

專 題 綜 述

核糖核酸在生物体内的含量
及其作用

中国科学技术情报研究所

1959年5月

专 題 綜 述
核糖核酸在生物体内的
含量及其作用

編輯者 中国科学技术情报研究所
出版 北京朝内大街 117 号

印刷者 新 华 印 刷 厂

发行处 中国科学技术情报研究所
訂購 北京朝内大街 117 号

工本費: 0.89 元

1959 年 5 月出版

核糖核酸在生物体内的含量及其作用

前 言

核酸自 1871 年 (F. Miescher) 发现以后至 1930 年由于结构不同, 分别称为两种不同的核酸: 一为核糖核酸 (ribonucleic acid—以下简称 RNA), 一为去氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid—以下简称 DNA)。现今有人认为 DNA 与遗传有关, 而 RNA 则在蛋白质合成与代谢中有很大的作用。研究 RNA 在机体内所起的作用对于阐明与揭发生命现象的基本规律是有重大意义的。近年来国内外对这一问题都给予极大的注意, 并积累了不少的资料。今就 RNA 在机体内的含量与分布、RNA 在植物病毒繁殖中的意义和植物病毒的重建问题, 以及 RNA 与蛋白质生物合成的关系等, 分别予以简介。

本文编写时参考了下列专著与文献:

1. The Nucleic Acid Vol. II. E. Chargaff, J. E. Davidson (1955)

2. Biochemical Cytology J. Bracht (1957)

3. Нуклеиновые кислоты и размножение вирусов А. С. Кривиский Успехи Совм. Биол., 45, 3, 286 (1958)

并包括了 1957—1958 年与部分 1959 年的有关文献。

本文承沈同教授审校, 谨此致谢。

目 录

RNA 在生物体内的含量与变化	(1)
RNA 在各种组织中的含量的比较	(1)
生殖细胞形成与胚胎发育和生长	(1)
机体的营养状况	(2)
再生与肿瘤	(3)
内分泌的影响	(4)
物理化学因子的影响	(5)
RNA 与植物病毒	(6)
RNA 对植物病毒繁殖的影响	(6)
关于病毒 RNA 的感染性	(7)
病毒的重建及其对遗传的影响	(8)
RNA 与病毒的的结构	(9)
RNA 与蛋白质合成的关系	(11)
RNA 促进蛋白质合成的证明	(11)
胞核与胞质在蛋白质合成中的作用	(11)
核 RNA 与胞质 RNA 的关系	(13)
蛋白质合成与模板学说	(14)
参考文献	(15)

RNA 在生物体内的含量与变化

RNA 在各种組織中的含量的比較

組織中 RNA 的含量与 DNA 的含量显然不同，DNA 仅限于核与染色体中，而 RNA 則变化較大，一般多与細胞本身生理活动有很大的关系。不同的組織中 RNA 的含量差別也很大。I. Leslie (1955) 曾列表比較了各种高等动物組織中 RNA 与 DNA 的含量。肝脏組織和胰脏組織中 RNA-P/DNA-P 比值一般都比其它組織为高，即单位組織重量中 RNA 含量較多，如鼠胰脏每 100 克新鮮組織中 RNA-P 的含量可高达 198 微克 (R. Y. Thomson, F. C. Heagy 等人, 1953)。其它如小腸、顎下腺等組織的 RNA-P 都在 50 微克以上 (每 100 克組織) (R. Y. Thomson 等人, 1953, W. G. Wiest 与 C. Heidelberger, 1953)。特别是在家蚕 (*Bombyx mori*) 絲腺分泌时，RNA 含量較儲藏时显著增多 (J. M. Denucé, 1952)。RNA 在血小板中的含量比正常白血球少得多，但血小板中这种核酸的更新速度要比白血球 RNA 中磷的轉換速度快 9 倍，可見血小板的代謝比白血球强烈 (И. С. Луганова 等人 1958)。RNA 含量較低的組織多屬於机械性活动的組織，如心脏、肾脏、骨骼肌等。RNA 在細胞中的分布也是不一致的，鼠肝細胞的 RNA 有 86—90% 是含于胞質中，其余的含于核內；而网状內皮系統的 RNA 大部分都在核中，胞質中的含量較少 (W. C. Schneider 等人 1950)。

Bieth 与 Mandel (1953) 曾統計过各种动物相同的組織中核酸的含量，他們发现各种动物种族虽然不同，但他們相同的組織中 DNA 含量是近似的。細菌的 DNA 对决定种的特异性有很大的作用，即不同种的細菌，其 DNA 是不相同的。种类愈相近的細菌，DNA 的結構差別愈小，但 RNA 却相反，它不会受种的影响而改变其性質，所以 RNA 沒有明显的种的特异性 (A. С. Спирин, 等人 1957)。組織中的 RNA 与 DNA 也受到性別的影响，以致含量有所差异，有的組織 RNA-P/DNA-P 在雌性中較雄性为大，如果蝇的唾液腺 (R. Steele 等 1949)、幼虫、鷄的肝脏 (R. H. Common 等人, 1951) 即如此。果蝇唾液腺的 DNA-P 雌雄差別不大，而 RNA-P 在每器官中的总量無論在成体或幼虫中雌性远較雄性为大。RNA 在不同性別的鼠肝中的含量恰与果蝇情况相反 (M. L. Petermann 等人 1958)，除 DNA 的变化不大外，雌性所含的 RNA 都比雄性少 (M. F. Harisson 1953, R. M. Campbell 等人 1950)。这种不同种的雄雌个体 RNA 含量的改变，据 I. Leslie (1955) 的意見認為这是由于不同的性联染色体的形式所决定的。

生殖細胞形成与胚胎发育和生长

在精子形成时，蛋白質的合成与 RNA 的合成有着极其密切的关系 (J. Brachet 1957)。河七鰐鰻 (*Lampetra fluviatilis*) 的精原細胞在靜止时原生質中 RNA 的含量是不显著的。在精原細胞分裂时 RNA 显著增高，这种現象在幼魚性腺发育的各个过程中都可观察到，但当精細胞成熟时 RNA 含量就大为减少 (Л. А. Чубарева 1958)。

馬蛔虫 (*Parascaris equorum*) 卵子的原核中是沒有 DNA 与 RNA 存在的，也沒有組蛋白型的硷性蛋白发现，只有在形成受精卵之后，胞質嗜硷性增强，即此时有 RNA 的存在。作者認為

RNA 是受精卵形成过程中逐步产生的, 这种 RNA 并非由精細胞的进入而携带来的 (П. В. Мака-
ров 1958)。

在胚胎发育中, 原腸期有 RNA 合成的现象, 这种合成的出现是与蛋白質合成和耗氧量的增多有关。而在分裂的早期 RNA 的嘧啶、嘌呤掺合 $H^{15}H_4Cl$ 的能力几乎是沒有的, 只有到了囊胚初期其掺合能力才迅速增强, 特別在間質 (mesenchyma) 中尤为明显。随着胚胎发育的情况不同, RNA 的含量常呈一定的梯度的分布, 如在蛙胚发育的早期, 即在未受精的卵、受精卵和擘分卵中的 RNA 具有明显的梯度关系, 此时 RNA 从动极到植极逐步减少 (J. Brachet 1957)。当发育至原腸期, 又产生另一梯度, 自背部至腹部漸次减少, 即原腸期与神經期具背腹、前后的梯度关系。以后随着各个器官开始分化, RNA 的含量也逐漸增多, 最后又逐步减少。这种梯度的出现, 說明了卵黃以从未有过的速度向活跃的胞質成分—綫粒体、动質 (ergastoplasm) 不断轉移, 从这种梯度也可看出 RNA 在胎体中胞質因子 (Cytoplasmic factors) 的分布状况, 同时 RNA 对决定形态形成有着很大的关系, 如果 RNA 的代謝在胚胎发育时受到一定阻碍或引起某种紊乱时, 那末胎体的发育与分化必将受到抑制。嘌呤、嘧啶的化学类构物可使 RNA 合成速度减慢, 形态发生必将停止, 其它如雌性腺激素、二硝基酚以及能影响 RNA 代謝的藥物均能改变 RNA 的梯度状况, 胚胎发育必产生极度的畸形 (Cagianut, B., 1949, Waddington, C. H., 等 (1955) Brachet, J., 1957)。利用离心法使受精卵 RNA 的梯度发生改变, 結果胚胎头部不能发育, 在囊胚期如經离心处理, 則有发生双胚或三胚的可能。可見 RNA 在胚胎发展过程中具有很大的作用, 并随胎体的发展而改变, 但不能把 RNA 看作是唯一的活性作用物質, 必須注意到 RNA 与其它物質在发育过程中的相互关系, 如蛋白質, 它和 RNA 是相互配合、相互作用的。 (J. Brachet 1957)

动物由于年龄大小的不相同 RNA 的含量也有所变化, 即个体各器官的发育、生长速率可以从 RNA 的总量中体现出来。很早以前就有人注意到雞胚的肝細胞和血液中核苷酸浓度的总量比成年的含量为高 (T. Caspersson 与 B. Thorell 1941), 又如羊胎体組織的 RNA 也較成年体为高 (J. Davidson, C. Waymouth 1944), 实际上从每个細胞的 RNA 含量看来, 基本上是变化不大的, 或稍有增加, 而 RNA 在細胞的浓度則减小, 这是因为蛋白質和其它細胞成分增多的緣故 (I. Leslie 1955)。通常利用雞胚与鼠胚 RNA 浓度比成年动物为高, 借以說明核酸与蛋白質合成的关系 (D. V. N. Reddy 等 1952), 虽然在胚胎組織中能出現高浓度的 RNA, 但事实却不完全如此, 八天的雞胚每个細胞的 RNA 量只有二天小雞的三分之一 (I. Leslie 与 J. N. Davidson 1951), 十天的幼鼠所含的 RNA 浓度也比十九天的鼠为小 (R. Bieth 等 1948)。近年来也发现年龄較大的鼠比幼龄鼠 RNA 含量为多 (M. L. Petermann 等 1958)。

哺乳类动物細胞在活体外培养試驗中, 各个不同的生长期的 RNA 与 DNA 含量亦有差別 (N. P. Salzman 1959): 在延擱期 (Lag phase) RNA、DNA、蛋白質均迅速增长, 其增长的速度比在增长期 (logarithmic phase) 的繁殖細胞为快, 而当生长开始时, RNA 的含量立即急剧下降, 这种急剧下降的过程一直保持下去。在不同的生长期 RNA 的变化还表现在 RNA 合成速度有所不同, 在增长期 RNA 与 DNA 对鳥嘌呤的掺合速度大致相同, 而在延擱期 RNA 的掺合速度要加快二倍。这种现象在細菌培养时也获得了同样的結果 (H. E. Wade 与 D. M. Morgan 1957)。

机体的营养状况

RNA 不仅决定于机体本身的活动状态, 而且許多其它外界因子对它也同样有着一定的作用。首先是与营养状况有关, 早在 1943 年就有人 (H. W. Kosterlitz 与 I. D. Cramb) 发现鼠在飢餓或

摄取缺乏蛋白質的食物后,細胞的体积縮小,以后又陸續发觉 (H. W. Kosterlitz 1944, J. Brachet, R. Jeener 等 1946) 細胞質中的顆粒和戊糖 (Pentose) 减少。

Campbell 等 (1947) 注意到鼠在缺乏蛋白質食物一周后,单位重量的 RNA-P 下降,而 DNA 无变化。Davidson (1947) 与 Thomson 等 (1953) 也获得同样的結果。Mandel 及其同事观察了鼠在长期飢餓时 (50—70 天之后) 各种組織核酸的变化 (P. Mandel, M. Jacob 等 1950, M. Jacob, L. Mandel 等 1951), DNA 与細胞数量仍变化不大,只有鼠脾的 DNA 下降 55%,胞核也略有减少,而此时 RNA 在肝脏、肾脏、肌肉中显著下降 30—75%,但在脑中 RNA 与 DNA 即使在严重的长期的飢餓状态下仍无改变。Petermann 等 (1958) 实验証明,鼠在飢餓五天后, RNA 的下降仅限于非球体 (non-pellet) RNA,球体 RNA (pellet RNA 即細胞質微粒体中所含的 RNA) 并无变化,微粒体中的蛋白質却比原来的减少一半。这种看法似与 C. Vendrely 与 R. Vendrely (1950) 与 Muntwyle 等 (1950) 的結論有出入之处,他們則認為 RNA 的减少,主要是在微粒体部分 (microsomal fraction), 因为正常情况下肝細胞 RNA 总量的 50% 都含于其中。Petermann 等同时还提到微粒体蛋白質的减少与 W. Blernhard 等 (1952) 和 Faweett 等 (1955) 的結論是一致的,他們发现鼠在飢餓后用电子显微镜检查实质細胞 (Parenchymal cells), 胞内网状体 (endoplasmic reticulum) 与核蛋白顆粒 (nucleoprotein granules) 均减少,因为微粒体蛋白質主要是含于这些結構内。

鼠在飢餓后再进行飼餵二天, RNA 的总量可恢复到对照組的 80%, 其中非球体的 RNA (non-pellet RNA) 仍只有对照組的 60%, 但球体 RNA 却比正常的 RNA 含量高出 50%。微粒体蛋白質的 RNA:PNP 之比值恢复正常 (L. M. Petermann 1958)。

除了蛋白質营养影响 RNA 外,維生素对 RNA 亦有影响。动物飼料中如缺乏維生素 B₁₂, 肝細胞的核数量、DNA、RNA 量均显著减少 (M. R. Saharabudhe 等 1951, I. A. Rose 1952), 但对肾脏与脾脏的核酸无关。在缺乏維生素 B₁₂ 之后如增加維生素 B₁₂, 可使細胞嗜硷物質增多。Fukuda 与 Sib ataus (1953) 还研究了維生素 C 对 RNA 与 DNA 的影响。

再生与肿瘤

鼠肝組織部分切除后,引起的增生过程 (hyperplastic process) 极快,在手术后 4—10 天即恢复了被切除部分的 70—80% (R. Y. Thomson, F. C. Heagy 等, 1953 M. Abercrombie 与 R. D. Harkness, 1951, G. T. Mills 等, 1953), 在增生 21 天后,竇状隙細胞 (Sinusoidal lining cell) 与胆管細胞即恢复正常。

有許多学者从事了再生肝脏中核酸变化的研究。有人提到肝細胞中 DNA 的增多与肝組織的重量的恢复成正比 (D. L. Drabkin 1947), 因为 DNA 与細胞数量的多少有密切关系。在增殖过程中, Price 与 Laird (1950) 曾发现肝脏匀浆中上清液部分与小顆粒中 RNA 的含量为細胞分裂前的两倍,在增生的头四天 RNA 增加最快,这种增多的量主要是在小顆粒部分 (J. E. Ulmann, E. Hirschberg, 等 1953), 正說明 RNA 的增多与肝脏重量在此时的迅速增长的过程是相一致的。Novikoff 与 Potter (1948) 也早已提到过这一点。

肾脏在再生过程中 RNA 亦发生变化, P. Mandel 与 L. Mandel 等人 (1950) 認為此时肾脏細胞是数量上的迅速增多,而 Kurnik (1952) 則認為肾脏再生过程中細胞大小在 7 天内增大 40—50%, 因对肾脏再生有不同的看法,前者認為肾脏再生是增生过程 (hyperplastic process), 后者認為肾脏的再生是肥大过程。

致癌藥物引起的肝肿瘤 (hepatoma) 可观察到不同的化学与組織学的变化 (J. M. Price 等人

1949), 这种肿瘤可由致癌药物偶氮苯(Azobenzene) 衍生物与 *n*-acetyl-2-aminofluorene(AAF) 所引起, 在飼料中含有 3'-Me-4-DAB (3'-methyl-4-dimethylamino azobenzene) 飼养动物八周后, 肝脏无增大现象, 但 DNA 浓度大为增多, 单位容量的细胞核数量也增多(A.C. Griffin 等人 1948)。根据 Striebich 等(1953)实验结果, 在經相同的致癌物质作用后的动物, DNA 与细胞核数目虽有所增多, 但线粒体却大为减少。飼以 4-DAB (4-dimethylamino azobenzene) 后 5—6 个月, 肝中蛋白质、磷脂与 RNA 的总量不改变, 但 DNA 却大大减少(R. Y. Thomson & F.C. Heagy 1953)。如經最强烈的致癌物质(3'-Me-4-DAB) 作用后, 組織中大小颗粒的 RNA 含量显著下降, DNA 明显上升(J.M. Price, E.C. Miller 1949)。如飼以 2'-Me-4-DAB (即非致癌物质) 发现细胞中线粒体数量增加三倍, 而組織中的 RNA 与 DNA 稍有减少(Striebich 等 1953)。鼠肺在感染淋巴肉瘤(Murphy-Sturm lymphosarcoma) 时, 肺中 DNA 急剧上升, RNA 却较稳定, 变化不大(L.R. Cerecedo 等 1957)。

Petermann 与 Schneider (1951) 曾注意到在鼠移植性白血病与自发性白血病时, RNA 在脾脏细胞核中有不同的变化, 移植性白血病核中 RNA 含量显著增多, 而自发性白血病无此变化。无论在 Ehrlich 腹水癌(Ascites tumour) 与 lymphoma 细胞内, 核中 DNA 与 RNA/DNA 都比健康细胞含量为高(C. Leuchtenberger 等 1952)。

内分泌的影响

激素的刺激对組織中 RNA 含量是有影响的。連續七天每天給兔注射 20 毫克的皮质素, 肝脏出现肥大现象, 蛋白质和 RNA 比 DNA 增加为快(C. U. Lowe 等 1951, J. Gros 等 1951), 单位重量的 RNA 相对减少, 说明细胞中脂肪合成的速度超过了 RNA 的合成。Roberts 等(1952) 也有过类似的实验证明, 注射皮质素后引起肝组织的成分变化, 由于 RNA 与 DNA 浓度的减少, 以致形成肝脏脂肪的积聚(K.B. Roberts, H.W. Florey 等 1952)。鸡胚經皮质素注射后, 可引起生长的抑制与 RNA/DNA 比值的减小和蛋白质含量减少等现象(C. Carallero 等 1952)。皮质素对移植的鸡胚心脏与上述情况相反, 可使 RNA/DNA 比值上升, 并对 RNA 的合成有促进作用。如使生长素与皮质素合并作用, RNA 与 DNA 的合成率比正常的增加 75%, 单独使用生长素反而会引起輕微的抑制作用(I. Leslie 1952)。鸡胚肺脏与腸管的移植組織, 对皮质素的作用是无效的, 核酸浓度无变化(H. W. Gerarde 与 M. Jones 1953)。

甲状腺素可引起鼠肾蛋白质增多 15—26%, RNA 增多 26—33%, DNA 也有增多现象, 对脾脏也有类似作用(P. Mandel, L. Mendel 等 1951, L. Mandel, M. Jacob 等 1952)。如将甲状腺切除, 动物的蛋白质、RNA、DNA 含量均依次下降(P. Mandel, P. Metais 等 1953)。

性腺激素对蛋白质合成与 RNA 的作用也有明显效果。雛鸡經雌性激素处理后, 肝脏重量与蛋白质均增多, 早已被 D. G. Champman 等人发现(1949), 以后在鼠肝中也进行了类似的实验, 单独注射雌二醇 48 小时后, 子宫中 RNA 含量增多 192%, 但 DNA 量增加较少; 72 小时后 RNA 的含量却减至 137%, DNA 反有所上升(R.M. Campbell, I.R. Innes 等 1953, M.A. Telfer 1953)。雄性激素如睾丸酮对鸡肝脏是无效的(W. E Phillips 等 1952)。雌性激素不仅影响到肝脏核酸变化, 同时也使血清中核酸量上升(P. Mandel, J. Clavert 等 1947, R.H. Common, D.G. Chapman, 1951), 还发现促乳腺激素对鸽腺囊有刺激作用, 它能使腺体重量增加 280%, RNA 增加 850%, DNA 增加 400%, 从組織切片上也证明此时的细胞分裂是加速的(W. H. McShan 等人, 1950), 鼠妊娠时 DNA 的变化早已有人观察过, 在肝脏中除了 DNA 明显增加外, RNA/DNA 比值也增

高 (W.H. Kosterlitz R. M. Campbell 1947)。R. M. Campbell 还发现在妊娠的鼠与豚鼠肝脏有一种“过量的 RNA”存在, (但在猫妊娠时无此现象) 它可以因移去胎儿、胎盘、脑垂体与卵巢而消失 (R. M. Campbell I.R. Innes 1953, R.M. Campbell, H.W. Kosterlitz 1958)。“过量的 RNA”与一般组织所含的 RNA 不同, 前者决定于食物中能量的消耗, 而后者则与蛋白质有关。鼠在妊娠期间, 可以消除雌雄之间的 RNA 含量的差别, 使雌鼠的 RNA 含量也达到雄鼠的水平, 这种增多主要是因为核中与粒线体内 RNA 增加所致, 因上清液中的 RNA 在雌雄动物是相等的 (M.L. Petermann 与 M.G. Hamilton 1958)。

各个内分泌腺体的切除所引起的反应是不一致的。除了上述切除甲状腺能引起蛋白质与 RNA、DNA 的逐步下降外, 切除性腺与肾上腺也引起同样的反应, 但性腺的切除对雄性动物是无效的。切除脑垂体后骨髓中 RNA、DNA、蛋白质均上升 (P. Mandel, P. Metais 等 1953), 但也有发现此时肝中 RNA 含量下降 (R.M. Campbell, I.R. Innes 1953, H.S. Distefano, N.D. Bass 等 1952), 注射 RNA 可使其恢复。正常鼠经脑垂体生长激素处理后, 肌肉中 RNA 增多, 但肝中 RNA 并无变化, 肝与肌肉中的 DNA 也保持恒定 (B. J. Gray 1956)。

物理化学因子的影响

以 500 γ X 射线作用于鼠后, 骨髓中 RNA 与 DNA 浓度均减少 (C. Lutwak-Mann 1952)。胸腺、脾脏经照射后也有同样变化 (P. P. Weymouth, H. S. Kaplan, 1952)。Mandel 等发现在 X 射线 (700 γ) 单次量照射下脾脏 RNA 与 DNA 含量比两次分量 (two fraction) 作用下明显减少 (C. M. Gros, P. Mandel 等 1953)。经过辐射后, 机体的损害可由 RNA 来逐渐恢复, 所以 RNA 很可能成为一种比其它抗辐射药物更好的制剂, 但并不是任何 RNA 都具有明显的作用。H. B. Лучник (1958) 谈到在提取酵母 RNA 浸出物之前, 如将酵母置于对酵母生长有抑制作用而又不会停止生命活动的生活条件下保存: 如利用降低温度, 给予一定量的辐射, 通过这些措施处理的酵母的提出物对抗辐射作用最为有效, 可以提高机体 LD₅₀ 的耐量。

大肠杆菌 (*E. coli*) 经紫外线 (以下简称 UV) 照射后产生突变, 这是众所周知的事、并且核酸的掺合能力也有所改变 (C.O. Doudney 与 E.L. Haas 1958), RNA 对 P³² 的掺合明显下降, 仅及对照组的 50%, 而 DNA 对 P³² 的掺合几乎完全抑制, 同时还发觉大肠杆菌经 UV 的作用后具有两种不同的 RNA, 一种称为稳定性 RNA; 另一种称为不稳定性 RNA。这种不稳定性的 RNA 在照射停止后 30 分钟始可恢复。正常 RNA 的化学性质与经过照射的 RNA 之间的关系尚不明了 (K. Suzuki, J. Ono, 1959)。

机体在烧伤时组织中核酸的变化是不一致的。对各种动物肝脏中 RNA、不稳定性 DNA 与肾脏 RNA 和不稳定性 DNA 含量的反应是有差别的, 有的增多、有的减少, 这决定于机体本身的反应状态。在烧灼后 24 小时, 鼠小肠和脾中的稳定性 DNA-P、不稳定性 DNA-P 与 RNA-P 浓度均降低。在烧灼后 72 小时, 脾稳定性 DNA 与小肠 RNA-P 之浓度仍不能恢复至其原值 (П.Д. Демидова 1958)。

关于化学药剂对 RNA 的作用, 早已有人注意到 HN2-methylbis (β -chloroethyl)-amine 对鼠的影响 (G.M. Higgins, R. M. Anderson 1931)。苯巴比妥钠可以增加整个脾脏核酸的含量 (W. A. Rambach, D. R. Moomaw 等 1952), 四氯化碳可促进肝细胞的增殖 (R. M. Campbell, H. W. Kosterlitz. 1952)。

植物生长刺激素如吲哚乙酸 (IAA) 使烟草 (*Nicotina tabacum*) 髓部组织发生变化, IAA 浓度

愈高則愈能使細胞增大, RNA 增多(J. Silberger, Jr., 与 F. Skoog 1954)。

氯胺苯醇 (Chloramphenicol) 虽然能抑制蛋白質的合成但不能抑制 RNA 的合成, 这是許多人同意的 (I. Watanabe, Y. Kiho, K. Miura, 1958, C. L. Wissemann, J.E. Smadel 等 1954, M. Ycas, G. Brawerman, 1957 E.E. Gale, J. P. Folkes 1958)。当氯胺苯醇浓度增至一定时, 無論对蛋白質合成、RNA 合成与 DNA 合成中的掺合能力仍有抑制作用。如氯胺苯醇的浓度超过 $3.6 \times 10^{-4}M$ 以上, 蛋白質、RNA 与 DNA 对 C^{14} 丙氨酸的掺合即开始减弱, 如浓度达 $6.7 \times 10^{-3}M$ 时掺合作用完全抑制 (T. R. Breitman, G. C. Webster 1958)。

RNA 与 植物 病 毒

所有的植物病毒都含有大量的 RNA, 含量最少的如烟草花叶病毒(以下簡稱一 TMV)为 6%, 含量最多的为蕪菁黃化花叶病毒(Turnip Yellow mosaic virus)可达 85% (J. Brachet 1957)。由于植物病毒, 特别是 TMV, 其結構較其他机体簡單, 含有一定量的核蛋白, 所以近年来常以植物病毒作为研究核酸代謝, 病毒繁殖、遗传以及关于蛋白質合成的研究的对象。

RNA 对植物病毒繁殖的影响

很多試驗証明 RNA 对病毒的繁殖有着极其密切的关系。Commoner, Mercer (1952) 及 Jenner, Rosseels (1953) 先后发现如果在感染病毒的植物上加入硫尿嘧啶 (thiouracil), 病毒的合成与繁殖立即受到抑制。这种現象不能用硫尿嘧啶与酶促反应之間的竞争來說明, 而是由于硫尿嘧啶与病毒 RNA 相結合, 因而阻止了病毒的繁殖。許多事实証明这种現象是肯定的; 例如将 S^{35} 标记的硫尿嘧啶作用于感染了二天的植物病毒的叶上, 于是病毒的繁殖力就减少到 50%, 将此种病毒收集并提成結晶, 发现有一半的 RNA 与标记物質 (即硫尿嘧啶) 結合成 thiouridylic acid (R. Feener 1957)。Matthews (1956), Mandel 等 (1957) 也曾获得类似的结果。Matthews 发现 8-azaquanine 与 TMV 的 RNA 結合, 同样也能降低病毒的感染力, 与硫尿嘧啶具有相同的作用。从以上事实看来 TMV 的繁殖与 RNA 有着不可分的关系, 只要 RNA 一发生改变, 那末核蛋白的合成就成为不可能了。

能抑制病毒繁殖的藥物远不只是上述的硫尿嘧啶与 8-azaquanine。E. D. Kilbourne (1959) 証实了 Antimetabolite (抗代謝产物) 2-脫氧-D-葡萄糖 (2-deoxy-D-glucose) 对流行性感冒病毒繁殖有抑制作用。T. Airai, T. Shimomura, Y. Nishikawa 等 (1958) 在研究防治 TMV 病害的 Thiosemicarbazone 各种衍生物的效应时, 发觉其中以不具取代基的 Benzalactone 对病毒繁殖的抑制能力最强, 尽管这些藥物作用机制并不完全与尿嘧啶或 8-azaquanine 一致。

由于許多藥物的作用能引起 RNA 的破坏, 致使整个病毒的感染减弱或消失, 因而就使我們考虑到, 病毒的感染力是否完全由 RNA 的存在而决定呢?

Gierer 与 Schramm (1956a) 从病毒-TMV-中分离出一种具有感染作用的 RNA。这种 RNA 是以酚溶液来提取的, 特别是在当制剂制成后, 立即用以感染烟草 (Nicotina glutinosa) 叶子时感染力最强。与此同时 Fraenkel-Conrat (1956) 也曾获得同样的结果, 因而証明了 RNA 本身是有感染力的。近年来利用 Schramm 的酚提法 (Phenol method) 陸續发现許多其他的病毒中所提取的 RNA 也具有感染作用。如 Siegel, Wildman (1956), Ginosa 与 Norman (1957) 等人都先后証实了病

毒 RNA 的感染力。

Colter 与 Bird 等人(1957)就 Mengo 脑炎病毒以及 Wecher, Schäfer(1957)就 Eastern equine 脊髓炎病毒, Huppert, Sanders(1958)从脑炎病毒感染肿瘤细胞中取得的 RNA 都说明了病毒 RNA 是有感染作用的。Ping-Yao Chang (原载“Nature”1958)利用 Semliki 森林病毒为材料比较了病毒制备物及其 RNA 的功效,发觉 RNA 酶(核糖核酸酶)对病毒无抑制作用,这可能是由于 RNA 为蛋白质外膜所保护。经离心处理后的病毒制剂,感染活性 99% 消失,而 RNA 的感染活性只减少了 55%。病毒制剂与 RNA 对 Sodium deoxycholate 的反应也不一致,病毒制剂经此药剂处理后,其感染力大为减弱,而对 RNA 则无影响。RNA 不仅具有一定感染力而且对其它因子的抵抗力比病毒粗制剂为强。口蹄疫病毒(foot-&-mouth disease virus)的 RNA 不但可使猪肾细胞单层培养(monolayer culture)发生病理变化,而且可使经肌肉注射后的小猪发生麻痹而致死亡,并具有与同种病毒同等的免疫型(F. Brown, R. F. Sellers 等人 1958)。

关于病毒 RNA 的感染性

从以上事实看来各种病毒 RNA 的感染性已成为普遍事实,但是值得提出讨论的是这种用 Schramm 方法提取的 RNA 中的纯度如何?它的感染性怎样产生的?分离出的 RNA 与蛋白质是否能重新结合成新的具有感染力的病毒?必须了解的是“RNA”制剂中是否会有病毒蛋白质的污染,因为即使是少量的病毒蛋白质掺入,那末这种感染性就不能纯粹认为是 RNA 所产生的作用了,何况这种 RNA 的感染力一般是极微弱的,如 TMV 的 RNA 的感染力只有原病毒的 1% (A. Gieres, G. Schramm, 1956, H. Fraenkel-Conrat, B. Singer, R. C. Williams, 1957)。实验证明这种 RNA 的感染性并不依靠病毒蛋白质或病毒的污染而产生,如口蹄疫病毒 RNA 的提取过程中,证实了 RNA 制剂并未含有残余的病毒,因为这种 RNA 无论是以核糖核酸酶处理或是正常豚鼠血清处理后其感染力立即消失;反之,如用同样的方法处理病毒则完全无效(F. Brown, R. F. Sellers, 人等 1958)。虽然这仅是间接证明,然而却可以说明 RNA 的感染性是存在的。上述的 Semliki 森林病毒 (Cheng Ping Yao 1958) 的 RNA 制剂与病毒制剂的性质显然也有所区别。Ada 与 Anderson(1959)比较了 Murray Valley 脑炎病毒及其 RNA 之间的差别:粗制病毒(Crude virus)经 9% 酚处理一分鐘后,其原来的效价($10^{6.7}$)立即丧失,但此悬浮液以 Gierer 和 Schramm 标准方法用 90% 酚溶液提取的 RNA,其效价仍高达 10^4 — 10^5 。同时原病毒经 65°C , pH7.1 处理一分鐘,其原有效价从 10^7 降至 $10^{1.0}$;如在 62°C , 处理 60 分鐘其感染力全部消失。如将其 RNA 经同样过程处理,其效价仍有 $10^{2.0}$ 与 $10^{2.7}$ 。RNA 只有在核糖核酸酶的作用下才丧失功能。粗制病毒在低 pH 时效价丧失,如处于 pH 3.0 时,30 分鐘(20°C)效价从 $10^{6.8}$ 降至 $10^{3.1}$,而 RNA 的效价仍能保持 $10^{4.8}$ 。它们对甲醛的反应也是不一致的, RNA 比病毒容易受到破坏。作者就这种现象作了如下的解释:在感染过程中, RNA 必须从病毒结构中释放出来,因此当温度、pH、酚使蛋白质表层变性,那末 RNA 就无法释放出来。Mengo 脑炎病毒与 Eastern equine 脑脊髓炎 (Encephalomyelitis) 病毒(J. S. Colter, H. H. Bird. 1957a, E. Wecher W. E. Schäfer, 1957)及其 RNA 也有上述的一些特点,并且 RNA 能被乙醇与 1M 氯化钠沉淀出来,而病毒无此沉淀。J. Huppert 与 F. K. Sanders (1958)观察到感染细胞酚溶液浸出物的感染性并不直接决定于病毒的含量还表现在:当感染培养液以 105000 g. 离心一小时,从上清液中提取 RNA,结果表明上清液虽然仅含有沉淀物 1/1000,但其感染力却比沉淀的浸出物感染力强十倍。

尽管以上许多事实都说明 RNA 本身是具有感染作用的,但仍能有人认为病毒的感染力不完

全由RNA决定。因为許多經過提取的RNA,事实上多少还有一些蛋白質存在,尽管这些蛋白質目前还不能用化学方法測定出来。由于感染性微弱(0.1—1%),同时RNA与蛋白質重建后的TMV的感染力远比純RNA为强,所以B. Commoner(Успехи Соврем. Биол. 1959)認為RNA的感染作用与其所含的蛋白質是相互配合而起作用的。

TMV的感染性与RNA微粒的长度有关,如果以去垢剂(detergent agent)或核糖核酸酶除去其蛋白質与RNA末端的2%,这就使得感染力大大降低。感染力的降低与RNA微粒被切除的多少成比例关系,即RNA微粒被切除的愈多,其感染力愈弱(B. Commoner, G. B. Shearer, C. Strode 1958)。因为病毒中RNA是单一的核苷酸組成的綫状聚合分子,只有在完整的,沒有拆裂的分子結構情况下,TMV才具有它的感染作用。(R. G. Hart 1958, A. Gierer 1957) Schramm(Успехи Соврем. Биол. 1959)也認為长鏈分子RNA是具有感染性的,它的分子量約为二百万,虽然在目前还没有可能分离出这种高分子聚合体的RNA,但是分子較低的RNA(約一百万)的提取是有可能的。Fraenkel-Conrat, Singer, 与 Williams (1957)曾确定病毒的RNA分子量为 2.5×10^6 。病毒端末的結構有一特殊功能。R. Hart (1958)曾提到TMV短瞬間經去垢剂(0.02% Duponol)处理后,蛋白質亚单位(subunit)的折断是自一端开始的,所以病毒一端的RNA就能暴露出来。如TMV經去垢剂在85°C时处理15秒,有90%的RNA是自一端发生折断。B. Commoner, G. B. Shearer, C. Strode (1958)也曾提到并不是病毒的任何部位都具有同等效应的,只有在病毒一端的4—6%的RNA部分对感染最有效,很可能在RNA的这段部位具有一种特有的核苷酸;也可能在这一部位的蛋白質亚单位与RNA有着一一种独特的、对感染所必需的构型;或是这两种情况同时兼有。

RNA对病毒的繁殖与感染有着不可分的关系,这点是肯定的。單純的蛋白質似乎对感染并无直接关系。Markham 与 Smith (1949)用超离心机分离蕪菁斑紋病毒得出二种不同的成分,其中只有含核酸的部分才有感染作用,而沒有含核酸的蛋白質部分其感染力也不存在。其后高桥,石井(W. N. Takahashi, M. Ishii 1953, 1952.)与Jeener, Lemoine (1953)先后均获得同样結論,虽然这种不含核酸的蛋白質沒有感染力,但其免疫能力仍然存在。

病毒的重建及其对遺传的影响

病毒RNA与蛋白質分离之后是否还能重建(Reconstitution),在恢复它的結構时需要何种条件,是否能保持其原有的感染性,对于这些問題是从RNA自病毒中一分离出来时就产生了。Schramm (1947)发现在酸性条件下被分解的病毒蛋白質能够聚合为杆状体,其大小与TMV相似,聚合过程中由于pH不同常发生各种中間类型,杆状体的长度决定于pH值的大小,在pH值为5时就可聚合为蛋白質的盘状体,其中央具有一孔,与TMV在硷性条件下分解成的盘状体相类似,然后这些盘状体逐渐形成杆状体,即在化学与形态上与TMV很相象,但是完全缺乏感染性(G. Schramm, W. Zillig 1955)。同年Fraenkel-Conrat 与 Williams (1955)报导了他們从事这项工作的結果,他們用的方法不同于Schramm 与 Zillig,而是以1% Sodium dodecyl sulfate在pH 8.5时与病毒作用,然后使分离的蛋白質与RNA結合,就可获得核蛋白,它的吸收光譜与TMV是相同的。从它的感染植物坏死的效果来看,这种重建的核蛋白10—100毫克/毫升所引起的作用与原来的TMV 0.1毫克/毫升所引起的感染效果相等。

这种重建的核蛋白在电子显微鏡下的图相与Schramm所見的TMV图相相符,作者指出病毒的重建取决于RNA与蛋白質之間浓度、作用時間以及pH值的大小等条件,并認為是这一种純化

学的反应过程。其后 Commoner, Lippincott, Schearer (1956) 及 Fraenkel-Conrat (1957) 用不同的办法均获得了感染力达原病毒 30—50% 的重建病毒 (A. C. Кривиский, 1958)。

其实 RNA 与蛋白质的结合并无专一性 (G. Schramm 1958), TMV 的 A-蛋白质可与各种来源的 RNA 结合, 也能与 Polyuridylic acid 合成为一杆状体 (R. G. Hart, J. D. Smith 1956), 但这种结合体的性质和正常的病毒是有区别的 (A. Siegel, S. G. Wildman 与 W. Ginos, 1956)。

Hart 与 Smith (1956) 曾使蛋白质与人工获得的多核苷酸与酵母的 RNA 纯制剂以及各种单核苷酸进行混合, 所获的核蛋白, 其外形、大小、核糖核酸的含量、吸收紫外光谱的特点和对核糖核酸酶的稳定性等方面均与 TMV 相似, 但是却没有生物活性。所以有生物活性的核蛋白很可能决定于核苷酸基的特殊的排列方式。

病毒的重建并不限于 TMV 一种病毒, 其他病毒也同样有这种重建的可能。Гершензон (1956) 使昆虫多角体病毒蛋白质与 RNA 重建, 也获得了有活性的病毒。

对于病毒蛋白质与核酸在遗传中的作用也有不少的试验证明。

1956 年 Fraenkel-Conrat 曾使不同株的 TMV 蛋白质与 Yellow aucuba (YA) 和 Holmes ribgrass (HR) 等病毒的核酸互相配备, 重新结合, 然后在 Turkish 烟草上作感染试验, 结果发现其病征与核酸的株属——即 HR 相类似。这种由 TMV 的蛋白质和 HR 的核酸重新建立起来的“杂种”病毒, (TMV 蛋白质性质与 HR 蛋白质性质显然是不相同的, 无论就其氨基酸的成分上或是它的抗体专一性上都有差别) 当以抗-TMV 血清处理, 其感染性大部分被中和; 如用抗-HR 血清处理则无效, 所以在免疫学上这种杂种完全属于病毒的蛋白质外膜——TMV 之列, 而由 HR 株属形成的病毒内轴——RNA 则决定其植物病征。因此这种现象就可以比在活体外更好地说明蛋白质与核酸之间的关系。这种杂种的子代的蛋白质与 HR 病毒相似, 杂种子代蛋白质和 HR 相象而不同于 TMV, 这是因为它含有蛋氨酸、组氨酸与酪氨酸。根据这个实验结果来看, 似乎 RNA 在遗传中也起着很大的作用。

另一种试验是将 HR 与 TMV 两种病毒所含的 RNA 相互结合, 然后使植物感染并引起坏死, 虽然在坏死组织中仍然可以分离出两种原来的 HR 与 TMV, 但混合性的感染作用还是存在的。尽管混合病征的出现的情况较多, 这只能设想坏死的产生是由于二种病毒的机械混合所引起的, 要形成一种具有双亲代 (即 TMV 与 HR) 混合特性的新形式的病毒是不可能的 (A. C. Кривиский, 1958)。

后来 Fraenkel-Conrat, Singer (1957) 也对自己原来的实验作了进一步的研究, 对上述病毒“杂种”的遗传结论作了一些修正与补充, 仍然不能否认病毒蛋白质在遗传过程中是有一定作用的。“杂种”子代的生物学特性中, 有 20—45% 是与 TMV 相近似, 即受蛋白质影响; 而具有作为授与 RNA 的 HR 病毒特性的只有 5—12%。所以病毒蛋白质在遗传中的作用是不能否认的。

RNA 与 病毒 的 结构

RNA 既然对病毒繁殖有着很大的关系, RNA 与蛋白质在结构上的关系如何? 这是令人寻味的, 所以最近许多学者都已注意到这一问题。早在 1947 年 Schramm 就曾提及过 TMV 在硷性溶液中 pH—10.3 时, 即分解为 6 个断片, 然后再分开为更小的蛋白质颗粒与游离的 RNA。以后通过电子显微镜的考察证明病毒微粒具有一蛋白质的外膜, 其中包含有 RNA 的杆状的内轴, 并在电子显微镜中看到这种结构, 而另一部分游离的蛋白质则称之为 A-蛋白质, 它是构成病毒蛋白质的最小单位, 分子量为 90,000, 在生物学上是无活性的。电子显微镜下除了可以看到被硷性

溶液破坏了 RNA 与蛋白質結構外,还可以見到与病毒微粒直径相等的盘状結構,中央有一孔其直径恰与 RNA 杆状体直径相等。因此,可以認為病毒的蛋白質外膜是由这些盘形体构成的,并串联在 RNA 之上(G. Schramm, G. Schumacher, W. Zillig 1955)。

Hart (1955) 的實驗也获得同样的結果,只是所采用的方法不同。他用加热的 0.02% 去垢剂破坏 TMV 的結構也同样显示出蛋白質外膜內的 RNA 杆状体。以后还証实了 RNA 是沿 TMV 微粒的中軸而排列的,外周有蛋白質包围,这种膜是螺旋形的鏈状結構(R. Franklin 1955)。

J. Harris 与 C. Knight (1955) 利用羧肽酶的方法, W. Ginosi, Atkinson (1956) 利用藏紅花紅 O (Safranin O) 染色法所获的結果与 X 射綫衍射法研究的結果是一致的。Franklin 与 Klug (1956) 以 X 射綫衍射法发现 TMV 上有螺旋状的凹凸部分的結構,这与 Сухов, Никифорова (1958) 与 Бысмицкий (1957) 等的研究結果是一致的。

Гершензон 与 Krieg (1957) 等研究了昆虫病毒的結構,証明山梳粉蝶 (*Aporia crataegi* L.) 的多角体病毒与 TMV 在結構上很类似。經硷处理后也可形成具有中央孔的盘状体。这与 Schramm 和 Fraenkel-Conrat 等人結論是相同的。

Caspar (1956), Franklin (1956) 与 Hart (1958) 对 TMV 的結構作了比較具体的描述: TMV 为一螺旋长度为 3000 Å, 全长 33000 Å, 直径为 150 Å 的长筒形螺旋状結構, 由 2,100 个蛋白質亚单位构成, 每一輪螺旋包括 $16\frac{1}{3}$ 个亚单位。TMV 的內腔半径为 19 Å, 在距中軸半径为 24—25 Å 处有一层蛋白質, 而 RNA 位于半径为 40 Å 处, 所以 RNA 并不位于 TMV 的中軸上, RNA 的外层与內层均有蛋白質包围, 所以 RNA 的分子結構与环鏈的位置决定于蛋白質的构型。

完整的病毒中的 RNA 并不受胰核糖核酸酶 (Pancreatic ribonuclease) 的作用, 因为病毒螺旋状的蛋白質亚单位的末端的 RNA 不是裸露的, 而是被蛋白質层所包围 (B. Commoner, G. B. Shearer, C. Strode 1958), 因而在感染过程中必須經過一段時間 (即潜伏期), 等到包围在蛋白質中的 RNA 裸露出来之后, 才能对植物有感染作用, 这就是病毒在感染过程中之所以有潜伏期的原因。G. Schramm, R. Engler (1958) 比較了用 RNA 与病毒同时感染过程中形成活性作用速度, 結果病毒比 RNA 产生活性要慢 10—12 小时。但是为什么病毒在释放 RNA 需要如此长久的時間, 其原因尚須进一步研究。

Commoner 等人 (1958) 用剥离病毒蛋白質的試驗証实了病毒 RNA 的裸露是由于除去端层蛋白質 (Terminal layer of protein) 的結果, 病毒經過人工剥离除去其頂端蛋白質之后, 与病毒在自然状况下感染宿主細胞过程时除去頂端蛋白質的效果是一致的。如果裸露的 RNA 以核糖核酸酶处理則感染力消失。Commoner 等人 (1958) 还談到 TMV 的 RNA 結構长度与蛋白質有一适当的比例关系, 如果 RNA 长度过长, 在蛋白質亚单位中的位置必然不会合适, 因而影响其活性, 根据这一論点, 借以說明在病毒重建过程中, 如 RNA 超过 3—4%, 則丧失活性。可見具有生物活性的病毒决定于蛋白質与 RNA 之間的排列結構为基础的独特构型。

RNA 与蛋白質合成的关系

RNA 促进蛋白質合成的証明

Caspersson (1941) 与 Brachet (1942) 根据細胞化学的研究, 早已提出 RNA 与蛋白質合成有关。他們先后发现海胆卵在迅速生长过程中 RNA 含量极为丰富; 增殖組織及蛋白質合成旺盛的組織中 RNA 含量很多; 在生长迅速的微生物中也有 RNA 增多的現象。总之, 蛋白質合成显著或是生长迅速的組織中經常伴有 RNA 的增多。

近年許多学者都在这方面获得大批的資料, 說明 RNA 与机体生理活性及蛋白質合成之間的密切关系 (J. Brachet, 1957; П. В. Макаров, 1956; J. Brachet, 1958), 并将这些資料加以整理。

利用同位素示踪法研究蛋白質合成与 RNA 的关系所获得的資料証实了用組織化学方法得出的結論是确实的。Ficq 与 Brachet (1956) 发现細胞的嗜硷物質与标记苯丙氨酸的掺合有一定关系, 利用 Unna (甲基綠-吡啶啉 methyl green-pyronine) 染色和放射自显影术所得的結果具有极为明显的对比, 有着强烈的嗜硷物質的胰脏外分泌系統, 其掺合标记苯丙氨酸的能力远較胰脏的胰島系統为强; 同样小腸粘膜的腸腺 (Lieberkühn crypts) 掺合氨基酸的能力也比粘膜其他部位为显著。相反地, 心肌由于嗜硷物質含量少, 放射活动亦相应减弱。Niklas 与 Oehlert (1956) 以 S^{35} 标记氨基酸作为蛋白質合成的前体, 发现掺合 S^{35} 氨基酸能力最强的是那些能产生蛋白質的腺体, 如胃粘膜、网状內皮細胞、神經元等。細胞分裂旺盛的組織也有着較强的掺合力, 而活动較弱的組織如肌肉、結締組織, 其掺合力仅及分泌腺体掺合能力的十五分之一。他們一致認為 RNA 含量与蛋白質合成有着平行关系。当然还不能認為有了 RNA 就能刺激蛋白質的合成代謝, RNA 必須处于代謝的活动状态, 这可能与它的分子結構有关 (J. Brachet 1957)。

微生物中蛋白質合成与 RNA 的关系也极为密切。H. Jeenes 与 R. Jeener (1952) 发现在培养热乳酸杆菌 (*Thermobacterium acidophilus*) 培养基中如缺乏 DNA 仅菌核不能增长, 細胞仍可生长, 如尿嘧啶缺乏生长即被抑制。Cohen 与 Barner (1954) 在大腸杆菌需胸腺嘧啶的变种上, 发觉在胸腺嘧啶缺乏时, 菌落不能形成, 細菌的个体却可以长得很肥大, 此时 RNA 比正常多一倍, 但 DNA 不能合成。在大腸杆菌的蛋白質合成与 RNA 合成之間有一定的比例, 抑制 RNA 的合成亦必导致蛋白質的合成抑制, 但抑制蛋白質的合成却不一定能影响 RNA 的合成 (R. Ben-Ishai, B. E. Volcani, 1956)。

胞核与胞質在蛋白質合成中的作用

在討論到細胞蛋白質合成时必然要触及到胞核、核仁、微粒体与綫粒体等在細胞合成蛋白質时所起的作用。以标记氨基酸注入鼠肝, 然后将細胞各成份分离, 发现微粒体部分含有最多的放射性蛋白質, 而胞核部分的含量則較小, 因此認為蛋白質的合成是在胞質中进行 (H. Chantrenne, 1958)。考虑到这种效果并不一定能真正确切反映放射性物質在体内的变化, 因为經過分离处理后可能会导致 RNA 分布的改变。Stern 与 Mirsky (1954) 証实了这种可能性是存在的, 經過分离

之后相当多的核蛋白可以释放出来,相反地,如果利用放射自显影术来进行检查,发现海星的卵母细胞、蛙卵核仁和伞藻 (*Acetabularia mediterranea*) 等机体的核的活性(即其掺合能力)远比胞质为大(J. Brachet 1957)。因此最好是采用直接的办法来说明核的作用,即利用无核的细胞与有核细胞作对照来进行研究比较。很早以前就知道伞藻的无核部分仍可生长与变态,叶绿体的数目也可以增多,证明无核部分是可以合成蛋白质的(Hämmerling 1934)。其他学者也证明了有核与无核部分的机体在初期无论对标记物质的掺合或生长以及蛋白质的含量等,两者都有所增长。(F. Vanderhaeghe 1954, J. Brachet 等人, 1955)。但如果长期缺乏胞核对机体仍有一定影响,结果对二氧化碳的掺合力下降,最后导致蛋白质合成的终止(H. Chantrenne 1958)。

去核的伞藻的掺合力与蛋白质合成能力的下降并不是一开始就如此。其实在去核的第一周,伞藻 RNA 的合成反比有核部分为快,十天以后才逐渐下降,Brachet 把这种现象解释为:由于核在高度的活动中利用了胞质中的形成 RNA 所必需的前体,如将核除去,胞质在形成 RNA 时充分运用了这些前体,使 RNA 的合成比正常为多,但这只是暂时的现象(J. Brachet, 1957., E. Vanderhaeghe 与 D. Szafarz 1955)。

上述事实说明了细胞在无胞核的情况下同样具有 RNA 的合成能力,然而这仍不能否定核在蛋白质合成过程中的控制作用。

大变形虫在去核之后,结果与伞藻不同(J. Brachet, 1955)。去核部分缩成球状、没有伸出伪足的能力、掺合氨基酸的能力显著减弱, RNA 含量下降,但仍可生存十余日,如同饥饿的,完整的变形虫一样。可见胞质也能产生 RNA, 只有部分 RNA 是来自胞核。用同位素证明不仅核 RNA 能进入胞质,而且去核后不能再掺合尿嘧啶。(L. Goldstein 与 W. Plaut, 1955., D. M. Prescott, 1957)。虽然去核之后,引起了代谢的下降与掺合能力减弱,然而胞质掺合氨基酸的能力并不因此全部消失,还可以合成蛋白质(D. Mazia, D. M. Prescott 1955, A. Eicq, 1956)。近年来对去核变形虫蛋白质合成能力进行了细致的分析,发现变形虫去核后,对胞质中各种蛋白质合成的影响是有区别的,如蛋白质酶、烯醇化酶、三磷酸腺苷酶与淀粉酶等均无变化(M. H. Мейсель 1958, Arachet 1955),而二肽酶、酸性磷酸酶与酯酶则显著下降。因为有些酶分布在胞质中并不受核的控制,即各种酶在细胞中的分布是不一致的,如淀粉酶与蛋白质酶是与细胞内的大颗粒结合(即线粒体或 lysosomes)(C. de Duve, B. C. Pressman 等人, 1955),它们对细胞呼吸有一定作用。二肽酶、酸性磷酸酶与酯酶很可能是由于与蛋白质酶均结合在相同的细胞颗粒上,但对去核后自溶过程中的抗性是不相等的,借以说明变形虫在去核后各种酶的不同反应状况(de Duve 等, 1955., J. Brachet, 1957)。因而不能认为细胞的蛋白质合成与 RNA 的合成是完全以核为中心。J. Brachet (1958, 1957)曾得出这样的结论:细胞核并不能直接地,密切控制蛋白质与 RNA 合成,而只能在合成过程中,起一定距离的控制作用。去核之后虽然在相当长一时期内仍保持呼吸代谢作用,但最终其蛋白质合成必将完全抑制。

胞质合成蛋白质的所在主要是微粒体上。Brachet 与 Jeener, (1944) 发现经离心所得到的细胞颗粒内(即线粒体与微粒体)经常含有一定量的特殊蛋白质,例如胰脏中所含的胰蛋白酶、胰岛素,唾液腺中的淀粉酶,红血球的血红蛋白,脑垂体的黑色素扩张激素以及 50% 促性腺激素等都是在胞质颗粒中,相当多的胰淀粉酶是与微粒体结合的(M. M. Daly, V. G. Allprey, A. E. Mirsky 1955)。从对氨基酸的掺合能力看来微粒体也有所不同,经静脉注射标记氨基酸,如甘氨酸、赖氨酸与亮氨酸等,在肝脏中掺合作用最强的部位是细胞的微粒体。利用其他同位素标记氨基酸,如甘氨酸 N^{15} 、蛋氨酸 S^{35} 、胱氨酸 S^{35} , 在鼠体中的试验都证明微粒体的掺合力远比细胞其它部

分为强 (M. Rabinovitz, M. E. Olson, 1956)。在活体外的实验效果也证实了这一点。RNA 在微粒体中的含量也极为丰富, 这与蛋白質的合成有很大关系 (Y. Oota, S. Osawa 1954) (E. M. Martin S. R. K. Morton, 1956), 因为 RNA 参与了氨基酸在蛋白質中的掺合作用, 如果加入核糖核酸酶, 这种掺合能力即被破坏。微粒体可被 deoxycholate 所破坏, 分解成直径 240 Å 的小颗粒, 含有 44% RNA, 即简单的核蛋白, 其掺合氨基酸的能力比微粒体强, 可以被核糖核酸酶所抑制。可见微粒体的掺合作用是由本身所含的 RNA 所决定的。胞质中其他的颗粒成份, 如线粒体也同样具有一定的蛋白質合成的活性。(J. R. McLean, G. L. Cohen, M. V. Simpson 1956)。

核 RNA 与胞质 RNA 的关系

关于核 RNA 与胞质 RNA 之间互相关系问题, 一直有着不同的争论, 过去有人认为胞质 RNA 的前体是核 RNA, 而近年来许多学者都倾向于胞质 RNA 的出现并不依赖于核 RNA。十几年前 Caspersson (1941) 就曾提出关于蛋白質合成的细胞学机制的理论, 他认为在细胞核中的“优染色质”与遗传有关, 含有较多的 DNA, 并控制特殊蛋白質——基因的合成; 异染色质, 特别是与核仁相结合的染色质, 控制着类组蛋白的合成。这种物质的合成首先在核仁中积聚, 然后向核膜扩散, 穿过核膜形成一种核糖核蛋白的浓厚的围核胞质 (perinuclear cytoplasm), 这就是构成胞质 RNA 的前体 (J. Brachet 1955b), 并认为核仁是蛋白質合成的中心。Caspersson 强调了核的作用, 特别是核仁的作用。提出这样的理论并不是没有根据的, 也得到其他学者的证实, 直到现在仍有不少事实说明 RNA 和蛋白質在细胞中合成时, 的确伴随着核仁的增大, 即核仁大的细胞其蛋白質合成能力总显得比较旺盛。如鼠的上视神经元 (Supra-optic neurones) RNA 含量与核仁的大小成正比关系 (J.E. Edström, D. Eichner, 1958), LaVelle (1956), 也曾谈到神经细胞的核仁大小与尼氏体的含量成正比, 实际上, 尼氏体的性质就是 RNA 的表现。其它有关核仁与 RNA 关系的事实在 Caspersson 本人与其他人等都会报导过。他们认为产生胞质蛋白質的细胞具有一大而圆的核和大而富有 RNA 的核仁, 在核膜附近胞质中含有大量的 RNA, 胰细胞就有类似情况。幽灵蛛属 (Pholcus) 的卵母细胞中可观察到空泡化的嗜嗜啉啉的核仁, 在胞质中有大量的 RNA 存在, 特别在核的周围更多。鳃足虫 (Artemia saline) 在精子发生和卵子发生时亦有类似现象, 卵母细胞生长期核仁很大, 核酸含量多, 并有一层染色质包围。所有这些事实都企图说明核仁与蛋白質合成的关系。П. В. Макаров (1956) 认为 Caspersson 关于核仁在蛋白質与 RNA 合成的理论的基本论点与事实是矛盾的。他用实验证明: 核仁外围有一层所谓异染色质的出现是不可靠的。这种染色质的聚集是由于固定标本过程中形成的结果, 因而核仁表面才发生 DNA 的沉淀与凝聚结构的出现, 如果用铁酸固定处理就不会有这种凝聚现象的出现 (П. В. Макаров 1956)。其他学者的工作也证明了所谓核仁外周异染色质的凝聚现象是不存在的。如 Л. Ф. Лараонов 与 Е. М. Брымберг (1946) 与 H. Ris, A. E. Mirsky (1949) 等都认为核液是由 DNA-组蛋白组成的, 其中有由酸性蛋白, 即染色体酸蛋白所形成的染色体漂浮着, 固定时 DNA 便被蛋白質的结构所吸附。总之在细胞的生活状态下凝聚的染色质即异染色质是不存在的。

Caspersson 的另一论点是核仁的大小与蛋白質合成的活性有关, 虽然两者有一定的平行关系, 但还没有根据说明它们是因果关系。核仁的增大也可以是一般的细胞生长现象, 同时蛋白質的增长却不一定有核仁增大。反之亦然。Caspersson (1950) 也曾谈到 B 型肿瘤细胞并不产生蛋白質, 而核仁却很大。有些两栖动物初级精母细胞没有核仁存在, 蛋白質合成却很旺盛, 又如甲虫 (Papilius disjunctus illiger) 的卵细胞生长时, 核仁也没有一定的变化。