



华夏英才基金学术文库

金由辛 编著

核糖核酸 与 核糖核酸组学



 科学出版社
www.sciencep.com



华夏英才基金学术文库

核糖核酸与核糖核酸组学

金由辛 编著

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书全面介绍了核糖核酸方面近年来的最新进展和研究热点,如:核糖体就是核酶,核糖体催化了肽键的生物合成;RNA干扰、小干扰RNA、微小RNA、小可读框RNA、非信使RNA、微卫星RNA等调控RNA,在DNA和RNA水平调控DNA信息的改写和阅读、RNA信息的改写和阅读等。从本书中可以了解核糖核酸与人类疾病的关系以及包括反义ODN、核酶、三链形成寡脱氧核糖核酸、配体RNA、RNA干扰和小干扰RNA、引诱物、G-四联体和参与DNA甲基化的寡脱氧核苷酸等不同RNA的应用前景,还将了解到生命起源初期的RNA世界和隐匿的当代RNA世界,了解正在兴起的核糖核酸组学。

本书可供从事生命科学研究与教学的人员参考,可用作生命科学专业的高年级本科生、硕士、博士研究生的学习参考书。

图书在版编目(CIP)数据

核糖核酸与核糖核酸组学/金由辛编著. —北京:科学出版社,2005
(华夏英才基金学术文库)

ISBN 7-03-014985-8

I. 核… II. 金… III. 核糖核酸-生物技术 IV. Q522

中国版本图书馆CIP数据核字(2005)第014683号

责任编辑:莫结胜 彭克里 席慧/责任校对:赵桂芬

责任印制:钱玉芬/封面设计:陈敬

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2005年6月第一版 开本:B5(720×1000)

2005年6月第一次印刷 印张:15 1/4 插页:1

印数:1—3 000 字数:292 000

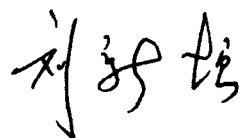
定价:48.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

序

自 20 世纪 80 年代发现核酶后, RNA 多种全新的生物功能被发现, 如它的催化功能、携带与调控遗传信息的功能、信号分子的功能、运动功能等, 其中有两个功能特别重要。第一是核糖核酸催化蛋白质生物合成的功能。核糖体是一种核酶, 它催化肽键的形成, 将蛋白质生物合成牢牢地控制在 RNA 的手中。第二是核糖核酸的调控功能。核糖核酸可以在 DNA 水平和 RNA 水平调控遗传信息的改变和阅读, 如: 指导如何将 RNA 携带的信息反转录进 DNA 和指导 DNA 携带信息的阅读方式, 在大范围内调控基因的表达, 调控生物分化、发育、细胞周期、凋亡、印迹、应激等。20 世纪末 21 世纪初, RNA 方面的进展连续 5 年被美国 *Science* 杂志评为年度科技十大突破之一。1999 年和 2000 年“核糖核酸的催化功能”和“核糖体是核酶”先后入选。2001~2003 年的 3 年中, “小分子 RNA 的调控功能”、“包括 siRNA 和 miRNA 在内的小分子 RNA”入选。*Science* 评选出的 2004 年十大突破之一是, 原认为是基因组中“垃圾”的部分, 很可能控制着基因如何被阅读以及控制基因表达的时序和场所。这些“垃圾”绝大部分都是反转录转座元件, 与 RNA 有关。这样一个很小领域内的工作能连续评为世界科技年度突破榜的现象, 在科技诸领域中是少见的。这也预示着 RNA 研究正处于一个新的突破的前夜。

金由辛研究员长期从事 RNA 研究, 做出了很多优秀的理论和应用研究成果。他于 1998 年主持了第 109 次香山会议, 在该会议上第一次提出“核糖核酸组学”, 比国外提出“核糖核酸组学”早了 2 年。他现在是我国最优秀的核酸(特别是 RNA)研究者之一, 在国际 RNA 研究领域有相当的知名度。他主持过国际细胞研究中心和联合国教科文组织的“国际 RNA 和生物技术训练班”(2001 年, 上海)和国际生物化学与分子生物学联盟的系列会议“第 19 届国际转移核糖核酸研讨会”(2002 年, 上海)。他所著的《核糖核酸与核糖核酸组学》一书介绍了 RNA 领域的最新进展和在 RNA 方面的全新观点。此书的出版将促进我国在这一学科新生长点领域的研究工作, 对所有生命科学界的科研与教育工作者以及生命科学界的大学生、研究生等均有参考作用。



2004 年 12 月 20 日

前 言

我毕业于“文革”开始的那一年,经历了“文革”,又从事了约8年的环境保护研究。因为深爱我大学所学的专业——生物化学,在研究生教育恢复的第一年(1978年),考入中国科学院上海生物化学研究所,师从王德宝先生。是王德宝先生将我领进了核糖核酸领域。所以,我以这本书献给我的导师王德宝院士。

原本我没有在退休前写书的计划,只是想做好当前的科研工作和带好我的学生。2003年夏,中共上海市科技工作委员会委员统战处的张玉瑛女士对我提起推荐我申请华夏英才基金出版学术著作的事情。考虑到这样可以促进自己写点东西,所以我应允了。后经中共上海市委统战部推荐,2003年底获得华夏英才基金管理委员会批准。在此我感谢华夏英才基金管理委员会、中共上海市委统战部、中共上海市科技工作委员会委员统战处及张玉瑛女士为本书所做的贡献。

在申请期间,刘新垣和洪国藩两院士为我写了推荐信。自我进入上海生物化学研究所起,就一直得到两位院士的多方帮助。特别是刘新垣院士,他是我的大师兄。1978年我考获出国研究生资格,但在出国体检时发现患了急性乙型肝炎。他为我提供了他正在研究的 poly IC 抗病毒制剂。除了工作,他在生活上也多次为我提供过帮助。

本书的素材来自近年的最新文献。自20世纪90年代后期起,我的实验室建立并坚持了每周讲文献、讲工作的制度。目的是为了通过讲文献促进研究生掌握最新文献、开阔思路,通过讲工作,使组内成员了解各自的工作及进展,相互提建议、作评论。总之,我们是希望通过比较本组工作与国际最新进展的差距,促进本组科研工作与国际水平接轨。多年来,这些活动的 PowerPoint 文档成了很好的核糖核酸资料库。本书相当部分的素材来自这一活动的积累。前后参加的学生有樊兴君博士(本实验室博士后,2001年出站),王琛博士(1998年毕业,现为中国科学院生物化学与细胞生物学研究所研究员、博士生导师、中国科学院百人计划与国家基金委杰出青年基金获得者),陈莉博士(2000年毕业,下同),刘静博士(2001年),刘全胜博士(2001年),徐丰博士(2002年),江舸博士(2003年),贾捷博士(2004年),以及在学博士生陈祥龙、李伟、史毅、赵波涛、黄冰、李洋、郭立涛,硕士生姚成果和秦文明,还有其他单位来我实验室进行毕业论文研究工作的龚玉萍博士、徐人欢博士、韩韩国博士、孔心娟博士、宋宇虎博士等,以及在学博、硕士生近10人。

RNA 领域已经发展成一个很大的体系,有些方面本人知之不深。因此本书素材的另一来源是我的一位好友,波兰科学院生物有机化学所的 J. Barciszewski 教授。他与我年龄相仿,都是在社会主义制度下成长起来的科学家,有相仿的经历。

他来华访问了三次,对中国的日新月异及上海的迅速发展赞不绝口。他是关注非编码 RNA 最早的科学家之一,他于 1997 年在 *Nucleic Acids Research* 上第一次发表了非编码 RNA 的数据库。2003 年,他和我的另一位朋友,德国自由大学 (Free University) 的 Erdmann 教授合作编著了 *Noncoding RNAs: Molecular Biology and Molecular Medicine* 一书。我从他的书中学到的东西不少,其中一些内容也被引用于本书(均在参考文献中标注)。本书中部分信息来自网络,但因为不熟悉国内目前网络资料引文的做法(我国出版社似乎尚无引用网络文献标注的规定),未能一一列出网络文献,特此说明。

写书过程中,我妻子包慧中在文字处理方面,我女儿金言在计算机图像表格处理操作方面给了很多帮助。她们也都是我的同行。同济大学盛白露同学参与了部分绘图工作。在此,我感谢帮助我写这本书的所有人员。

编写本书的初衷是全面介绍现阶段核糖核酸领域的最新进展,如“核糖体就是核酶”、RNA 干扰、siRNA、miRNA 等 21 世纪初的热点;促进我国科研工作者关注并参与核糖核酸化学这一已经并将取得重大突破的学科,关注并参与这一在破解生命奥秘中不可或缺的学科,促进我国在这一新兴领域的研究工作。也希望我国科技决策人员,能尽早将 RNA 组学的研究列入我国的科技发展规划之中。书中的一些观点,如 RNA 可能处于生命的中心位置等,一些读者可能一时无法接受,甚至反对这种观点。这些也并非已经证实的理论,只是一种猜测,一种假设。但书中提供了这些观点所基于的事实,欢迎大家来探讨。

因本人水平有限,书中难免有遗漏或错误,恳请读者批评指正。

金由辛

2004 年 12 月于上海

目 录

序

前言

第一章 核糖核酸的历史和文献	1
主要参考文献	7
第二章 核糖核酸的结构多样性	8
第一节 核糖核酸的组成及其结构	8
第二节 核糖核酸的结构多样性	12
一、核糖核酸的组成复杂性	12
二、核糖核酸的二级结构元件	24
三、RNA 中的碱基配对方式多种多样	24
四、RNA 的三级结构及其结构元件	42
小结	48
主要参考文献	48
第三章 核糖核酸的调控功能和核糖核酸组学	50
第一节 核糖核酸的分类及非编码核糖核酸	50
一、核糖核酸的分类	50
二、非编码核糖核酸	53
三、细菌中的非编码 RNA	56
第二节 非编码核糖核酸的调控功能	63
一、RNA 指导的 DNA 阅读	63
二、依赖于 RNA 的 RNA 阅读	66
三、依赖于 RNA 的 DNA 改写	67
四、依赖于 RNA 的 RNA 改写	68
第三节 RNA 世界	69
一、古代的 RNA 世界	69
二、隐匿的当代 RNA 世界	72
第四节 核糖核酸组学	76
一、核糖核酸组学的提出	76
二、核糖核酸组学的研究内容与方法	78
小结	79
主要参考文献	80

第四章 小干扰 RNA	85
第一节 植物转录后的基因沉默(PTGS)	85
一、导致基因沉默的各种途径	85
二、RNA 降解机制	88
三、植物中 PTGS 的生物学意义	91
第二节 RNA 介导的 DNA 甲基化(RdDM)、染色质修饰与基因沉默	92
一、RdDM 的机制	93
二、RNA 指导的染色质修饰	97
小结	101
主要参考文献	101
第五章 微小 RNA	106
第一节 不同生物中 miRNA 的发现	107
一、线虫中的 miRNA	107
二、寻找 miRNA 的方法	107
三、动物、植物中的 miRNA	114
第二节 miRNA 的特征	114
一、miRNA 的长度	114
二、miRNA 基因	115
三、生物间的保守性	115
四、时序性和组织特异性	117
五、miRNA 的前体	119
第三节 miRNA 的功能及作用原理	120
一、miRNA 与生物体的发育分化	121
二、miRNA 的作用原理	126
小结	130
主要参考文献	131
第六章 非信使 RNA	134
第一节 哺乳动物的剂量调控与 Xist RNA	134
一、Xist 基因	135
二、胚胎中 Xist 介导染色体沉默的起始	138
三、Xist 表达的调控、X 染色体的计数和选择	139
四、Xist 功能的机制	140
五、Xist RNA 功能的一个模式	142
第二节 果蝇的剂量代偿与 roX RNA	143
一、通过染色质修饰达到雄性特异性高效转录	143
二、roX RNA 是染色质进入的位点	144

三、剂量代偿复合物	144
第三节 印记 RNA	147
一、调控 RNA	147
二、H19 印记 RNA	149
小结	153
主要参考文献	154
第七章 小可读框核糖核酸和微卫星 RNA	159
第一节 小可读框核糖核酸	159
一、热激 RNA 欧米伽(hsr ω RNA)	159
二、其他应激 RNA	163
第二节 显性非编码微卫星扩展紊乱的 RNA 发病机制	172
一、DM1 型肌强直性营养不良	172
二、DM2 型肌强直性营养不良	174
三、肌强直性营养不良的机制	175
小结	176
主要参考文献	176
第八章 snoRNA	180
第一节 两类指导修饰的 snoRNA 及其生物合成	181
一、反义 C/D 盒 snoRNA	181
二、H/ACA snoRNA	183
三、snoRNP 的生物合成	183
第二节 snoRNA 的新功能	186
一、指导 snRNA 的修饰	186
二、孤儿 snoRNA	187
三、脑特异印记 snoRNA	188
第三节 snoRNA 的进化与起源	190
一、古细菌中指导修饰的 snoRNA	190
二、古细菌 snoRNA 指导 tRNA 的甲基化	191
小结	193
主要参考文献	194
第九章 核糖核酸应用技术	198
第一节 概论	198
一、三链形成脱氧寡核苷酸	199
二、G-四联体	202
三、核酶	206
四、配体核酸与体外筛选	209

五、引诱物	211
六、参与 DNA 甲基化的寡脱氧核苷酸	212
七、大规模无细胞蛋白质合成系统	212
八、核糖核酸研究为药物开发提供药靶	213
第二节 反义寡脱氧核糖核酸	214
一、作用原理	217
二、反义寡脱氧核苷酸的化学	218
三、反义 ODN 的药代动力学	221
第三节 RNA 干扰与小分子干扰 RNA 及其应用	221
一、siRNA 设计思想	222
二、siRNA 的来源	223
三、细胞和整体生物导入 siRNA 的方法	224
四、RNA 干扰技术在医学中的应用	225
小结	226
主要参考文献	227

第一章 核糖核酸的历史和文献

核糖核酸(RNA)是核酸的一种,因含核糖而得名。按照现行的学科分类,核糖核酸属于生物学(一级学科)的生物化学与分子生物学(二级学科)的核酸(三级学科)。表 1-1 列出了 20 世纪与 RNA 有关的诺贝尔奖。RNA 这样一个四级学科,100 年间获得 7 个诺贝尔奖,特别是 DNA 双螺旋学说提出后的 45 年间,6 个诺贝尔奖与 RNA 领域有关,说明 RNA 研究的重要性,以及国际科技界对 RNA 研究的重视。

表 1-1 20 世纪与 RNA 研究有关的诺贝尔获奖项目

科学家	年份	种类	成果
A. Kossel(德)	1910	生理与医学奖	核的生物化学
S. Ochoa(美)	1959	生理与医学奖	酶促成多核糖核苷酸
R. W. Holly(美)	1968	生理与医学奖	酵母 tRNA ^{Ala} 一级结构测定
H. G. Khorana(美)			合成遗传密码
M. W. Nirenberg(美)			发现遗传密码
E. W. Sutherland(美)	1971	生理与医学奖	发现 3',5'cAMP 和激素作用机制
H. M. Temin(美)	1975	生理与医学奖	反转录酶
D. Baltimore(美)			
S. Altman(美)	1989	化学奖	发现核酶
T. Cech(美)			
R. Robert(美)	1993	生理与医学奖	发现断裂基因
P. Sharp(美)			

核糖核酸(RNA)、脱氧核糖核酸(DNA)和蛋白质是最重要的三类生物高分子化合物。1869 年瑞士青年科学家 Miescher 为了研究细胞核的化学成分,从外科医院绷带上的脓细胞中,分离得到了酸性含磷的化合物。他把这种化合物命名为核质(nuclein)。核质实际上是含有蛋白质的核酸制品。20 年后,R. Altmann 纯化得到了不含蛋白质的核酸制品,并命名它为核酸。因此核酸的研究历史已有 136 年了。

1893 年 A. Kossel 提出,酵母来源的核酸含有核糖。从此,RNA 的研究正式开始。至今核糖核酸已有 112 年的研究历史。同年,A. Kossel 认识到染色质是由核酸和组蛋白组成的。根据生理学的研究,他认为核质与新组织的形成有关。A. Kossel 与其学生发现了除鸟嘌呤以外的四种常见碱基,即腺嘌呤、尿嘧啶、胞嘧啶和胸腺嘧啶。由于他在蛋白质(组蛋白的分离与命名)、细胞、细胞核化学方面的贡献,他获得了 1910 年的诺贝尔生理与医学奖。因此,A. Kossel 是核糖核酸研究的开创者、奠基人。但是,当时生物学界的主导观念是“生命就是蛋白质体”,

即生命世界是蛋白质世界。A. Kossel 也未能跳出旧观念的束缚。他虽然认识到核质与新组织的生成有关,但他没有认识到,核质就是遗传物质。相反,他认为,核质并不重要,他本人也因此于 1905 年起改为研究细胞核中的碱性蛋白质。这使核酸的研究发展停滞了几十年(金由辛 1996)。

核糖核酸研究的发展,一直受到脱氧核糖核酸(DNA)研究的推动。1944 年加拿大细菌学家 Avery、美国生物化学家 Macleod 和 McCarty 在洛克菲勒研究所发表了著名的肺炎双球菌实验。他们发现从一种类型的肺炎球菌,制备得到的 DNA 可以引到另一种类型的肺炎球菌内,并使后者的遗传性状改变成前者的。他们的结论是:核酸(DNA)才是遗传物质,而不是蛋白质(王德宝等 1986)。

20 世纪 50 年代初在剑桥, Watson 与博士生 Crick,都对 DNA 的高级结构与遗传信息的关系有兴趣。他们接受了当时还不被普遍接受的核酸(DNA)携带遗传信息的概念。在 Wilkins 关于 DNA 的 X 衍射的研究基础上, Watson 和 Crick 于 1953 年共同提出了 DNA 的双螺旋结构学说。该学说很好地解释了所有 DNA 的结构数据,也很好解释了作为遗传信息携带者的 DNA 是如何复制、转录的。此后,核酸(DNA)携带遗传信息的观点被普遍接受。DNA 的双螺旋结构学说为分子生物学奠定了坚实的基础。他们三个人也因此获得 1962 年的诺贝尔生理与医学奖。DNA 双螺旋学说最大的贡献是:宣示了“生命世界是蛋白质世界”的破产。从此在人们的思想中,生命世界是 DNA-蛋白质世界。

1953 年 Watson 与 Crick 提出了 DNA 双螺旋结构假说后,随即出现的问题是, DNA-蛋白质世界的两个主角间的关系,即遗传信息如何从 DNA 传递到蛋白质,亦即生物是如何合成蛋白质的? 1953 年 Dounce 首先提出 DNA 遗传信息经 RNA 至蛋白质。但他认为从 RNA 可直接合成蛋白质。1955 年 Crick 提出 RNA 不可能直接合成蛋白质,其间需要有一小分子 RNA 作为“连接体”。1958 年, Crick 又提出了“中心法则”。该法则统治生化界 20 余年,直到断裂基因的发现。在以后的近 30 年里,只在原核生物中正确的“中心法则”,仍然不断误导人们对真核生物的理解,直到 21 世纪初。

既因为要回答上述问题,也因为当时的研究方法还难以研究 DNA 这样的超大分子,所以 20 世纪 50 年代中期后的 10 年间,是 RNA 研究的黄金时期。RNA 研究达到了它的第一个研究高峰:

1961 年 Crick 证明每条 DNA 长链中的碱基每三个为一组,称三联体,代表一个氨基酸残基。1957 年美国生物化学家 Zamecnik 发现了 tRNA,证实了 Crick 的“连接体”假说。1959 年 rRNA 被分离得到。1961 年法国的 Monod 和 Jacob 提出 mRNA 的存在,它的碱基序列与 DNA 的碱基序列互补,并假定是 mRNA 将所携带的遗传信息带到蛋白质的合成场所——核糖体。同年,很多实验室证明了 mRNA 的存在。特别是 Spiegelman 发展了一种新的杂交技术,将 ^{32}P 标记的 T_2 噬菌体 mRNA 与 ^3H 标记的 T_2 噬菌体 DNA 混合,将此混合物加热到 100°C ,然后

缓慢冷却。用这种方法证明,³²P 标记的 DNA 和³H 标记的 RNA,以双重标记的杂合物形式存在。这为 mRNA 的存在提供了更有说服力的证据。1965 年 Holley 测出了第一个核酸(酵母丙氨酸 tRNA)的一级结构。Khorana 合成了遗传密码,Nirenberg 建立了体外无细胞蛋白质合成系统和核糖体结合技术,从而在 1966 年破译了遗传密码。为此,Holly、Khorana 和 Nirenberg 于 1968 年共同获得了诺贝尔生理与医学奖。期间,RNA 酶促合成、cAMP 作为信号分子和反转录酶的发现,分别获得 1959 年、1971 年、1975 年诺贝尔生理与医学奖。

但当蛋白质生物合成的基本框架产生后,人们对于生物大分子的注意力更多地集中于 DNA 和蛋白质。因为人们普遍认为,RNA 只是遗传信息从 DNA 到蛋白质传递过程中的中介。RNA 研究再次进入相对萧条时期。20 世纪 70 年代后期开始,RNA 研究逐渐积累起各种新发现。经过 20 多年的积累,直到 20 世纪末 21 世纪初,随着一系列调控 RNA 的发现、“人类基因组计划”的完成、后基因组研究的兴起,RNA 研究再次接近或达到另一个研究高峰。整个发展的过程,就是一个不断突破“中心法则”旧观念的过程。

1981 年,T. Cech 发现四膜虫大核 rRNA 前体内的转录内含子是通过自我剪接(即二次转酯反应)被除去的。这一反应不需要传统意义上的生物催化剂——酶,催化此反应的是 RNA。RNA 也可作为生物催化剂。他命名这种化学本质为 RNA 的催化剂为核酶(ribozyme)。S. Altman 在 20 世纪 70 年代末发现,大肠杆菌中参与 tRNA 前体加工的 RNase P,含蛋白质和 RNA 两个组分,RNA 组分是酶活力所必需。T. Cech 发现核酶后,S. Altman 证明体外转录的 RNase P 的 RNA 组分,也有催化活力。两人为此共同获得了 1989 年的诺贝尔化学奖。

核酶的发现,突破了统治生化科学超过半个世纪的一个信条:酶即是蛋白质。它还有助于人们理解探索生命起源过程中长期争论而无结果的问题:生命起源中,首先有蛋白质还是首先有核酸。生物高分子化合物共有三种,即 DNA、RNA 和蛋白质。DNA,可以携带遗传信息,但它不是功能分子,它的复制需要蛋白质催化。蛋白质,它是重要的功能分子。在生命体中,蛋白质无处不在,功能多样,它催化了生物体内的绝大多数反应,但它不携带遗传信息,蛋白质的生物合成需要使用 DNA 所携带的遗传信息。只有 RNA,它既可携带遗传信息,又可作为功能分子。不需要借助其他生物高分子,RNA 自己就有可能完成自我复制。因此,生命起源过程中,可能最早出现的,可以自我复制的生命体,是由 RNA 组成的。更重要的是,核酶的发现,使人们对 RNA 生物功能多样性的问题,有了全新的理解。RNA 的功能,不再局限于仅是将遗传信息从 DNA 传递到蛋白质的过程。人们开始寻找 RNA 可能具有的其他生物学功能。

此后,RNA 研究迅速发展,1982 年前后发现了线粒体第一组和第二组 RNA 前体的自我剪接。1982 年在原核生物中,发现了天然的反义 RNA——第一种具有调控功能的 RNA。

20 世纪 70 年代末 Sharp 和 Robert 发现了断裂基因。80 年代中期,Sharp 阐明了酵母细胞核编码 mRNA 前体剪接(splicing)的机制。为此,Sharp 与 Robert 一起获 1993 年度诺贝尔生理与医学奖。断裂基因继核酶之后,在生命科学界第二次卷起了狂澜。因为它突破了“中心法则”的藩篱。简单地说,“中心法则”的定义为,基因就是连续的 DNA 序列,DNA 是 RNA 的模板,mRNA 是蛋白质生物合成的模板。其核心是说明生命世界是 DNA-蛋白质的世界。断裂基因的发现,说明在真核生物中,一些基因不是连续的 DNA 序列,是由两个或多个 DNA 片段拼接而成的。这个拼接过程是在 RNA 水平进行的。从 DNA 到蛋白质的过程,比以前想像的要复杂得多。RNA 在其中所起的作用,超出了人们以前对 RNA 的想像。

在以后的近 30 年间,RNA 的新发现不断与“中心法则”发生冲突。1986 年 RNA 编辑(editing,一种 RNA 的修饰过程)被发现。RNA 剪接和 RNA 编辑,使 RNA 从 DNA 那儿得到的遗传信息,在 RNA 水平得到了调制。它们都可以开放或关闭基因、改变 mRNA 的可读框,并在 RNA 水平增加或减少从 DNA 处获得的遗传信息。通过可变剪接或各种编辑,一种基因在不同的生理、病理条件下,在不同的组织细胞中,即在不同的时空中,可以得到不同蛋白质和(或)多种蛋白质。

1989 年,因发明 DNA 化学测序法而获得诺贝尔化学奖的 Gilbert,提出了 RNA 世界(RNA world)的假说。该假说第一次将 RNA 摆在生命进化早期的生命中心位置。为此,被誉为世界级 RNA 研究者的 Uhlembeck 教授,于 1990 年在美国冷泉港学术讨论会上提出“20 世纪 90 年代是 RNA 的 10 年”。

此后,正如 Uhlembeck 教授所预言的那样,在 RNA 领域又相继发现了 mRNA 的再编码、“转录后基因沉默”(post transcriptional gene silencing, PTGS)或“共抑制”(cosuppression)、tmRNA、pRNA、非编码 RNA(non-coding RNA)、RNA 干扰(RNA interference, RNAi)、snoRNA 等一批新的 RNA 种类,以及 RNA 的新功能、RNA 作用的新机制。有趣的是 RNA 研究还曾导致了蛋白质内含子的发现。

1999~2000 年,核糖体 50S 大亚基晶体的高分辨率 X 衍射分析结果表明,在肽键形成的区域内,没有任何蛋白质的电子云存在。因此催化蛋白质生物合成,即催化肽键形成的化合物,不可能是蛋白质,只能是 rRNA。核糖体是核酶。Cech 以“核糖体是核酶”为题,写了专评。这两年的美国 *Science* 杂志,分别将当年十大科技突破第二条和第四条,评给了 RNA 的催化功能和核糖体的研究。它再次显示出,RNA 在生命世界中的重要性。由蛋白质组成的生物催化剂——酶,几乎催化了所有生物体内的化学反应。但它本身的生物合成却只能由 RNA 催化。从古老的 RNA 世界中走出来的自私的 RNA,它只是把蛋白质生物合成以外的催化功能交给蛋白质,最终还是把蛋白质生物合成置于自己的控制之下,即把蛋白质置于自己的控制之下。因此与其说 RNA 将催化功能交给了蛋白质,不如说 RNA 把大量生物体内的催化职责交给了蛋白质。

2001~2003 年的三年间被美国 *Science* 杂志分别评为当年十大科技突破第二

条、第一条、第四条的是 RNA 干扰以及包括 siRNA 和 miRNA 在内的小分子调控 RNA。在植物、线虫和哺乳动物中,均已观察到 RNA 干扰的现象, RNA 干扰也为生物技术提供了有效的工具。siRNA 和 miRNA 参与基因转录沉默和基因转录后沉默,参与生物发育调控、细胞分化、细胞凋亡、基因印记、应激反应等。遗传信息在 RNA 水平的调制、RNA 调控功能等方面的事例更加显露。miRNA 被称为“生物领域的暗物质”,它就在我们的周围,但几乎逃离了我们的视线。

小分子调控 RNA 的发现,对于“中心法则”而言,成了压断骆驼脊梁的最后一根稻草。各种为了维护“中心法则”的托词,如“断裂基因中的内含子是进化的痕迹”、“内含子无功能”等,弃之如敝屣般被人们遗忘。于是,很多以前已经发现的,只是因为“中心法则”下无法解释的事实,如小可读框 RNA(sORF RNA)、印记 RNA(imprinted RNA)、应激 RNA(stress RNA)、双向转录、微卫星 RNA、反转录转座子等汇集在了一起。真核生物体内,一个由 RNA 组成的调控 DNA 遗传信息的网络正在显露出来。从古老的 RNA 世界中走出来的自私的 RNA,通过各种途径,最终仍然掌控遗传信息的管理与使用权。因此,与其说 RNA 将携带遗传信息的功能交给了 DNA,不如说 RNA 把记录遗传信息的职责交给了 DNA。一个隐藏在表象为 DNA-蛋白质世界后面的当代 RNA 世界的景象,已经若隐若现地出现在人们面前。在当今的生命世界中, RNA 很可能像在古老的 RNA 世界中一样,仍然处于生命的中心。

随着 RNA 研究的迅速发展,国际 RNA 学会于 1993 年成立,1995 年该学会发行了新的学术期刊 RNA,以此作为国际 RNA 学会的会刊。有三名诺贝尔奖获得者出任该刊首任编委和副主编。1994 年起, RNA 加工学术讨论会每年召开一次,作为国际 RNA 学会的年会。会议内容覆盖整个 RNA 领域的研究。

在国内,在中国科学院上海生物化学研究所王应睐、王德宝两院士,祁国荣、金由辛两研究员的建议下,题为“面向 21 世纪的 RNA 研究”的第 109 次香山学术讨论会于 1998 年 12 月召开。由上海生物化学研究所金由辛研究员、北京大学朱圣庚教授和中山大学屈良鹄教授任执行主席。与会者提议在我国开展旨在发现 RNA 新基因、研究 RNA 新功能、寻找 RNA 新应用的“RNA 组学”。在讨论如何翻译 RNA 组学时,有人曾提出,是否将 RNA 最后一个字母 A 去掉,加“omics”词尾,用“RNomics”翻译“RNA 组学”。后因其他人认为 RNA 是缩写,不是单词,而基因组学和蛋白质组学等专业词汇均由单词改词尾而成,且中国人造的词,是否会被世界各国接受等疑问,该种译名未被大家接受。后改用“functional RNA program”代替中文的“核糖核酸组学”。2000 年 1 月,在上海召开了题为“21 世纪 RNA 研究应用前景”的第 11 届东方论坛暨第一届全国 RNA 学术研讨会。到 2003 年,共召开了三届。2000 年,在中国生物化学与分子生物学会内成立了 RNA 专业组。第一届的负责人由上海生物化学研究所金由辛研究员,北京大学朱圣庚教授,中山大学屈良鹄教授,武汉大学齐义鹏教授和美国普渡大学华裔学者、

pRNA 的发现者郭佩宣教授组成。在广州 2002 年初的第二届全国 RNA 学术研讨会上, RNA 专业组成员又加入了军事医学科学院邵宁生研究员。

在 20 世纪末 21 世纪初, RNA 领域的成果受到了全球科学界的关注。在“人类基因组计划”临近完成时, 2000 年 RNomics (RNA 组学) 被提出。很遗憾, “RNomics”一词未能由中国学者提出。研究所有 RNA 的不同时空表达谱及其生物学意义的核糖核酸组学将与基因组学、蛋白质组学、代谢组学 (metabolomics) 一起, 组成系统生物学, 在后基因组时代, 为破解生命之谜做出贡献。

下面简单说明关于 RNA 的文献问题。RNA 领域的最新、最重要的发现, 一般都发表在 *Science*、*Nature* 及其系列刊物和 *Cell* 等顶尖的学术刊物。有普遍意义的论文一般发表在 *EMBO J*、*Prog Natl Acad Sci USA*、*Molecular Cell*、*J Cell Biol*、*Plant Cell* 等刊物上。更专业的论文发表在与 RNA 相关的学科重点刊物上, 如 *J Biol Chem*、*RNA*、*Nucleic Acids Res*、*Biochemistry-US*、*Biochem J* 等刊物上。

21 世纪的今天, 我们已进入信息时代, 科技信息的来源不再被书及杂志垄断。互联网成了科技信息的重要来源。在 Google 上, 输入“RNA”, 可以搜索到很多网站。有的网站有很多连接, 可以与一些 RNA 数据库、RNA 网上工具、RNA 软件下载、其他网站连接, 使用起来比较方便。下面介绍几种 RNA 领域的重要网站地址。

<http://www.sanger.ac.uk/Software/Rfam/>

这是英国的一个网站。由英国“Welcome Trust Sanger Institute”和美国华盛顿大学(圣路易斯)联合支持的站点。全名为“RNA families database of alignments and CMs”。Rfam 来自“RNA family”, 由其中的正体部分组成“Rfam”。下面有大量的连接通往其他站点、工具和软件下载。

<http://www.imb-jena.de/RNA/html>

这是一个德国网站, 由一个从事老年科学研究的机构建立。网站名为“The RNA World website”。内设:

- Databases, Web Tools(数据库), 包括:
 - a. Three-dimensional structures (coordinates and images): 三级结构, 下列各种 RNA 细目
 - b. Sequences, Secondary structures, Other: 二级结构等下列各种 RNA 细目
- Web Tools: 网上工具, 提供计算、模拟、搜索等下列各种途径:
 - a. Software : 下载软件
 - b. Online Books and Tutorials: 网上书籍和辅导
 - c. Meetings: 会议信息
 - d. Miscellaneous: 杂类(包括学会信息等)
 - e. Search: 搜索引擎

NCBI 是目前科技人员广泛使用的检索根据。从此途径也可进入各种连接、使用工具和下载软件。

下面再列出一些有用的分类网站：

<http://biobases.ibch.poznan.pl/ncRNA/> (noncoding RNA)

http://userpage.chemie.fu-berlin.de/fb_chemie/ibc/agerdmann/5S_rRNA.html (5S RNA)

<http://www.biochem.mpg.de/~goeringe/> (gRNA)

<http://www.cme.msu.edu/RDP/> (ribosomal database project)

<http://www.rna.icmb.utexas.edu/> (secondary structure 16S 23S group)

<http://medlib.med.utah.edu/RNAmods/> (modification)

<http://jwbrown.mbio.ncsu.edu/RNaseP/home.html> (RNase P)

<http://rrna.uia.ac.be/> (rRNA)

<http://psyche.uthct.edu/dbs/SRPDB/SRPDB.html> (SRP RNA)

<http://rna.wustl.edu/snoRNAdb/> (snoRNA)

<http://www.uni-bayreuth.de/departments/biochemie/trna/>
(tRNA and tRNA gene)

<http://psyche.uthct.edu/dbs/tmRDB/tmRDB.html> (tmRNA)

http://www.bio.umass.edu/biochem/rna-sequence/Yeast_snoRNA_Database/snoRNA_DataBase.html (yeast snoRNA)

这类网站,大都属于开创期,时间不长,变化较多,如合并、关闭等。使用时要经常注意网上的变化。

主要参考文献

- 金由辛. 1996. 科塞尔. 见:卢良恕. 世界著名科学家传记. 北京:科学出版社. 65~68
王德宝, 祁国荣. 1986. 核酸——结构、功能与合成(上册). 北京:科学出版社. 186