

生物学研究概说

586484

369
/261

R

科

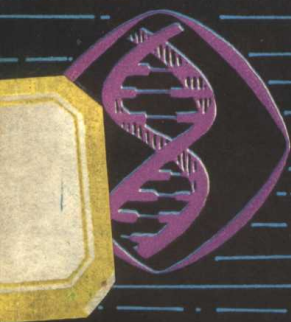
5864

RNA的生物合成

R. H. 伯登 著

成都科学技术大学图书馆

基本馆藏



科学出版社

· 生物学研究概说 ·

RNA 的生物合成

R. H. 伯登 著

赵甘泉 译

科学出版社

1980

内 容 简 介

本书引用很多最新材料阐述了细胞中各类 RNA 的生物合成、酶学机理和调控过程。可供生物化学、细胞学、遗传学、分子生物学和医学工作者参考。

R. H. Burdon
Outline Studies in Biology
RNA BIOSYNTHESIS
Chapman and Hall 1976

· 生物学研究概说 ·

RNA 的 生 物 合 成

R. H. 伯登 著
赵甘泉 译

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街 137 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1980 年 6 月第 一 版 开本：787 × 1092 1/32
1980 年 6 月第一次印刷 印张：2 7/8
印数：0001—5,920 字数：63,000

统一书号：13031 · 1291
本社书号：1794 · 13—10

定价：0.46 元

目 录

第一章 引言	1
第二章 转录的产物	3
2.1 RNA 分子的一般特性	3
2.2 RNA 在细胞内的位置	7
2.3 转移 RNA	9
2.4 核糖体的 RNA	13
2.5 信息	18
2.6 真核细胞器的 RNA	20
2.6.1 线粒体 RNA	20
2.6.2 叶绿体 RNA	20
参考文献.....	21
第三章 细胞中 RNA 的生物合成	23
3.1 转录后加工的概念	23
3.2 核糖体 RNA 的生物合成	24
3.2.1 核糖体 RNA 的前体.....	24
3.2.2 小的 5S 核糖体 RNA	31
3.3 转移 RNA 的产生	33
3.4 原核细胞的信使 RNA	36
3.5 真核细胞信使 RNA 的形成	40
3.6 线粒体转录的方式	48
参考文献.....	49
第四章 酶学机理	53
4.1 转录器	53

4.1.1	大肠杆菌 RNA 聚合酶的结构和作用方式	53
4.1.2	真核生物细胞核的依赖 DNA 的 RNA 聚合酶	61
4.1.3	线粒体的转录器	64
4.2	转录后加工的酶学机理	64
4.2.1	末端加入的酶	64
4.2.2	序列修饰的酶	66
4.2.3	裂解和剪切的酶	68
	参考文献	69
第五章	RNA 合成的调控	72
5.1	RNA 聚合酶本身的合成	72
5.2	参与 RNA 链起始的因子	72
5.3	RNA 聚合酶的结构修饰作用	77
5.4	RNA 聚合酶的复杂性	78
5.5	RNA 聚合酶的多样性	78
5.6	基因量	79
5.7	染色体的组织化	80
5.8	转录后的加工	83
5.9	结束语	84
	参考文献	84
补遗		86

第一章 引言

生物在演化和功能活动的遗传信息，是编码于生物体内脱氧核糖核酸 (DNA) 的脱氧核苷酸线性序列中。从这种聚合物转录出一定序列的信息，就是基因表达过程中的第一个步骤。

组成 DNA 的脱氧核苷酸序列在物理性质上是接近的，但在功能上可把它分成各个不同的节段或基因，这些节段包含着需要特定个体细胞大分子产物的脱氧核苷酸序列。DNA 转录的产物亦是长长的聚合物，但它的组成成分不是脱氧核苷酸而是核苷酸，因而称为核糖核酸 (RNA)。在转录过程中，DNA 的脱氧核苷酸序列作为“模板”，但以 RNA 分子的核苷酸序列方式进行复制。当转录时，某些 DNA 的脱氧核苷酸序列(或基因)被复制成转移 RNA(tRNA) 和核糖体 RNA(rRNA)。这些核苷酸的序列是如此的排列以致形成很多的折叠，就以 rRNA 来说，它与特异的蛋白质结合，组成细胞的重要成分，称之为核糖体。

另一类但很特异的序列转录是信使 RNA(mRNA) 的生物合成。这类 mRNA 也含有核苷酸的序列，它最终又被转译成另一类新的序列，即细胞功能活动所需要的蛋白质分子(如酶)的氨基酸序列。这种转换成各种不同的分子序列是相当复杂的，但基本上每三个核苷酸序列决定着—个氨基酸，把它插到正在建造的多肽链中。而 mRNA 可被认为实际上是传递基因组 (DNA) 的遗传信息的工具，并被放到细胞质的合适位置转译为蛋白质。这个真正的转译机构(本丛书中 A. E.

Smith 所著的《蛋白质生物合成》一书有较详细的论述)不仅需要上述功能的 mRNA, 而且亦需有其他转录产物, 这一点是很重要的。

rRNA 是核糖体(真正发生转译的地方)的一种必要的结构成分; 而 tRNA 在氨基酸激活过程中也是需要的, 它在 mRNA 指导氨基酸特定排列和把增长的蛋白质链结合到核糖体过程中, 发挥着适配器(adaptor)的作用(图 1.1)。

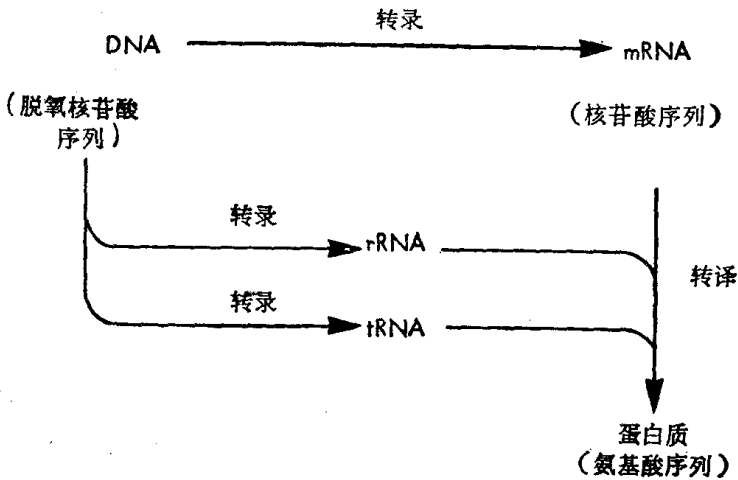


图 1.1 转录产物及其在细胞中的作用。

第二章 转录的产物

2.1 RNA 分子的一般特性

分析真核细胞和原核细胞分离出的全部 RNA 表明,它是各种不同的但有一定长度的聚合物。事实上, RNA 在化学结构上和转录出它们的 DNA 非常相似。所有的 RNA 都是长而不分枝的分子。它基本上含有四种核苷酸,彼此以 3'-5' 磷酸二酯键连接。但是,和 DNA 也有不同的地方, RNA 核苷酸中的糖基不是脱氧核糖,而是核糖,同时其碱基则是尿嘧啶,而不是胸腺嘧啶。

就绝大多数 RNA 分子而言,腺嘌呤 (Ade) 的量通常并不等于尿嘧啶 (Ura) 的量,而鸟嘌呤 (Gua) 和胞嘧啶 (Cyt) 的量通常亦不相等。这一点和大多数 DNA 很不相同, DNA 中腺嘌呤的量等于胸腺嘧啶的量,鸟嘌呤的量也等于胞嘧啶的量。这一结果首先指出,大多数 RNA 分子不具 DNA 那样有规则的氢键结构,即在 DNA 中,互补的多脱氧核苷酸序列围绕着同一个轴排列成双螺旋的结构。这一 DNA 螺旋分子是靠双链中脱氧核苷酸互补碱基之间的特殊氢键来维持这种构型的。众所周知,腺嘌呤 (Ade) 与胸腺嘧啶 (Thy) 形成互补碱基对,而鸟嘌呤 (Gua) 与胞嘧啶 (Cyt) 形成互补碱基对。

关于 RNA (或多核苷酸)的分子结构式(见图 2.1),通常惯用图 2.2 所列的简写法。垂直线表示在 C-1' 端上连接有一个碱基的核糖的碳链。从垂直线的中部伸出的斜线表示在 C-3' 上连接着磷酸,而垂直线末端上的斜线表示在 C₁-5'

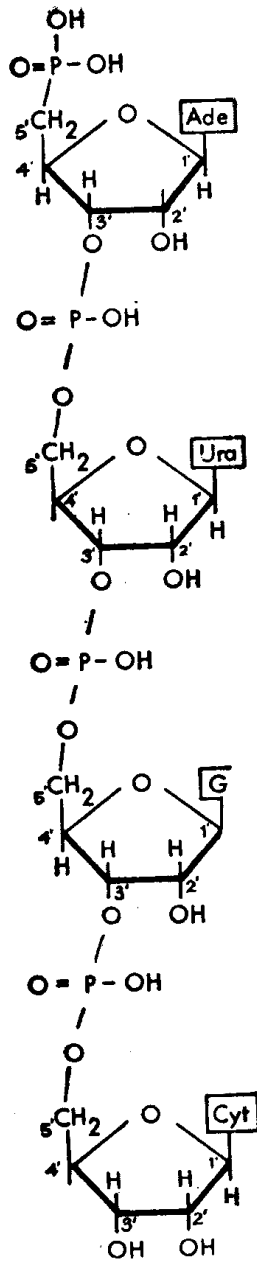


图 2.1 假设的多核苷酸的结构。

上连接着磷酸。也有人采用一个更为简易的表示法,用 P 表示磷酸基。当 P 位于核苷符号的右面时,表示这个磷酸是与核糖部分的 C—3' 成酯键连接的,而当 P 位于核苷符号的左面时,则表示磷酸是与核糖部分 C—5' 成酯键连接的。因此 pUpU 是一个这样的二核苷酸,它的尿苷残基 C—5' 上有一个酯化的磷酸,而在这个残基 C—3' 和相邻残基的 C—5' 之间有一个磷酸二酯键。有时,这个字母 P 可用连字号来代替,例如 pU—U。

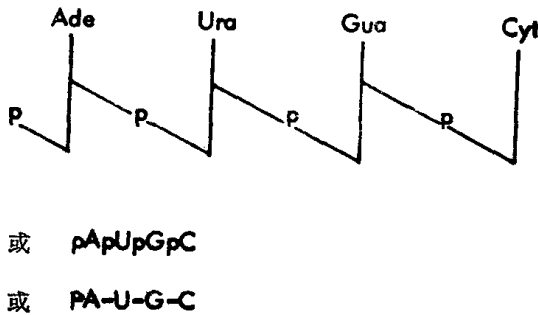


图 2.2 在图 2.1 中展示出假设的多核苷酸的简写法。核苷的缩写: A, 腺苷; G, 鸟苷; U, 尿苷; C, 胞苷。

业已确证 DNA 呈螺旋结构,而 RNA 分子的二级和三级结构的本质仍了解不多。在离子强度很低的溶液中, RNA 分子的性质很像高度膨胀的典型多电解质链,但离子强度增加时则引起链的卷缩,以致呈现出相当低的特性粘度和高沉降率。这就说明在 RNA 核苷酸链的某些节段至少存在着一些互补碱基对的螺旋区。用酶学的方法,现在可能在试管内合成只含腺嘌呤碱基的 RNA 分子,称为聚(A)(多腺苷酸)。亦能合成只有尿嘧啶碱基的 RNA,称为聚(U)(多尿苷酸)。当将这两种等克分子数的人工合成的 RNA 放在溶液中混合时,就形成一种熟知的聚(A)聚(U)的复合物(见图 2.3),其中一条链的腺嘌呤碱基借氢键和另一条链的互补尿嘧啶碱基连

接^[1]。这个复合物的X射线衍射图象表明确是具像DNA那样的双螺旋的结构，每转一圈螺旋有10个碱基，它的螺距为3.4毫微米。

事实上，这种RNA螺旋的性质在很多方面都和DNA螺旋相似，例如，RNA的“分子解链”或“螺旋-线圈”转变的现象。当在中性pH、0.15M NaCl中加热时，温度在60°C左右，RNA在260毫微米处的吸收峰陡度上升，这个温度称为解链温度，或 T_m 。在相同的温度下，在589毫微米处的旋光率迅速下降。这些效应是由于加热而使螺旋中的两条互补链分开的缘故，逐渐冷却使这些效应得到回复，并且螺旋重新形成^[1]。

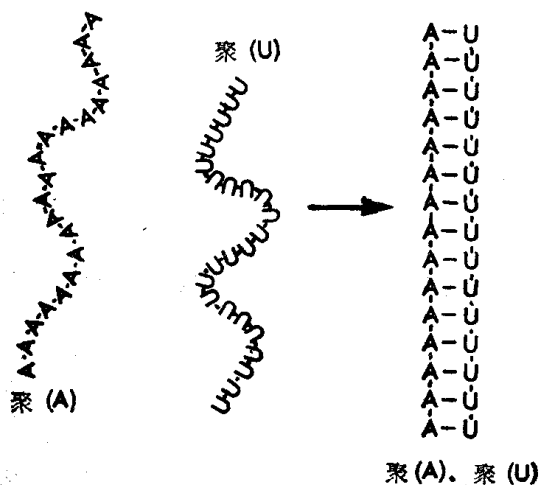


图2.3 聚(A)单链和聚(U)单链结合形成双螺旋聚(A)聚(U)复合物，其中两条链是通过A和U之间的氢键来连接的。

当把天然存在的RNA溶液加热时，所发生的变化和DNA十分相似但不明显，这就表明RNA链在很多处本身回迭形成很多短的螺旋区^[2]。由于已分离出几种不同的细胞RNA并对它的特性进行深入的研究，使我们现在对这些结构的概念愈

来愈清楚。

2.2 RNA 在细胞内的位置

如上所述, 细胞中有几类 RNA, 并且它们在细胞中的位置也常常十分不同。图 2.4 和 2.5 总结出典型的原核细胞和真核细胞的基本细胞学特点(有关现代细胞学研究的详细概括见文献 [31])。

原核细胞和真核细胞有很多不同点, 其一是真核细胞有细胞膜和膜样结构的细胞器的复杂体系。另一个主要不同点是原核细胞没有核。原核细胞染色体含有一条很长的 DNA 分子(常常是环状的), 它除了在某一节段与膜连接以外, 它不与任何其他细胞组分结合。在真核细胞中, DNA 首先被

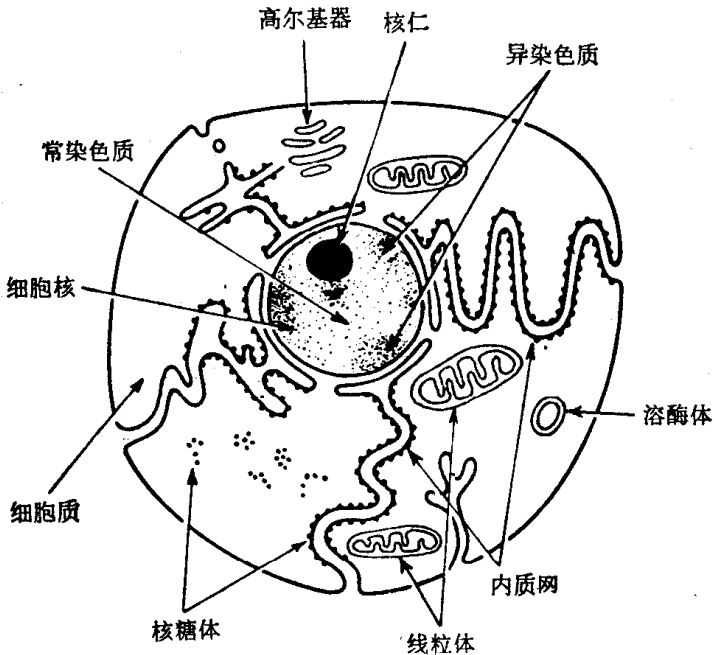


图 2.4 真核细胞(例如哺乳动物)的细微结构模式图。

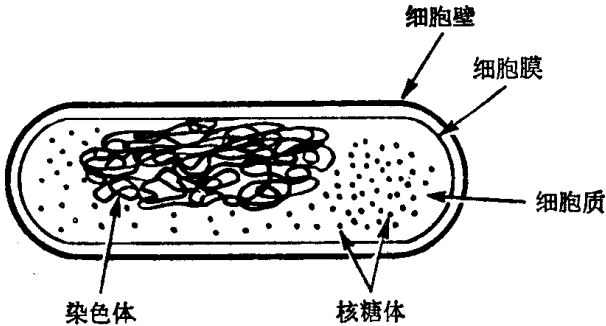


图 2.5 原核细胞(例如细菌)的细微结构模式图。

包埋在核内，而且在那里它与相当多的碱性蛋白质(组蛋白)和其他蛋白质结合，它在有丝分裂时，凝缩形成明显可见的染色体。但是，在分裂间期(如图 2.4)，用显微镜或电子显微镜都不易看清其更为细微的结构。虽然如此，但是仍可认出两种不同的结构，即常染色质和异染色质，前者是 DNA 和蛋白质组成的松散卷曲的细丝，后者是致密卷曲的细丝^[4]。

采用各种精巧的组织化学和细胞化学技术，就可以在原位上研究细胞组分的组成。将细胞破碎，用差速离心分部分离，研究细胞各种组分，就可以得到大量有关细胞过程，例如 RNA 生物合成的资料。但是还没有一种适用于所有细胞的标准方法。然而在大鼠肝细胞所建立的方法学^[5]证明可以推广，它适用于其他组织和生物^[6]。

基本上，首先在合适的基质(通常含有蔗糖，以降低凝聚)中机械破碎组织。破碎可用组织研磨器、玻璃匀浆器、组织捣碎机或其他加有磨粉或玻璃珠的高速混合器。然后，将破碎的细胞制品离心(200g 左右)，除去细胞核及一般细胞碎片(包括未破碎的细胞)。除去细胞核部分之后，剩余的物质再用 8500g 速度离心 10 分钟左右，使线粒体沉出，用 140,000g 90 分钟沉出微粒体和一些“游离”(或未结合的)核糖体。清

亮的上清液相当于细胞液(或胞浆液)。

当用去垢剂脱氧胆酸钠处理微粒体(相当于内质网片段)时,进一步破裂成非沉淀部分(来自含有大多数蛋白质和磷脂的膜组分)和颗粒部分(可在 14,000g 沉淀),后者相当于“结合的”核糖体(即原来作为内质网的一部分结合的核糖体,以别于那些细胞质的“游离的”核糖体)。

如上所述,差速离心的基本操作是多种多样的,有关这个技术的细节,读者可参阅文献[6]。

若将上述的原核细胞和真核细胞分离出的亚细胞各个部分进行核酸的分析,结果发现大量的细胞 RNA 是存在于核糖体内。然而也有一些 RNA 存在于细胞液中。在真核细胞中,少量的 RNA 也存在于细胞核中,线粒体和光合作用生物的叶绿体中也有。

2.3 转移 RNA

从历史上看,转移 RNA 是最先被鉴定出来的细胞 RNA (见第一章)。

这类 RNA 主要是在细胞质(胞液或胞浆)的可溶部分,并约占原核细胞和真核细胞总 RNA 的 10 到 15%。在迅速分裂的细菌细胞中,约有 4×10^5 个 tRNA 分子,种类达 50 多种。tRNA 的确切种类数目仍未弄清,但每一种不同类型的氨基酸至少有一种 tRNA。在哺乳动物细胞中,每个细胞 tRNA 分子总的数目可高达 10^8 。

用缓冲水酚溶液抽提,便很容易从大多数细胞的胞液提取出 tRNA,它是相对地小的分子,在区带超速离心下则沉淀于 4S 部分。各种不同种类 tRNA 的确切链长变化不大,在 76—85 个核苷酸之间。但是,tRNA 除了具有在 2.1 节所讨论的

一般结构之外,还有一些例外的地方。虽然 tRNA 含有四种共同的核苷酸,但也含有很多不常具有的或“少数的”核苷(见图 2.6)。而这些“少数的”核苷的存在乍一看来令人费解和易造成混乱,本书以后将会有所论述,这些核苷是由于新合成 RNA 分子的原始核苷酸序列作简单的结构修饰所致。姑且不谈它的化学知识,仅从所修饰的核苷是紧挨着反密码子序列这一点,就可以看出它作为识别目的是不可缺少的,更不用谈这些分子修饰的功能意义了。从物理学研究很清楚地知道 tRNA 的双螺旋结构或二级结构有一定的百分比^[2]。例如,

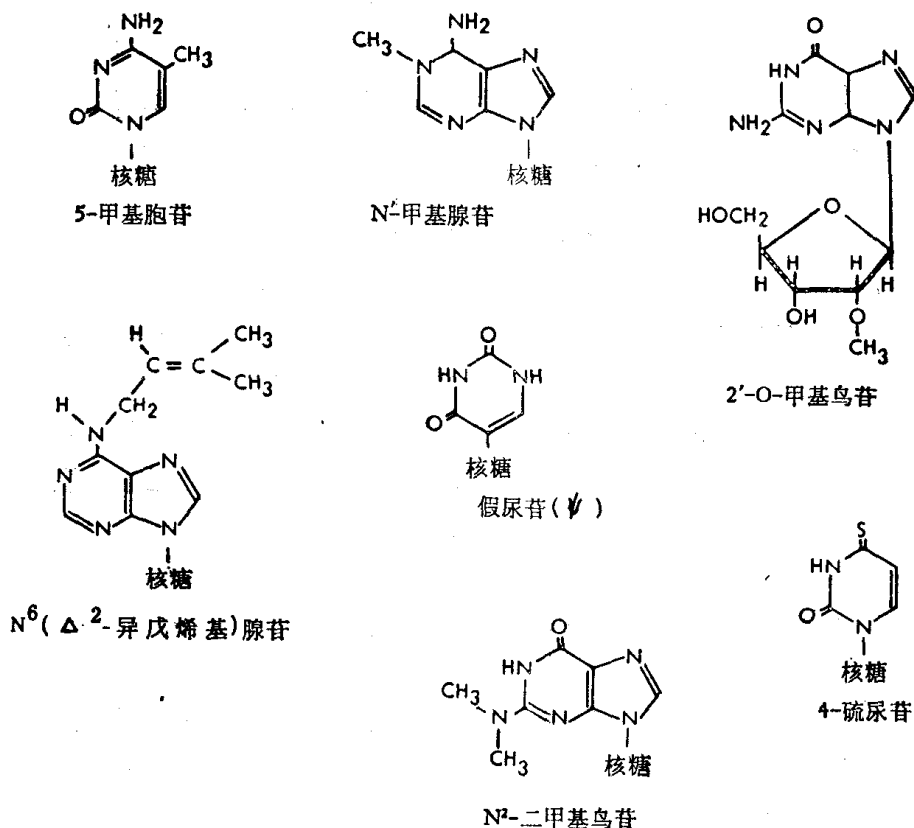


图 2.6 几种修饰核苷的结构。

当逐次提高温度时，“解链”曲线仍然是可逆的，很类似于其他简单的双螺旋分子 [例如聚(A)·聚(U)] 的解链曲线。但是，当测定各种不同温度的总 RNA 的沉淀性质、粘度和紫外吸收时，发现构象在 20°—40°C 之间有很大的改变，但其二级结构的改变却很少。因而看来 tRNA 有一个比螺旋段松散结合更为致密和更为稳定的高级结构。换言之，这就为假定的 tRNA 三级结构提供了充分的依据^[2]。

由于所有 tRNA 的特性十分相似，而且都有约 80 个核苷酸，所以要提纯某一种 tRNA 需要兼用几种分部分离的方法。

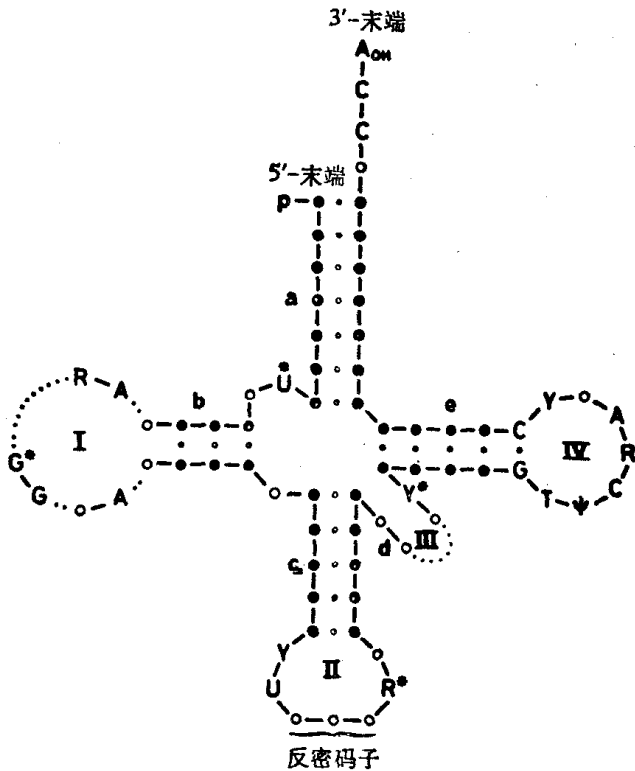


图 2.7 tRNA 的三叶草叶子模型图。概括地说明了它的共同结构的特点。●，任何形式的碱基；R，嘌呤；Y，嘧啶；I⁺，核糖胸苷；ψ，假尿苷；R*，修饰的腺嘌呤。

早期所用的方法是逆流分溶法，用此法从酵母分离出一种对丙氨酸特异的 tRNA (酵母 tRNA^{Ala})，并为 Holley 和他的同事首先确定其全部序列^[7]。这种分离技术现仍得到广泛的应用，但常要和其他柱层析法兼用。

初级顺序测定则需要大量纯的 tRNA，Sanger 和他的同事建立了一种极为迅速的顺序测定法——称作“指纹”技术^[8]，只需要 0.5 毫克标记的 [³²P]-tRNA 就足够的了；初级顺序测定所用的方法主要是用酶有控制地降解 RNA，产物可用层析法分离^[7]，或在 Sanger 的方法中，用双向电泳分离^[8]。

在 1965 年测定了全部酵母 tRNA^{Ala} 的顺序以后，随后又测定了 40 多种 tRNA 的顺序^[9]。所有这些顺序都恰恰符合于图 2.7 所示的结构，即它们用氢键维持的突环和短螺旋区的二级结构都相同。这个结构中有两个众所周知的功能部分：(1) 能与氨基酸酯化的 3'-末端腺苷残基，(2) 带有反密码

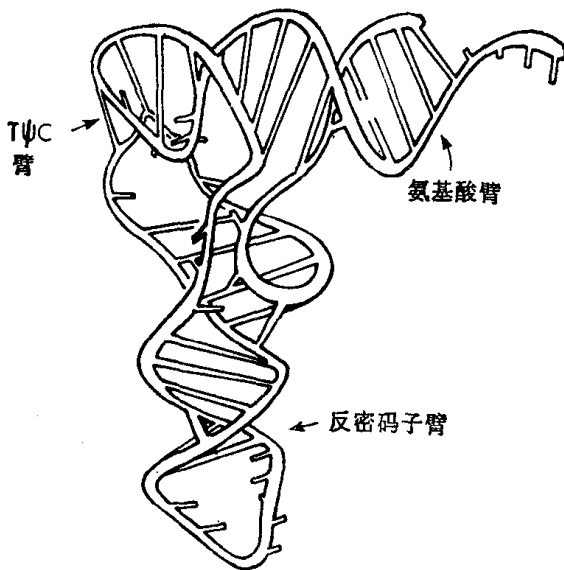


图 2.8 酵母苯丙氨酸转移 RNA 的模型(把核糖磷酸骨架画成连续的圆柱，横棒表示氢键连结的碱基对)。