

医学专题丛书

核酸的结构及其生物活性

刘培楠 梁植权 沈同 主编

上海科学技术出版社

医学专题丛书

核酸的结构及其生物活性

(北京市生理科学会系统学术讲演)

刘培楠 梁植权 沈 同 主编

上海科学技术出版社

内 容 提 要

本书汇集北京市生理科学会于1962年春季举办的“核酸的结构及其生物活性研究的进展”系统学术讲演会上的14篇讲演稿,介绍近年来国内外在核酸研究方面的若干动向,内容涉及(一)核酸的结构问题,(二)核酸、核蛋白与蛋白质生物合成问题,(三)核酸的生物活性(感染、分化及致癌)问题,以及(四)影响核酸代谢的理化因素问题,可供生物化学专业人员以及广大医学界与生物学界工作人员参考。

医学专题丛书

核酸的结构及其生物活性

(北京市生理科学会系统学术讲演)

刘培楠 梁植权 沈 同 主编

上海科学技术出版社出版 (上海瑞金二路450号)

上海市书刊出版业营业许可証出093号

上海洪兴印刷厂印刷

新华书店上海发行所发行

开本850×1168 1/32 印张11 23/32 排版字数313,000

1964年9月第1版 1964年9月第1次印刷

印数1-4,000

统一书号 13119·560 定价(科七)2.00元

前 言

最近七八年中核酸的研究进展得很快，不仅是生物化学家对它关心，而是整个生物学界都对它感兴趣。因为这个阶段的核酸学术成就，不但丰富了核酸的化学知识（特别在核酸结构方面），而且开辟了新的研究途径，对于多少年来科学家切望解决的问题，如蛋白质生物合成的机制，病毒感染的本质，细胞分裂、分化、生长以及遗传的关键等，都提供了新的线索，使探讨生命现象的道路日渐明确，这对于生物学界不能说不是一件极其令人兴奋的事。

我国在核酸的研究方面正在开始，从事此项工作的科学家还不多。为了推动它的发展，北京市生理科学学会于1962年春举办了“核酸的结构及其生物活性研究的进展”的系统学术讲演会，邀请在京的一部分从事有关核酸研究的科学家轮流介绍近年若干方面的进展情况，并组织了十次讨论。讲演的内容限于主讲人的兴趣与了解范围，只选择了下列四个问题：（一）核酸的结构问题；（二）核酸、核蛋白与蛋白质生物合成问题；（三）核酸的生物活性（感染、分化及致癌）问题；（四）影响核酸代谢的理化因素问题，共分为十五讲。讲演会结束之后，所有讲稿又经整理补充，汇编成为本书，其中韩锐同志所讲“抗肿瘤药与核酸代谢”一稿，因已在“生理科学进展”发表，本书中不再重刊。

核酸的研究发展很快，文献资料既多且广，本书所收集的材料势难全面，仅能作为北京地区部分科学工作者学术活动的记录而已。现应北京各界的要求，将其刊印，供从事有关问题的科学家参考。汇编工作中由于缺乏经验，缺点在所难免，敬希读者指正。

刘增楠 梁植权 沈同 编

目 次

第一讲 核酸的化学降解及其产物的分离鉴定 胡炳晟

一、引言	1
二、核酸的降解	1
(一) 降解成碱基 2 (二) 降解成核苷 3 (三) 降解成核苷酸 4 (四) 降解成多核苷酸 4 (五) 无嘌呤酸和无嘧啶酸的制备 4 (六) 其他 6	
三、核酸降解物的分离与鉴定	9
(一) 纸层析法 9 (二) 纸电泳法 15 (三) 离子交换柱层析法 17 (四) 离子交换纸层析法 26 (五) 测定多核苷酸排列的工具酶及其特异性 26 (六) 多核苷酸的末端测定 28 (七) 单、二、三核苷酸异构体的鉴定 32	
四、结束语	35

第二讲 核糖核酸酶解作用的新进展 郭兆同

一、引言	41
二、核糖核酸酶	41
(一) 牛胰核糖核酸酶 41 (二) 核糖核酸酶 T_1 及 T_2 44 (三) 其他来源的核糖酶 47 (四) 核糖核酸酶对烟草花叶病毒核糖核酸降解 49	
三、磷酸双酯酶	51
(一) 蛇毒磷酸双酯酶 51 (二) 牛脾磷酸双酯酶 53	
四、磷酸单酯酶	55
五、结束语	56
六、补充	56

第三讲. 核酸的结构 梁植权

一、引言	61
二、脱氧核糖核酸的结构	62
(一) 固体状态的观察 62 (二) 液体中的观察 69 (三) 脱氧核糖核酸的变性作用 80 (四) 脱氧核糖核酸的稳定力 89 (五) 脱氧核糖核酸的降解 90	
三、核糖核酸的结构	91
(一) 核糖核酸的 X 射线衍射分析 91 (二) 核糖核酸的核碱组成 92 (三)	

在溶液中核糖核酸的形状和大小 93 (四) Doty 等关于核糖核酸二級结构的“成环”假說 95 (五) Spirin 对核糖核酸三級结构的看法 99

第四讲 可溶性核糖核酸 吳冠芸

- 一、核酸和蛋白质生物合成的关系104
- 二、可溶性核糖核酸的存在及其制备方法105
 - (一) 超速离心法 105 (二) 整細胞法 106
- 三、可溶性核糖核酸的理化性质与組成106
- 四、可溶性核糖核酸的均一性、特异性及其提取110
 - (一) 逆流分溶法 111 (二) 柱层离法 113 (三) 化学方法 113
- 五、可溶性核糖核酸的结构与功能的关系116
 - (一) 可溶性核糖核酸的末端结构与其接受氨基酸能力的关系 116 (二) 可溶性核糖核酸的一級结构与其接受氨基酸能力的关系 120 (三) 可溶性核糖核酸的二級结构与其接受氨基酸能力的关系 121
- 六、可溶性核糖核酸有没有种族特异性121
- 七、結束語122

第五讲 核糖微粒与蛋白质的生物合成 刘培楠

- 一、微粒体的形态与核糖微粒的制备127
 - (一) 微粒体的发现 127 (二) 微粒体的形状和大小 128 (三) 核糖微粒的制备 128 (四) 細胞核中的核糖微粒 129
- 二、核糖微粒的生物化学性质129
 - (一) 核苷酸組成 130 (二) 蛋白质及其氨基酸組成 131 (三) 酶活性 133
- 三、核糖微粒的形态与其生化活性134
 - (一) 核糖微粒的聚合与解离 134 (二) 不同大小核糖微粒的代謝活性 141
- 四、蛋白质生物合成中核糖微粒的特异作用143
 - (一) 氨基酸并合过程中核糖微粒的特异作用 144 (二) 特异蛋白质合成中核糖微粒的特异作用 145 (三) 核糖微粒的特异作用与其中核糖核酸结构的关系 148 (四) 細胞质中核糖微粒的特异性的来源 149 (五) 細胞核中的核糖微粒与蛋白质合成 150

第六讲 遗传信息的传递者——信使核糖核酸 蔡良琬

- 一、引言157
- 二、信使核糖核酸的发现及其性质的研究159
 - (一) 信使核糖核酸的发现 159 (二) 信使核糖核酸的某些特性 160
- 三、信使核糖核酸的合成与相应脫氧核糖核酸的复制关系166

(一) 核糖核酸由脱氧核糖核酸复制而来的理论与实验根据 166 (二) 信使核糖核酸与相应脱氧核糖核酸的杂交键的形成以及天然核糖核酸-脱氧核糖核酸杂交键的发现 168

四、信使核糖核酸与蛋白质合成上的关系.....169

(一) 核酸在蛋白质合成上的作用 169 (二) 天然及人工信使核糖核酸在蛋白质合成上的作用 169 (三) 应用人工高聚核糖核苷酸对蛋白质合成的密码复制作用的研究 171

五、结束语.....173

**第七讲 具有生物活性的高分子核糖核酸的提取方法
及其某些理化性质 黄华漳**

一、引言.....176

二、高分子核糖核酸的提取方法.....178

(一) 酚法 178 (二) 去污剂法 182 (三) 热处理法 182 (四) 盐酸胍法 183 (五) 去污剂-酚并用法 183 (六) 氟碳化合物法 184

三、核糖核酸提取过程中防止降解与变性的问题.....186

(一) 核糖核酸酶的抑制 186 (二) 应避免的化学因素 187 (三) 应避免的物理因素 187

四、提高核糖核酸制剂纯度的方法.....187

(一) 蛋白质掺杂问题 187 (二) 其他掺杂物 191 (三) 几类除去掺杂物的方法 192

五、具有生物活性的高分子核糖核酸的某些理化性质.....194

(一) 分子大小 193 (二) 沉降行为 195 (三) 粘度 193

六、核糖核酸的生物活性的检定及存在的问题.....198

(一) 何谓生物活性 198 (二) 检验核糖核酸活性的体外系统方法举例 199 (三) 关于核糖核酸制剂的低活性的一些推想 200

第八讲 烟草花叶病毒核酸与蛋白研究的进展 李祿先

一、引言.....206

二、烟草花叶病毒的结构.....207

(一) 病毒分子的结构 207 (二) 核酸的结构和性质 208 (三) 蛋白质的结构 217

三、病毒核酸的生物活性.....218

(一) 核糖核酸感染性的发现和肯定 218 (二) 病毒分子的重组 219 (三) 关于核酸活性的争论 220

四、核酸结构的改变.....225

(一) 改变核酸结构创造新品种 225 (二) 核酸的结构与蛋白质合成的关系 226

五、結束語 227

第九讲 感染性核酸——病毒生物学特性的基础 柳元元

一、引言 231

二、病毒核酸与病毒感染性的关系 232

(一) 感染性RNA的分离和提取 232 (二) 提取感染性病毒核糖核酸的材料来源 233 (三) 影响感染性核糖核酸滴度的因素 237

三、感染性核酸和病毒的遗传、变异的关系 243

(一) 感染性核糖核酸及其所合成的病毒与原毒株生物活性的差异 243
(二) 不同毒株核酸结构的差异及其与蛋白质结构的关系 247

四、病毒感染与宿主细胞内的核酸代谢 250

(一) 病毒感染对细胞核酸的含量和组成的影响 250 (二) 合成病毒核酸的基础材料 251 (三) 受染细胞内病毒核酸和蛋白质生物合成的相互关系 253

第十讲 核酸对细胞分化的作用 薛社普

一、引言 261

二、胚胎分化过程中核酸与蛋白质的合成状态 262

(一) 核酸及蛋白质合成与胚胎形态形成的关系 262 (二) 变态过程(器官组织分化阶段)中核酸与蛋白质的代谢 265

三、胚胎诱导物的化学性质和核酸的胚内诱导作用 269

(一) 组织者的命名及其化学性质 269 (二) 组织者的核酸与蛋白质代谢 271 (三) 外源核酸及蛋白质的胚内诱导作用 274

四、外源核酸及核蛋白对离体胚层细胞及肿瘤细胞分化的诱导作用 274

(一) 核蛋白的诱导作用 276 (二) 核糖核酸的诱导作用及其对细胞分化的影响的新近资料 279

五、結束語 287

第十一讲 核酸与肿瘤病因的关系 刘士廉

一、引言 294

二、核糖核酸与细胞生长和分化的关系 295

三、脱氧核糖核酸与细胞变异和遗传的关系 298

四、肿瘤病毒病因及致癌活性核酸的研究 301

五、結束語 304

第十二讲 电离辐射对核酸代谢的影响(一) 陆如山

一、引言 308

二、电离辐射对脱氧核糖核酸代谢的影响	308
(一) 电离辐射对标记前体并合到脱氧核糖核酸中的影响 308	
(二) 电离辐射对脱氧核糖核酸中间代谢物含量的影响 313	
(三) 电离辐射对脱氧核糖核酸中间代谢物从体内排出的影响 314	
(四) 电离辐射对脱氧核糖核酸酶的影响 316	
三、细胞分裂周期中电离辐射对脱氧核糖核酸合成的影响	318
(一) 离体细胞培养 318	
(二) 再生肝 320	
四、电离辐射抑制脱氧核糖核酸合成的可能机制	322
(一) 电离辐射对磷酸化过程的影响 324	
(二) 电离辐射对脱氧核糖核酸合成酶系的影响 325	
(三) 电离辐射对脱氧核糖核酸合成引物的影响 326	
五、结束语	327

第十三讲 电离辐射对核酸代谢的影响(二) 沈 同

一、电离辐射对核酸代谢影响的三个不同水平的研究	333
二、电离辐射对脱氧核糖核酸水溶液的影响	335
(一) 水的电离 335	
(二) 脱氧核糖核酸分子的射线损伤 336	
(三) 射线对脱氧核糖核酸分子的直接作用和间接作用 337	
(四) 脱氧核糖核酸水溶液中的 O_2 和脱氧核糖核酸分子上的蛋白质杂质 338	
三、电离辐射对细胞核酸代谢的影响	338
(一) 细胞结构 339	
(二) 脱氧核糖核酸、核糖核酸和蛋白质等的代谢联系 339	
(三) 细胞机能和脱氧核糖核酸含量 339	
(四) 眼虫叶绿体上的核糖核酸碱基组成和光照的联系 340	
四、电离辐射对整体动物核酸代谢的影响	340
(一) 整体高等动物 340	
(二) 神经 341	
(三) 体液 342	
(四) 生物高分子的特异性 343	
五、结束语	343

第十四讲 抗代谢物与核酸代谢 王振纲

一、引言	345
二、抗代谢物与核酸代谢	346
(一) 嘌呤类抗代谢物 346	
(二) 嘧啶类抗代谢物 350	
(三) 叶酸类抗代谢物 355	
(四) 谷氨酰胺类抗代谢物 367	
(五) 磺胺药和乙氨嘧啶 369	
三、结束语	369

第一讲 核酸的化学降解及其 产物的分离鉴定

胡 炳 晨

中国医学科学院实验医学研究所生物化学系

一、引言

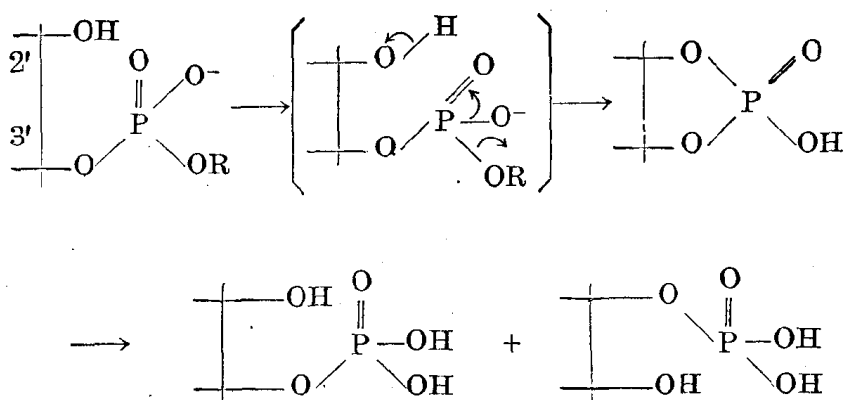
生命的基本功能——物质代谢和遗传，同构成生命物质基础的巨大分子系统蛋白质与核酸有密切关系。蛋白质和核酸功能上表现的特性，无疑取决于它们的化学结构，因此，为了解释不同来源的核酸功能上所表现的差异，研究核酸的结构，特别是一级结构，具有重要的意义。

核酸一级结构的研究通常可以通过合成与降解两途径。本讲介绍一些从降解入手研究核酸一级结构所用的一些方法，和近期进展的情况。

二、核酸的降解

核酸是由核苷酸通过磷酸酯键相互连接而成，核苷酸则由含氮碱(嘌呤和嘧啶碱)、核糖和磷酸所组成。因此，核酸在不同的降解条件下可以获得碱基、核苷、核苷酸以及多核苷酸等不同产物。欲得到这些产物，核酸的种类、降解的试剂与条件等都是重要的因素，总的来说，可以概括下列几个方面：

第一，由于碱降解的机制是经过环状磷酸中间阶段：



若化合物分子中靠近磷酸基处没有自由羟基(如脱氧核糖核酸,以下简称 DNA),即不易为碱水解,因此 1 N 碱在室温即能使核糖核酸(以下简称 RNA)降解成核苷酸,而 DNA 在相同条件下则降解极少。

第二, DNA 较 RNA 易为酸(如过氯酸、甲酸等)所水解,一般认为不论嘧啶或嘌呤核糖核苷均较其相应的脱氧核糖核苷难于水解。

第三,嘌呤的核苷键对酸较嘧啶的核苷键更不稳定, DNA 或 RNA 均具有此特性。

核酸的降解常应用的方法有化学(酸、碱和化学试剂)与酶等方法,本讲谈到的是一些化学方法;关于酶解的方法将在下一讲内述及。

(一) 降解成碱基

1. 过氯酸(70~72%)在 100 度加热 1 小时, RNA 或 DNA 均能水解成自由的嘌呤和嘧啶碱。Fresco 等^[89]报告本方法水解的效果与酸的浓度和水解的时间有很大关系(表 1)。过氯酸的浓度不合要求时,可用全磨口蒸馏仪器重蒸馏,收集沸点 203~205°C 的部分应用。但在蒸馏时易引起爆炸,需特别注意。此水解方法嘧啶回收量较低,5-羟甲基胞嘧啶在水解时会被破坏。

表1 过氯酸水解核酸的结果^[89]
(100°C)

核 酸	过 氯 酸 %	水 解 时 间					
		10'	20'	40'	60'	120'	180'
酵母 RNA	60	8.6	35	57	64		
酵母 RNA	70	86	96	96	100	98	99
小牛胸腺 DNA	70	83	98	100	100	100	99

2. 甲酸(98~100%)175°C封管中加热2小时, RNA或DNA均可水解成自由碱基, 其缺点也为嘧啶回收量低, Wyatt等^[128]在水解大肠杆菌双数噬菌体DNA时改用88%甲酸175°C作用30分钟从而得到了5-羟甲基胞嘧啶。

3. 1N盐酸或硫酸100°C加热1小时, RNA水解后的产物是嘌呤碱及嘧啶核苷酸。此法缺点是在水解过程中嘧啶核苷酸可能会部分的转变成核苷。

4. 三氟乙酸于155°C加热80分钟(RNA)或60分钟(DNA)均可得到自由核碱。比较来看, 本方法较好, 胞嘧啶无脱氨现象; 封管加热时也较甲酸法产生的压力为小, 管不易炸裂; 纸层析时样品点样易干燥, 也无腐蚀滤纸的焦化现象。

在不同的水解条件下均要防止胞嘧啶可能发生的脱氨现象, Fresco等^[89]提出, 每m mole胞嘧啶和0.3毫升92%甲酸作用120小时(140°C)可以定量的由胞嘧啶转变为尿嘧啶。

(二) 降解成核苷 RNA降解成核苷的方法最早系用浓氨溶液在加压下于175~180°C作用3.5小时或在吡啶水溶液中回流4~6日而得到。近时, Hayes^[40]用50%甲酰胺水溶液于100°C作用10小时可得到A, G, C, U四种核苷, 其中除胞嘧啶核苷有20%脱氨外, 其余均较理想。用La(OH)₃在pH9于80~90°C加热48~60小时也可得到95%核苷^[81]。

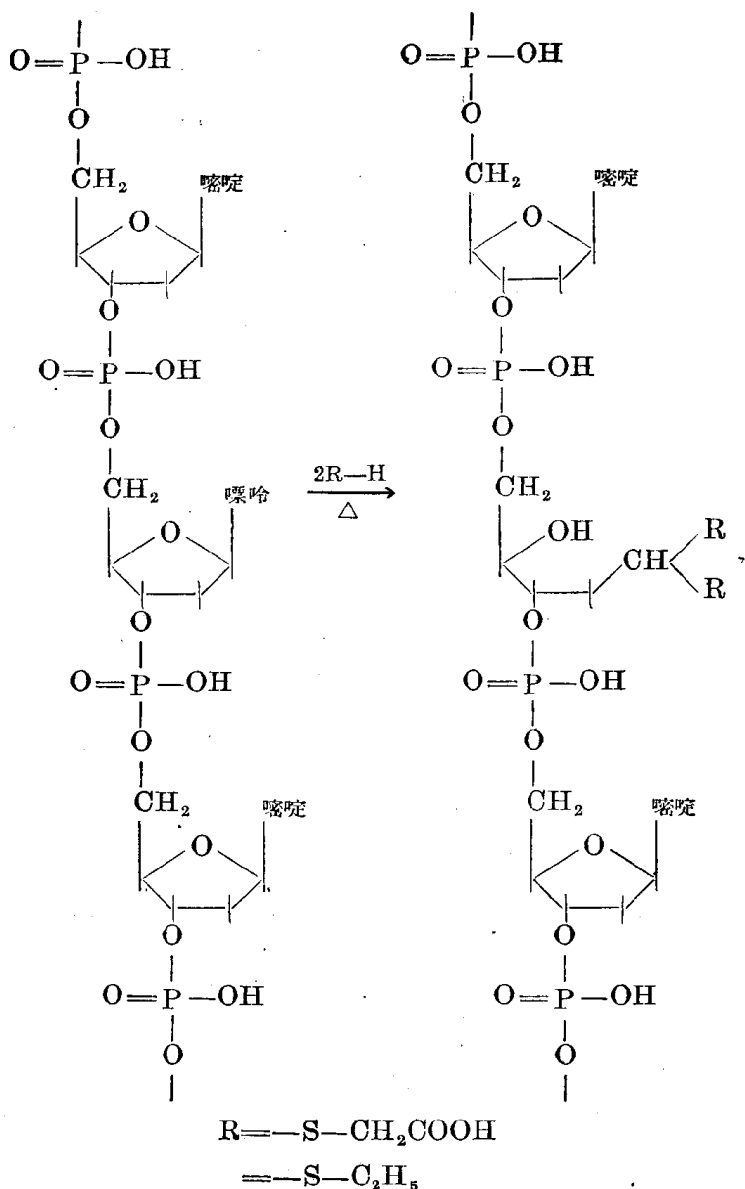
用化学方法自DNA制备核苷是相当困难的。

(三) 降解成核苷酸 RNA 經稀碱水解可得到单核苷酸, 常用的方法是 0.3-1 N NaOH 或 KOH 在室温 37°C 作用 16~24 小时或 0.6 N Ba(OH)₂ 100°C 作用 2 小时, 均能得到单核苷酸。Singer 等^[27, 96] 曾应用 0.3 N KOH 在 37°C 降解可溶性核糖核酸 (以下简称 S-RNA), 18 小时后得到单核苷酸。最近, 也有人用更稀的碱水解而获得单核苷酸。Herbert 等^[46] 自鼠肝中分出三部分 S-RNA, 以 0.1 N NaOH 在 85°C 水解 45 分钟比較测定了各部分的組成。

碱水解的方法較其他水解方法为完全, 因此, 曾被认为测定核酸組成中較为理想的水解方法。由于 DNA 不易为碱水解, 同时嘌呤脫氧核苷的苷鍵又对酸很不稳定, 所以也沒有較好的化学方法自 DNA 制备核苷酸。

(四) 降解成多核苷酸 降解成多核苷酸的試剂有酸和碱两种, 随作用条件的不同可采用不同的浓度。Lane^[60, 61] 用 1 M KOH 26°C 水解 4~18 小时, 从 RNA 得到了二核苷酸片段。Chargaff 等^[102] 以 0.1 M H₂SO₄ 100°C 水解 30 分钟, 自 DNA 得到了五核苷酸。在較低的温度下采用浓度較高的酸, 并适当的縮短了水解時間, 也可得到多核苷酸。Merrifield^[79] 应用 6 N 盐酸于 25°C 水解酵母 RNA 3 分钟得到了二、三核苷酸。

(五) 无嘌呤酸和无嘧啶酸的制备 由于嘌呤和嘧啶脫氧核糖核苷在稀酸的作用下苷鍵的稳定性有所差別。Chargaff 和 Tamm^[108, 110] 用稀酸处理 DNA 得到了不含嘌呤碱的多核苷酸, 平均分子量約为 15,000, 仅为 DNA 分子量的 1%, 因此在研究核苷酸排列上較 DNA 容易。得到的这种酸常称之为无嘌呤酸 (APA), 其制备方法有四: (1) 用酸調节 pH 至 1.6 在 37°C 对水透析 24 小时; (2) 用酸調节至 pH 2.8 在 100°C 水解 1 小时; (3) DNA 在 HCl 存在下和乙硫醇作用 14 小时 (18°C)^[54]; (4) DNA 在无氯化鋅和硫酸鈉存在下和巯基乙酸作用 (37°C)^[50], 均可获得 APA。



APA 除可用碱水解外^[51, 52], 尚可用酶水解, 核糖核酸酶^[35]、脱氧核糖核酸酶^[108]和鼠肝无嘌呤酸酶^[5]均可引起 APA 分解。

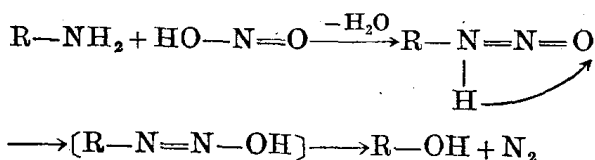
RNA 或 DNA 在 60°C 和胼反应 1 小时可得到无嘧啶碱的

多核苷酸。

(六) 其他 Markham^[78]将 RNA 在 100°C 以 BaCO₃ 水解 1 小时, 水解液再經电泳分离得到了环状核苷酸。

Shapiro 和 Chargaff^[33]报导 DNA 在 0.2 M H₂SO₄ 100°C 水解 2 小时, 过量酸用 Ba(OH)₂ 调整至 pH 5.5, 离心除去 BaSO₄, 再经浓氨调整至 pH 10, 离子交换层析分离出数种嘧啶核苷酸衍生物 (pMp, pMpTp, pMpCp, pCpCp 和 pCpTp)*。

此外，有些工作者利用不同化学试剂和核酸或核酸的组分相作用，以观察其反应情况，并分析反应产物，以从中探索核苷酸的大致排列。在核酸组分中，如胞嘧啶、腺嘌呤和鸟嘌呤均含有氨基可与 HNO_3 进行以下反应：



由此，可引起核酸組成比例的改變。關於亞硝酸變異作用的分子機制，Lavallo 和 Robere^[132] 提出當其复制時嘌呤與嘧啶核苷酸被其脫氨衍生物($R-NH_2 \rightarrow R-OH$) 所代替。動植物的 DNA 和烟草花葉病毒(TMV)的 RNA 中，含氮鹼的脫氨速度基本上相同，其中由於腺嘌呤、胞嘧啶的氨基具有氫鍵與 HNO_2 作用的速度會比鳥嘌呤為慢^[130]。

脛胺对于核酸及其組分的作用具有一定的特异性。由脛胺处理后的水解物表明,在 DNA 主要作用于胞嘧啶;在 RNA 則主要和胞嘧啶和尿嘧啶作用,对脛甲基胞嘧啶作用极小,但对腺嘌呤、鳥便嘌呤、胸腺嘧啶、甲基胞嘧啶、脫氧腺嘌呤核苷、脫氧鳥便嘌呤核苷和脫氧胸腺嘧啶核苷則不发生作用。在与 RNA 作用时,于 pH 6.0 作用于胞嘧啶的速度至少大于尿嘧啶 30 倍;但在 pH 9.0

* P=磷酸基; M=脫氧 5-甲基胞嘧啶;

T=胸腺嘧啶; C=胞嘧啶。

尿嘧啶則較胞嘧啶的作用速度快 8 倍以上^[93]。Verwoerd 等^[115]分析了大肠杆菌 RNA 在 pH 10 于 37°C 与 6 M 脲胺作用后的产物，証明主要破坏了鏈中的尿嘧啶核苷酸。作用物再进一步用核糖核酸酶分解，酶可特异的仅在胞嘧啶核苷酸处切断。如此，适当控制反应条件，有希望获得較大的多核苷酸碎片。他們同时也較为詳尽的报告了脲胺对于尿嘧啶核苷及其核苷酸、胞嘧啶核苷及其核苷酸的作用結果。认为，在 pH 7.5 尿嘧啶核苷或核苷酸作用后，尿嘧啶可定量的为脲基取代而嘧啶环裂开，分解成核糖基-尿素和 5-异恶唑酮；在 pH 6.0 脲胺首先加成胞嘧啶核苷或核苷酸嘧啶环的 C₄-C₅ 双鍵，进一步以脲基取代 C₆ 氨基，以后繼續在酸性条件下作用則轉变成尿嘧啶核苷或核苷酸；但在碱性条件下則分解。

