

核苷酸类物质的生产和应用

资料汇编

中国科学院微生物研究所编

科学出版社

核苷酸类物质的生产和应用

資 料 汇 編

中国科学院微生物研究所編

科 学 出 版 社

1 9 7 1

内 容 简 介

在光焰无际的毛泽东思想的指引下,我国广大工农兵在核苷酸类物质的生产和应用方面,大搞群众性的科学实验,取得了较大的成果。为了交流经验,我们将有关资料编成《核苷酸类物质的生产和应用》资料汇编,内容有:核酸的生物化学知识,5'-核苷酸和腺嘌呤核苷三磷酸的生产,光合合成腺嘌呤核苷三磷酸,腺嘌呤核苷三磷酸的化学合成,从味精发酵的废菌体中提炼核苷酸,5'-肌苷酸的双菌混合发酵和肌苷的制备,化学合成腺嘌呤核苷三磷酸的临床试验报告,5'-核苷酸临床试验简报,肌苷和肌苷酸在临床上的应用。

本书可供广大从事微生物工作的工人、贫下中农、科技工作者、革命干部和知识青年参考。

核苷酸类物质的生产和应用

资 料 汇 编

(只限国内发行)

科 学 出 版 社 出 版

北京西直门外三里河路2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

*

1971年6月第一版 1971年6月第一次印刷

定价: 0.33 元

前 言

在毛主席革命路线指引下,核酸的研究从“专家”“权威”的控制下解放了出来,回到广大工农群众手里,成为一个十分活跃的研究领域。在以毛主席为首、林副主席为副的党中央的英明领导下,大搞群众运动,实行工人、贫下中农、科技人员和革命干部三结合;研究,生产和使用三结合,使核苷酸类物质的生产,从无到有,飞跃发展,并在医药、国防、农业和食品等方面得到应用,深受广大工农兵的欢迎。

为交流广大工农兵和革命知识分子活学活用毛泽东思想在核酸研究中所取得的成绩,以适应核酸工业发展的需要,特汇编了这本资料。为普及核酸知识,还专门编写了核酸的生物化学知识一文,供参考。

核酸工业的前景是十分宏伟的。为贯彻落实毛主席提出的“**备战、备荒、为人民**”的伟大战略方针,把发展核酸工业和综合利用结合起来,这是一个很好的方向。目前已利用啤酒酵母、白地霉、谷氨酸菌体、青霉菌丝体、面包酵母、酒精酵母等制备核酸,进而提炼核苷酸。让我们变废为宝,一厂多能,走自己的道路,多快好省地发展核酸工业。

在有关单位的大力支持下,我们把收集到的资料汇编成册。由于水平不高,经验不足,一定有缺点和错误,请批评指正。

编 者

1970年10月

目 录

核酸的生物化学知识	向工农	(1)
5'-单核苷酸和腺嘌呤核苷三磷酸的生产		
.....	首都啤酒厂 中国科学院 824 组	(14)
光合成腺嘌呤核苷三磷酸	中国科学院植物生理研究所	(62)
腺嘌呤核苷三磷酸的化学合成	上海生物化学制药厂 中国科学院生物化学研究所	(83)
从味精发酵的废菌体中提炼核苷酸	江苏省无锡味精厂	(89)
5'-肌苷酸的双菌混合发酵和肌苷的生产		
.....	江苏省苏州味精厂 中国科学院微生物研究所	(94)
化学合成腺嘌呤核苷三磷酸的临床试验报告		
.....	上海生物化学制药厂 中国科学院生物化学研究所	(138)
5'-核苷酸临床试验简报	杭州啤酒厂	(142)
肌苷和肌苷酸在临床上的应用	苏州味精厂	(150)

核酸的生物化学知识

向工农

无产阶级文化大革命以来，在毛主席无产阶级革命路线指引下，我国核酸的研究，象其他科学一样，从“专家”“权威”所禁锢的实验室里解放出来，形成一个群众性的科学实验活动，核酸工业及其在医、农等方面的应用蓬勃发展。

为了适应工农业生产发展的需要，遵循伟大领袖毛主席“向工农兵普及”、“从工农兵提高”的教导，本文漫谈一下核酸的发现、生物功能、生产及其应用等问题。

核酸的发现

早在 1868 年就在外科绷带的脓细胞核中发现一种含磷极多的化合物，即今天所指的核蛋白（核酸与蛋白质的结合物）。随后，1872 年在鲑鱼精子的头部发现一种酸性化合物，这就是现在所说的核酸。到目前为止，在所有动植物的组织里，以及在最微小的生物细菌和病毒里都发现了核酸，有的病毒甚至仅由核酸和蛋白质构成。实验证明，核酸是一切生物组织和细胞的正常组分。

不同来源的核酸有的相同，有的不同，大致分为两大类，即：脱氧核糖核酸（DNA）和核糖核酸（RNA）。DNA 主要存在于细胞核中，RNA 在细胞核和细胞质中都有（表 1）。

表1 核酸在肝組織細胞中的分布

占細胞總含量%		核 酸	RNA	DNA
細 胞 器				
核			12	100
細胞質	線粒體		4	0
	微粒體		50	0
	細胞汁		34	0

在不同組織中核酸含量是不同的(表2),即使是同一種組織由於生長發育時期不同,核酸含量也在一定範圍內有變化。

表2 幾種組織的核酸含量

組 織	種 屬	RNA-P	DNA-P	RNA/DNA
肝	人	37—74*	16—25*	3.0
	羊	55—84	23—33	2.5
	貓	72—85	25—43	2.3
	兔	44—76	16—29	2.7
	鼠(200—240克)	70—110	21—25	4.0
胰	人(一例)	42	31	3.6
	貓	130—165	38—49	3.4
	兔	108—130	44—61	2.3
腦	鼠	20—33	15—19	1.5
脾	人(一例)	36	77	0.5
	兔	67—79	81—96	0.8
胸 腺	小牛	80—100	224—250	0.4
	兔	89—99	181—250	0.4
	鼠(200—240克)	87—116	181—242	0.5

* 100克新鮮組織中核糖核酸磷和脫氧核糖核酸磷的毫克數

微生物特別富有核酸,不同微生物種類核酸含量是不同的(表3)。

表3 几种微生物的核酸含量*

名 称	总核酸量 (%)	RNA (%)	DNA (%)
葡萄球菌 (<i>Staphylococcus</i>)	11.57	8.75	2.82
大肠杆菌 (<i>Esch. Coli</i>)	13.9	9.73	4.17
	14.67	10.43	4.24
	15.76	11.47	4.29
面包酵母	4.26	3.95	0.31
产碱杆菌和无色杆菌	—	17	—
流行性感胃病毒	1	1	0
烟草花叶病毒	6	6	0
牛痘病毒	6	0	6
噬菌体 (T_2)	30	0	30

* 不同工作者测定数据。

核酸的生物功能

组织以及细胞组分中核酸的含量是与它们的生理活性相关的,一般来说由于生长或分泌,蛋白质合成旺盛的细胞内核糖核酸含量丰富。对同一组织细胞来说脱氧核糖核酸含量比较稳定。这些情况都反映了核酸的生物功能。

为什么“种瓜得瓜,种豆得豆”呢?为什么鸭蛋孵不出小鸡呢?为什么儿女象父母呢?这是遗传学要解决的根本问题。从一些实验来看,这种性状的遗传与核酸,特别是与脱氧核糖核酸,密切相关。越来越多的实验证明它对生命起着支配作用。

有人利用微生物做了这样一个实验,把具有荚膜的肺炎球菌的脱氧核糖核酸提取出来,加到没有荚膜的肺炎球菌的培养基里,培养后,没有荚膜的肺炎球菌也长出了荚膜,并且与荚膜肺炎球菌的荚膜完全相同。这说明,脱氧核糖核

酸是传递遗传性状的物质基础。在没有脱氧核糖核酸的病毒里，象烟草花叶病毒，核糖核酸起着传递遗传性状的作用。

蛋白质是生命的基石，没有蛋白质就没有生命。但是，许多实验证明，生物体内蛋白质的合成是核糖核酸参与的结果。有的核酸，名叫转运核糖核酸，负责运送蛋白质合成材料——氨基酸，有的核酸，名叫微粒体核糖核酸，负责“装配”，另外还有一种信使核糖核酸，使合成的蛋白质不走样，这就是“样板”作用。

核酸是生物体中不可缺少的组成部分，它在生物的遗传变异、生长发育以及蛋白质合成中起着重要作用。核酸的深入研究必将逐步揭开生命的秘密，为科学和技术开拓宏伟的前景。

核酸的结构

核酸的分子量很大，一般是从几万到几百万。核酸的基本组成成分是：磷酸、戊糖和碱基（图1）。

脱氧核糖核酸的戊糖是D-2-脱氧核糖，核糖核酸的是D-核糖；脱氧核糖核酸的碱基是腺嘌呤和鸟嘌呤，胞嘧啶和胸腺嘧啶；核糖核酸是腺嘌呤和鸟嘌呤，胞嘧啶和尿嘧啶。可见，核糖核酸是以核糖代替脱氧核糖，尿嘧啶代替胸腺嘧啶而区别于脱氧核糖核酸的（表4）。

碱基和核糖缩合成为核苷，如果戊糖是脱氧核糖叫脱氧核糖核苷（图2），例如：鸟嘌呤核苷、腺嘌呤核苷、胞嘧啶核苷、尿嘧啶核苷；鸟嘌呤脱氧核糖核苷、腺嘌呤脱氧核糖核苷、胞嘧啶脱氧核糖核苷和胸腺嘧啶脱氧核糖核苷。

核苷和脱氧核苷的磷酸酯分别形成为核苷酸和脱氧核糖

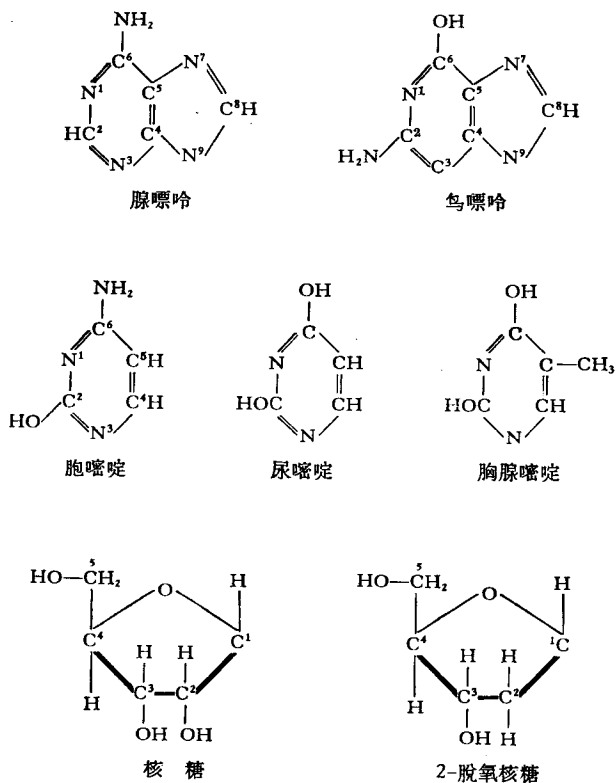


图1 核酸基本组成成分的结构

表4 两类核酸基本组成的比较

类别 \ 组分	主要碱基	戊糖	磷酸
核糖核酸	腺嘌呤、鸟嘌呤 胞嘧啶、尿嘧啶	D-核糖	磷酸
脱氧核糖核酸	腺嘌呤、鸟嘌呤 胞嘧啶、胸腺嘧啶	D-2-脱氧核糖	磷酸

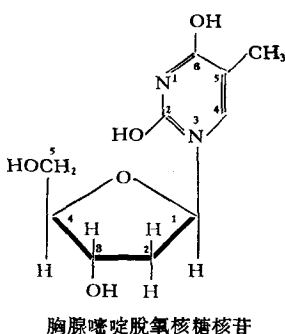
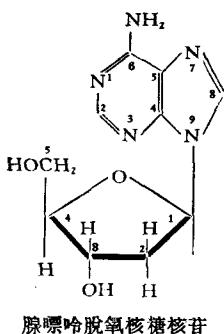
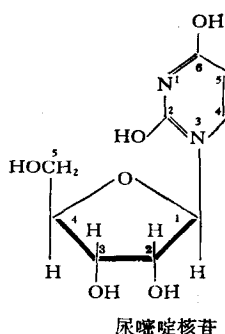
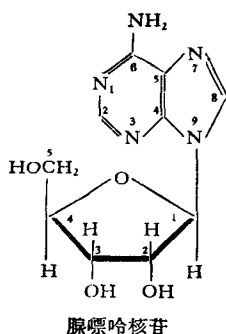


图2 核苷结构图示

核苷酸(图3),例如: 腺嘌呤核苷酸、鸟嘌呤核苷酸、胞嘧啶核苷酸、尿嘧啶核苷酸; 腺嘌呤脱氧核糖核苷酸、鸟嘌呤脱氧核糖核苷酸、胞嘧啶脱氧核糖核苷酸、胸腺嘧啶脱氧核糖核苷酸等。磷酸连在糖的第二位碳上称为2'-核苷酸,连在第三位碳上称为3'-核苷酸,连在第五位碳上称为5'-核苷酸。

核糖核酸用碱水解产生2'和3'-核苷酸,用5'-磷酸二酯酶水解产生5'-核苷酸。脱氧核糖核酸,因为第二位碳上没有羟基,所以不产生2'-脱氧核糖核苷酸,只有3'和5'-脱氧核糖核苷酸。

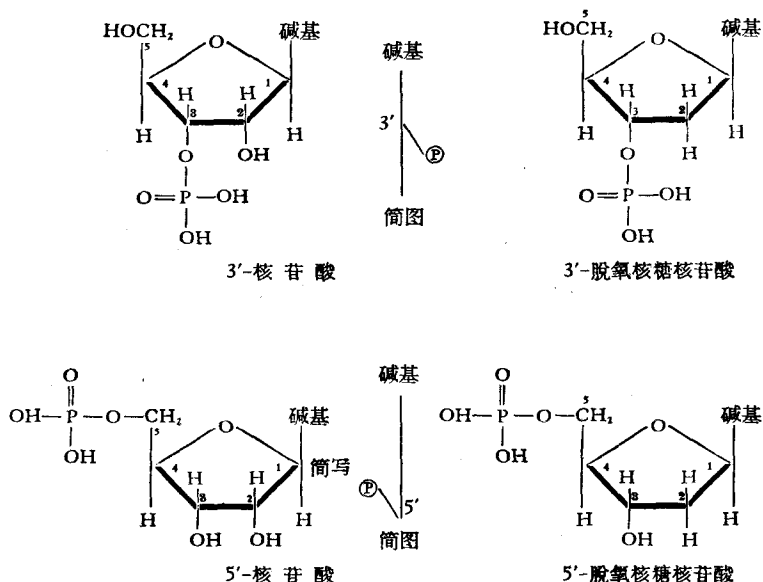


图3 核苷酸结构图示

核苷酸与核苷、碱基等组分间的关系如图4所示。

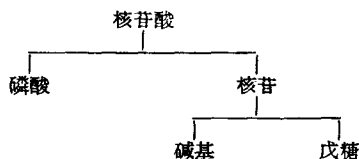
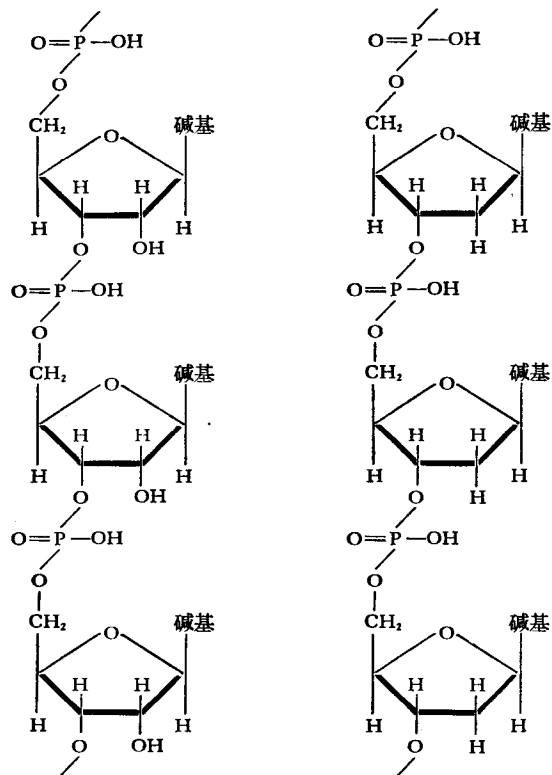


图4 核酸组成成分互相关系示意图

成千上万的4种不同的核苷酸通过戊糖的第三位碳和相邻戊糖的第五位碳形成磷酸二酯键连接起来,卷曲盘绕,就成为多聚核苷酸,即核酸(图5)。



核糖核酸中多核苷酸链的一部分

脱氧核糖核酸中多脱氧核糖核苷酸链的一部分

图5 核酸的结构

核酸的性质

现在工业上生产和广泛应用的是核糖核酸及其核苷酸类物质,所以这里主要谈谈核糖核酸及其组分的一些性质。

一、性 状

核糖核酸、核苷酸、核苷和碱基的纯品都是白色粉末或结晶。除了 5'-鸟嘌呤核苷酸和次黄嘌呤核苷酸（肌苷酸）呈甜味外，核糖核酸及其他核苷酸都具酸味。

二、溶 解 性

这些化合物都溶于水，不溶于乙醇等有机溶剂。核糖核酸和核苷酸的钠盐比其自由酸型易溶于水，核糖核酸钠盐溶解度可达 4%。碱基和核苷在水中的溶解度都不大，而嘌呤衍生物又比嘧啶衍生物难溶于水，其溶解度顺序大致是：胞嘧啶 > 尿嘧啶 > 腺嘌呤 > 鸟嘌呤。在酸性溶液中嘌呤核苷酸和嘌呤核苷易破坏，而在中性和弱碱性溶液中较稳定。

三、紫外吸收性质

这类化合物均吸收紫外光。核糖核酸吸收高峰在 $260\text{m}\mu$ （图 6）。在 $260\text{m}\mu$ 左右的单色光下能清楚地辨别纸电泳或纸层析上核酸衍生物的斑点，从而可以很方便地用紫外分光光度计测定各波长的光密度值，算出各波长的吸收光谱比值与已知核苷酸的标准比值相比较而判断是哪一种核苷酸。又根据 $260\text{m}\mu$ 的光密度值和已知核苷酸的克分子消光系数可以算出核苷酸的含量。

脱氧核糖核酸也具有紫外吸收特性，其吸收高峰与核糖核酸相同。紫外吸收特性是由于嘌呤环及嘧啶环的共轭双键系统具有这种性质，所以嘌呤和嘧啶以及一切含有它们的物质，不论是核苷、核苷酸或核酸，都具有紫外吸收特性。不同碱基紫外吸收高峰不同（图 7）所以根据紫外吸收特性可以判断碱基性质。

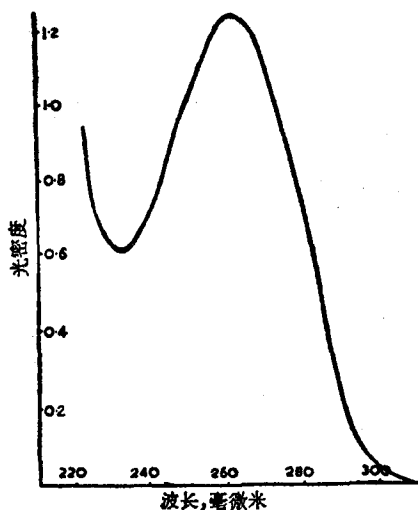


图6 酵母核糖核酸钠盐的紫外吸收曲线

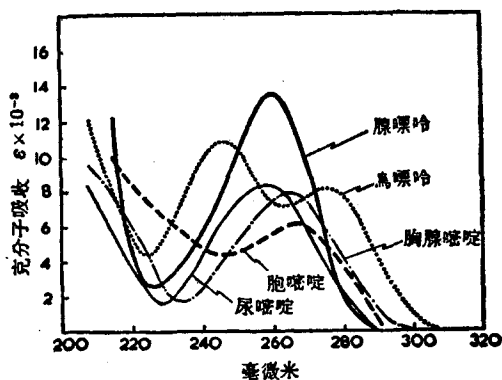


图7 pH 7 时嘌呤碱及嘧啶碱的紫外吸收曲线

脱氧核糖核酸的电泳纯制品，是与石棉相类似的纤维状固体，分子量4—8百万，其钠盐形成粘性溶液。

核酸、核苷酸的生产和应用

核酸工业的兴起始于 60 年代,在这以前,核酸主要是理论研究课题,制备核酸主要是供做科学研究试剂。最初,脱氧核糖核酸来自小牛胸腺,核糖核酸来自酵母,以后又从小麦胚以及动物的胰、肝、脾中提取出相似于酵母中制取的核糖核酸。

虽然动物、植物和微生物都能做为核酸的来源,但是工业上大量生产核酸还是取材于微生物,这是由于微生物核酸含量较高,培养迅速容易,提取制备方法简便。目前我国,生产核糖核酸主要是利用啤酒酵母、面包酵母、酒精酵母、白地霉以及青霉菌丝体等,既达到了生产要求,又做到了综合利用。

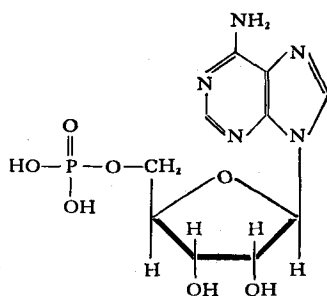
制备核糖核酸首先要使核酸从细胞内释放出来,常用的方法有稀碱法、浓盐法和自溶性等,然后提取、沉淀、纯化。

生产核苷酸的方法很多,主要有微生物发酵法,象肌苷酸、肌苷的发酵生产,腺嘌呤核苷三磷酸也可以用发酵法生产;核糖核酸的酸、碱和酶的水解法,象酵母核糖核酸经 5'-磷酸二酯酶水解可以得到 4 种 5'-核苷酸(图 8),经过分离纯化可以得到纯品,另外还可以从动植物组织中提取和有机合成核苷酸类物质。

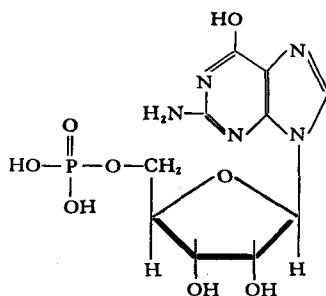
核酸研究的进展,不断促进核苷酸及其衍生物在食品、医药和农业生产上的广泛应用。

在食品方面,肌苷酸和鸟苷酸是强力助鲜剂,它与谷氨酸混合后,鲜味可增加几十倍到一百多倍。核苷酸也是“液体食品”的重要成分。

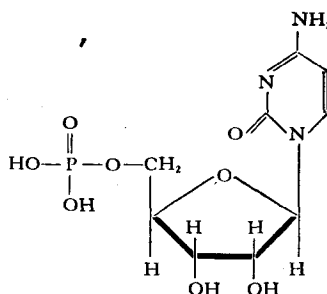
核苷酸及其衍生物作为一种新型医药已应用于临床上。不仅核糖核酸是细胞的必须组成部分,核苷酸及其衍生物也



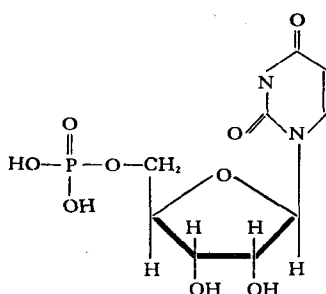
腺嘌呤核苷-5'-磷酸 (5'-AMP)



鸟嘌呤核苷-5'-磷酸 (5'-GMP)



胞嘧啶核苷-5'-磷酸 (5'-CMP)



尿嘧啶核苷-5'-磷酸 (5'-UMP)

图8 5'-磷酸二酯酶水解核糖核酸得到的四种5'-核苷酸

是细胞机能调节的重要物质。腺嘌呤核苷酸和尿嘧啶核苷酸还是生物体内许多物质酶促转化过程中起重要作用的辅酶，如腺嘌呤核苷三磷酸、辅酶A（由腺嘌呤、核糖、磷酸、泛酸、半胱胺组成）辅酶I、辅酶II（辅酶I、辅酶II均由腺嘌呤、核糖、磷酸、菸酰胺组成）尿嘧啶核苷二磷酸葡萄糖等。

ATP 是生物体内能量的主要来源，当其水解为腺嘌呤核苷二磷酸时放出能量，促进体内许多反应的进行，有改善机体代谢的作用，临床上应用很广。可用于治疗急性和慢性肝炎、肌肉萎缩、肾炎和脑动脉硬化等症，用于急救疗效更好。