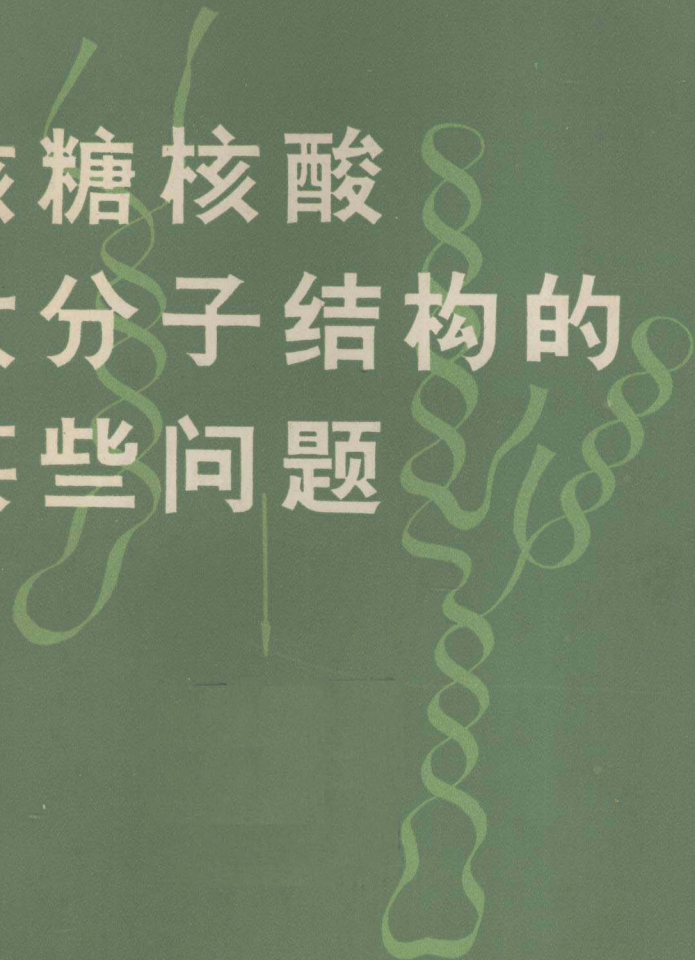


A. C. 斯皮林

核糖核酸 大分子结构的 某些问题



52.2

科学出版社

核糖核酸大分子結構的某些問題

A. C. 斯皮林 著

张福徽 刘承斌 译

科 学 出 版 社

1965

А. С. СПИРИН
НЕКОТОРЫЕ ПРОБЛЕМЫ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНОЙ
СТРУКТУРЫ РИБОНУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Издательство Академии наук СССР
Москва 1963

内 容 简 介

作者根据目前所获得的资料,其中包括作者自己的许多实验结果,对 RNA 的大分子结构问题——RNA 的链长、RNA 在溶液中的构象及 RNA 在核蛋白体中的构象作了具体介绍,并提出了今后在研究 RNA 大分子结构时值得注意的一些问题,还引有主要的参考文献,使读者能了解有关 RNA 大分子结构的目前研究概况和需要继续研究的问题。

本书可供生物物理学、生物化学、遗传学和其它从事核酸研究工作者及高等院校有关专业的师生参考。

核糖核酸大分子结构的某些问题

[苏] A. C. 斯皮林 著
张福徽 刘承斌 译

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街 117 号
北京市书刊出版业营业许可证出字第 061 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

*

1965 年 9 月第 一 版	开本: 850×1168 1/32
1965 年 9 月第一次印刷	印张: 2 7/16
印数: 0001—2,200	字数: 61,000

统一书号: 13031·2185
本社书号: 3325·13—10

定价: [科七] 0.45 元

目 录

一、引言	1
二、RNA 的链长	4
分子量	4
“温度效应”和多核苷酸链的连续性	12
三、RNA 链在溶液中的构象	26
螺旋区(二级结构)	29
螺旋区的分布(三级结构)	41
分子形状和构型的转变	49
四、RNA 链在核蛋白体中的构象	64
螺旋区	64
RNA 链在核蛋白体内的排列	66
五、结束語	69
参考文献	70

一、引 言

核酸在生长、繁殖、遗传和病毒感染等过程中有重要的意义，很明显，这是因为核酸对蛋白质的生物合成起着决定性的作用。在任何活的有机体中都存在着两类核酸——核糖核酸（RNA）和脱氧核糖核酸（DNA）。在蛋白质生物合成这个关键性的生命过程中，两类核酸所担负的功能是不同的。DNA的功能是通过一些中间机制，决定细胞所合成的蛋白质有特异的结构，并保证这种特异性遗传给下代。相反地，RNA的功能是直接地参加建造出特异结构的蛋白质的生物合成过程。在核蛋白体的“结构”蛋白质及酶蛋白质的参与下，核蛋白体RNA、“可溶性”RNA与信使RNA的分子之间相互的复杂作用是这个过程的中心环节。这种相互作用的具体机制，目前还一无所知。欲阐明核糖核酸分子在机体中的作用机制，最首要的任务之一是研究核糖核酸大分子结构的原理。

但是，关于RNA的物理学及物理化学性质的研究工作远不及DNA。多年来，无论是从哪一种生物来源，都未能分离出均一的高聚RNA制剂。这一失败是因为RNA为非常不稳定的化合物，当采用比较剧烈一些的分​​离方法，特别是较高的pH条件时，不可避免地会引起多核苷酸链的迅速的化学降解，而在缓和的“生理”条件下提取时，因到处都有核糖核酸酶存在，又不能避免多核苷酸链的酶解作用。由于在长时期内没有找到可以鉴定出RNA制剂的天然性或生物学活性的方法，故问题愈加复杂。

高聚的RNA是由Stanley实验室最先从烟草花叶病毒（TMV）中提取出来的（Cohen及Stanley, 1942）。这次提取的成功在于材料选得合适，提纯的病毒，不含足使温和方法成为不可能的、每种细胞所具有的核糖核酸酶。根据Cohen及Stanley的资料，用极

简单的方法得到的病毒 RNA (把病毒的溶液短时间加热, 使蛋白质变性, 再将蛋白质分离), 分子量达 300,000。但得到的 RNA 制剂是不均一的, 非常不稳定的, 并很快便降解为分子量平均为 60,000—70,000 的碎片。可是多年来, 提取出的病毒 RNA 的分子量一直是 RNA 制剂中的分子量最高者。直到 1951 年为止, 从各种不同类型的细胞中提取出的较好的 RNA 制剂中, 分子量始终没有超过 10,000—70,000 (Magasanik, 1955)。

这方面的最初进展是同选用新方法, 主要是应用蛋白质变性试剂配以缓和的 pH 条件分离核酸相联系的。Volkin 及 Carter (1951) 提出了用盐酸胍作为去除蛋白质的试剂从动物组织分离 RNA 制剂的方法。Grinan 及 Mosher (1951) 同样利用盐酸胍从大鼠肝中提取高聚 RNA。他们得到的 RNA 制剂和以前 Cohen 及 Stanley 从病毒中分离的 RNA 相近似, 其分子量在 300,000 左右。这种制剂很不均一, 也非常不稳定。后来, Kay 及 Dounce (1953) 又加以改进, 提議用十二烷基磺酸钠来去除蛋白质。此后, 应用十二烷基磺酸钠已成为目前一系列分离天然 RNA 方法的基础。

1956 年, 第一次提出采用苯酚去除蛋白质的方法 (Gierer 及 Schramm, 1956 a、b; Kirby, 1956), 使制备天然 RNA 方法上的困难得到满意的解决。以用水饱和的苯酚处理生物材料为基础的这一方法, 可以保证核酸酶几乎即刻全部失活, 在提取的过程中, RNA 的多核苷酸链不会发生降解, 蛋白质去除得完全, 可以获得非常纯一的 RNA 制剂。采用苯酚去除蛋白质, 看来是目前从各种生物材料中制备高聚 RNA 的最完善的方法。最近, 应用较多的是以苯酚和十二烷基磺酸钠一起来去除 RNA 中的蛋白质 (Шакулов 等, 1962; Hiatt, 1962; Ishihama 等, 1962; Monier 等, 1962)。

Sinsheimer 和他的同事稍稍超越了分离方法的发展进程, 还在 1954 年就通过仔细地选择蛋白质的热变性条件, 从烟草花叶病毒中分离出分子量大约 2×10^6 的 RNA (Northrop 及 Sinsheimer,

1954; Hopkins 及 Sinsheimer, 1955)。也正如 Cohen 及 Stanley 的实验一样,在这个工作中,选材起了决定性的作用,在分离的过程中不需要特别预防核糖核酸酶对 RNA 的降解作用。分子量 2×10^6 同一个 TMV 颗粒所包含的全部 RNA 非常一致。因此可得出结论,在 TMV 颗粒中整个 RNA 是分子量为 2×10^6 的高聚 RNA 的一个分子。看来,上述的作者是最先成功地从病毒中得到了完全未降解的(天然的) RNA 分子。

发现病毒 RNA 特有的生物学活性(感染性),在高聚 RNA 的研究工作中是一个转折点(Girer 及 Schramm; 1956 a、b; Fraenkel-Conrat 等, 1957)。首先,这些研究有可能证实所得到的病毒 RNA 制剂确实是天然的,同时也可以证明所选用的提取 RNA 的方法,特别是用苯酚去除蛋白质的方法能够保持 RNA 的天然状态。很明显,如果未发现现象病毒 RNA 制剂的生物学活性这样唯一可靠的天然性指标,要真正地进行 RNA 大分子结构的研究是不可能的。因此,1956—1957 年 Schramm 及 Fraenkel-Conrat 实验室发现病毒 RNA 的感染性是开始积极研究天然 RNA 大分子结构的起点,事实上也正是这样,首先研究的就是病毒天然 RNA,而后研究的是细胞组织的高聚 RNA。“可溶性”RNA 的发现以及其特有生物学活性的证实(参阅 Hoagland 综述, 1960),同样也提出了应该对这一类细胞 RNA 的物理性质和天然结构进行研究的问题。

二、RNA 的鏈长

分 子 量

1. 病毒 RNA 1957—1958 年最初的研究表明,具有生物学活性(感染性)的 TMV 中病毒 RNA 的特点是分子量很高(和 Sinsheimer 及其同事们以前的资料相一致),大约为 2×10^6 (Gierer, 1957; 1958 a、b)。象这样大小的一个 RNA 分子正好相当于一个 TMV 颗粒所包含的全部 RNA,也就是说,一个病毒颗粒包含一个 RNA 分子。Fraenkel-Conrat 及其同事最初认为,具有生物学活性的 TMV-RNA 的分子量大约为 300,000 (Fraenkel-Conrat 等, 1957; Fraenkel-Conrat 及 Singer, 1959a),但这一主张并未被作者自己的实验所证实 (Fraenkel-Conrat, 1959; Fraenkel-Conrat 及 Singer, 1959b; Haschemeyer 等, 1959)。后来用各种不同的方法进行研究,也证实 TMV 中天然 RNA 的分子量接近于 2,000,000 (Ginoza, 1958, 1959; Cheo 等, 1959; Friesen 及 Sinsheimer, 1959; Voedtker, 1959, 1960; Спирин, Гаврилова, Бреслер 及 Мосевичкий, 1959)。这证明只有分子量大约为 2×10^6 的病毒 RNA 颗粒才具有生物学活性,而不是更小的颗粒。甚至当多核苷酸链发生个别的断裂时也足以引起病毒 RNA 失去活性 (Gierer, 1957; 1958a、b; Ginoza 及 Norman, 1957; Ginoza, 1958, 1959)。

自从 TMV 中分离出具有感染性的 RNA 之后,紧接着又进行了一系列的工作,研究了从核糖核蛋白性质的其它各种病毒中分离感染性的 RNA,首先是从最简单的动物和人体病毒开始,如脊髓灰质炎和各种脑炎病毒、口蹄疫病毒以及某些植物病毒 (Schuster, 1960)。还在这些工作发表以前就已经证明,在许多研究过的简单病毒中,不管病毒颗粒的大小和它们的分子量如何,每个病

毒颗粒所包含的 RNA 的绝对量都相等,这就是说,假如将一个病毒颗粒中的所有 RNA 看成是一个 RNA 分子的话,其分子量接近于 2×10^6 (Frisch-Niggemeyer, 1956)。从表 1 中可以看出这一情况。对某些病毒(脑炎、口蹄疫、蕪菁花叶病毒等)RNA 制剂中的感染性组分直接进行分子量的测定,事实上发现病毒 RNA 感染性颗粒的分子量同上面的数量级相同(Wecker, 1959; Strohmaier 及 Musssgay, 1959; Cheng, 1959b)。可见,不仅是 TMV 的 RNA,许多其它的核糖核蛋白性质的病毒 RNA 看来都有相近的大约为 2×10^6 的分子量(虽然根据最近的资料,这对于所有的简单病毒似乎不是绝对的规律)。

表 1 一些病毒的 RNA 含量 (根据 Schuster, 1960)

病 毒	病毒的分子量 ($\times 10^6$)	RNA 含量 (%)	RNA 的“分子量” ($\times 10^6$) (一个病毒颗粒中所含 RNA 的绝对量)
球形植物病毒:			
蕪菁花叶病毒	5	34	1.7
番茄矮萎病毒	10.65	16.5	1.65
烟草坏死病毒	8	18	1.45
烟草环斑病毒	3.4	44	1.50
棒状植物病毒:			
烟草花叶病毒	40	5.5	2.2
马铃薯 X 病毒	37	5.5	2.0
球形动物病毒:			
脊髓灰质炎	6.7	30	2.0
马口蹄疫	50	4.4	2.0
微生物病毒:			
A 型流感病毒	280	0.7—1.0	≈ 2.0
鸡瘟病毒	150	1.8	2.7

2. 核蛋白体 RNA 前已指出,从细胞组织中分离 RNA 制剂时采用苯酚去除蛋白质的方法,对于研究细胞 RNA 的分子量起了决定性的推动作用。已证明,所有的各类细胞(动物、植物及细菌)中所含 RNA 的分子量均为 10^6 左右 (Timasheff 等, 1958; Gierer, 1958c; Hall 及 Doty, 1958, 1959; Eisenberg 及 Littauer,

1958; Littauer 及 Eisenberg, 1958, 1959; Ts'o 及 Squires, 1959; Cheng, 1959a, 1960; Kurland, 1960; Osawa, 1960; Спирин 及 Мильман, 1960; Спирин, 1961a; Littauer, 1961), 并且这种高分子量的细胞 RNA 占细胞全部 RNA 的绝大部分——80—90% (Hoagland, 1960)。这部分 RNA 在细胞中是以核糖核蛋白颗粒 (RNP 颗粒) 或称核蛋白体的形式存在的, 大约占核蛋白体重量的一半 (另一半为核蛋白体的蛋白质部分)。用沉降法研究表明, 核蛋白体 RNA 和病毒 RNA 有所不同, 前者不是单分散性的分子, 一般地是由大小不等的两类分子所组成, 其中, 一类的分子量约为 1,000,000—1,500,000, 另一类的分子量约为 500,000 或更大一些。单独就每一类分子来看, 它们的分子大小则是属于单分散性的分子。

研究得特别详细的是大肠杆菌的核蛋白体 RNA (Littauer 及 Eisenberg, 1959; Littauer, 1961; Kurland, 1960; Aronson 及 McCarthy, 1961; Green 及 Hall, 1961; Спирин, 1961a; Боганова 等, 1962; Möller 及 Boedtker, 1961, 1962; Boedtker 等, 1962)。已证明大肠杆菌核蛋白体 RNA 包含两种主要的组分, 其沉降系数通常为 23 S 及 16—17S; 根据 Kurland (1960) 的资料, 这两种 RNA 组分的分子量分别为 1.12×10^6 和 0.56×10^6 。现在知道, 大肠杆菌中的完整 70 S 核蛋白体是由 50S 及 30S 两种亚单位组合而成的 (Tissieres 及 Watson, 1958; Tissieres 等, 1959)。Kurland (1960) 证明, 在每一个 30S 的亚单位中含有一个分子量为 0.56×10^6 的 RNA 分子 (16 S 的 RNA), 而在 50 S 的亚单位中, 有的是含有一个分子量为 1.12×10^6 的 RNA 分子 (23 S 的 RNA), 有的则是含有两个分子量为 0.56×10^6 的 RNA 分子 (含有两个 16S 的 RNA)。Aronson 及 McCarthy (1961) 已经证实了这一点。因此, 在原始的 70S 核蛋白体中, 一般地是含有两个高聚 RNA 分子, 有一个“大”的 RNA 分子和一个“小”的 RNA 分子, 或在某些情况下只含有三个“小”的 RNA 分子。但是 Green 及 Hall (1961) 在专门研究这个问题时发现, 那些构成 70 S 核蛋白

体亚单位的 50 S 颗粒 (“衍生的” 50S 颗粒) 几乎全都是含有一个大的 RNA 分子 (23S), 只有那些独立地存在于细胞中的 50 S 颗粒, 即那些不是构成 70S 核蛋白体亚单位的所谓天然的 50S 颗粒才含有二个小的 RNA 分子 (16S)。由此可见, 大肠杆菌核蛋白体 RNA 含有两种组分反映出这样一个事实, 即基本类型的核糖核蛋白颗粒是由不等的两种亚单位 (50S 及 30S) 组成的, 其中每一个亚单位看来各含有一个 RNA 分子 (分别为 23S 及 16S)。显然, 所有其它的细胞和组织的核蛋白体 RNA 也都会有同样的性质。

可惜, 对于各种多细胞组织的核蛋白体 RNA 的分子量目前还缺少完整和可靠的对比资料。由于不同作者所选用的实验条件、制剂的性质和计算方法很不一致, 比较不同作者所得出的资料不见得能够判断出分子量相近或者不同。

Gierer (1958c) 与 Cheng (1959a, 1960) 指出, 许多动物和植物细胞 (鼠肝、烟叶、鼠脑和小牛胸腺等) 来源的核蛋白体 RNA 制剂中所含两种 RNA 组分的分子量为 $1.7-1.8 \times 10^6$ 和大约 $0.6-0.7 \times 10^6$ (分子量比值为 3:1—2.5:1)。根据他们的资料, 相当于这两种 RNA 组分的沉降系数大约为 30 S 和 17—18S。Timasheff 及其同事 (Timasheff 等, 1958; Kronman 等, 1960) 指出, 从艾氏腹水癌细胞得到的 RNA 有着近似的沉降系数, 为 32—34 S 和 15—18S, 根据他们的计算, 这两种 RNA 组分的分子量分别为 2.3×10^6 和 3.2×10^6 。Hall 及 Doty (1959) 从小牛肝微粒体中得到的 RNA 和 Ts'o 及 Squires (1959) 从豌豆及兔网状细胞微粒体中得到的 RNA 的沉降系数均为 28S 和 18S; Hall 及 Doty 计算出来的分子量为 1.3×10^6 和 0.6×10^6 。Littauer 也指出, 从小牛肝得到的核蛋白体 RNA 的沉降系数为 28 S 和 18S。Laskov 等 (1959) 和 Littauer 从鼠肝得到的高分子 RNA 的沉降系数是 17—18 S 和 25—26S。从小鸡肝的两种 RNA 组分可以看出它们的沉降系数更为接近, 分别为 24 S 和 19 S (Littauer, 1961)。在我们自己的工作中 (Спирин, 1961a), 得到兔骨髓 RNA

的沉降系数为 24.5S 和 14.5S, 得到豌豆芽 RNA 的沉降系数为 25.1 S 和 13.9S, 计算它们的分子量, 兔骨髓 RNA 分别为 1.27×10^6 和 0.53×10^6 (分子量比值, $M_1:M_2 = 3:1$), 豌豆芽 RNA 分别为 1.34×10^6 和 0.39×10^6 (分子量比值, $M_1:M_2 = 3.5:1$)。

甚至同一种研究材料由不同作者所得到的沉降系数也常常是不一致的, 这可能有二个主要的原因。第一, RNA 大分子在低温条件下处于比较紧凑的状态, 因此在低温条件下进行的沉降实验, 然后再换算为标准条件下(20°C)的 $S_{20,w}$ 值比在室温条件下所得到的沉降系数会偏高一些。第二, 在 RNA 制剂中可能存在有镁离子和其它的两价阳离子, 这些离子可以增加 RNA 分子的紧密度, 因此也会引起沉降系数值偏高。例如, 在我们的实验中 (Спинин, 1961a) 所得到的豌豆芽和兔骨髓 RNA 的 $S_{20,w}$ 值比 Ts'o 及 Squires (1959) 得到的数值偏低, 可以想到, 这是由于我们预先将 RNA 在乙二醇四乙酸盐溶液中反复地沉淀, 然后又在乙二醇四乙酸盐的存在下于 20°C 进行沉降实验的结果。Boedtker 的工作使人信服地说明了降低温度和镁离子的存在均可导致 RNA 沉降系数的升高 (Boedtker, 1959, 1960; Möller 及 Boedtker, 1962)。举一个例子可以很好地说明这一情况, 大肠杆菌的两种 RNA 组分的沉降系数一般地是 23S 及 16S, 当有镁离子存在时, 沉降速度加快, 相应的沉降系数为 29S 及 21S (Möller 及 Boedtker, 1962)。在 Timasheff 及其同事 (Timasheff 等, 1958; Kronman 等, 1960), Gierer (1958c), Cheng (1959a, 1960) 的实验中得到的沉降系数很高, 特别是大组分的 RNA, 推想主要是因为他们所应用的 RNA 样品中含有两价阳离子的缘故 (象在 Gierer 的实验中, 部分的原因系因在低温条件下进行实验)。因此不能排除他们对大组分 RNA 的分子量计算得偏高, 很可能, 他们所观察的 RNA 组分并不是反映完整核蛋白颗粒中的统一的 RNA 分子, 而只是类似于大肠杆菌那样的较大核蛋白体亚单位的 RNA 组分 (23S RNA)。

由于沉降系数可能有上述的波动, 当对比不同作者所得到的

实验数据时应该极为慎重，特别在应用某一些实验条件下所导出的分子量与沉降系数之间的相互关系来在另一些条件下，或由不同的作者来推算其它样品的分子量时，更应该小心。因此，只有同一个实验室采用预先除去了两价阳离子的 RNA 制剂所得到的比较资料，看来才会有参考的价值，这样就可以排除因 RNA 制剂中含有两价阳离子所引起的偶然波动。

表 2 高聚 RNA 的沉降系数及分子量 (Спирин, 1961a)

RNA 来源	$S_{20,w}^0$	M (M_1, M_2)	总和 M ($M_1 + M_2$)
TMV	31.0	2.1×10^6	2.1×10^6
大肠杆菌	23.0	1.16×10^6	1.7×10^6
	16.7	0.56×10^6	
兔	24.0	1.27×10^6	1.7×10^6
	14.5	0.43×10^6	
豌豆	25.1	1.34×10^6	1.7×10^6
	13.9	0.39×10^6	

表 2 列举了我们实验室在同一条件下得到的各种高聚 RNA 的实验资料，测定是在离子强度为 0.1，在 0.01 克分子浓度的乙二醇四乙酸盐存在下进行的；所有的分子量都是按照在该实验条件下所推导的经验公式 $M = 1550 \times S^{2.1}$ 进行计算 (Спирин, 1961a)。

从表 2 所列的数据中可得出这样的结论，即核蛋白体 RNA 的分子量看来并不是一个通用的数值，它随生物来源的不同而略有差异。特别值得注意的性质是，如果把不同组织来源的两种 RNA 组分的沉降系数进行对比，就会发现大组分 RNA 的 $S_{20,w}$ 值愈大时，小组分 RNA 的 $S_{20,w}$ 值就会愈小。从 Littauer (1961) 得到的不同种属动物的核蛋白体 RNA 的资料，也看到同样的性质：

小鸡	24 S 及 19 S
大鼠	26 S 及 18 S
小牛	28 S 及 17 S

看来这意味着,当某一种组织中的大组分核蛋白体 RNA 的分子量比另一种组织中的大组分 RNA 的分子量为高时,则这一组织中小组分核蛋白体 RNA 的分子量就会相应地小于另一组织中的小组分 RNA (一种 RNA 组分的分子量增加伴随着另一种 RNA 组分的分子量减小)。上述的资料 (Спирин, 1961a; Littauer, 1961) 表明,核蛋白体中两种主要 RNA 组分的分子量比值显然会随着组织来源的不同而有区别。对于大肠杆菌核蛋白体 RNA 来说,证明这一比值等于 2:1,但对其它组织细胞的核蛋白体 RNA,分子量比值就不一定也是 2:1。值得提出的是,根据我们的实验资料,从家兔和豌豆中得到的核蛋白体 RNA 两种组分的分子量比值约为 3:1 (Спирин, 1961a),而 Ts'o (1958) 过去所报告的结果和我们是 不一致的,他得到的豌豆核蛋白体亚单位的分子量比值大约为 2:1。

从表 2 的资料可以得到一个很有趣的结论,即在所有的情况下,无论是在动物、植物或细菌细胞的核蛋白体 RNA 中,大小两种 RNA 组分的分子量总合都是相同的,看来同细胞的种类无关。这种总合分子量为 1.7×10^6 ,和病毒 RNA 的分子量相接近。这表明在每一个完整的核蛋白颗粒中 (70 S 或 80 S 的颗粒),通常包含有一个大组分的核蛋白体 RNA 分子和一个小组分核蛋白体 RNA 分子,因此不论是哪一种生物来源总是含有等量的 RNA,并且在这样一个核蛋白体中所含的 RNA 数量同 一个病毒颗粒的 RNA 含量相接近。

在这之前,通过对不同的核蛋白体及病毒中 RNA 含量的直接比较,曾得到同样的结论 (Cheng, 1957; Tissieres 及 Watson, 1958)。例如,知道在大肠杆菌中 70S 核蛋白体的分子量为 2.8×10^6 ,其中 RNA 的含量为 60—65%,这就是说相当于全部 RNA 的分子量是 1.7×10^6 ;在酵母中,80S 核蛋白体的分子量为 4.1×10^6 ,其中的 RNA 占 42%,相当于全部 RNA 的分子量也是 1.7×10^6 ;在豌豆芽中,80 S 核蛋白体的分子量等于 $4.0—4.5 \times 10^6$,RNA 的含量占 40%,也就是说相当于 RNA 的分子量仍接近

1.7×10^6 。

目前对上述普遍性质的意义还不了解。显然不能排除这样的可能性，即任何的高分子 RNA 在细胞中形成或起作用的某个特定的阶段，很可能都是以分子量大约为 2×10^6 的统一的分子形式存在。

可以推测，高聚 RNA 在细胞中的合成机制是这样的，即通常制造出分子量接近于 2×10^6 的多核苷酸，通过这一机制复制分子量约为 2×10^6 的核蛋白体 RNA 的前体，这些前体在生成核蛋白体颗粒的前后或在生成的过程中再分裂为两个不等的部分；这样就能够解释一个事实，即在正常的核蛋白体中，整个 RNA 的数量看来总是相当于分子量大约 2×10^6 。

3. “可溶性” RNA 细胞 RNA 的另一个部分称为“可溶性”RNA (适应体 RNA)；有时也叫做转运 RNA 或者“接受体”RNA，在整个的细胞 RNA 中这一部分 RNA 的数量占 10—20%。“可溶性”RNA 的分子量几乎要比高聚 RNA 的分子量小二个数量级，根据最可靠的物理化学方法测定的结果，其分子量大约为 25,000—30,000 (Tisseries, 1959; Brown 及 Zubay, 1960; Cox 及 Littauer, 1960)，这样的分子量相当于总共含有 80—100 个核苷酸。一切具有活性的“可溶性”RNA 分子的末端核苷酸都有特定的排列顺序：“胞—胞—腺”。通过“可溶性”RNA 接受激活氨基酸和将激活的氨基酸转送到核蛋白体上的能力（在相应的酶系统存在下），很容易鉴定这类细胞 RNA 制剂的天然性（参阅 Hoagland 的综述，1960）。

4. 信使 RNA 细胞中最重要的一个 RNA 部分是信使 RNA，或称为“信讯 RNA” (m-RNA)，它在细胞中通常只有少量存在（看来不超过 RNA 总量的 5—8%），对信使 RNA 的研究工作是最近才开始的。因为细胞中可以合成各种不同大小的蛋白质，为此，m-RNA 可能代表着不同大小的分子。初步的测定表明，在细菌的 m-RNA 分子中，主要 RNA 组分的分子量很可能在 100,000 左右（除去蛋白质以后的沉降系数大约为 8S，Nomura 等，1960；

Gros 等, 1961a, b)。但后来证明, 以前所测得的沉降系数和分子量数值, 是原来的(天然的) m-RNA 分子在破坏细胞分离制剂的过程中已受到了某种局部酶解的结果。许多作者最新的实验认为, m-RNA 的分子量的分布范围是很广的, 可从 30,000—50,000 一直到 2×10^6 , 甚至再大一些(大肠杆菌 m-RNA 的沉降系数可以从 4S 到 30S, 动物细胞 m-RNA 的沉降系数甚至高达 45S) (Spiegelman, 1961; Takai 等, 1962; Scherrer 及 Darnell, 1962; Hiatt, 1962; Ishihama 等, 1962; Monier 等, 1962)。这里应当指出, 高分子量的 RNA 组分在 m-RNA 中占有很大的比例。

“温度效应”和多核苷酸链的连续性

1. 病毒 RNA 从历史的情况来看, 病毒 RNA 是最先被研究的对象, 而这一对象正好可以显示出它们的生物学活性, 从而可以证明所提取的 RNA 制剂是否具有天然性。这样就为研究天然 RNA 的大分子结构开辟了一条道路。

前面提到, 从 TMV 中分离出具有生物学活性(感染性的)的 RNA 之后, 支持感染性的单位为分子量 2,000,000 的一条连续多核苷酸链观点的工作者同 Fraenkel-Conrat 等一些人开展了激烈的争论。Fraenkel-Conrat 等人最初坚持认为, 病毒颗粒中的 RNA 是由分子量在 300,000 左右的各个分子-亚单位所组成的, 而这样的亚单位也正是生物学的活性单位(参阅 页)。不久这场争论便结束了, 结果证明了前面一种观点是正确的。通过一系列的各种观察, 发现并证实一切具有生物学活性的病毒 RNA 分子都是由 6,000—7,000 个核苷酸残基所组成的一条连续的多核苷酸链, 分子量大约为 2×10^6 (Gierer, 1957, 1958a, b; Ginoza, 1958, 1959; Спирин, Гаврилова, Бреслер, Мосевичкий, 1959; Fraenkel-Conrat, 1959; Спирин 及 Гаврилова, 1961; Fraenkel-Conrat 等, 1962; Fraenkel-Conrat 及 Singer, 1959b)。

在 А. Н. Белозерский 的实验室中, 我们和 Гаврилова 一起观察了加热对病毒 RNA 的粘度特性及沉降行为的影响, 这些实

验对进一步研究 RNA 多核苷酸链的连续性和断续性问题曾起了决定性的作用。1959 年年初,通过这些实验发现了高聚 RNA 行为的一个新现象,我们把它称为“温度效应”(Гаврилова, Спирин 及 Берозерский, 1959)。这一现象的发现和其实质的解释为解决 RNA 大分子结构的许多其它问题提供了一把钥匙。在开始的时候,首先发现当天然病毒 RNA 被加热到一定的温度区间时,其比粘度出现突跃的升高,同时伴随着沉降系数的下降。

下面谈一谈最初我们所进行的加热对病毒 RNA 溶液的影响实验,并对加热影响的机制予以解释(Гаврилова 等, 1959)。最初的实验采用了浓度较高的 RNA 溶液,这和后来的实验是不同的。但后来用浓度较低的 RNA 溶液所作的实验证明也具有相同的规律,不过许多指标的绝对值有些不同(Спирин, Гаврилова 等, 1959b)。

实验中选用的病毒 RNA 溶液有两种,一种是在 pH 7.2, 离子强度为 0.1 的磷酸缓冲溶液中;另一种是在 6M 的尿素中,以磷酸缓冲液调节到相同的 pH 及离子强度(检查这种溶液的感染性,证明尿素不引起病毒 RNA 失活)。图 1 表明感染性 RNA 在磷酸缓冲溶液中的还原粘度对温度的依赖性。从曲线 1 可看出,当温度由 20°C 升高到 40°C 时,还原粘度没有明显的改变。但当温度继续升高时,粘度迅速地增加,到 60—70°C 时,可以达到最高的粘度值。由此可见,在一个很窄的完全确定的温度范围内, RNA 分子从一种状态转变为另一种状态。这种转变和蛋白质的热变性作用不同,不致于引起大分子即刻丧失活性(在本实验的条件下,即不丧失感染性),并且这种转变是可逆性的。

应当指出,丧失了感染性的 RNA 制剂则表现不出“温度效应”,也就是说,在 40—60°C 的温度区间未发现上述的粘度突变,

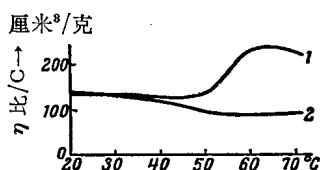


图 1 在 pH 7, 离子强度 0.1 的磷酸缓冲液中,病毒 RNA 的还原粘度对温度的依赖性

1. 感染性的 RNA; 2. 相同的 RNA, 但其溶液经过放置已丧失了感染性。
(Гаврилова 等, 1959)