

医学生物化学丛书

核酸生物化学

张昌颖 主编



人民卫生出版社

医学生物化学丛书

核酸生物化学

主编 张昌颖

编者 (按章顺序排列)

张昌颖	张迺衡	董苍玉
童坦君	梁康	周爱儒
贾弘禔		

人民卫生出版社

(京)新登字 081 号

内 容 提 要

本书围绕生物科学的中心法则基本内容,并结合医学科学的特点,着重介绍了DNA的结构与DNA的合成(包括DNA的复制及反转录作用)、RNA的结构及RNA的合成(转录作用)、蛋白质的生物合成及基因表达的调控。对于核酸的构件单位即核酸合成的原料—核苷酸,其在体内的代谢途径及调节也作了介绍。随着DNA重组技术的发展,基因工程已成为制药工业、农业生产以及生物、医学及农业科学研究中的重要手段,使工作提高到新水平。本书对基因工程的基本原理及应用也作了专门介绍。本书注意了结合医学科学介绍核酸生物化学的基本内容。

本书供生物化学工作者使用,并可作为医药院校本科生及研究生学习分子生物学中核酸部分的基本教材及参考书,也可供从事医药研究工作者的参考。

医学生物化学丛书
核 酸 生 物 化 学
张昌颖 主编

人民卫生出版社出版
(北京市崇文区天坛西里10号)
人民卫生出版社胶印厂印刷
新华书店北京发行所发行

850×1168毫米32开本 12 $\frac{3}{4}$ 印张 4插页 330千字

1993年11月第1版 1993年11月第1版第1次印刷

印数:00 001—1 500

ISBN 7-117-01927-1/R·1928 定价:13.90元

〔科技新书目297 · 167〕

《医学生物化学丛书》出版说明

《医用生物化学》作为医学院校师生和临床医生学习生物化学的参考书,自1979年出版后受到读者的好评与鼓励。但是,生物化学领域进展十分迅速,近年来无论是基础生化理论,或是联系到医学实践的知识,都有很大的发展,出现了不少新观点或新突破,书中有许多内容需要更新补充。另一方面,本书编写时,由于受当时思想的束缚,有不少重要的生物化学基础理论知识未能予以充分阐明,这是我们一直引以为憾的。因此,经过酝酿准备,我们着手对此书作全面修订。为了适应当前教学、科研、医疗对生物化学的广泛需要,力求及时反映国内外的成就和进展,决定将《医用生物化学》改为一套《医学生物化学丛书》,分册陆续出版。丛书暂定为八册,每一分册有一主题,由上海第一医学院、大连医学院、山东医学院、和北京医学院的生物化学教研室分工负责编写。

为了编好这套丛书,成立了《医学生物化学丛书》编写委员会,由顾天爵、张昌颖、陈惠黎、李茂深、林钧材、王明运等同志组成,负责审定各分册的主题及编写内容。

丛书仍会有一些不够完善之处,恳望广大读者提供宝贵意见。丛书的出版,如能对读者有参考价值,编者将感到十分高兴。

《医学生物化学丛书》编委会

F1747/08

[1]

前 言

核酸的生物化学是生物化学中重要部分,是基因工程学及分子遗传学的基础,是生物化学工作者研究的热门课题,故将其列于医学生物化学丛书中的一个分册。然而我们认为与其作为丛书出现,还不如将其编写成为一种高级教材为好,更为实用。高级教材的编写是由浅入深,所取材料均为已较肯定者,使读者易于理解,尤其要避免虽新而失实的资料,以便教普通生物化学者可用作参考资料,教高级课程者作为教材,而一般对核酸感兴趣者亦能阅读不感困难。有了如此一些理由,我们毅然不顾原有安排而改变编写方式,此乃本由来也。

本书内容试图包括核酸生物化学各个方面,既有化学又有代谢,既有结构又有功能,既有其构件单位多种衍生物的生物学作用又有其功能的表达与调控,还有蛋白质的生物合成以及基因工程方面的原理及应用。虽然如此,遗漏和不当的安排仍在所难免。

本书系数人所撰写,笔调不一,我未加以修改,仅对其内容的增减及安排提出意见,对其不当之处加以核对和纠正,并试将用字用词作到一致,使全书成为一个整体,不致杂乱无章。

本书所用名词,除不用“底物”而用“作用物”之外,其它均为一般常用者。

本书系初次编写,不免有遗误,望有识之士多加指正。

张 昌 颖

1993. 8. 1

目 录

第一章 绪论	1
第二章 脱氧核糖核酸	5
第一节 DNA 的结构	5
一、DNA 的构件分子及构件单位	5
二、DNA 的一级结构	12
三、DNA 的二级结构	30
四、DNA 的三级结构——环状 DNA 及超螺旋	43
五、DNA 的性质	49
六、DNA 的分离和提取	55
七、DNA 在生物界体内的存在形式	62
第二节 DNA 的合成	64
一、DNA 的复制	64
二、反转录	96
三、DNA 的修复	99
四、基因重组	106
第三章 核糖核酸	116
第一节 概论	116
一、RNA 的特点及其与 DNA 的差异	116
二、RNA 的分布	118
第二节 RNA 的种类	118
一、细胞质及细胞核中的 RNA	118
二、tRNA	119
三、mRNA	121
四、rRNA	122
五、snRNA	124
第三节 RNA 的分子结构	125
一、RNA 的化学组成	125

二、RNA 的一级结构	133
三、RNA 的二级结构及其与功能的关系	147
四、RNA 的三级结构	154
第四节 RNA 的生物合成	156
一、转录作用及其特点	157
二、RNA 聚合酶	159
三、转录过程的具体步骤	161
四、转录初级产物(RNA 前体)的加工	167
第五节 酶 RNA(具有酶活性的 RNA)	186
一、概述	186
二、酶 RNA 的特点及作用方式	187
三、剪接型酶 RNA 及其作用机制	189
四、剪切型酶 RNA 及其作用机制	192
第四章 蛋白质生物合成	200
第一节 遗传密(暗)码	205
一、遗传密(暗)码的破译	205
二、遗传密码的解读	212
三、突变与校正	213
第二节 原核细胞蛋白质生物合成	216
一、氨基酰 tRNA 的合成	221
二、起始复合体的形成	227
三、延伸作用	231
四、终止	235
五、核蛋白体循环与多核蛋白体	237
六、原核生物蛋白质合成的某些抑制因素	238
第三节 真核细胞蛋白质生物合成	242
一、真核生物与原核生物蛋白质合成的异同	242
二、真核生物蛋白质合成机构的组分	242
三、真核细胞蛋白质生物合成的起动	246
四、真核细胞蛋白质合成过程的特点	258
五、蛋白质合成后的加工修饰和亚单位聚合	263

六、分泌蛋白的合成与分泌	267
七、线粒体的蛋白质合成	272
八、蛋白质合成的异常与分子病	273
九、蛋白质的体外合成	277
第五章 基因表达的调控	285
第一节 原核细胞基因表达的调控	285
一、lac 的阻遏调节	286
二、lac 的正调节	288
三、阿拉伯糖操纵子的调控	290
四、色氨酸操纵子的调控	290
第二节 真核细胞基因表达的调控	293
一、染色质的激活	293
二、启动基因与增强子	298
三、基因表达的组织特异性	301
四、转录作用的 DNA 与蛋白质相互作用	303
第六章 核苷酸代谢	307
第一节 核酸的消化与核苷酸的分布、功能	307
第二节 嘌呤核苷酸代谢	310
一、嘌呤核苷酸的合成代谢	310
二、嘌呤核苷酸的分解代谢	327
三、嘌呤核苷酸代谢异常的疾病	330
第三节 嘧啶核苷酸代谢	332
一、嘧啶核苷酸的合成代谢	332
二、嘧啶核苷酸的分解代谢	339
三、嘧啶核苷酸代谢异常的疾病	339
第四节 核苷酸的抗代谢物	341
一、嘌呤类似物	341
二、嘧啶类似物	342
三、叶酸类似物	343
四、核苷酸类似物与突变	345
五、核苷酸类似物与细胞筛选	346

第七章 基因工程	348
第一节 基因工程概论	349
一、工具酶	349
二、目的基因的获取	355
三、基因载体的选择	360
四、基因与载体的连接	375
五、转化和转染	378
六、重组体的筛选	380
七、目的基因的表达	382
第二节 基因工程技术应用	384
一、生产蛋白质制品	384
二、生物分子结构与功能分析	387
三、基因工程在医学中的应用	392

第一章 绪 论

核酸(nucleic acid),特别是脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA),在生物界中,堪称生物大分子(biomacromolecule)中之最重要者,主宰一切生物体维持其生命的各种机能的正常运行,也使每个物种一代一代繁衍于世;如果在其结构上稍有变动、差错、缺少或增多,将会出现突变、缺陷以及疾患等等现象,所以核酸已成为生物化学、遗传学以及其它有关生命的学科的研究热门课题,其覆盖面之广,进展之速,为其它学科所望尘莫及。本书着重将有关核酸的基本知识及一些新进展作一粗略介绍。

核酸的研究是 1868 年 Miescher 从脓细胞核里提取出核质(nuclein)开始的。核质当时被视为细胞里一种特异含磷化合物,其实是结合蛋白质中的核蛋白(nucleoprotein),在去除其蛋白质后,即得核酸。后来核酸研究工作者发现小牛胸腺是制备核酸的好原料,并将所制得的核酸加以水解,于是从水解液中除磷酸之外,获得腺嘌呤(adenine)、鸟嘌呤(guanine)、胞嘧啶(cytosine)、胸腺嘧啶(thymine)及脱氧核糖(deoxyribose);同时将此种核酸称作胸腺核酸,一直到本世纪 30 年代仍沿用此名。另外有人从酵母中获得与上述从胸腺中获得者不尽相同的核酸,其组成成分不含胸腺嘧啶而含尿嘧啶(uracil),也不含脱氧核糖而含核糖(ribose),因此而叫作核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)。接着,从植物中制备出一些与从酵母中所获得者相似的核酸,于是有人认为来自动物细胞核的核酸是 DNA,而来源于植物细胞核者则是 RNA。不过这种看法的正确性不久即引起疑议,一直到本世纪 40 年代许多实验结果确凿证明,在生物界中所发现的核酸只有 DNA 及 RNA 两类,它们都是动物、植物及微生物等细胞的正常组成成分,同时还发现 DNA 存在于胞核中,而 RNA 则较多的出现在胞质内;然而核酸的分布亦不尽然如此。动物细胞的线粒体中亦有 DNA 的存在。除此之外,病毒的主要组成成分是核酸,有的是 DNA,也有的

是 RNA。

在弄清 DNA 与 RNA 同时存在于生物细胞中之前,即已发现核酸在水解作用中,可逐渐分解成核苷酸(nucleotide)及核苷(nucleoside),并以磷酸、戊糖及一些含氮杂环碱为最终产物如图 1-1 所示。从图 1-1 不难看出核酸是由四种核苷酸多次重复聚合而成的多核苷酸(polynucleotide)链。

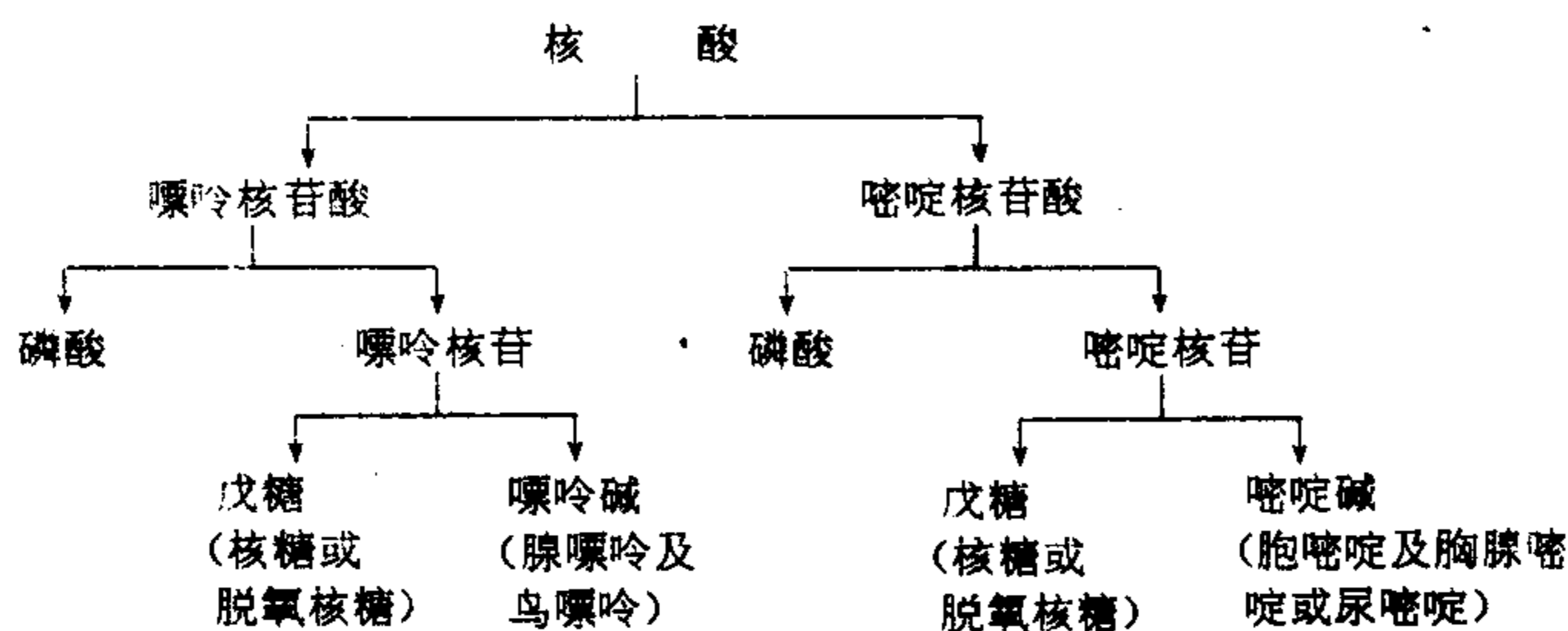
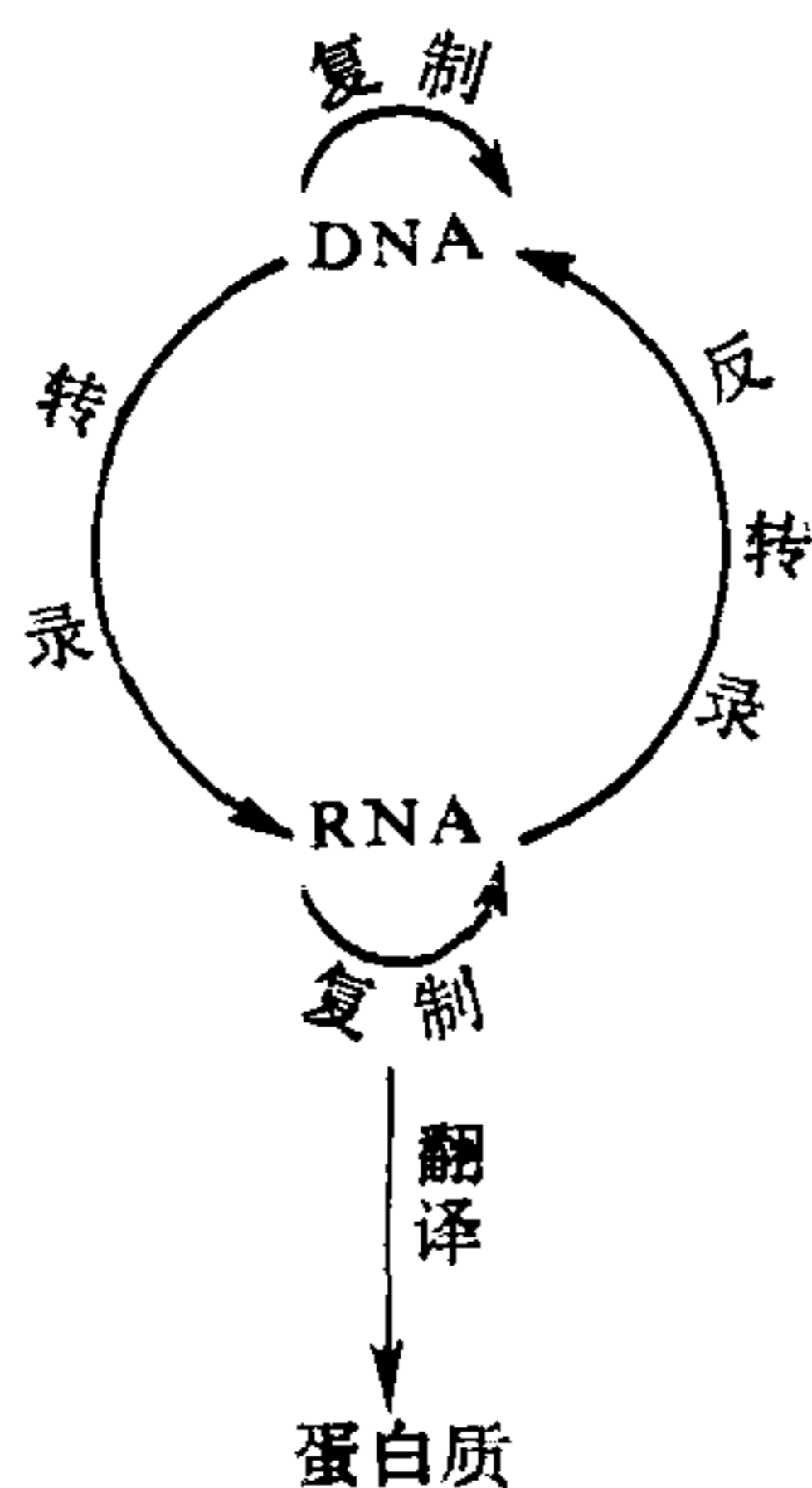


图 1-1 核酸的水解产物

Avery 等于 1944 年报道了从一株光滑型肺炎球菌提取出来的 DNA 能使另一株粗糙型肺炎球菌转化成光滑型,而且这种转化还能传代。这一发现令人们意识到,DNA 是遗传信息的携带者。1952 年 Hershey 观察到,当 T2 噬菌体侵染大肠杆菌时,其由蛋白质构成的外壳只将病毒的 DNA 注入宿主细胞,而其外壳则被弃于细胞外。病毒 DNA 在进入细胞后,即指导宿主细胞复制(replication)许多与原来完全一样的 T2 噬菌体。这就意味着,病毒 DNA 不但携带有复制其本身的信息,而且还携带有制造构成其外壳蛋白质的信息。

Watson 与 S. Crick 于 1953 年提出 DNA 分子具有两股互补多核苷酸链的结构,即所谓 DNA 的双螺旋结构(double helix structure)。从这个结构可以看出,DNA 分子是能够复制的,利用其互补双股中每一股都可作为模板,即可合成与其互补的另一股。这样就能复制出两分子与原来一样的 DNA。如此多次重复,所复制的 DNA 将是不可胜数了。

从这些发现及其它一些研究成果,不难得出 DNA 是遗传信息的携带者,而且其所携带的信息具有双重功能。就真核细胞而言,其一是 DNA 将信息转录给 RNA,亦即以 DNA 为模板在胞核内生成 RNA 的过程,然后 RNA 又将其所得信息翻译成蛋白质,这实际是以 RNA 为模板在胞质中将各种氨基酸(amino acid)连接成蛋白质的过程。在原核细胞中,虽无胞核与胞质之分,但是 DNA 仍然是将所携带的信息转录给 RNA,而 RNA 也是照样把信息翻译成蛋白质的。所以,DNA 通过 RNA 能使各种细胞制造其所需要的各种特异蛋白质,使生物体体内一切机能得以正常运行,以致生命得以持续。其二是 DNA 本身能够复制,因而一个细胞即会衍变为两个细胞,通过不断分裂和分化,结果生成一个新的生物体;这样,一个物种才会世世代代繁衍不息。一般将 DNA 的这两种功能的实现途径总括为分子生物学中心法则(central dogma of molecular biology)。不过近来发现致癌 RNA 病毒,在宿主体内,有的具有指导 DNA 聚合酶,亦即 RNA 依赖 DNA 聚合酶(RNA directed DNA polymerase)合成 DNA 的作用,借以生成新的 RNA 病毒;还有的在 RNA 合成酶(RNA synthetase)的作用下能够自身复制。这些新发现都无损于分子生物学中心法则的正确性,而只是一些补充而已。这样就不能不将表达分子生物学中心法则的简单方式改变如下:



由于实验技术及方法的更新和改善,核酸研究的发展已达到能够探得有关 DNA 的结构、复制及表达的复杂性和精巧性。同时对各种 RNA 的生成、结构、性质及功能等亦有所了解。核酸分子中核苷酸的排列顺序已不难测得,其人工合成也已成为事实。DNA 分子如有损伤,可以修补;如有拆,可以重组;如需改变,还可以修饰。不但如此,应用各种限制性核酸内切酶(restriction endonuclease,以下简称限制性内切酶)已能将 DNA 分子所携带的基

因辨认和取出,并将其中为人们所需要者移入另一种生物体的DNA中,使其在后者体内发挥其特有的作用;借此,物种得以改良,遗传性疾患亦可获得矫正;如果接受移入基因的是细菌,因其繁殖迅速的特点,可以利用以制造出大量为人们所需要的生物学活性物质。DNA研究在这些方面的发展迅猛异常;且其领域极其广阔,因此基因工程(genetic engineering)即应运而创立。

DNA是染色体(chromosome)的最重要组成成分,与碱性的组蛋白(histone)及为数众多的酸性蛋白质相结合,按照自然规律分布于各个染色体中,将其所携带的基因在生物体体内发挥其功能。DNA显然是生命和遗传的主宰者,其作用的发挥和表达并非出于偶然及随机的,所以不是杂乱无章,而是受多种因素的调节控制的,因而一个生物体方能正常生长、发育、生存及繁殖,而且在所处环境有改变或为有害物所侵害时,也能或多或少的有所适应。

核苷酸主要是核酸的构件单位,但并不排除其在生物体体内还有其它生物学功能。核苷酸亦称磷酸核苷,其分子如上所述是由戊糖、磷酸和含氮杂环碱组成。而含氮杂环碱除核酸的几种构件分子之外,在生物体体内还有其它一些这类化合物;它亦能与戊糖和磷酸形成核苷酸。因此除核酸构件单位及其衍生物之外,还有多种核苷酸,其中有的是储存和转运能量的物质,有的是激素的信使,有的是某些酶的辅酶或辅基,也有的是活化某些物质的化合物,如此等等。此外,即使是核苷酸的水解产物,核苷,如在其分子组成中稍有改变,就能在生物体体内起生化药理作用,成为代谢抑制剂,多被用作抗生素或抗肿瘤药物。

从以上所述来看,核酸毫无疑问是具有主宰生命及遗传的功能的。之所以有这种功能,当然与其结构有关,因此要弄清和理解核酸的生物学功能,首先对其结构、理化性质及代谢过程必须有所了解。

(张昌颖)

第二章 脱氧核糖核酸

生物界中,但凡一个细胞(成熟的红细胞除外)都含有脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA),甚至有些病毒虽然没有细胞结构,也含有 DNA。DNA 在其结构中蕴藏着决定遗传、细胞分裂、分化、生长以及蛋白质生物合成等等生命过程的信息。由此可见, DNA 能控制和维持生命过程中各种机能的运行,也能使一个物种一代一代传下去。不但如此, DNA 在生物体为适应环境或受刺激时,会稍改变其结构,从而使一个物种较其前辈更为优越。更有甚者, DNA 由于分子结构的改变及种类的增多,在进化的长河中,起着无可争辩的作用。尤其值得一提者,现在用人工方法已能在 DNA 分子中引进特殊 DNA 片段,一方面可以改良物种,而另一方面也可以使某些生物体大量制造为医疗、工业及农业所需的蛋白质及肽(详见基因工程章)。

第一节 DNA 的结构

一、DNA 的构件分子及构件单位

核酸,不论是 DNA 抑或是 RNA,在水解过程中,首先产生的是核苷酸,继而是核苷及磷酸,最后是含氮杂环碱及戊糖(图 1-1)。足见核苷酸是核酸的构件单位(building-block unit),而含氮杂环碱、戊糖及磷酸则是核酸的构件分子(building-block molecule)。为弄清 DNA 的结构,不能不先从核酸的构件分子讲起,然后再论及核苷酸。核苷是水解中间产物,也应有所论及。

1. 含氮杂环碱 核酸的构件分子中含氮杂环碱有嘧啶碱(Pyrimidine)及嘌呤碱(purine)两大类。

嘧啶碱 核酸中的嘧啶碱都是嘧啶的衍生物。胞嘧啶是 DNA 及 RNA 分子中所共有的,而胸腺嘧啶则只存在于 DNA 分子中,在 RNA 分子中则由尿嘧啶代替。这三种是核酸分子中的主要嘧

嘧啶碱。当然还有一些次要的,如 5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine)在高等植物(如麦胚中)及动物 DNA 中亦有少量存在;又如 5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethyl cytosine)在 T 噬菌体的 DNA 中代替了胞嘧啶。至于在 RNA 中,尤其在转移 RNA(即 tRNA)中,还发现多种其它的嘧啶碱(第三章)(图 2-1)。

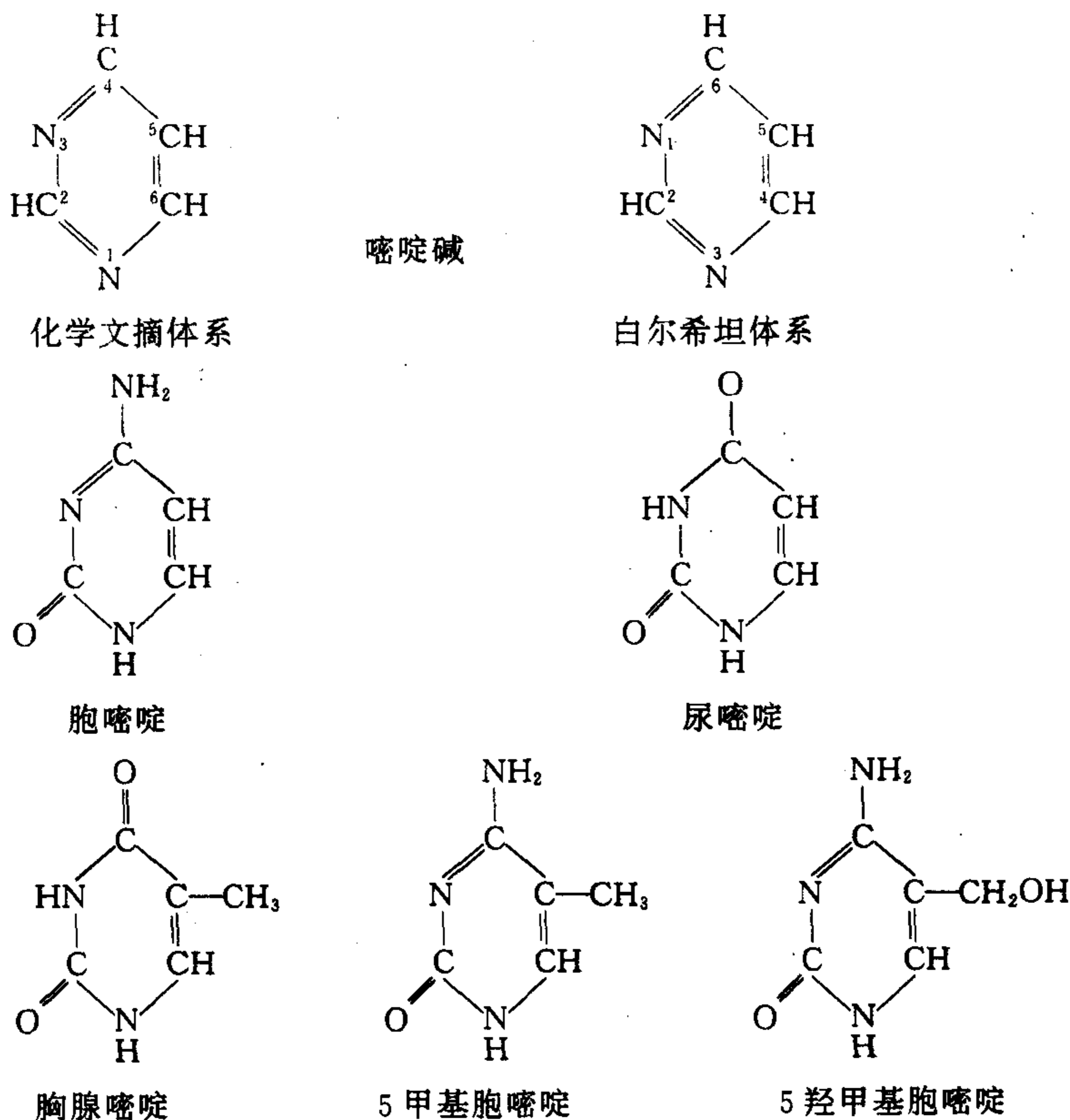


图 2-1 嘧啶碱的构造式

嘧啶碱总是以内酰胺与内酰亚胺互变异构(lactan-lactim tautomerism)的形式存在,所以可以书写成两种形式,在中性及酸性 pH 中,内酰胺型在数量上占优势。这种异构现象,以尿嘧啶为例,可书写如下:

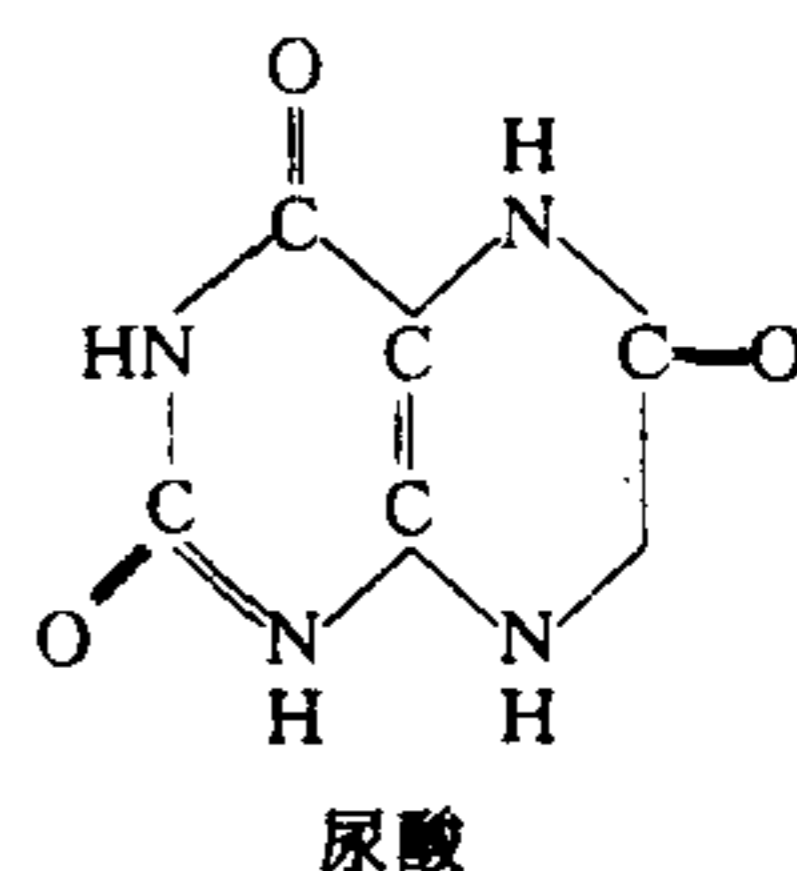
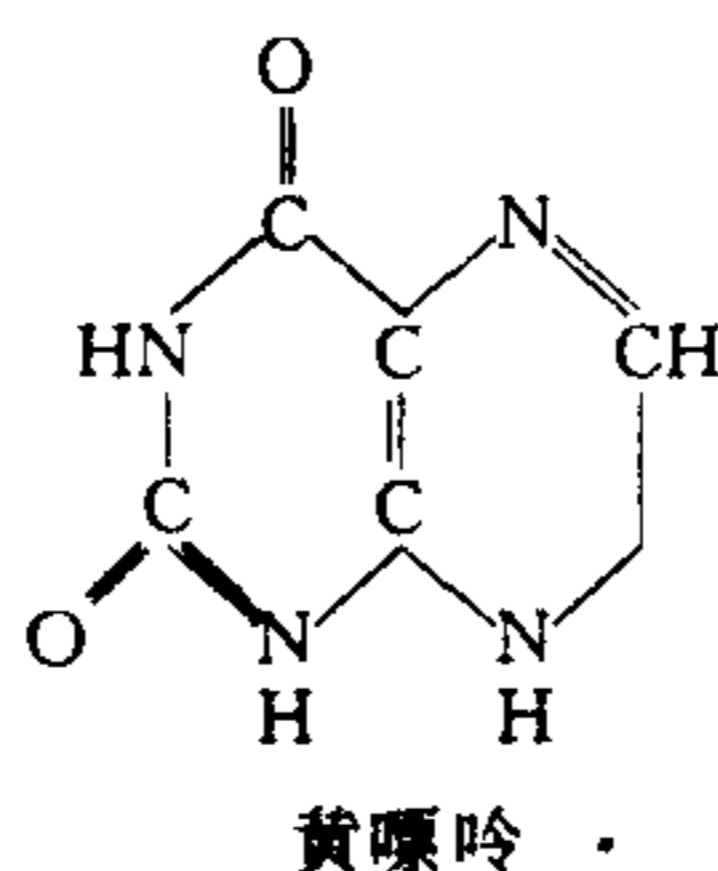
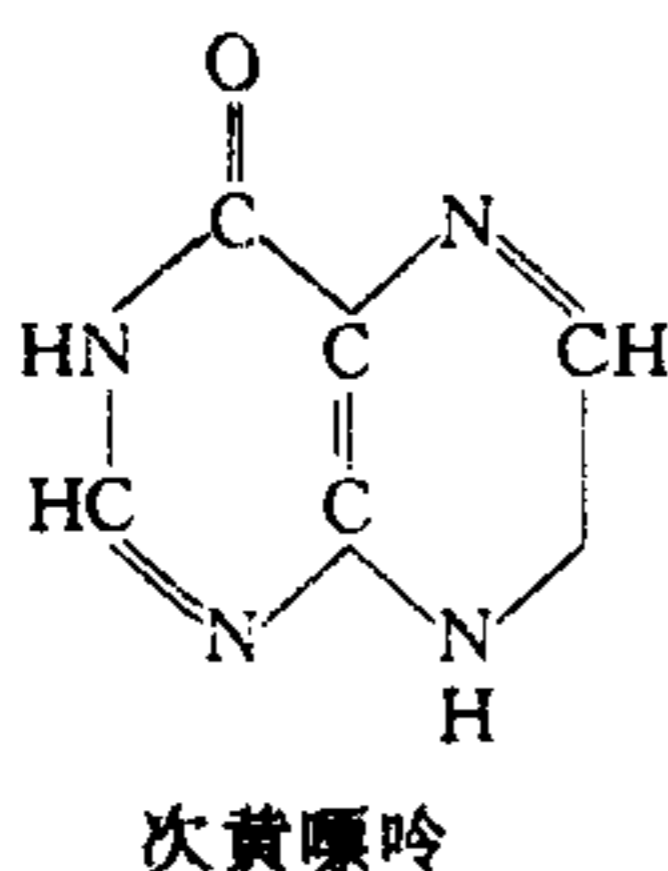
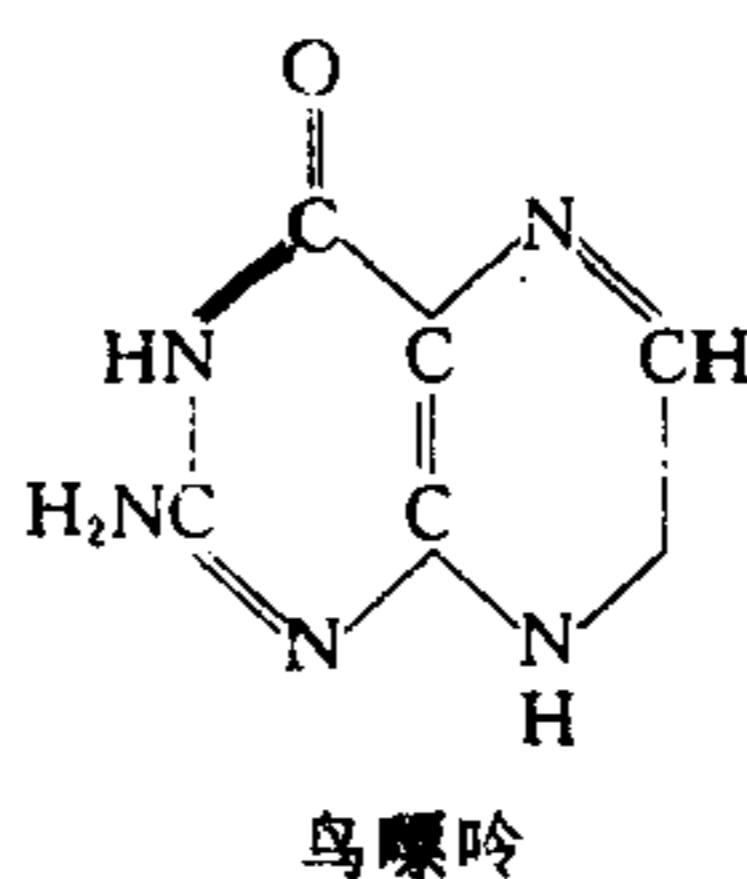
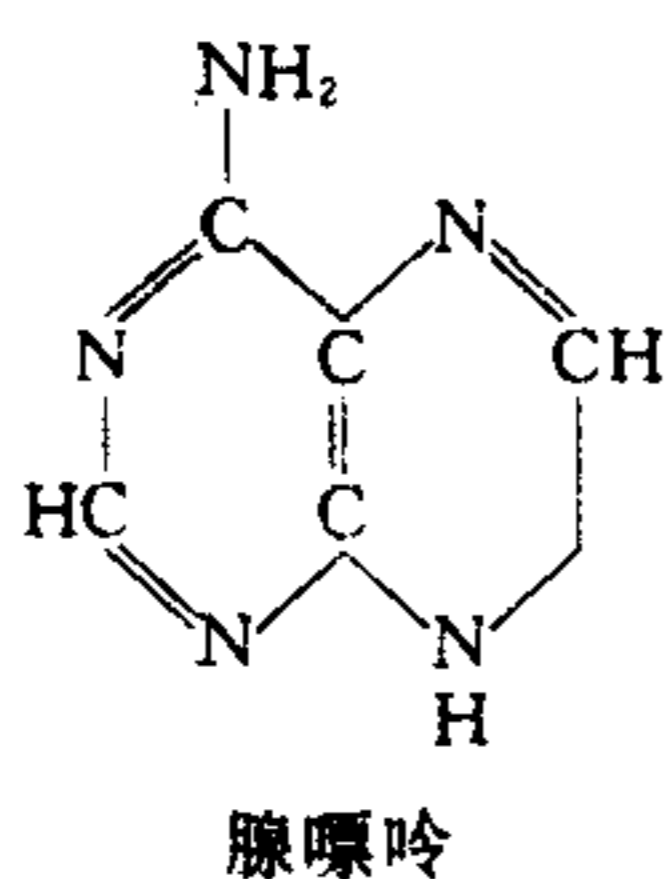
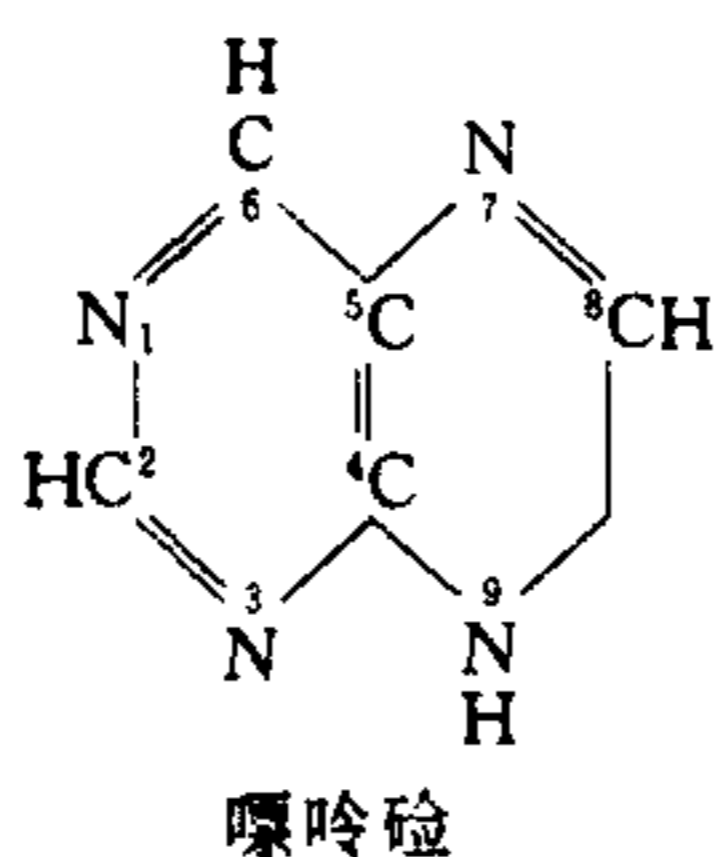
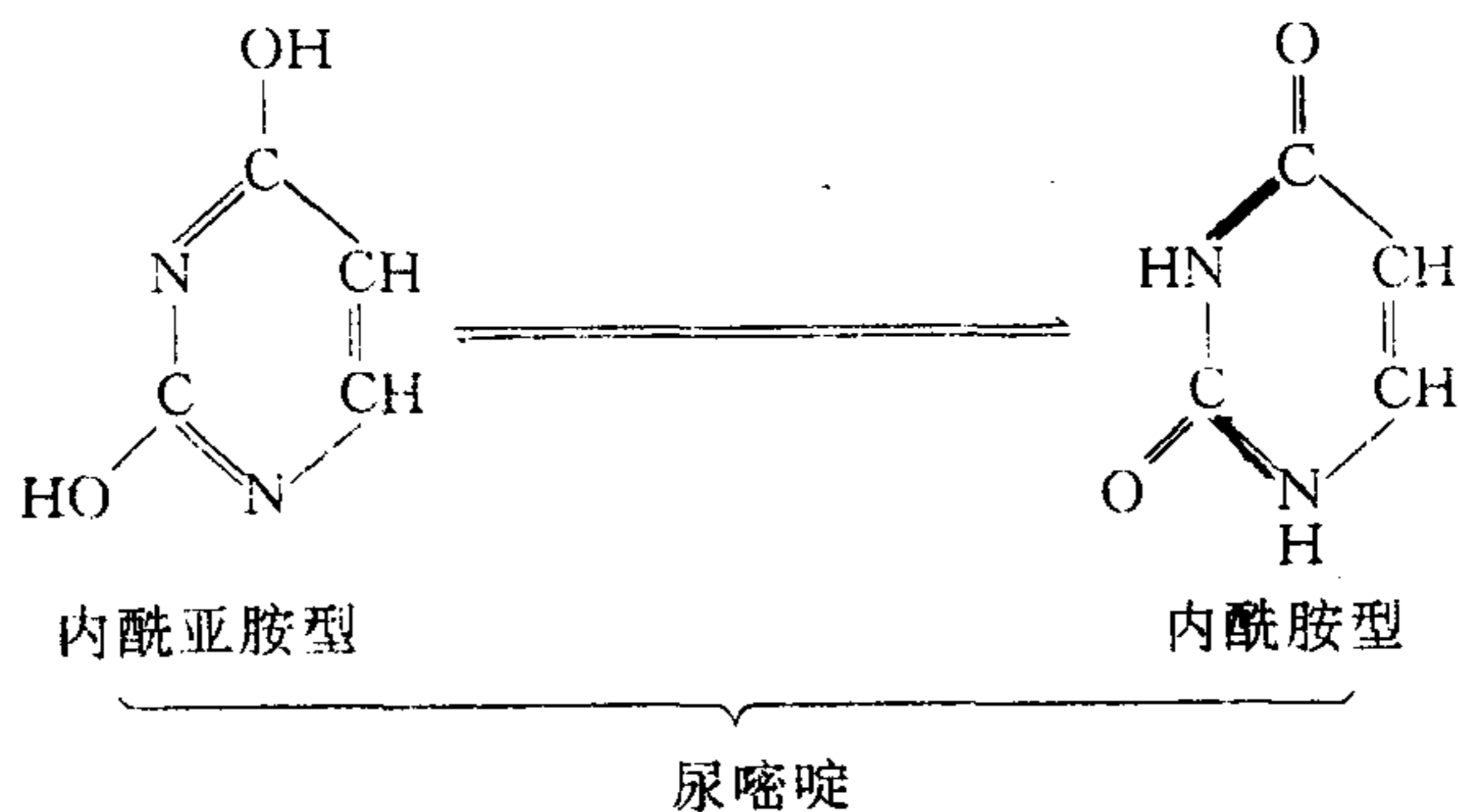
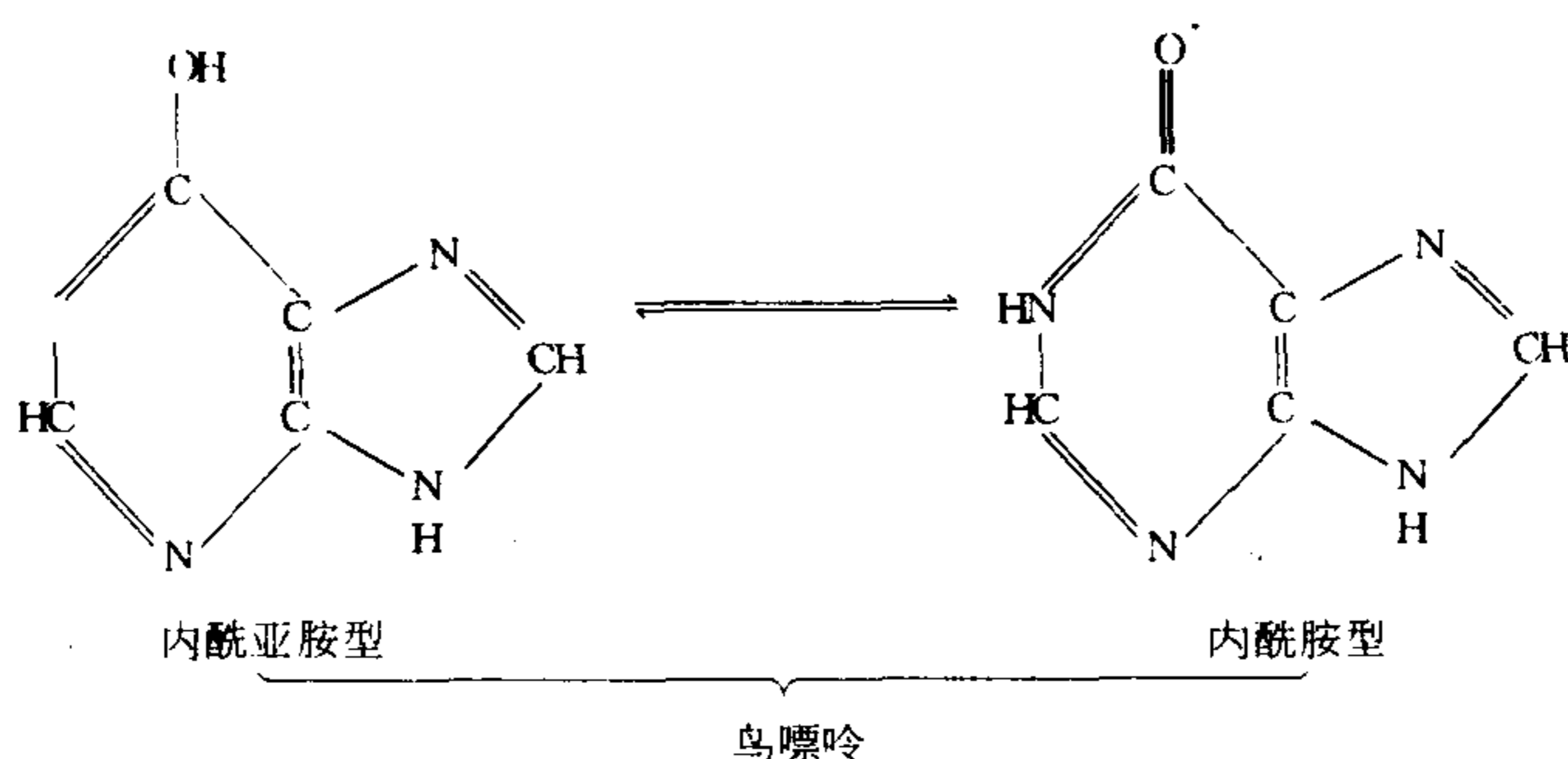


图 2-2 嘌呤碱的构造式

嘌呤碱 核酸中的嘌呤碱都是嘌呤衍生物，其中腺嘌呤及鸟嘌呤是 DNA 及 RNA 分子中两种主要嘌呤碱。此外，在许多种细

菌的 DNA 中已发现有少量的 6-甲基腺嘌呤的存在；从不同来源的 tRNA 中多种甲基腺嘌呤及甲基鸟嘌呤亦有发现。一般来说，甲基嘌呤及甲基嘧啶等衍生物往往是核酸合成之后经过甲基化生成的，而这种甲基化的功能，在某些情况下，可能起着保护 DNA 被限制性内切酶切割的作用(图 2-2)。

嘌呤碱与嘧啶碱相似，亦具有内酰胺与内酰亚胺互变异构现象，如鸟嘌呤所示。



2. 戊糖 核酸分子中的戊糖已完全弄清楚了，在 RNA 中的为核糖，在 DNA 中的为脱氧核糖(实际是 2-脱氧核糖)；它们都是以环状的呋喃糖的形式出现的(图 2-3)

为了使戊糖分子中碳原子的编号在核酸分子中不与含氮杂环碱中的有所混淆，一般在其编号右上角上加一撇号，如 1'、2'、3' 等等，而于含氮杂环碱中各原子的编号则不加任何另外的符号。

戊糖在核酸分子中之所以有不同构象乃是由于其呋喃糖环在不同情况下产生不同褶皱(puckering)所造成的。呋喃糖中 C-2' 或 C-3' 一般是在由其它四个原子形成的平面之外的。如果这两个碳原子之一居于平面之上，亦即与 C-5' 和 N 同在一边，就叫作内型(Endo)；反之，如居于平面之下，则叫作外型(exo)型，如图 2-4 所示。一般在核苷、核苷酸甚至核酸中，C-3' 或 C-2' 的内型是主要的，并与其相应外型有一种平衡关系。

呋喃核糖及呋喃脱氧核糖的构象是可以受一些因素的影响而改变的。从核磁共振对呋喃戊糖在腺苷及尿苷等衍生物构象的研