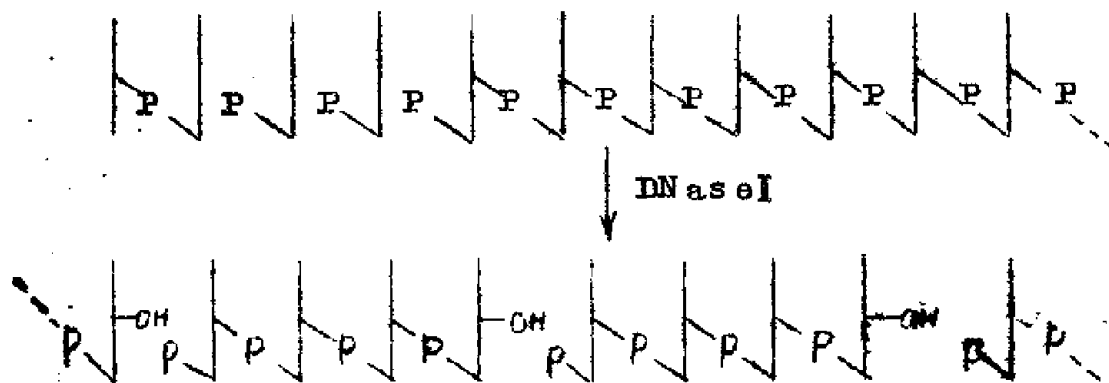
（一）核糖核酸酶 此酶最早是从胰脏中提纯的，其最适 pH 为7-7.5，最适温度为65℃。它的主要作用是切开核苷酸序列中嘧啶核苷酸C-3'上的磷酸基与下一个核苷酸C-5'相连接的键。也就是说，它是一个具有高度特异性的磷酸二酯酶。例如有这样一个多核苷酸：

A-C-C-C-C-A-G-G-G-U-U-U-A-G-U-GP，被RNase分解为 A-C- / C- / U- / C- / A-G-G-G-U- / U- / U- / A-G-U- / UP 产生 A-GP + A-G-G-G-Up + A-G-Up + 3OP + 2UP 即5个嘧啶单核苷酸，一个二核苷酸，一个三核苷酸和一个五核苷酸。也就是说，RNase对RNA作用的最终结果，是产生嘧啶单核苷酸和具有2、3、4或5个核苷酸单位的寡核苷酸。这些寡核苷酸是由嘌呤核苷酸单位组成的，但末端是一个嘧啶核苷酸。

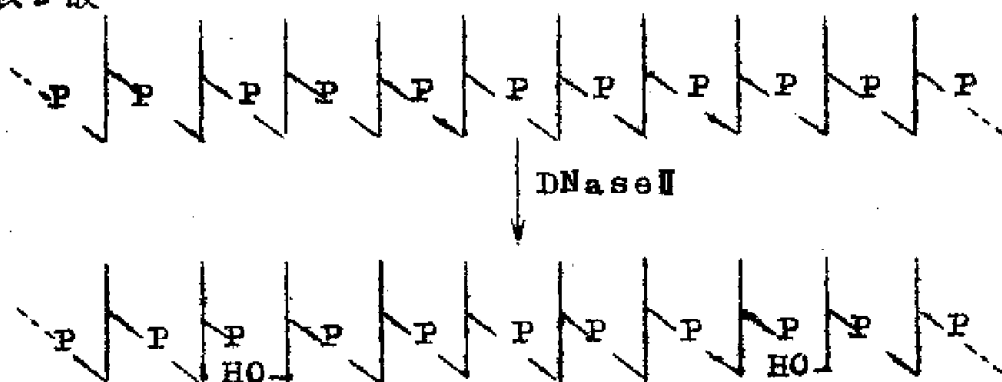
（二）脱氧核糖核酸酶（DNase），又可分为两种类型。

1. 脱氧核糖核酸酶1（DNase1）（E.C. 3.1.4.5） 最适作用 pH 在6.8-8.2之间。又称中性DNase，需要 Mg^{2+} 激活。它可以将DNA打断，生成在3'-位上具有游离羟基和在5'-位上具有磷酸基的平均链

长为4个单位的寡核苷酸。例如，

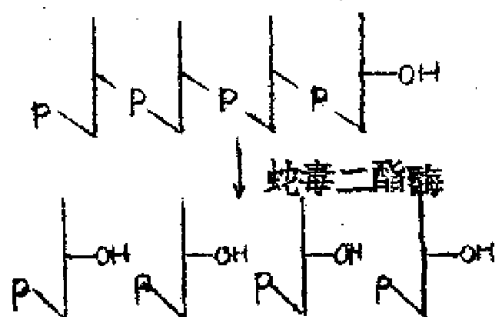


2. 脱氧核糖核酸酶 II (DNase II) (E.C. 3.1.4.6) 作用的最适 PH 在4.5-5.5之间。又称酸性DNase,不需 Mg^{+2} 离子激活,它可将DNA降解为平均为6个单位核苷酸的具有游离的5'-羟基和3'-磷酸基的核苷酸

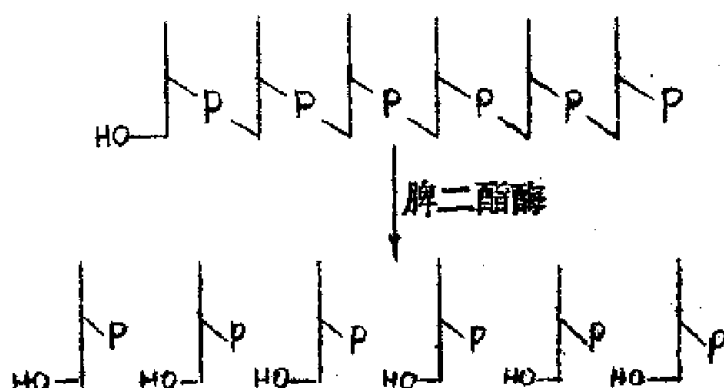


二、外切核酸酶或磷酸二酯酶 (E.C. 3.1.4.1)

这种酶是以从链的一端连续地除去单核苷酸的方式作用于RNA或DNA。包括蛇毒磷酸二酯酶及脾磷酸二酯酶。前者可从3'-羟基端开始将RNA水解成5'-核苷酸,也可以将DNase I作用后生成的寡核苷酸进一步水解为5'-脱氧核糖核苷酸,即:



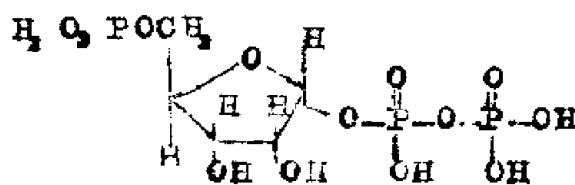
而脾磷酸二酯酶，则可以从5'-羟基端开始将RNA水解成3'-核苷酸，也可以将DNase II 作用后生成的寡核苷酸进一步水解，生成3'-脱氧核糖核苷酸。即：



第三节 核苷酸的生物合成

一、嘌呤核苷酸的生物合成

在细胞中合成的往往不是游离的嘌呤，而是它们相应的核苷一磷酸。现已查明，嘌呤生物合成的起始物质是5'-磷酸核糖-1-焦磷酸[PRPP]



PRPP 乃是由 5-磷酸核糖进一步磷酸化而成。在磷酸核糖焦磷酸酰胺转移酶的作用下，PRPP 接受了谷氨酰胺的一个氨基产生 5-磷酸核糖胺 (PRA)，PRA 与甘氨酸反应得到甘氨酰胺核糖核苷酸 (GAR)，GAR 甲酰化为甲酰 GAR，随后即胺化为甲酰甘氨脒核糖核苷酸 (甲酰 GAM)。闭环后生成 5-氨基咪唑核糖核苷酸 (AIR)。AIR 经羧化生成 5-氨基-4-羧基咪唑核糖核苷酸 (羧基-AIR)。此后经过 5-氨基-4-琥珀酸甲酰胺咪唑核糖核苷酸 (琥珀酸-AICAR) 及 AICAR，生成甲酰-AICAR，脱水闭环即得到次黄嘌呤核苷酸 (IMP)。

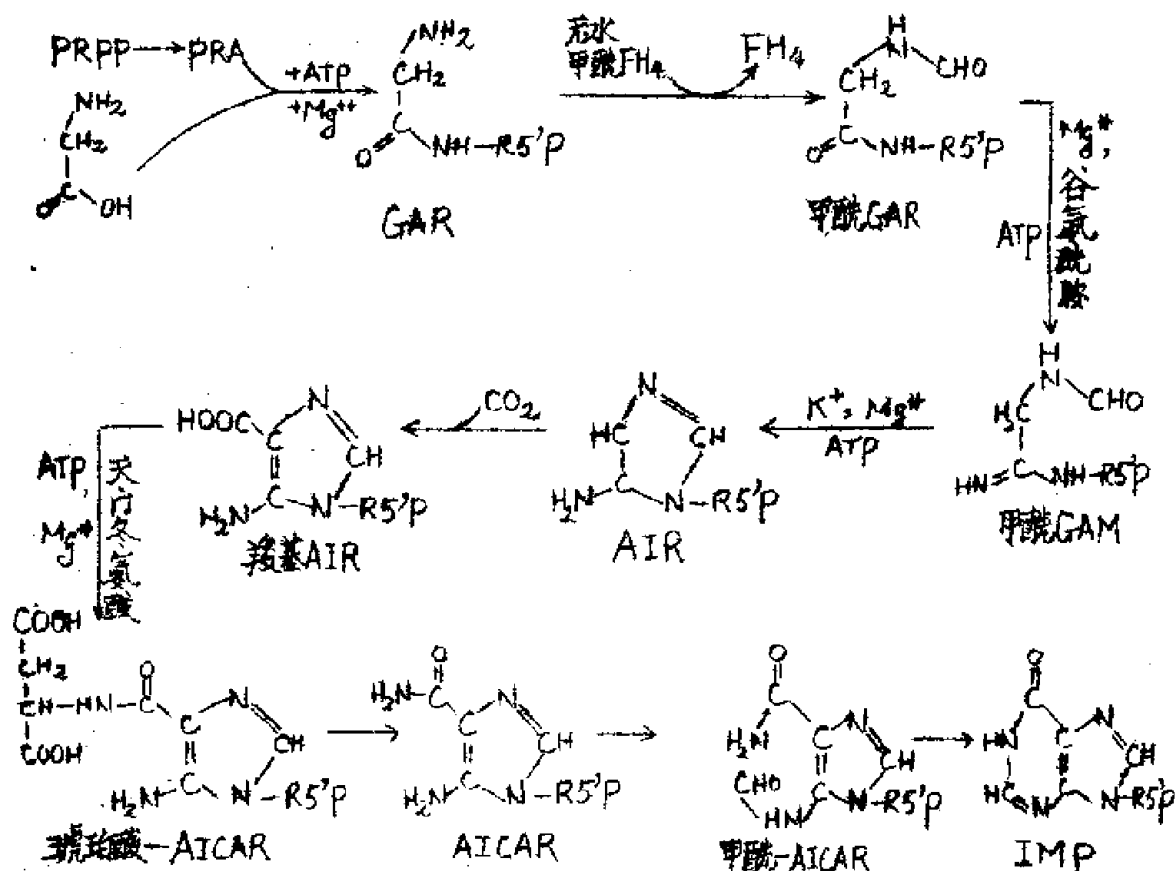
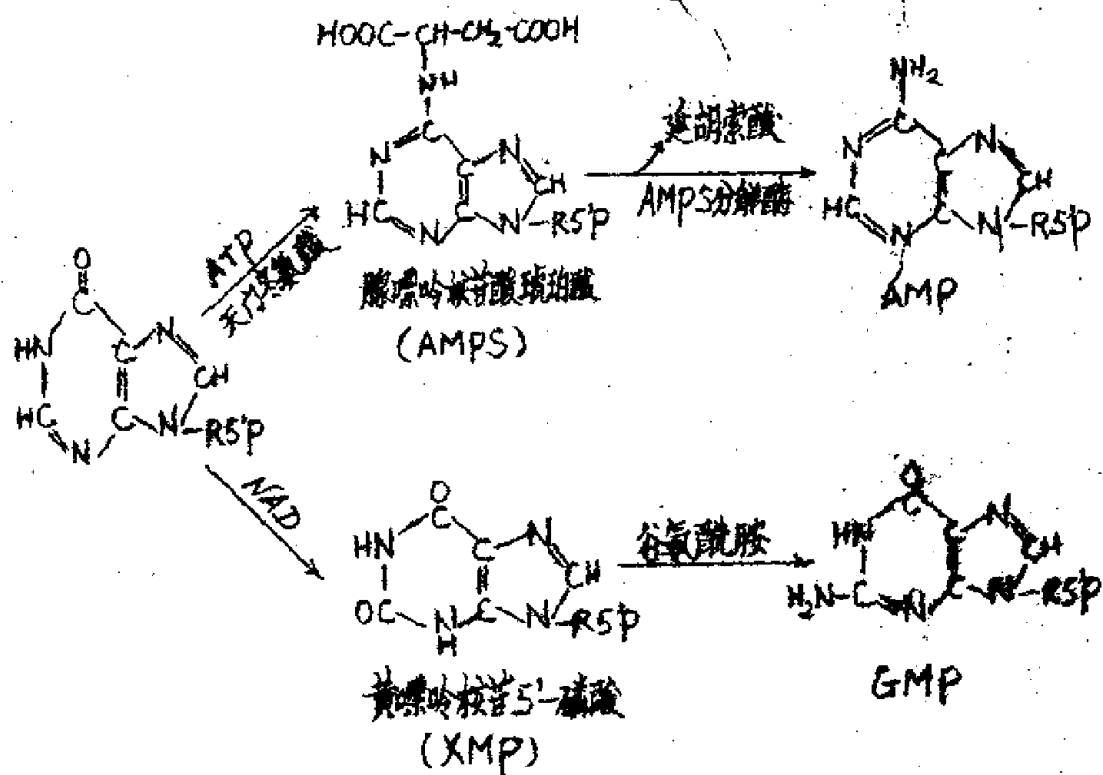
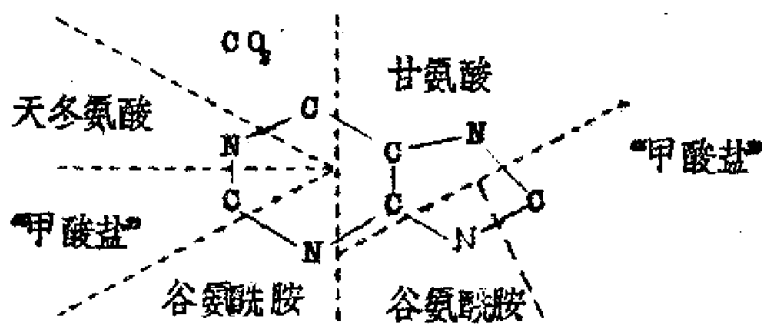


图 7-2 IMP 的生物合成

IMP 可视为嘌呤核苷酸的母体，由它生成腺嘌呤核苷酸 (AMP) 及鸟嘌呤核苷酸 (GMP)。



同位素标记实验证明，嘌呤环中各组成原子的来源如下。



生成的 AMP 和 GMP，在激酶催化下，即可磷酸化为 ATP 及 GTP。

也曾有人证明，嘌呤碱能与核糖-1-磷酸作用生成核苷，然后在磷酸激酶催化下被 ATP 磷酸化为核苷酸。

二、嘧啶核苷酸的生物合成

嘧啶核苷酸的合成同嘌呤一样，也是先合成母体单核苷酸——尿嘧啶核苷 5'——磷酸，UMP。然后在激酶作用下，经两步磷酸化形成尿嘧啶核苷 5'——三磷酸(UTP)。后者在CTP合成酶催化下，由ATP提供能量加氨生成胞嘧啶核苷 5'——三磷酸(CTP)。这一系列过程可总结于图 7—3。

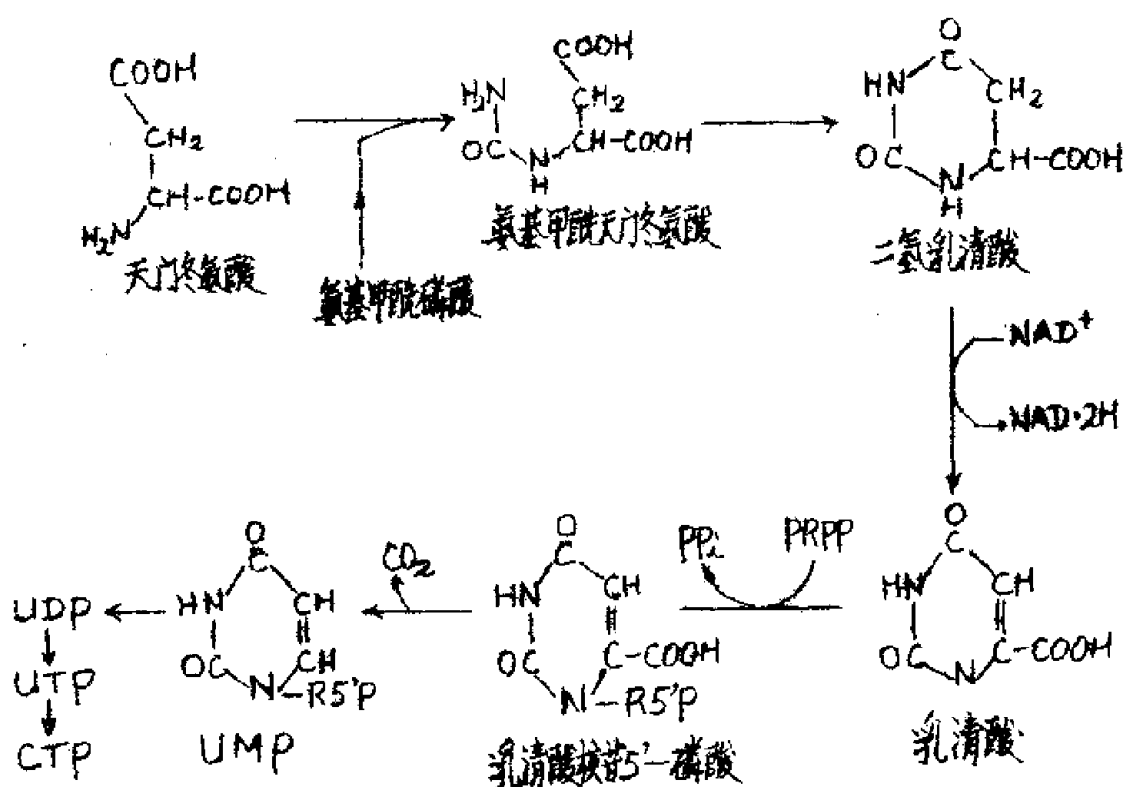


图 7—3 嘧啶核苷酸的生物合成

三、脱氧核糖核苷酸的生物合成

脱氧核糖核苷酸的生物合成，主要由相应的核糖核苷酸的核糖脱氧

而成。例如由腺嘌呤核苷二磷酸(ADP)、鸟嘌呤核苷二磷酸(GDP)及胞核苷二磷酸(CDP)的核糖脱氧分别生成dADP、dGDP及dCDP,然后经过磷酸化而得dATP、dGTP及dCTP。胸腺嘧啶三核苷酸(dTTP)的合成,除可由胸腺嘧啶在激酶作用下合成外,还可以由脱氧尿苷一磷酸(dUMP)甲基化产生的胸腺嘧啶核苷一磷酸(dTMP)磷酸化生成。这些过程可简要示于下图。

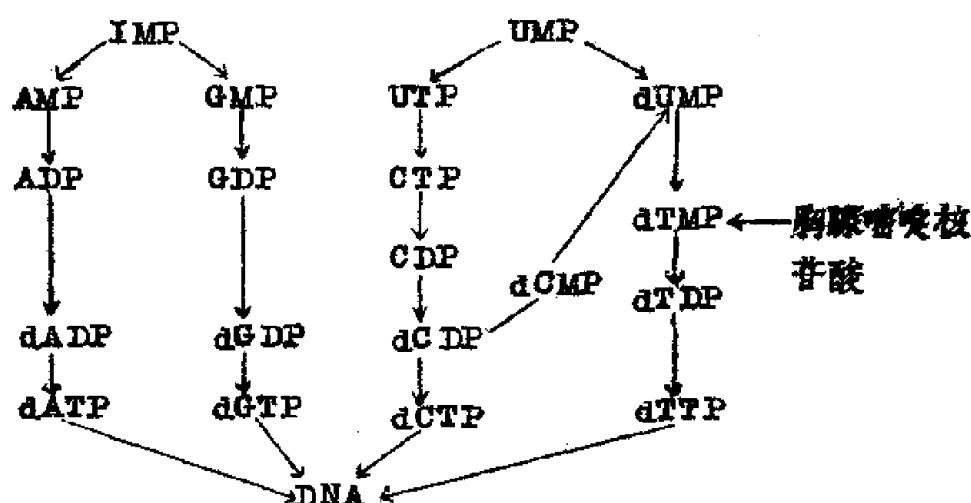


图 7—4 脱氧核糖核苷酸三磷酸的生物合成简要图

第 四 节 核酸的生物合成及其生物学意义

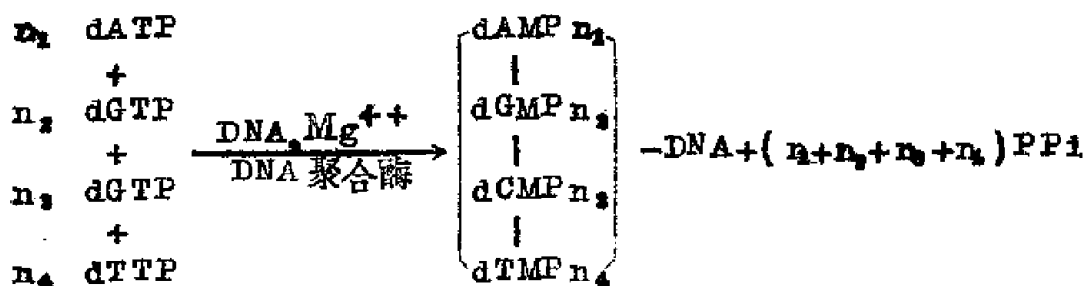
核酸的生物合成是同生物遗传密切相联的。我们经常看到,儿女一般都长得像父母,俗话说的“种瓜得瓜,种豆得豆”,也是指的同样现象。这是因为在细胞内有一种叫做“遗传物质”的,它可以将所储存的生物遗传信息传递给子代。所谓遗传物质,就是以核酸和蛋白质为主要成分的能被染色的“染色体”,而染色体的主要结构单位是直线排列在它上面的“基因”。基因是基本的遗传单位,它的物质基础是核酸分子

中具有一定排列顺序的核苷酸序列，确切地说是碱基的排列顺序。所以说，核酸是生物遗传的物质基础。

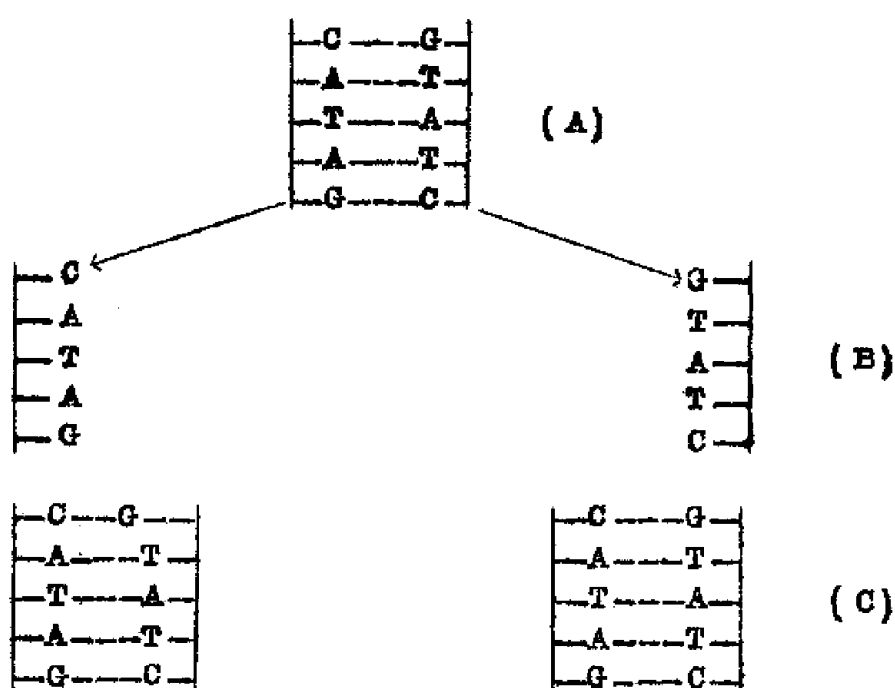
那么，生物体系究竟怎样将储存于核酸分子中的遗传信息传递给子代呢？首先，核酸必须随着细胞分裂一分为二地复制自己，使其所含的遗传信息传下去；其次，子代的核酸分子需要采取某种方式将遗传信息在代谢过程中表现出来——基因表现。我们知道，细胞的每一代谢过程实际上是一系列生物化学反应的复杂过程，其中每一个生化反应都是在酶的催化下进行的。而巳知所有的酶都是蛋白质，因此，生物遗传信息需要从核酸传递给蛋白质，也就是说基因通过一定的酶（蛋白质）的合成来控制代谢。这个过程就叫做“遗传信息的原初表现过程”。这个过程包括：1. 复制——生物遗传信息从DNA到DNA的自我传递过程，2. 转录——生物遗传信息从DNA到RNA的传递过程，3. 翻译——生物遗传信息从RNA到蛋白质的传递过程。这就是说，核酸分子的碱基序列（即核苷酸单体的排列顺序）以密码的方式控制着蛋白质分子氨基酸的序列。

一、DNA 的复制

1959年 Kornberg 氏发现了一种酶，叫做DNA聚合酶。在有 Mg^{++} 存在时，由它催化下列反应：



但是这种反应不是杂乱无章地进行的，而是在一种叫“模板”或“引物”的DNA参与下进行的。换句话说，DNA的合成必须以“模板”为母体，按照碱基互补的原则进行，这样才能得到与母体完全相同的子代DNA分子。例如，我们可以将双螺旋DNA分子中的一小段展开平铺如下图(A)，并假设这两条单链可以彼此分开(B)，单链中的每一个碱基通过互补原则从周围介质中选择相应的脱氧核苷酸，并以氢键的方式相结合，这样，就生成了两个与母体分子完全相同的子代DNA(C)，即复制品。DNA生物合成的这一过程称为复制(*replication*或*duplication*)。



催化上述DNA复制的酶——DNA聚合酶(DNA核苷酸转移酶或复制酶)，已经从大肠杆菌提取液中制得了高度的纯品，而且已发现哺乳动物组织中也含有此酶。增殖迅速的细胞(如骨髓、胸腺、再生肝及肿瘤)中含量尤为丰富。

上述DNA复制的方式已用同位素标记实验加以证实。先将大肠杆菌在96.5%同位素纯度的 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ 培养基中培养14代，使其DNA分子被 ^{15}N 充分标记。然后转移到 $^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$ 培养基中培养。定时取样品分离DNA，并把它分解，通过紫外吸收确定 ^{15}N 或 ^{14}N 标记的DNA带的位置。得到如图7—5所示的结果。这类实验表明，在DNA合成中，每个原有的DNA分子分裂为两个亚单位，每个亚单位各到一个不同的子分子中去。每个子分子的另一亚单位是新合成的产物。如果加热将这一DNA分子分解，则得到一条 ^{15}N -标记的单链和一条 ^{14}N -标记的单链。

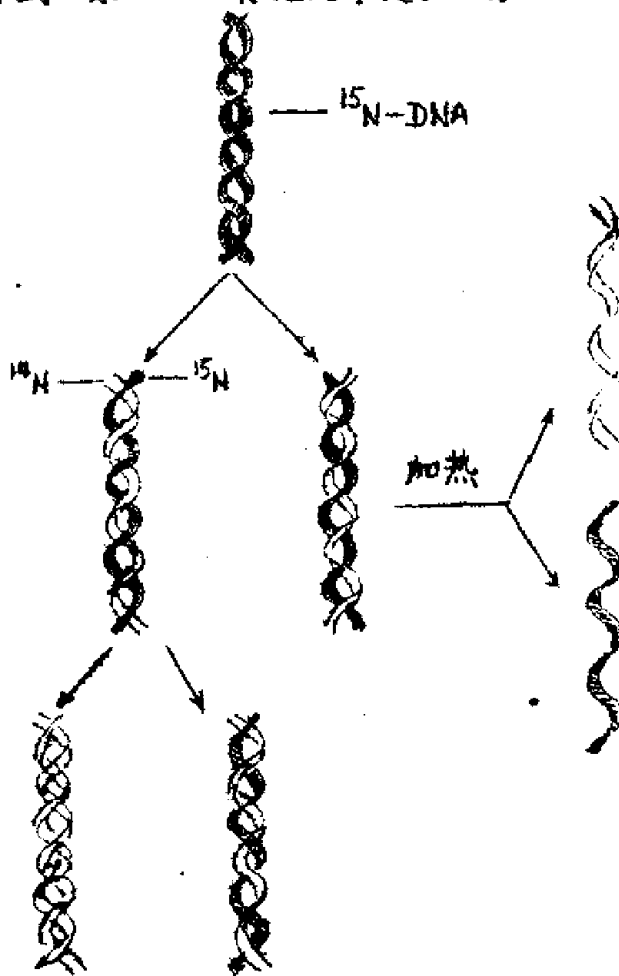
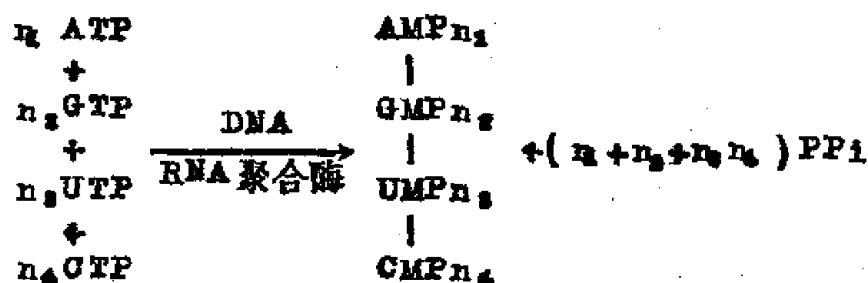


图7—5 DNA 的复制

当然，还有一些问题没有得到最后的答案：1. 双链是如何解开的？2. 前面已提到，DNA双螺旋中两条链的方向是相反的（一条是5'→3'，另一条为3'→5'），但是到目前为止只发现能按5'→3'方向复制的DNA聚合酶，而未发现按3'→5'方向复制的酶促反应。

二、转 录

转录实际上是在DNA模板上合成RNA的过程。这是在“依赖于DNA的RNA聚合酶”（又称转录酶）催化下进行的一个反应：



在这一过程中，也是按照碱基互补的原则（只不过要以尿嘧啶核苷酸代替DNA分子中的胸腺嘧啶核苷酸，即按G-C、A-U的配对方式）以DNA分子中的一条链为模板进行。所以上述中的A、G、U、C核苷三磷酸是RNA聚合酶作用的底物，产物（AMP_{n₁}-GMP_{n₂}-UMP_{n₃}-CMP_{n₄}）是同模板DNA互补的RNA，我们把它称作DNA的“复制体”。

虽然，转录只按DNA的一条链的碱基顺序进行，但是另一条也是不可缺少的，因为以单链DNA为模板转录出来的RNA没有生物活性，有人认为，另一条DNA链可能在运转新合成的RNA上起到一定作用。

三、翻 译

核酸由四种核苷酸组成，好比由四个字母组成的文字，蛋白质由20种氨基酸组成，又好比由20个字母组成的文字。因此，核酸分子中包

含的生物信息传递到蛋白质分子中，就好象四个字母的核酸文字“翻译”成20个字母的蛋白质文字。因此称为翻译(translation)。这个过程是以密码方式进行的。由三个核苷酸组成一个“密码子”，每一个密码子对应着一个氨基酸，因此共有 $4^3=64$ 种可能的密码子。这64个密码子所对应的氨基酸已得以证实。详见表7—1。关于翻译的详细过程将在蛋白质代谢中讨论。

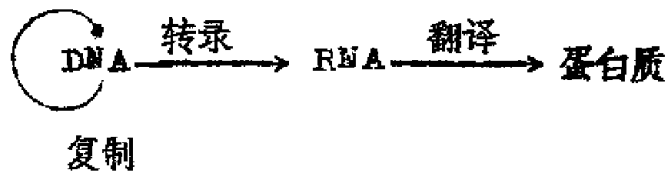
表7—1

遗传密码表

5'-OH 端核苷酸	中 央 核 苷 酸				3'-OH 端核苷酸
	U	C	A	G	
U	苯丙 苯丙 亮亮	丝 丝 丝 丝	酪 酪 终止密码子 终止密码子	半胱 半胱 终止密码子 色	U C A G
C	亮亮 亮亮 亮亮		组 组 组 组	精 精 精 精	U C A G
A	异亮 异亮 异亮 甲硫*	苏 苏 苏 苏	天冬酰胺 天冬酰胺 赖 赖	丝 丝 精 精	U C A G
G	缬 缬 缬 缬*	丙 丙 丙 丙	天冬 天冬 谷 谷	甘 甘 甘 甘	U C A G

* 肽链起始密码子。

上述DNA自我复制、RNA的转录及翻译这一系列过程，被称之为“中心法则”（*Central Dogma*）。即：



中心法则

但近年来发现，在依赖于RNA的DNA聚合酶作用下，可以RNA为模板合成DNA。由于这一过程与转录恰恰相反，故称之为反转录。催化这一反应的酶也相应地称为反转录酶（*reverse transcriptase*）。反转录酶不仅见于大肠杆菌、某些病毒，而且也见于包括人在内的哺乳动物的肿瘤细胞中。这种现象的意义如何，是值得注意的动向。

在讨论了核酸合成的一整套过程以后，我们就可以进一步理解它作为生物遗传的物质基础的生物学意义了。我们知道，不同种属的生物具有不同的特征，而这种生物特征是由其代谢类型决定的。代谢类型乃是代谢物在体内变化的途径和速度，而这些又是由酶决定的。不同种属的生物，因其体内酶类的差异，而表现代谢类型的不同，同种属的生物正是由于含有相同的酶类，才表现为极为一致的代谢类型。由上述DNA复制、RNA转录及翻译为蛋白质的一系列过程来看，子代之所以能保持与亲本相同的遗传特征，正是由于亲本通过上述过程把合成酶的信息准确地遗传给子代的结果。

第五节 核酸的分解代谢

核酸分子在细胞内经内切与外切核酸酶的作用，分解为单核苷酸。