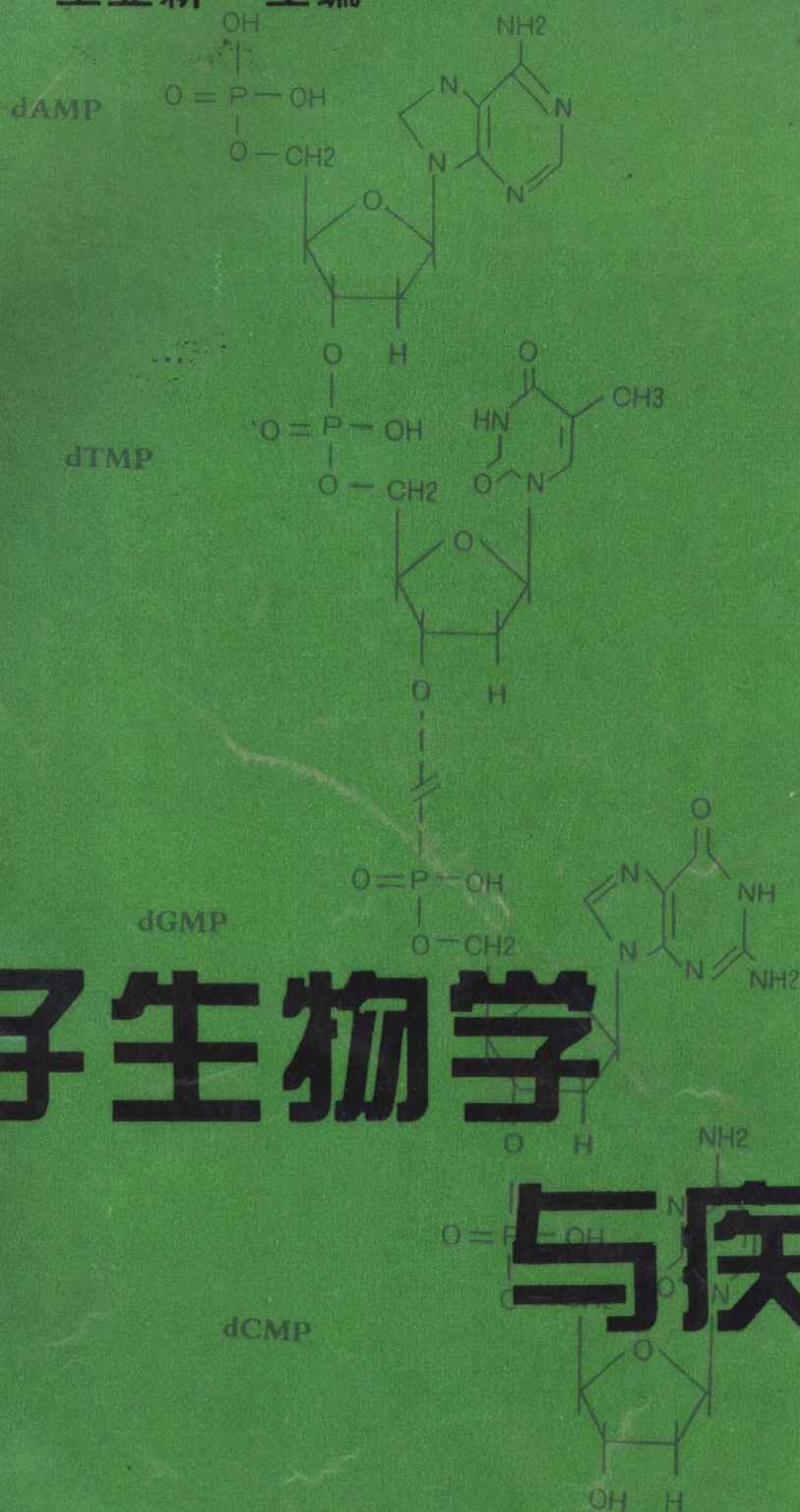


陈竺·王亚新 主编



分子生物学与疾病

百家出版社



分子生物学与疾病

主编 陈 竺 王亚新

百 家 出 版 社

责任编辑：曹桂珍

分子生物学与疾病

陈竺 王亚新 主编

百家出版社出版发行

(上海瑞金路 8 号)

江苏省句容县排印厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 19 字数 480,000

1994 年 10 月第 1 版 1994 年 10 月第 1 次印刷

印数 1—5000 册

ISBN 7-80576-467-0/R·24 定价：16.00 元

(沪)新登字 120 号

编 委 会 名 单

主 编：陈 竺 王亚新

编 委：钱关祥 陆志檬 王世雄
 李定国 于金德 倪语星

校 阅：傅 刚

序 言

60年代起,分子生物学的发展使人们对生命活动规律的认识从细胞水平深入到分子水平。这样,对于恶性肿瘤、心血管疾病、代谢疾病、遗传病及传染病的等认识,得以从分子水平逐步深化。原癌基因、抑癌基因、生长因子及其受体基因、细胞因子及其受体基因、MHC基因族、免疫球蛋白基因超家族、激素及其受体基因、各种遗传病的基因或基因族以及病毒及细菌基因的研究,不仅使人类疾病发病机理的研究进入了新的阶段,而且提供了应用基因诊断的新技术,并为应用基因或其产物对疾病进行治疗,即包括基因治疗在内的生物治疗奠定了基础。

但是,分子生物学本身,仅是生物学的一个组成部分,它是生物化学、细胞生物学、有机化学等学科的延伸。同时,分子水平的生命活动决不能脱离细胞而独立存在,更不能脱离整体的制约。因此,分子生物学的发展,必须与细胞和整体水平的研究相结合,即微观与宏观结合。

上海第二医科大学陈竺和王亚新等一批中青年教授,撰写了《分子生物学与疾病》一书,包括了分子生物学的基本概念、基本技术以及在遗传病、恶性肿瘤、心血管和消化疾病、免疫系统疾病及传染性疾病等方面国内外研究进展,极为可贵。这将对医学院校研究生和临床人员了解分子生物学有很大帮助,并将推动医学分子生物学的教学和科研。为此,我非常乐于向读者推荐本书,并作此序。

顾 健 人

上海市肿瘤研究所癌基因与相
关基因国家重点实验室

1994年3月

前 言

分子生物学是当代生命科学研究的主流,也是近年来推动医学科学进步最主要的促进因素之一。分子生物学的研究不仅从根本上改变了医学各基础学科如组织胚胎学、生理学、生化学、微生物学、免疫学、遗传学、药理学等的面貌,而且已经使医学科学工作者对各种人类疾病的认识进入到了分子水平,在疾病的病因和发病原理研究、诊断,乃至治疗和预防中发挥着日益重要的作用。可以毫不夸张地说,医学分子生物学已经是现代医学的重要组成部分和发展前沿,是衡量一个国家医学科学水平的重要标志。

近年来已有不少医学分子生物学专著问世,对于推动分子生物学在医学领域的进展发挥了重要作用。但是这些著作大都着眼于医学中的基础学科,而较少涉及临床疾病。为了适应医学院校研究生教学的需要,并为广大医学科学工作者提供一本基础和临床密切结合的医学分子生物学参考书,我们在上海第二医科大学领导的组织下,合作编写了《分子生物学与疾病》这部教材。

本书共分十二章,从介绍分子生物学基础理论和常用技术开始,渐及各种人类疾病(包括遗传性疾病、肿瘤、免疫性疾病、心血管和胃肠道疾病、传染性疾病等)的分子病理学基础、基因诊断和基因治疗,并尽可能地包括了近年来展开的人基因组研究、新发现的“动态突变”类遗传性疾病、获得性免疫缺陷综合征的分子病毒学,以及在若干多因素疾病(糖尿病、心血管等疾病等)研究中的最新成果。但由于该领域的进展十分迅猛,所涉及的文献浩如烟海,限于本书的篇幅,难以概括全面,只能突出重点,着重介绍一些具有高度代表性并体现普遍规律性的范例。此外,作为相对年青的医学科学工作者,编者的学识和经验均显不足,失误之处在所难免,热切希望广大读者和有关专家不吝指正,以便今后修订。

本书是在上海第二医科大学副校长薛纯良教授、研究生处朱济中、卜晓明等领导的精心组织 and 热情指导下完成的,上海第二医科大学附属瑞金医院、基础医学院对本书的出版给予了大力支持,著名医学分子生物学家顾健人教授在百忙中为本书撰写了序言,体现了老一辈科学家对年轻一代的殷切期望和鼓励,在此一并致以衷心的感谢。

编 者

1994年2月

目 录

第一章 绪论	1
第二章 分子生物学基础	2
第一节 核酸的结构	2
第二节 真核生物的基因组	10
第三节 遗传信息的流动	16
第四节 基因表达的调控	37
第三章 分子生物学的基本技术	43
第一节 Southern 印迹分析法	43
第二节 Northern 印迹分析法	46
第三节 基因的体外扩增法(聚合酶链反应,PCR)	50
第四节 基因的分子克隆	53
第五节 基因探针的标记	58
第六节 基因的核苷酸顺序分析	60
第七节 DNA 的大片段克隆技术	62
第八节 疾病的基因诊断	64
第九节 人类基因组研究	68
第四章 遗传性疾病	73
第一节 血红蛋白病	73
第二节 血友病	86
第三节 苯丙酮尿症	97
第四节 单纯性生长激素缺乏症	102
第五节 杜氏肌营养不良症(DMD)	105
第六节 Huntington 舞蹈病	108
第七节 先天愚型	111
第八节 $\alpha 1$ 抗胰蛋白酶缺乏症	115
第九节 21-羟化酶缺乏症(先天性肾上腺皮质增生症)	118
第十节 6-磷酸葡萄糖脱氢酶缺乏症	120
第十一节 胰岛素非依赖型糖尿病	123
第十二节 脆性 X 综合征	130
第五章 肿瘤	135
第一节 癌基因和抑癌基因	135
第二节 造血系统恶性肿瘤	144
第三节 实体瘤	153
第六章 免疫系统有关疾病	159

第一节	主要组织相容性复合体(MHC)及有关疾病	159
第二节	抗原受体基因的结构、表达及有关疾病	168
第七章	心血管疾病	185
第一节	基因变异与血脂异常	185
第二节	家族性肥厚性心肌病	188
第三节	原发性高血压	189
第四节	心肌梗塞	190
第八章	消化系统疾病	192
第一节	消化性溃疡	192
第二节	先天性幽门狭窄	197
第三节	先天性巨结肠和其它胃肠道发育缺陷	199
第四节	肠道息肉病	200
第九章	病毒性疾病	207
第一节	人类免疫缺陷病毒的分子生物学及其疾病	207
第二节	病毒性肝炎	215
第三节	EB 病毒的分子生物学与临床	244
第四节	巨细胞病毒及其感染	252
第十章	细菌性疾病	264
第一节	致病物质的分子基础	264
第二节	分子生物学技术的应用	270
第十一章	寄生虫病	277
第一节	疟疾	277
第二节	弓形虫病	283
第十二章	基因治疗	288
第一节	基因治疗的原理	288
第二节	基因治疗的临床试验	291
第三节	基因治疗的问题与前景	294

第一章 绪 论

什么是分子生物学? 分子生物学(molecular biology)这一术语最早出现于1950年 Astbury 在 Harvey 的演讲中。它的含义就是从分子水平来研究生物体及生命现象。如果仅从这一概念出发,人类在19世纪末、20世纪初已在分析蛋白质的结构和功能,也就是说人类早已在进行分子生物学研究。但是,分子生物学作为一门新兴的边缘学科,它是在本世纪50年代逐渐形成、发展起来的。有人认为,现代分子生物学应从1953年 Watson 和 Crick 提出 DNA 双螺旋结构开始。

那么生物化学和分子生物学又有什么区别?显然,要把生物化学和分子生物学截然分开是不可能的,因为分子生物学正是从生物学、遗传学、微生物学等学科中发展出来的边缘学科。而且由于生物化学和分子生物学关系密切,国内外一些研究所、学会及高等学府的系等就以“生物化学和分子生物学”命名。但是,传统的生物化学和现代分子生物学在研究内容上着重点又有所不同。生物化学主要研究细胞内较小分子的代谢转化、能量产生等有关内容,而分子生物学则主要研究蛋白质、核酸等生物大分子的结构、功能以及相互作用等。

近20年来,各种先进的分子生物学研究方法和技术不断涌现,如限制性内切酶切割 DNA 片段、分子杂交、DNA 序列分析、DNA 重组及克隆、聚合酶链反应(PCR)等。这些新技术的应用使分子生物学不仅在理论研究方面,而且在实际应用方面得到了迅猛的发展。如今,分子生物学不但使生物学领域的研究面貌不断更新,而且在医药、工业、农牧业等方面都获得了广泛应用,以致有人提出世界已进入分子革命时代。

由于医学本身就是生命科学中一个重要组成部分,因此分子生物学的发展对于医学的影响尤为重大。首先在疾病的诊断方面,不仅遗传性疾病、一些传染性疾病、肿瘤等都可用分子生物学技术进行诊断或作辅助诊断,特别是采取极少量胎盘绒毛细胞就可进行产前诊断,极大地提高了优生优育的水平。其次在很多疾病,包括癌症的发病机理研究由于采用了分子生物学方法而得到重大的进展。癌基因、抗癌基因在癌变及癌细胞逆转中作用等大量成果都将为癌症的预防、诊断和治疗提供新的途径。在疾病的防治方面,可采用基因工程的方法生产很多疫苗用于预防疾病,也可大量生产胰岛素、干扰素、白细胞介素-2等原来不易生产的药物。而基因治疗则正从幻想逐步走向实际。近2年来基因治疗已从动物试验转向临床试验,预计不久的将来能使一些罹患不治之症者重新获得健康。

(王亚新)

第二章 分子生物学基础

第一节 核酸的结构

一、核酸是基本的遗传物质

早在 1865 年孟德尔就从植物豌豆的形态研究中发现,生物体的一些特定性状可以从亲代遗传给子代,并从中总结出 3 个著名的遗传定律,从而开创了遗传学这门学科。但是,作为携带遗传信息的遗传物质究竟是什么,却一直迟迟得不到解决。1869 年瑞士科学家 F. Miescher 从外科绷带脓细胞的细胞核中提取到含磷的“核质”,以后 R. Altman 提纯得到核酸。之所以将这些含磷核质命名为核酸是由于其来自细胞核,又是酸性物质。但在当时并不了解核酸具有什么功能。对核酸的化学分析揭示其由核苷酸组成,根据核苷酸中含有核糖还是脱氧核糖而分为核糖核酸(RNA)及脱氧核糖核酸(DNA)。但不论 DNA 还是 RNA 都仅有四种核苷酸,而那时已知蛋白质由 20 种不同的氨基酸组成,因此认为蛋白质结构变化多端,遗传物质非它莫属。

直到 1944 年,美国的 O. T. Avery 等人用肺炎球菌进行转染试验,才开始扭转这一看法。他们将致病肺炎球菌的 DNA 抽提出来,转染给不致病的肺炎球菌,其结果后者也产生了致病能力。根据这些实验结果,他们提出遗传物质是 DNA 而不是蛋白质。但那时仍有相当部分的学者认为该实验用的 DNA 中有微量蛋白质污染,故还是蛋白质起了携带遗传信息的作用。1952 年, Hershey 等人分别用 2 种同位素标记 T₂ 噬菌体,即用 ³⁵S-甲硫氨酸标记蛋白质,用 ³²P 标记 DNA,然后以此种噬菌体感染大肠杆菌。其结果发现只有 ³²P 标记的 DNA 进入细菌,而 ³⁵S 标记的蛋白质留在细菌表面。进入细菌的 T₂ 噬菌体 DNA 可进一步复制产生成熟的 T₂ 噬菌体。由此, DNA 作为携带遗传信息的物质得到了科学界的肯定。

二、核酸在细胞内的分布

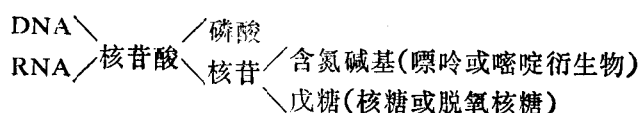
世界上组成各种生物的细胞种类繁多,但大致上可分为二类,一类命名为原核细胞,另一类命名为真核细胞。原核细胞是进化上比较原始的细胞,迄今发现最古老的原核细胞化石约有 35 亿年的历史。细菌是现存的最主要的原核细胞,它们最早也在约 20 亿年前形成。真核细胞则是在约 13 亿年前从原核细胞进化而来。原核细胞结构简单,繁殖快,因此常常是分子生物学研究的首选对象,在此基础上再研究真核细胞。原核细胞在结构上与真核细胞的主要区别见表 2-1。原核细胞由于没有细胞器,因此 DNA 和 RNA 都位于同一空间。它们往往比较集中在某一区域,称为核区。真核细胞 DNA 主要位于细胞核。本世纪 20 年代,德国化学家 R. Feulgen 用与 DNA 特异结合的紫色染料发现 DNA 就在细胞核的染色体内。此外,在细胞器如线粒体也存在 DNA,这些细胞器的 DNA 较短,结构类似于原核生物,有人认为是进化过程中遗留下来的,它们也编码、表达蛋白质,参与细胞功能。还发现一些人体的疾病与线粒体 DNA 异常有关。真核细胞 RNA 主要位于胞浆,但在细胞核及其它细胞器也有 RNA。不同部位的 RNA 种类及功能均不相同。本节第五部分将再详细讨论。

表 2-1 原核细胞和真核细胞的结构差异

	原核细胞	真核细胞
生物	细菌、支原体等	真菌、植物、动物等
细胞大小	1-10 μ m	10-100 μ m
细胞器	极少或无	核、线粒体、叶绿体等
胞浆	无细胞骨架	有细胞骨架, 可内吞外吐
细胞分裂	二分裂	有丝分裂
细胞结构组织	大多单细胞	多细胞性, 有增殖

三、核酸的化学结构

核酸的基本成份是核苷酸, 因此无论是 DNA 还是 RNA 都由一个个核苷酸串联组成。核苷酸还可进一步分解成核苷和磷酸。而核苷则可再分解成含氮碱基及核糖或脱氧核糖二部分。



组成 DNA 的是四种脱氧核糖核苷酸: 脱氧腺苷酸(dAMP), 脱氧鸟苷酸(dGMP), 脱氧胞苷酸(dCMP)及脱氧胸苷酸(dTMP)(见图 2-1)。这些核苷酸相互以 3', 5' 磷酸二酯键(即一个核苷酸核糖 3' 位羟基及另一个核苷酸核糖 5' 位羟基都与磷酸形成酯键)连接形成线型的多核苷酸链。多核苷酸链中核苷酸的排列是不规则的, 不同的排列顺序就形成特异的基因顺序及其它各种顺序。在多核苷酸链的一个末端核苷酸, 其核糖 5' 位连接的磷酸只有一个酯键, 此核苷酸即称为 5' 磷酸末端或 5' 端, 而链的另一端最后一个核苷酸核糖 3' 位上的羟基是游离的, 此核苷酸则称为 3' 羟基末端或 3' 端。在书写多核苷酸链中核苷酸排列顺序时, 一般将 5' 磷酸末端写于左侧, 3' 羟基末端写于右侧。4 种核苷酸则以 A, G, C 和 T 来表示。

RNA 的化学结构与 DNA 很相似, 所不同的是其核苷酸中核糖的 2' 位有羟基, 另外碱基中尿嘧啶取代了 DNA 中的胸腺嘧啶。所以组成 RNA 的四种主要核苷酸是腺苷酸(AMP), 鸟苷酸(GMP), 胞苷酸(CMP)和尿苷酸(UMP)。这些核苷酸相互之间也以 3'-5' 磷酸二酯键连接成为线型的多核苷酸长链, 具有 5' 磷酸末端和 3' 羟基末端。

四、DNA 具有特定的空间结构

(一) DNA 由二条互补的多核苷酸链反平行盘绕成为双螺旋

DNA 双螺旋是 DNA 的基本空间结构。它由二条 DNA 多核苷酸链组成, 反平行排列, 即一条链的 5' 端到 3' 端的走向正好与另一条链相反。二条链的核糖和磷酸均位于外侧, 中间是碱基, 通过配对形成氢键, 从而使二条链紧密结合在一起(图 2-2)。由于碱基中嘌呤环比嘧啶环大, 因此配对时只能以一个嘌呤与一个嘧啶配对。另外根据几何形状, 功能基团的位置, 腺嘌呤(A)只能与胸腺嘧啶(T)配对, 鸟嘌呤(G)只能与胞嘧啶(C)配对。A 与 T 配对时可形成二个氢键, 而 G 与 C 配对时可形成三个氢键。氢键数量的不同就使带不同比例 GC/AT 的 DNA 具有不同的物化特性(如变性温度等, 详见后文)。一条 DNA 链与另一条链能按正确的碱基配对结合在一起, 这二条链就称为是互补链。

呈反平行排列的 DNA 双链并不是随机卷曲, 而是以一共同轴盘绕成为螺旋结构, 这就是 DNA 双螺旋结构称呼的由来。DNA 双链自下往上向右旋转盘绕, 称为右手螺旋。生物

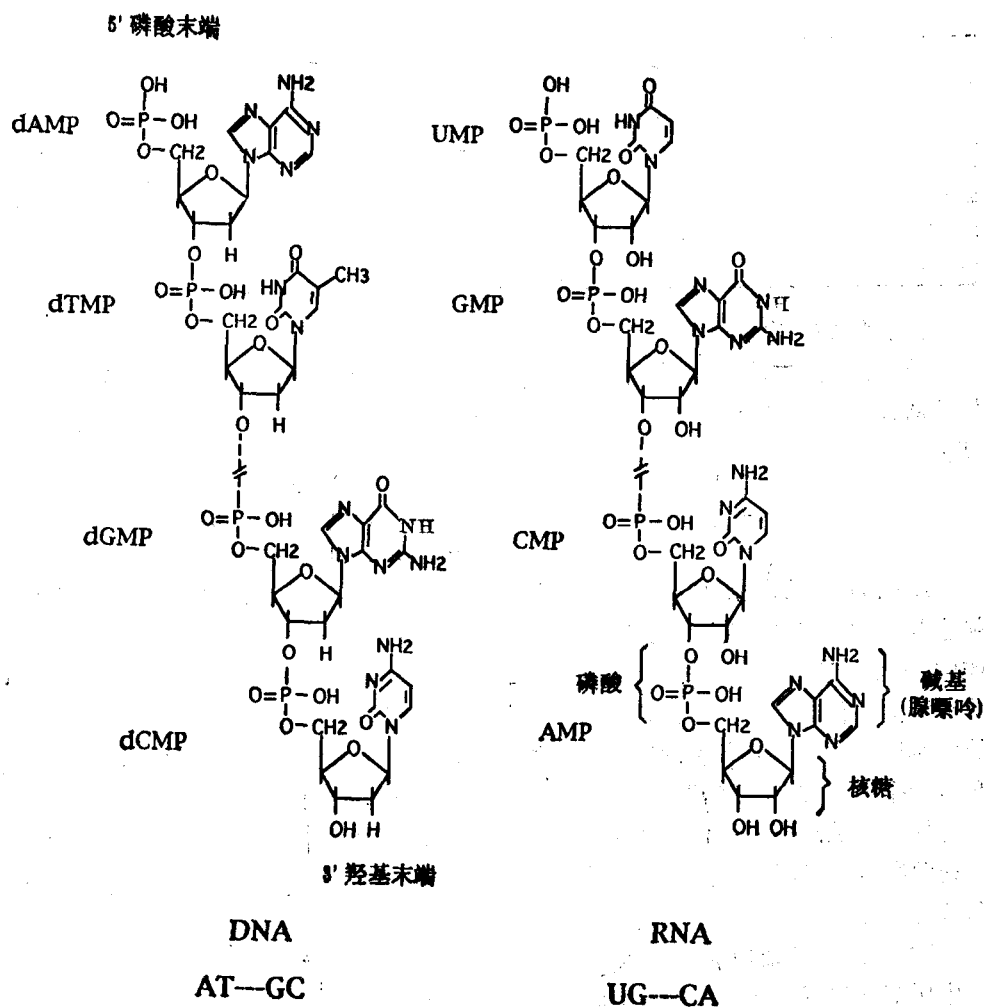


图 2-1 核酸的化学结构示意图

体 DNA 中绝大多数是呈右手螺旋。如自下而上向左旋转则是左手螺旋。这种结构将在下一部分讨论。由于 DNA 链中碱基并不充满于双链空间，在右手螺旋结构表面可见到二条与链平行的沟。在螺旋之间的沟称为大沟，因其较宽，而双链之间较窄的沟则称为小沟。这些沟对蛋白质因子识别 DNA 特定顺序并与之结合是很重要的，因为 DNA 双螺旋外侧的核糖和磷酸并没有特异性，核苷酸顺序的差别在于碱基的不同，而碱基位于双螺旋中间，因此只能通过沟来识别、结合。

维持 DNA 双螺旋结构的稳定依赖于三种力量。上述碱基配对形成的氢键是其中之一。第二种是碱基堆积力(base-stacking force)。DNA 双螺旋碱基中嘌呤或嘧啶环都以与螺旋轴垂直的平面互相重叠，在相邻碱基对之间就有范德瓦士(van der Waals)力的作用。另外碱基都是疏水性的，在双螺旋内部形成一个疏水核心，其中就有疏水键的力量。碱基堆积力就是这二种力的总和。氢键和碱基堆积力是稳定双螺旋结构的主要力量。DNA 双链有很多磷酸基团，在生理条件下带负电荷。这些磷酸残基可与带正电荷的蛋白质或阳离子形成离子键。如果没有离子键中和电荷，DNA 双螺旋就会由于负电荷的同性相斥而不

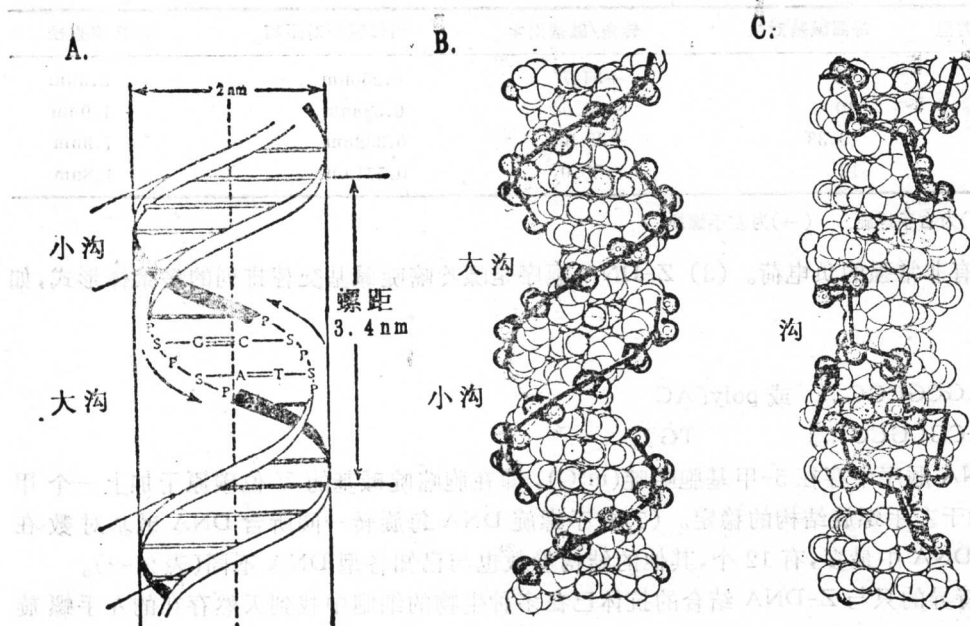


图 2-2 DNA 分子的双螺旋结构 A, B: B 型 DNA; C: Z 型 DNA

稳定。

(二) DNA 有不同的双螺旋结构

以上是 Watson 和 Crick 在 1953 年提出的划时代的 DNA 双螺旋结构概况。他们在那时还测出 DNA 双螺旋直径为 2nm, 螺旋的螺距是 3.4nm, 每个螺旋含 10 对碱基, 因此相邻二个碱基对之间转角为 36° , 距离是 0.34nm。由此就可根据 DNA 有多少碱基对 (bp) 而计算出 DNA 有多长。譬如一个 DNA 分子有 5000 碱基对, $5000\text{bp} = 5\text{kb}$ (kb 就是千碱基对), 其长度就是 $0.34 \times 5000 = 1700\text{nm}$ 。

但是随着研究的深入, 以后发现 DNA 还存在着不同的双螺旋结构。上述这种经典的结构就称为 B 型 DNA, 或 B-DNA。虽然 B-DNA 精确的结构数据有些微改变 (见表 2-2), 但现在仍然认为在生理条件下, 细胞 DNA 中绝大部分是 B-DNA 的结构。当某些条件发生改变时, 很小一部分 DNA 会从 B 型结构转变成其它类型。比较常见的是 A 型结构。A 型与 B 型的差别主要在于双螺旋的直径增大, 每圈螺旋多一个碱基对及其它螺旋结构数据的改变 (表 2-2)。A 型结构与 RNA 双链 (RNA 自身配对形成局部双螺旋) 或一条 DNA 链与一条 RNA 链形成的双螺旋结构比较接近。因为 RNA 分子上核糖的 $2'$ 位羟基妨碍了 B 型结构的形成。此外在线粒体 DNA 中还存在着 C 型结构, 在一些病毒和噬菌体中发现了 D 型、E 型等结构。

Z 型 DNA 则与上述 A 到 E 等型 DNA 截然不同。上述各型 DNA 都是右手螺旋, 而 Z-DNA 是左手螺旋。除了左手螺旋外, Z-DNA 还有如下的结构特征: (1) 由核糖和磷酸构成的 DNA 主链在螺旋中是锯齿形 (zig-zag) (图 2-2), 而不像 B-DNA 是光滑的曲线。所以取锯齿形英文第一个字母 Z 来命名这种左手螺旋。此外 Z 也是字母表最后一个字母, 更能体现出它与右手螺旋结构的显著不同。(2) Z-DNA 只有一条沟, 相当于 B-DNA 的大沟,

表 2-2 几种不同类型的双螺旋结构

双螺旋类型	每圈碱基对数	转角/碱基对*	相邻碱基对距离	双螺旋直径
A	11	+34.7°	0.256nm	2.3nm
B	10	+34.0°	0.338nm	1.9nm
C	9.33	+38.6°	0.332nm	1.9nm
Z	12	-30.0°	0.571nm	1.8nm

* (+)为右手螺旋 (-)为左手螺旋

沟中间具有非常强的负电荷。(3) Z-DNA 顺序是嘌呤嘧啶碱基交替排列的多聚体形式,如 poly[GC

CG]

[即...GCGCGC... 或 poly[AC
...CGCGCG...] TG]。

(4) Z-DNA 顺序中存在 5-甲基胞嘧啶(m⁵C),即在胞嘧啶碱基的 5' 位碳原子上加上一个甲基,这有助于左手螺旋结构的稳定。(5)左手螺旋 DNA 每旋转一圈所含 DNA 碱基对数在所有各型 DNA 中最多,有 12 个,其他的结构参数也与已知各型 DNA 不同(表 2-2)。

应用特异的只与 Z-DNA 结合的抗体已在多种生物的细胞中找到天然存在的左手螺旋结构。分析与抗体结合的 DNA 顺序,发现有些顺序位于增强子(能增强基因转录的 DNA 顺序)部位,证明 Z-DNA 的生理功能与基因表达调控有关。需要指出的是,细胞 DNA 长链中绝大部分是 B 型, Z 型等其它类型结构只是其中某些区域的一部分。而且 DNA 的双螺旋结构在细胞中并不是固定不变的,而是随着细胞环境及 DNA 更高级结构的改变而发生着动态变化。对于 Z-DNA 与 B-DNA 结构是否可以互为转变,这种转变的意义是什么,受哪些因素控制等课题,正在进行深入的研究,其结果必然使我们对 Z-DNA 有更进一步的认识。

(三) 超螺旋和核小体是 DNA 的三级结构

DNA 分子中核苷酸通过 3', 5' 磷酸二酯键连接成长链,其碱基顺序就是 DNA 的一级结构。二条互补的反平行链形成 DNA 双螺旋则是二级结构。在此基础上 DNA 进一步盘绕扭曲,即为 DNA 的三级结构。

原核细胞的 DNA 以及真核细胞线粒体叶绿体中的 DNA 都是分子较小的环状 DNA。这些 DNA 分子可进一步扭曲形成麻花状的超螺旋结构(superhelix 或 supercoil)。这种进一步的螺旋扭曲也有方向性,类似于右手螺旋的方向称为正超螺旋(positive supercoil),类似于左手螺旋的方向则是负超螺旋(negative supercoil)。目前细胞内发现的环状 DNA 都是以负超螺旋的形式存在。因为负超螺旋可以减少二级结构右手螺旋的扭力,从而使 DNA 结构更趋稳定。

真核生物细胞核中的线状 DNA 也可形成超螺旋,但这不是 DNA 链互相之间盘绕螺旋,它是以 DNA 的双螺旋链盘绕在组蛋白分子外面形成核小体(nucleosome)结构。组蛋白是含有很多碱性氨基酸(赖氨酸和精氨酸)、带有很强正电荷的碱性蛋白质,包括五种类型,分别命名为 H1, H2A, H2B, H3 和 H4。在核小体结构中, H2A, H2B, H3 和 H4 各二分子组成的八聚体是核小体的核心。DNA 双螺旋链绕此核心 $1\frac{3}{4}$ 圈,然后联到另一个组蛋白核心又绕 $1\frac{3}{4}$ 圈,这样一个一个依次联接下去,就形成了串珠结构。其中一个个珠就是核小体。

线就是与一个个核小体相联的 DNA 链。组蛋白 H1 就与核小体之间的 DNA 相结合。一个核小体单位的 DNA 为 200 个碱基对长,其中 140bp 绕在组蛋白核心上,其余形成联接部分。核小体的直径约为 10nm,而 200bp 的 DNA 双螺旋链长 68nm,因此核小体结构可使 DNA 长度压缩约 7 倍。

该小体是染色体的基本结构。核小体可进一步螺旋化形成螺线管(solenoid),每圈由 6 个核小体组成。这样 DNA 长度又被压缩 6 倍。螺线管再进一步盘绕形成超螺线管, DNA 长度可再压缩约 40 倍。超螺线管就是染色体的单位纤维。从单位纤维盘绕折叠形成染色单体(chromatid),长度可再压缩 5~6 倍。这样, DNA 分子的长度总共压缩了近万倍,很容易就装在小小的细胞核里。

五、RNA 具有不同的种类和结构

RNA 在细胞中种类很多,主要的是三大类:(1)信使 RNA(mRNA),将 DNA 的遗传信息转录下来,然后作为蛋白质合成的模板;(2)转运 RNA(tRNA),可以识别 mRNA 上的密码子,并特异地将氨基酸运到核蛋白体去装配成蛋白质;(3)核蛋白体(核糖体)RNA(rRNA),与很多蛋白质分子组成核蛋白体(核糖体),是蛋白质的“装配机器”。除此之外,细胞中还有很多其他种类的 RNA 分子,尽管它们从量上来说并不多,但也有很重要的功能。下面分别予以介绍。

(一) mRNA 分子长度差异大

mRNA 占细胞 RNA 总量的 3~5%。由于在不同的细胞中基因表达并不相同,因此 mRNA 的种类在不同的细胞中也是各式各样。一般代谢旺盛或正进行增殖反应的细胞,其 mRNA 的种类和量就必然较多。mRNA 长度在不同种类的 mRNA 中也是大小不一。小的只有几百个碱基,大的可达几千甚至一万多个碱基。

真核生物 mRNA 5' 端都有帽子结构,也就是 5' 端最后一个核苷酸是甲基化的鸟嘌呤核苷酸。它是 mRNA 转录后再加上去的。它与第二个核苷酸是以 5' 端三磷酸酯键相联,而不是通常的 3', 5' 磷酸二酯键,而且第 2 和第 3 个核苷酸核糖 2' 位羟基往往也甲基化。常表示为 $m^7G^5 ppp^5 N_m(N_m) \dots$ 。帽子结构的功能与蛋白质合成起始有关,它是核蛋白体的识别部位。此外也可防止 mRNA 被核外切酶水解。

真核生物 mRNA 的 3' 端有多聚腺苷酸尾巴,即 3' 端往往是 20~200 个腺苷酸。多聚腺苷酸可使 mRNA 降解较慢。原核生物 mRNA 无多聚腺苷酸,寿命要比真核 mRNA 短几十倍。真核生物中仅组蛋白 mRNA 没有多聚腺苷酸尾巴。

并非所有 mRNA 中的核苷酸顺序都是编码蛋白质的密码子。在 mRNA 的 5' 端和 3' 端都有一部分顺序是非编码区。这些非编码区与 mRNA 成熟及蛋白质合成起始有关。

(二) tRNA 具有典型的单链核酸高级结构

tRNA 约占细胞 RNA 总量的 10~15%。tRNA 是三类 RNA 中最小的分子,仅有 73~93 个碱基,其中大部分是 76 个。但 tRNA 又是稀有碱基或修饰碱基(除 A, G, C, U 外其他种类的碱基)含量最多的 RNA。一般 tRNA 分子中 10~20% 是修饰碱基。

尽管 RNA 是单链核酸分子,但 RNA 链也可折叠起来,在某些区域进行碱基配对而形成局部双螺旋结构。譬如 tRNA 分子就是一个典型例子。tRNA 单链折叠后可在四个部位碱基配对形成局部双螺旋,从而构成三叶草形结构(图 2-3)。三叶草的柄又称为氨基酸臂,因为其 3' 末端总是一 CCA-OH,是与氨基酸结合的部位。三叶草中间一个环是反密码

环,环中间三个碱基即组成反密码子,是识别 mRNA 密码子的部位。tRNA 三叶草结构的左边一个环称为二氢尿嘧啶环,因其含有二氢尿嘧啶修饰碱基而得名。此环是蛋白质合成时氨基酸 tRNA 合成酶的识别部位。三叶草右边一个环称为 T ψ C 环, T 是胸腺嘧啶核苷酸, ψ 是假尿苷酸, 它们也是 RNA 分子上的修饰碱基。此环在与 rRNA 结合及维持 tRNA 高级结构中起重要作用。在 T ψ C 环与反密码环之间还有一个可变环(或称额外环), 其中碱基的数目在不同的 tRNA 分子上不一样。由于非终止密码的密码子有 61 种, 因此相应的 tRNA 分子也至少有这么多, 实际种类可能更多。现已知道, 识别起始密码 AUG 的 tRNA 结构与识别 mRNA 中间甲硫氨酸密码(也是 AUG)的 tRNA 是有差别的。T ψ C 环的第 54-57 个碱基是 A ψ CG 或 AUCG, 而不是一般的 T ψ CG。

tRNA 的三叶草结构还可进一步盘绕折叠, 这就形成倒 L 形的三级结构(图 2-3)。这时氨基酸臂和反密码环正好位于 L 的二端, 便于接受氨基酸和识别密码子。二氢尿嘧啶环和 T ψ C 环则位于 L 的拐角上。

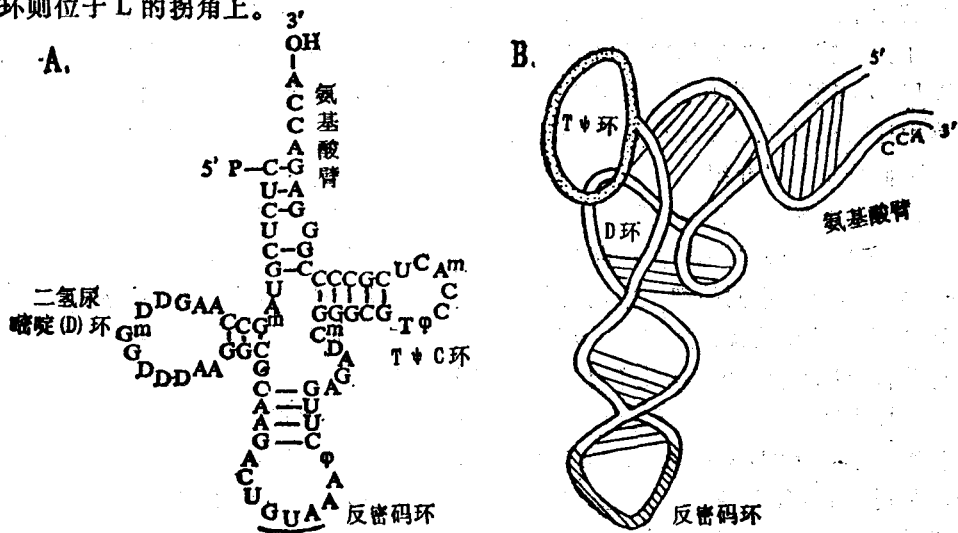
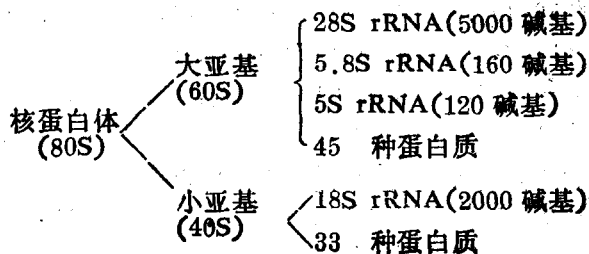


图 2-3 tRNA 的结构示意图

A: 二级结构; B: 三级结构

(三) rRNA 与蛋白质结合形成核蛋白体

rRNA 是细胞中 RNA 最多的一种, 约占 RNA 总量的 80-85%。rRNA 和核蛋白体的分子大小一般都用超速离心的沉降系数 S 表示, S 越大分子也越大, 但并不成比例, 如 5S 分子与 4S 分子结合并不是 9S 分子, 而可能是 7S 或 8S, 取决于分子构象。真核生物 rRNA 共有四种, 其中 18S rRNA 和 33 种蛋白质结合在一起形成核蛋白体的小亚基, 而 28S、5.8S 和 5S rRNA 则与 45 种蛋白质一起形成大亚基。rRNA 和核蛋白体的大小和结构可表示如下:



核蛋白体是细胞内蛋白质的合成装配场所。rRNA 在核蛋白体中不仅起框架作用,而且具有与 mRNA、tRNA 互相识别、结合的结构,在蛋白质合成起始,延伸中具有重要作用。最近的研究显示,rRNA 具有催化肽键形成及氨基酰-tRNA 合成的活性,直接参与遗传信息翻译的过程。

(四) 细胞内其它类型 RNA 也有重要功能

1. 小分子细胞核 RNA (small nuclear RNA, snRNA); 在细胞核内,有一类 4S-8S RNA。因其含有较多的尿嘧啶核苷酸,命名为 U1, U2, U3...U10。这些 RNA 常与蛋白质结合在一起,形成核蛋白颗粒 (ribonucleoprotein particles, RNPs 或 sn RNPs)。snRNPs 与 RNA 前体的剪接有关,可帮助剪去 RNA 前体中不需要的部分,再使其余部分连接起来。在红斑狼疮,类风湿关节炎病人中常发现抗 snRNPs 的抗体。

2. 核内不均一 RNA (heterogeneous nuclear RNA, hnRNA); 细胞核内还有很多分子长度各异的 RNA。这些 RNA 与 mRNA 一样在 5' 端有帽子,3' 端有 poly A 尾巴。它们是 mRNA 的前体,需进一步加工才能成熟为 mRNA。据测定大约仅 10% 的 hnRNA 可成熟转移到胞浆中,其余的很快就降解了。

3. 染色质 RNA (chRNA); 这是指与染色质蛋白很牢固地结合的 RNA。它们的顺序也高度不均一,普遍存在于真核细胞核并具有组织特异性,可能通过与组蛋白或非组蛋白的特异结合而对基因的转录进行调控。

4. 校正 tRNA (suppressor tRNA, sRNA); 当基因发生突变时,细胞也可通过校正 tRNA 来对突变进行校正。这种校正 tRNA 的反密码子是针对突变密码子的,但其携带有正常密码子的氨基酸。譬如正常密码子 GGG (甘氨酸) 中间若插入一个 G,势必改变以后所有密码子的读法而使蛋白质功能丧失。这时有一类校正 tRNA 的反密码子可有四个 C 来对此变异密码子进行阅读,而且它携带的是正常的甘氨酸,从而使合成出来的蛋白质没有任何变化。这种校正 tRNA 只识别变异的密码而不阅读正常的密码子,因此不会影响其他正常基因蛋白质的合成。

5. 反意义 RNA (antisense RNA); 这是一类与 mRNA 碱基顺序互补的 RNA,因此它们可与 mRNA 特异地结合,而不让 mRNA 行使模板功能,合成蛋白质。利用这一原理,现已人工合成一些针对癌基因或病毒基因产物 mRNA 的反意义 RNA 来试图抑制肿瘤细胞的生长或病毒的繁殖。

6. 催化 RNA (catalytic RNA, ribozyme); 原来认为具有催化活性的酶都是蛋白质。现发现一些 RNA 分子同样具有酶的活性,可识别并剪接核酸分子。已制造一些催化 RNA 用以专门剪接艾滋病病毒 (HIV) 的核心基因 mRNA,在动物试验中已获成功,可望将来用于抗艾滋病。

六、核酸可以变性和复性

当 DNA 溶液加热到接近沸点时,分子运动的热能可以打断 DNA 双螺旋结构中的氢键、离子键和碱基堆积力,从而使 DNA 双链分离成单链,这就是 DNA 的变性。除了加热,其它一些条件如极端酸碱,高盐溶液或有机溶剂等都可引起 DNA 变性。

常用判断 DNA 变性的方法是检测 DNA 溶液在紫外 260nm 波长中的光吸收。DNA 分子中由于存在嘌呤嘧啶碱基,因此在 260nm 有一光吸收高峰,根据光吸收强度可计算 DNA 浓度。当 DNA 变性时,光吸收会大大增强,这就是所谓的增色效应 (hyperchromic