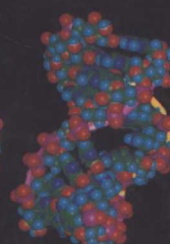
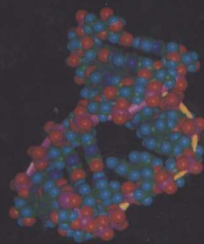
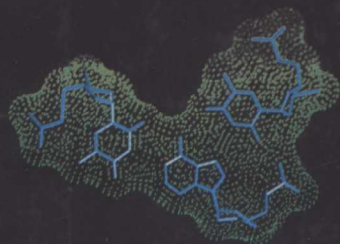
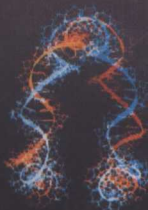


核酸结构多态性

刘次全 曹恩华 白春礼 著
王 琛 梁宠荣



高等教育出版社

内 容 提 要

核酸结构多态性研究对遗传学、分子生物学乃至整个生命科学的发展产生深刻的影响。迄今为止,不仅揭示了单链、双链结构中的 A、B 和 Z 型等多种不同构象的存在,而且还发现三链和四链 DNA 直至本书讨论的“亚多链”和“多链”结构。本书共分五章,内容包括引言,核酸结构原理,DNA 结构多态性,RNA 结构多态性,核酸分子结构多态性的实验和理论研究。核酸结构多态性研究还将会遇到种种困难和曲折。希望有兴趣的科学家共同研究去揭示核酸结构多态性、遗传多样性、直至生物多样性的奥秘。

责任编辑 朱秀丽

图书在版编目(CIP)数据

核酸结构多态性/刘次全等著. —北京:高等教育出版社,2000.12

ISBN 7-04-009575-0

I. 核… II. 刘… III. 核酸—生物结构—多态现象 IV. Q52

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 78767 号

书 名 核酸结构多态性

作 者 刘次全 曹恩华 白春礼 王琛 梁宠荣

出发行版 高等教育出版社

社 址 北京市东城区沙滩后街 55 号

邮政编码 100009

电 话 010-64054588

传 真 010-64014048

网 址 <http://www.hep.edu.cn>

<http://www.hep.com.cn>

印 刷 艺苑印刷厂

开 本 787×1092 1/16

版 次 2000 年 12 月第 1 版

印 张 16

印 次 2000 年 12 月第 1 次印刷

字 数 395 000

定 价 27.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

目 录

I. 引言	(1)
II. 核酸结构原理	(4)
2.1 核酸组分结构特征	(4)
2.1.1 戊糖和脱氧戊糖的结构和构象性质	(5)
2.1.1.1 糖环的折叠形式	(5)
2.1.1.2 糖环折叠的机制	(11)
2.1.1.3 影响呋喃糖折叠的因素	(12)
2.1.2 碱基的结构	(15)
2.1.2.1 修饰碱基	(15)
2.1.2.2 碱基的互变异构体	(18)
2.1.2.3 碱基的几何形状	(19)
2.1.2.4 碱基的不对称性	(20)
2.1.2.5 碱基的配对	(21)
2.1.3 磷酸基的几何形状与特性	(39)
2.1.3.1 磷酸单酯和双酯基及焦磷酸连接的键特性(键特征)和几何学	(39)
2.1.3.2 焦磷酸基的构象特征	(40)
2.1.3.3 C—O 和 P—O 酯键的定向	(40)
2.1.4 核苷	(44)
2.1.4.1 核苷的顺反构象	(44)
2.1.4.2 修饰核苷	(46)
2.1.4.3 C4'—C5' 键的定向	(50)
2.1.5 核苷酸的构象性质	(52)
2.1.5.1 核苷酸在核酸链中的表示方法	(52)
2.1.5.2 核苷酸的构象性质	(52)
2.1.5.3 核苷酸的物理性质	(56)
2.1.5.4 修饰核苷和核苷酸以及环化核苷酸的构象性质	(58)
2.2 核酸组分构象性质小结	(60)
参考文献	(61)
III. DNA 结构多态性	(63)
3.1 单链 DNA	(63)
3.2 双链 DNA	(65)
3.2.1 双螺旋结构的基本特征	(66)
3.2.2 DNA 二级结构与碱基堆积	(72)

3.2.3 双螺旋结构的种类	(76)
3.2.4 多聚核苷酸双螺旋的多态性	(84)
3.2.5 多聚核苷酸右手螺旋:A型和B型	(86)
3.2.6 天然DNA的构象	(93)
3.3 三链DNA	(93)
3.3.1 三链结构的多态性	(93)
3.3.1.1 历史回顾	(93)
3.3.1.2 三链DNA的分子基础	(94)
3.3.1.3 三链DNA分类	(99)
3.3.1.4 三链DNA的稳定性	(102)
3.3.1.5 生物学功能及其应用	(104)
3.3.1.6 研究现状	(106)
3.3.2 分子内和分子间三螺旋DNA	(109)
3.3.3 R-DNA、H-DNA和辫状三链DNA	(111)
3.4 四螺旋DNA	(114)
3.4.1 含质子化C的四螺旋DNA(i-motif)	(117)
3.4.2 四螺旋DNA可能的生物学意义	(119)
参考文献	(121)
IV. RNA结构多态性	(123)
4.1 单链RNA	(126)
4.1.1 RNA的修饰度	(126)
4.1.2 原核及真核细胞mRNA一级结构特征及其与功能的关系	(128)
4.1.2.1 翻译区及其功能	(129)
4.1.2.2 非翻译区及其功能	(130)
4.2 RNA的二级结构	(131)
4.2.1 RNA二级结构的预测	(137)
4.2.2 RNA二级结构语言与代数拓扑特征	(143)
4.2.2.1 RNA的二级结构语言的简要回顾	(143)
4.2.2.2 Dyck文法的功能	(149)
4.2.2.3 Pseudo-Dyck语言——赝二级结构	(153)
4.2.3 RNA二级结构的多态性	(154)
4.3 RNA链的折叠	(158)
4.3.1 mRNA剪接加工的结构特征	(161)
4.3.1.1 前体mRNA的剪接	(161)
4.3.1.2 mRNA的二级结构和剪接位点	(165)
4.3.2 影响RNA折叠结构稳定性的因素	(169)
4.4 RNA的三级结构	(173)
4.4.1 三级氢键相互作用	(175)

4.4.2 碱基堆积相互作用	(177)
4.4.3 糖环折叠的变化, π 转折和存在磷酸-碱基堆积的环	(177)
4.5 三链 RNA	(180)
参考文献	(182)
V. 核酸分子结构多态性的实验和理论研究	(186)
5.1 三链新结构 DNA(三链辫状 DNA 与三链辫结结构 DNA)研究	(186)
5.1.1 新结构 DNA 的形成与性质	(186)
5.1.2 新结构 DNA 形成的可能机制	(191)
5.1.3 三链辫状结构的可能生物学意义	(192)
5.1.4 酸变性诱导的 DNA 结构改变	(194)
5.2 细胞内可能存在多链核酸组分的研究	(196)
5.2.1 HeLa 细胞 DNA	(198)
5.2.2 细胞中提取的 RNA 多链结构研究	(199)
5.2.2.1 RNA 多链体系的高度和长度分布	(200)
5.2.2.2 亚多链 RNA 和多链 RNA 结构的推测	(203)
5.2.2.3 四螺旋 RNA 的形成机制推测	(204)
5.3 核酸结构态样性的理论研究	(205)
5.3.1 三链核酸结构的理论研究	(205)
5.3.1.1 三碱基体模型及能力学分析	(205)
5.3.1.2 三链核酸碱基配对的相互作用	(207)
5.3.1.3 DNA 三链结构模型和能力学	(210)
5.3.1.4 λ 噬菌体 DNA 形成三链辫状结构的序列搜索	(213)
5.3.2 四链 DNA(loopG4)螺旋结构的计算机模拟	(218)
5.3.3 基于碱基配对的 DNA 四碱基体模型	(223)
5.3.4 mRNA 和编码蛋白质在二级结构上的相关性	(240)
参考文献	(245)

I. 引 言

首先,我们强调这样的事实,即生物系统的演化无疑导致多样性和增加复杂性。

生物学的研究对象——生物系统,是具有网络层次结构的系统,其多样性在每一层次均有体现,如生态系统和环境的多样性、群落和群体的多样性、物种和个体的多样性、生物大分子结构和功能的多样性等等。这些多样性再与非线性和复杂性相联系、汇合、交叉和“碰撞”,于是,在我们的面前就呈现出生物系统生意盎然、蔚为壮观、纷繁复杂的图景。

鉴于生物系统高级层次的多样性,除环境因素的影响外,是低级层次多样性按等级非线性组合的,因而作为基础层次的大分子(核酸、蛋白质等)的多样性研究,就成为整个生物系统多样性研究的基础。

在分子层次,核酸结构的多态性(多样性)研究是至关重要的。事实上,核酸结构的多态性研究,一直对遗传学、分子生物学乃至对整个生命科学的发展产生着深刻的影响。人们对核酸结构的认识也在不断深化。分子生物学的巨大成就,是在双螺旋模型的基础上,通过引入复制、转录、翻译和密码子等概念,以及“中心法则”而取得的。然而,三链和四链 DNA 结构等的出现,又给核酸结构多态性的研究增添了新的内容和“戏剧性”冲突,同时也给我们提供了揭示核酸结构多态性的机会。

核酸包括脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA),是遗传信息的载体和生命活动的重要物质基础。就 DNA 而言,迄今为止,人们不仅揭示了它的单链结构(链状和环状)、双链结构中的 A、B 和 Z 型等多种不同构象的存在,而且还发现了与传统的双螺旋结构截然不同的三链和四链 DNA,直至本书讨论的“亚多链”和“多链”结构。此外,人们还合成了具有三臂、五臂和六臂的非线性多支链的 DNA。即使是双螺旋 DNA,也还有链状和环状结构,也可以形成松弛型、花束型、浓缩型和超浓缩型等不同拓扑形式的高级结构。

人类对核酸结构与功能的认识经历了一个漫长的过程。1869 年瑞士科学家 Miescher 提取到一种含磷量很高的酸性化合物,命名为“核质”(nuclein),实际就是含有杂质的核酸。1889 年,Altmann 从动植物组织和酵母中提取了不含蛋白质的制品,并首先使用了“核酸”这个名称。1944 年 Avery 等人发表了一篇著名的论文“脱氧核糖核酸是Ⅲ型肺炎球菌转化要素的基本单位”,从而确立了 DNA 作为遗传物质基础的中心地位。1953 年, Watson 和 Crick 根据 Wilkins 和 Franklin 拍摄的 DNA 纤维的 X 射线衍射照片以及其他实验数据,提出了 DNA 双螺旋模型,并在此基础上阐述了 DNA 半保留复制的分子机制。这一成就为现代分子生物学奠定了基础。

Watson-Crick 双螺旋模型的正确性为此后与此前的无数实验事实所验证。但是这一模型的建立并不意味着核酸结构研究的终结,相反,它打开了进一步深入研究核酸结构的大门。随后的研究表明,核酸并非总是处于 Watson 和 Crick 所提出的经典双螺旋状态;随着自身序列和环境条件的不同,核酸结构呈现出多态性。

在生物系统(如活细胞)中,核酸是动态分子,可以在不同的结构状态间变换,影响或导致

核酸结构多态性的因素很多,我们可以列出以下几点:

- (1) 聚核苷酸链的核苷酸顺序。
- (2) 核苷酸主链构象角。
- (3) 碱基间的氢键相互作用、共平面相互作用和堆积相互作用,以及修饰碱基的影响。
- (4) 核苷酸链的局域结构和精细结构。
- (5) 大分子、小分子和金属离子的影响。
- (6) 溶剂。
- (7) 遗传和“分叉”。
- (8) 在系统条件下的自组织和调节控制作用等等。

核酸结构的多态性具体表现在:

1. 组成核酸的链的数目有多寡之分

例如,有单链、双链、三链、四链乃至四链以上的结构。几乎所有的 RNA(包括 tRNA、rRNA、mRNA)通常都主要以单链形式存在。DNA 在变性后及在执行其功能(复制、转录、重组等)过程中也会呈现暂时和局部的单链状态。DNA 的主要存在形式是双链。同型嘧啶-同型嘌呤组成的双螺旋与聚核苷酸片段能在体外形成三螺旋结构。在重组酶的作用下,单链 DNA 能与同源的双链之间形成平行的三链结构。另外富含 G 或 rG 的寡核苷酸片段通过自身识别形成四螺旋结构。在这种四螺旋结构基础上还可能通过自装配形成更高级的结构。

2. 由相同数目的链组成的核酸分子,也会受其固有序列和环境条件的影响而采取迥然不同的构象

例如,单链 DNA 和 RNA 链随环境 pH 的变化可以形成无规线团,也能形成分子内氢键进而产生规整结构。poly(rC)在酸性条件下能形成平行的双螺旋结构,而在中性时则形成右手的碱基堆积的单链螺旋结构。即便是双螺旋 DNA,也会因为溶剂、环境温度、离子类型和强度的不同而可能采取 A、B、C、D、E 等多种构象。具有回文序列的 DNA 可以形成十字型结构,而具有镜面对称特征的同型嘌呤-同型嘧啶序列可以形成 H-DNA(铰链三螺旋)。

3. RNA 结构较之 DNA 结构更复杂,更具多态性

就 DNA 结构多态性和 RNA 结构多态性而言,前者相对于后者是比较简单的。DNA 通常是在双螺旋结构基础上的超螺旋。然而,单链的 RNA 则可以通过自身回折形成多种多样的二级结构和高级结构。我们对 mRNA 二级结构模型的理论研究也说明了这一点。

从许多文献和经典著作中,常常可以看到这样的叙述,即蛋白质分子的一级结构决定它的高级结构(或一维线性结构决定三维结构)。在此,我们可以逻辑地追问:是否生物大分子(包括核酸)的一维线性结构都决定着它们的三维结构?事实上,在生物系统的条件下,任何大分子的动态三维结构,是由各种非线性相互作用通过调节控制造成的。所谓一级结构决定高级结构(或序列决定构象)只是一种必要条件,并非充分条件,同一个核酸分子可以随环境和时间的变化在不同结构状态之间转换。我们强调生物大分子的结构是动态的,是非孤立的,一是指生物大分子的结构每时每刻都处于变化之中,二是指生物大分子每时每刻都处于与其他物质的相互作用之中。

生物学研究大分子结构的目的是为了解其功能,然而,生物大分子的功能是许多化合物,在若干个协同反应中,由整个系统(如生物系统的细胞及其以上层次)表现出来的。它不取

决于个别化合物的结构,而且也不取决于所有化合物的总和,而是取决于系统的整体。

不言而喻,核酸结构的多态性必然导致功能的多样性,但这当中并非存在一一对应的关系,亦即是说,并非每一种构象在系统中都具有特定的功能。决定和影响核酸功能的因素很多,除自身的结构外,协同、调节和控制起着重要作用。

当今,“生物多样性保护与持续利用”已成为生物学界普遍关注的重要课题,其中有关“生物多样性变化与持续利用的生物学基础”的研究,则是这一重大课题的基础核心内容。我们知道,与此直接相关的遗传多样性又是地球上所有生物的遗传信息的总和,是生物多样性的3个组成部分之一,是物种和生态系统多样性的重要基础。然而,遗传信息的载体——核酸及其结构的多态性(多样性),则又是遗传多样性的基础。

有关核酸结构多态性的知识大大丰富了人们对核酸的认识,一方面加深了人们对生命过程的理解,也为人们利用基因工程等现代生物学技术造福人类奠定了基础。例如,人们认识到RNA折叠中的假结(pseudoknots)是一种具有高的分子识别本领的结合模块。G4结构(富G序列形成的四螺旋结构)的形成可能介导着减数分裂前期的同源染色体配对,三链DNA的形成可能是DNA转录的一种负反馈模式等等。另一方面,三链DNA的深入研究使得一种高效纯化质粒(用于基因治疗)的技术得以产生,富聚核苷酸诱导突变已成为基因克隆中广泛采用的手段;三链DNA还赋予人们定点切割基因组以及专一性抑制特定基因表达的能力。

近年来,由实验发现的或用理论方法构建的多种核酸结构引起了生物学界的关注。由于种种原因和困难,迄今仅有极个别的结构形态有体内实验的报道,因而人们还无从去探索它们的功能,甚至无法证实这些结构形态是否存在于活细胞中。但是,正因为如此,也给从事核酸结构多态性研究的科学工作者提出了一系列的难题,也给我们提供了极好的机会。

总之,核酸结构多态性研究还要走一段崎岖的路程,还将会遇到种种困难和曲折。但是,科学的发现有点类似于采矿,一些没有被发现和揭示的自然规律往往埋藏在更深一层的矿层中。在上述困难后面,很可能就隐藏着关于生物大分子结构多样性的一些重要规律。我们热切希望生物学家、物理学家、化学家和其他对生物大分子结构多样性研究有兴趣的科学家携起手来,共同去揭示核酸结构多态性、遗传多样性、直至生物多样性的奥秘。

II. 核酸结构原理

2.1 核酸组成的结构特征

核酸在化学结构上,是由许多称为核苷酸的基本单位组成的生物多聚物。每一个核苷酸又是由 3 种基本的亚单位:一个含氮碱基,一个戊糖环(或脱氧戊糖环)和一个磷酸基团组成的。核苷酸单体则是通过共价的磷酸二酯键相互连接而成的长链多聚物。

核糖核酸和脱氧核糖核酸的区别:①前者的戊糖组分是 β -D-核糖,后者是 β -D-2'-脱氧核糖(图 2-1);②前者的碱基是腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胞嘧啶(C)和尿嘧啶(U),后者则是腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胞嘧啶(C)和胸腺嘧啶(T)(图 2-2);③前者通常以单链形式存在,能自身回折,形成许多分子内双螺旋区域(如 tRNA 二级结构中的“发夹”)的特征性空间结构,后者则通常以双螺旋以及在双螺旋结构基础上的超螺旋形式存在(图 2-3)。

在许多教科书和著作中,大多是这样来描述 RNA 和 DNA 在结构上的差异的。虽然这样的描述是正确的、但仅仅作这样的描述是不够的,它会妨碍人们对核酸结构多态性和复杂性的新知识的了解。

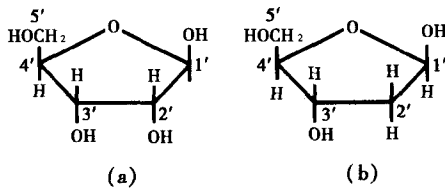


图 2-1 β -D-核糖(a)和 β -D-2'-脱氧核糖(b)

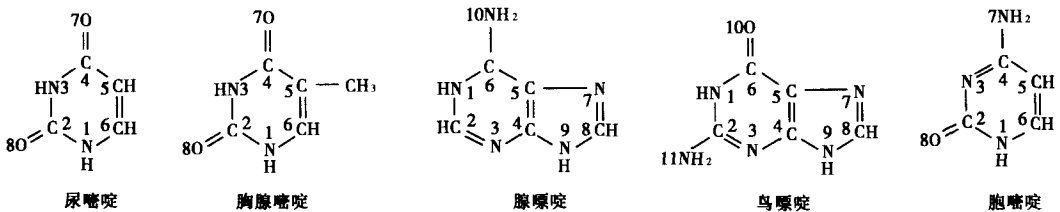


图 2-2 核酸的碱基

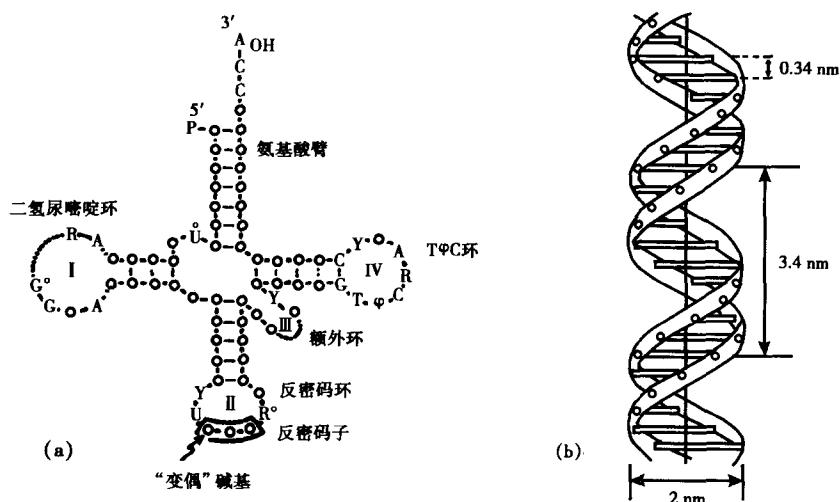


图 2-3 (a)tRNA 二级结构;(b)B-DNA 双螺旋结构

下面我们将简要地叙述 DNA 和 RNA 的一些差别。

2.1.1 戊糖和脱氧戊糖的结构和构象性质

戊糖和脱氧戊糖的结构和构象性质,在核酸的化学组分中,是造成 DNA 和 RNA 结构性质的差异的重要因素。

2.1.1.1 糖环的折叠形式

糖环的构象是十分复杂的。原因在于糖环中的 5 个单键均可转动,以致环中各个原子均可有不同程度的相对偏离,使糖环折叠,形成各种构象。在核酸中,戊糖的五元糖环不呈一个平面,其中的 $C1'-O4'-C4'$ 这 3 个原子通常在一个平面上,而 $C2'$ 和 $C3'$ 原子偏离平面约 0.05 nm,这种偏离使糖环具有不同的构象。通常以 $C5'$ 作参照来命名糖环的各种构象,如果 $C2'$ 或 $C3'$ 偏离平面的方向与 $C5'$ 同向,则称为内式(endo)构象。如果与 $C5'$ 反向,则称为外式(exo)构象。

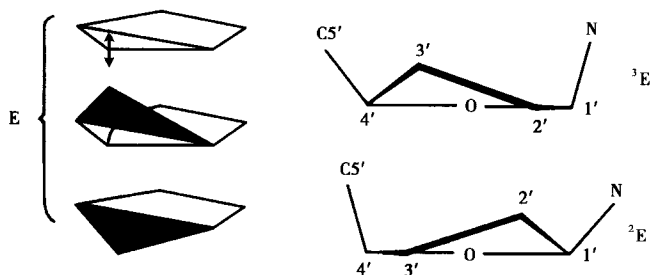
按照 $C2'$ 和 $C3'$ 偏离平面的情况,糖环的折叠形式有两大类——信封式(envelope form)和扭转式(twist form)构象。

1. 信封式

糖环的 $C2'$ 和 $C3'$ 中只有一个原子偏离平面,而其余 4 个原子在一个平面上,则称为信封式(简称为 E)构象(图 2-4)。例如 $C2'-endo(^2E)$, $C3'-endo(^3E)$, $C2'-exo(E_2)$, $C3'-exo(E_3)$ 。在简写时,内式构象中偏离平面的原子编号写在字母 E 的左上方,而外式构象中偏离平面的原子编号则写在字母 E 的右下方。

2. 扭转式

糖环的 $C2'$ 和 $C3'$ 中 2 个原子都偏离平面且偏离方向相反,而其余 3 个原子在一个平面上,则称为扭转式(简称为 T)构象。例如, $C2'-endo-C3'-exo$ 和 $C2'-exo-C3'-endo$ 。在

图 2-4 糖环的信封式折叠构象和 3E , 2E 构象

简写时,内式构象中偏离平面的原子编号写在字母 T 的上方,而外式构象中偏离平面的原子编号写在 T 的下方。如果 C2' 和 C3' 原子偏离平面的距离相等,则把上、下标原子编号写在 T 的前面,如 2_3T 、 3_3T 等。如果偏离平面的距离不相等,则偏离大的写在 T 的前面,偏离小的写在 T 的后面,如 3T_2 、 2T_3 等(图 2-5)。

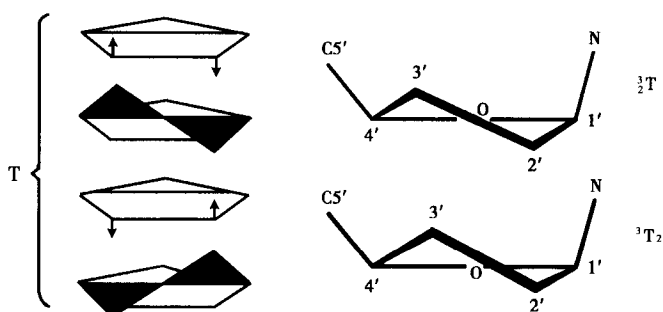


图 2-5 糖环的扭转式折叠构象

在扭转式中,又将 C2'-exo-C3'-endo 称为 N 式(北式),将 C2'-endo-C3'-exo 称为 S 式(南式)。N 式有 3T_2 、 3_2T 和 2T_3 , S 式有 2T_3 、 3_3T 和 3T_2 等等。

归纳以上所述,可用简图 2-6 来表示糖环折叠形式。其中, C2'-endo(S) 和 C3'-endo(N) 是基本的折叠形式。

从图 2-6 可以看出, C2'-endo 与 C3'-exo 构象类似,而 C3'-endo 构象则与 C2'-exo 构象相似。

X 射线衍射研究表明,在 RNA 和 DNA 螺旋中有不同倾向性的糖环折叠。在 RNA 螺旋中核糖环几乎全是 C3'-endo 构象,但单体核苷酸中核糖环则 C3'-endo 或 C2'-endo 构象的比例各占一半。在 B-DNA 螺旋中糖环构象为 C2'-endo,而在 A-DNA 螺旋中糖环构象为 C3'-endo。虽然在核糖核酸中,从 C3'-endo 转变为 C2'-endo 的能障不太清楚,但使 RNA 螺旋中的每一残基都要发生转动而形成 C2'-endo 构象,其总能量是很大的,故 RNA 不可能形成 B 螺旋。在图 2-7 中显示了糖环的折叠如何影响到核苷酸的空间构象。

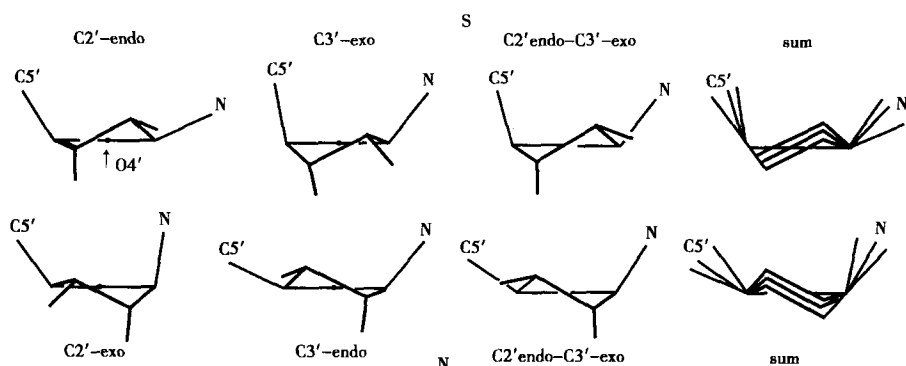
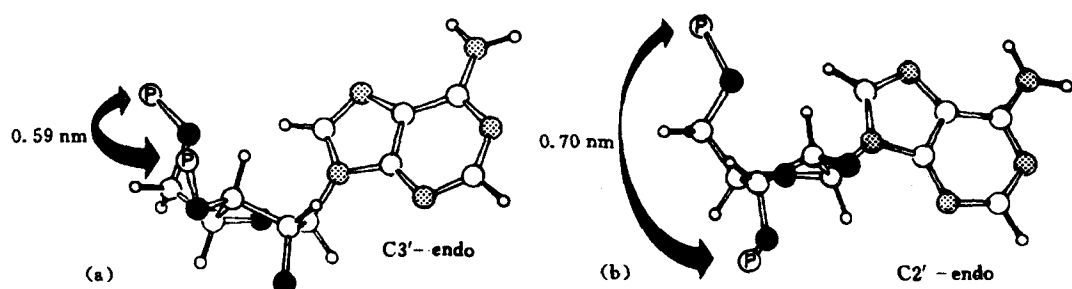
图 2-6 糖环折叠形式^[3]

图 2-7 两种不同构象的腺苷酸图示

- (a) 为 C3'-endo 构象。此时, 两个磷酸基团均位于核糖环平面之上, 分开距离为 0.59 nm;
 (b) 为 C2'-endo 构象, 与 O3' 相接的磷酸基团位于核糖环平面之下, 两磷酸基团间距离变为 0.70 nm

以上划分信封式和扭转式的方法对于描述糖环折叠只是近似的, 如果考虑到居间的扭转模型, 那么它们是不太适宜的。为较详尽地了解糖环的结构和构象性质, 人们还引入了赝转轮(pseudorotation cycle)的概念。图 2-8 显示核苷中呋喃糖的赝转轮。

在核苷酸中, 赝转轮相角 ρ 可根据文献[1,2]由环内糖的扭转角得到。

$$\tan \rho = \frac{(\nu_4 + \nu_1) - (\nu_3 + \nu_0)}{2\nu_2 (\sin 36^\circ + \sin 72^\circ)} \quad (2.1)$$

相角 $\rho = 0^\circ$ 定义为扭转角, ν_2 达到最大正值时的情形, 这相应于一个对称的 C2'-exo-C3'-endo 扭转形式, 即 3_2T (图 2-5), 其镜像 C2'-endo-C3'-exo (3_2T), 用 $\rho = 180^\circ$ (图 2-8) 来表示。给定相角 ρ , 则 5 个扭转角 (参见图 2-10) 有如下关系:

$$\nu_j = \nu_{\max} \cos(\rho + j\varphi) \quad (2.2)$$

其中 $j = 0, 1, \dots, 4$, $\varphi = 720^\circ/5 = 144^\circ$ 。取 $j = 0$ 得最大扭转角 $\nu_{\max}$ 为:

$$\nu_{\max} = \nu_0 / \cos \rho \quad (2.3)$$

注意, 在方程(2.2)中, 如果将 ρ 改变 180° , 则所有扭转角 ν 变号, 结果得到相角为 ρ 的构

象的镜像。

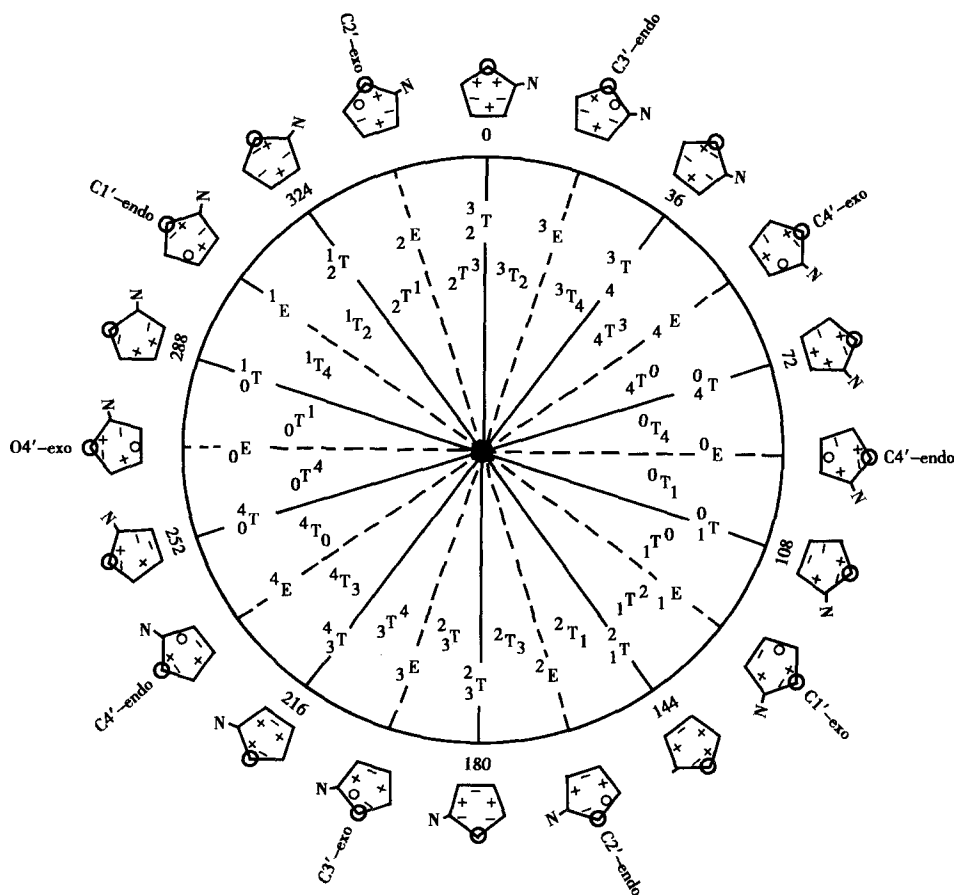


图 2-8 核苷中呋喃糖的脛转轮^[1]

相角的值以 36° 的叠加给出。信封式(E)和扭转式(T)每隔 18° 交替出现。转动 180° 后可找到起始位置的镜像。在转轴的周围是标有环内扭转角符号的核糖。(+)正, (-)负, (O)角度是 0°

图 2-9 给出在一个完整的脛转动过程中, 5 个扭转角变化的理论计算结果。在每一个相角 ρ 处, 正扭转角之和等于负扭转角之和。换言之, 5 个扭转角之和为零, 即

$$\nu_0 + \nu_1 + \nu_2 + \nu_3 + \nu_4 = 0 \quad (2.4)$$

图 2-10 进一步刻画了核糖和脱氧核糖的脛相角 ρ 和相应于糖苷键的扭转角 χ , 以及相应于 $C4'-C5'$ 键的扭转角 γ 的不同分布。

图 2-9 中给出的数值(度)系取自对 178 个核糖、脱氧核糖以及它们的衍生物的晶体结构分析结果, 并用特征的径向线表示。该图形象地表示出: 在核糖系列中 $C2'-endo(S)$ 和 $C3'-endo(N)$ 糖环折叠是相同分布的; 而在脱氧核糖中则是 $C2'-endo$ 糖环折叠占优势, 且在 $C3'-endo(N)$ 中无论是 ρ , 或是 χ 和 γ 其分布均明显地小于在 $C2'-endo(S)$ 中的分布。

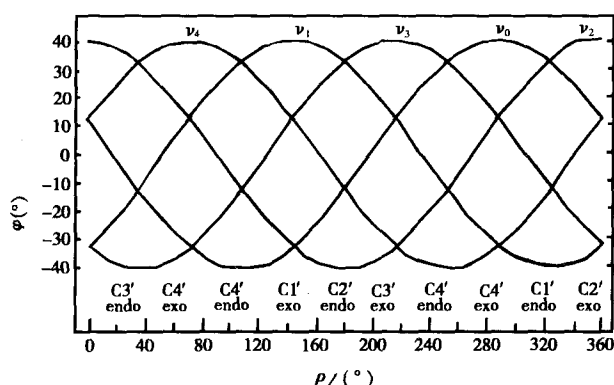
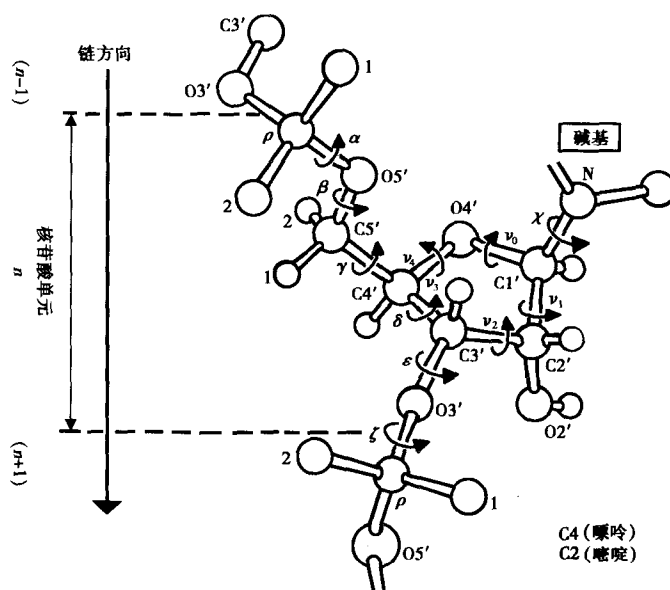


图 2-9 在一个完整的展转动周期内,5 个环内扭转角的变化^[2] ρ 为展转轮相角; φ 为轮扭转角



2-10 核苷酸单元组分原子和各个扭转角的定义
(碱基组分原子未全部画出)

由晶体学确定的数据分布(图 2-11)还显示,从 N 到 S 的两种可能的途径在能量上是不等的。经由 $O4'-endo$ 的通道为短通道,并且由于它占据的位置在空间上是稀疏的,因而它表现出一种相对低的阈值。相反地,“长”的 $O4'-exo$ 的通道在能量上不合理,而且不可通行。这可从纯几何学上来解释:在 $O4'-exo$ 折叠模型中,碱基和 $C5'$ 环外取代基都是轴向的,且有空间冲突(碱基氮原子与 $C5'$ 原子的距离约为 0.29 nm)。然而,在 $O4'-endo$ 折叠模型中,它

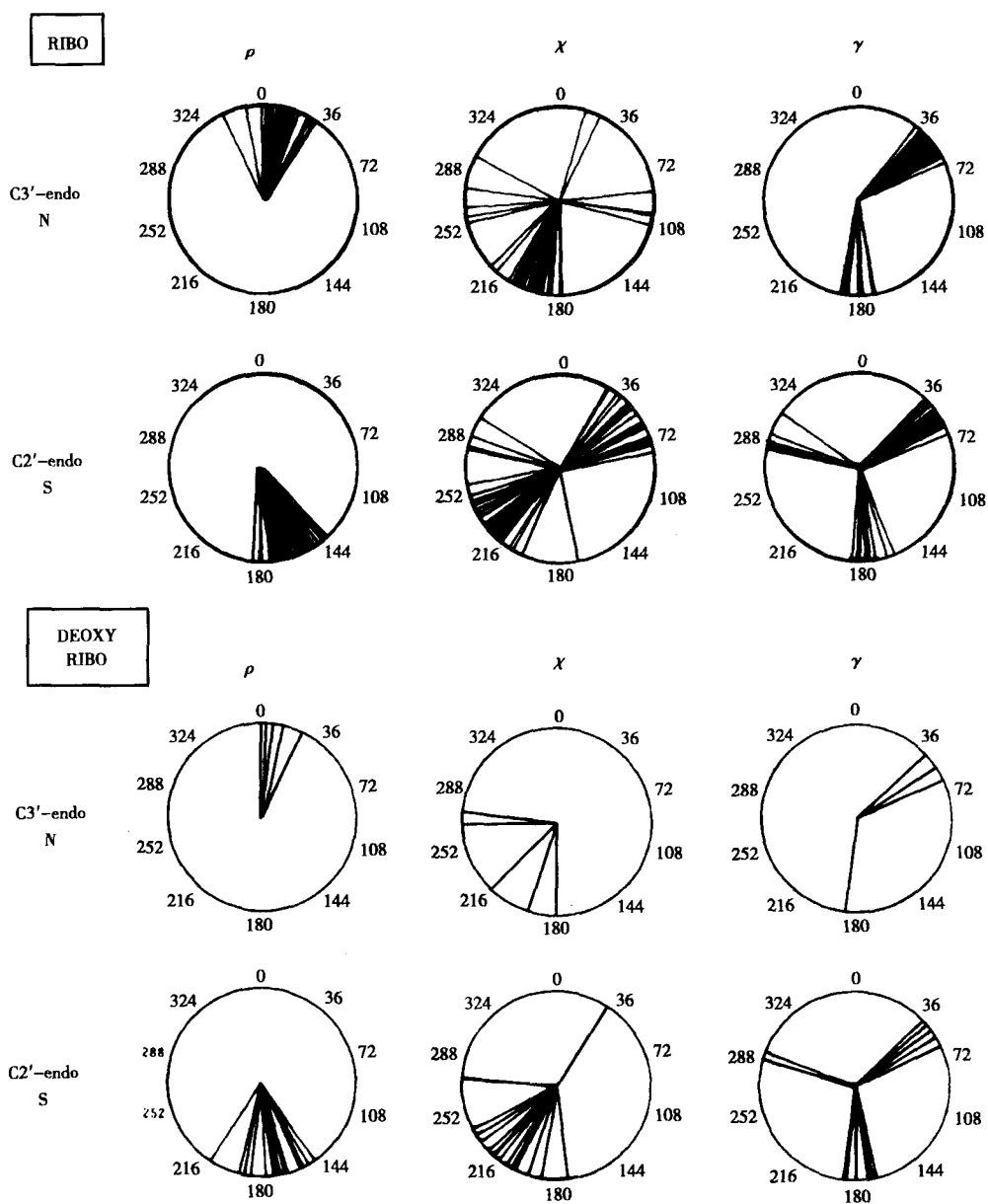


图 2-11

们的方向在“赤道”上,且彼此远离(碱基氮原子与 C5' 原子的距离约为 0.46 nm)。这种情形将导致 O4'-endo 与 O4'-exo 折叠模型在反应性上的差别(图 2-12,表 2-1)。

表 2-1 对于不同的糖环折叠模型取代基的定向

糖环折叠	原 子							
	N	H1'	H2'	O2'	H3'	O3'	H4'	C5'
C2'-endo	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>e</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>
C3'-endo	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>a</i>	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>e</i>
O4'-endo	<i>e</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	<i>e</i>
O4'-exo	<i>a</i>	<i>e</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>e</i>	<i>a</i>

e 和 *a* 表示准赤道和轴向, *b* 表示在 *a* 和 *e* 之间。

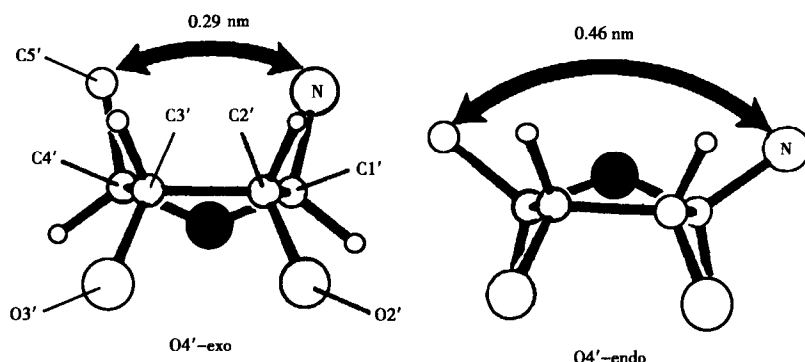


图 2-12 在糖环折叠模型

O4'-exo(左)和O4'-endo(右)中,取代基N(碱基氮原子或取代基N)和C5'的赤道向和轴向的定位在O4'-exo中,C5'和N在空间上有干扰,因而C2'-endo $\rightleftharpoons$ C3'-endo的互换将经由O4'-endo作为中介而发生

针对糖环折叠模型运用量子化学的 PCILO、扩展的 Hückel、CNDO 和经验势能计算以及力场等计算,得到了一些有意义的结果。这些计算结果显示:就非取代的核糖和脱氧核糖而言,C2'-endo 和 C3'-endo 折叠模型在能量上是非常相近的。这两种构象被相当于 8.368 ~ 16.736 kJ/mol 的 O4'-exo 和 O4'-endo 糖环折叠的近乎对称的势垒所隔开。

在做以上计算时,键角和键距取标准值,扭转角则是变化的。值得指出的是,糖环折叠模型的理论计算结果往往跟实验结果比较接近,伴随着理论模型和计算方法的改进,预计还会取得一些更理想的结果。但是,另一方面,在实际计算时,由于现行的一些方法仅仅是近似的,因而对结果需要作综合分析和评价。

2.1.1.2 糖环折叠的机制

呋喃糖环为什么会折叠?这是我们感兴趣的问题。对此,已经做过不少的探索。在理论研究方面,有趣的是,大多数理论计算似乎都定性地给出了一致的结果,并且说明呋喃糖环总是趋向手折叠的。显然,平面的呋喃糖环在能量上是不利的,因为在这种情况下,所有的扭转

角均为 0° 并且靠近碳原子的取代基完全被遮掩。系统通过折叠降低了能量,因为绕 C—O 键转动的位阻低于绕 C—C 键的位阻,呋喃糖环适应这种构象,即相对于 C—O 键的扭转角 ν_0 和 ν_4 几乎看不出来(在 0° 附近),而 C—C 键的扭转角 ν_1 、 ν_2 和 ν_3 的摆动很大,导致 $\nu_4 = 0^\circ$ 时的 C2'—endo 或 C2'—exo 折叠和 $\nu_0 = 0^\circ$ 时的 C3'—endo 或 C3'—exo 折叠。换言之,由于 C1' 在其他 4 个原子的平面外的折叠引起绕键 C4'—O4' 和 C2'—C3' 的转动,从而减少了 C2' 和 C3' 处的取代基之间的接触(图 2-13)。

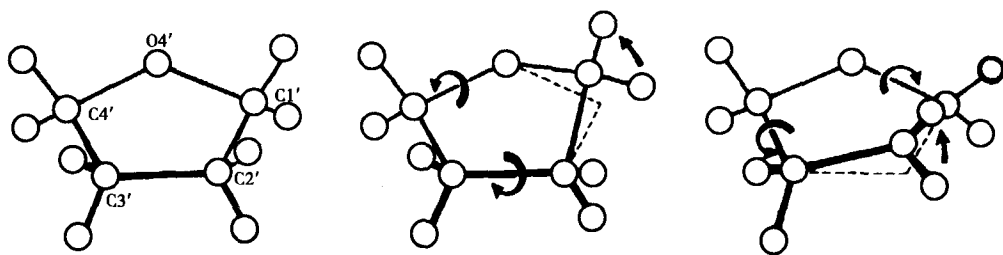


图 2-13

从图 2-13 中可以看出,在呋喃糖环中通过折叠而避免遮掩的构象。其中,最左面的为平面呋喃糖,深色的(粗黑线)所有取代基完全被遮掩,中间的为 C1'—endo 折叠,在 C3'、C4' 处的取代基(粗黑线)是遮掩的,然而 C3' 和 C4' 的移动与 C1' 和 C2' 的移动具有类似的作用。右面的为 C2'—endo 折叠,没有遮掩的取代基,这种情形对 C2'—exo, C3'—endo 和 C3'—exo 折叠模型也适合。

2.1.1.3 影响呋喃糖折叠的因素

研究表明,有许多因素可以影响到呋喃糖环的折叠形式。单个糖环的折叠形式显然不同于核苷、核苷酸、多聚核苷酸链中的糖环折叠形式,当然也不同于 RNA 和 DNA 不同结构中的糖环折叠形式,更不同于活细胞中处于 RNA、DNA 以及蛋白质 DNA 复合物乃至染色体结构中糖环的折叠形式。尽管如此,呋喃糖的折叠形式仍可以归结为前面介绍过的几种主要类型。就影响糖环折叠形式的因素而言,取代基、碱基的修饰作用、溶剂环境、其他大分子和小分子,以及在不同结构层次上的因素等等均可能影响糖环的折叠形式,尤其在细胞环境中多因素的综合作用,在增加多样性的同时,更增加了研究呋喃糖环折叠的复杂性。鉴于这样一些原因,开始我们仅能分解地、非常简略地分别叙述已经取得的若干对个别因素影响呋喃糖折叠的初步研究结果。

取代基的影响 在取代基影响呋喃糖环折叠的研究方面,我们仅举出核磁共振谱研究的一些初步结果。

核磁共振谱的研究证实, C2' 和 C3' 取代基会影响到 $C3' - \text{endo}(\text{N}) \rightleftharpoons (C2' - \text{endo}(\text{S}))$ 的平衡。研究结果还显示:大多数电负性取代基选择沿轴的方向取向。对 2' 取代的腺苷和尿苷衍生物的系统观察看出,多数 $C3' - \text{endo}(\text{N})$ 构象异构体的数量依 2'—取代基的电负性而呈线性增加(图 2-14),并且还预示脱氧核糖核苷和脱氧核糖核苷酸将采取 C2'—endo 折叠形式。