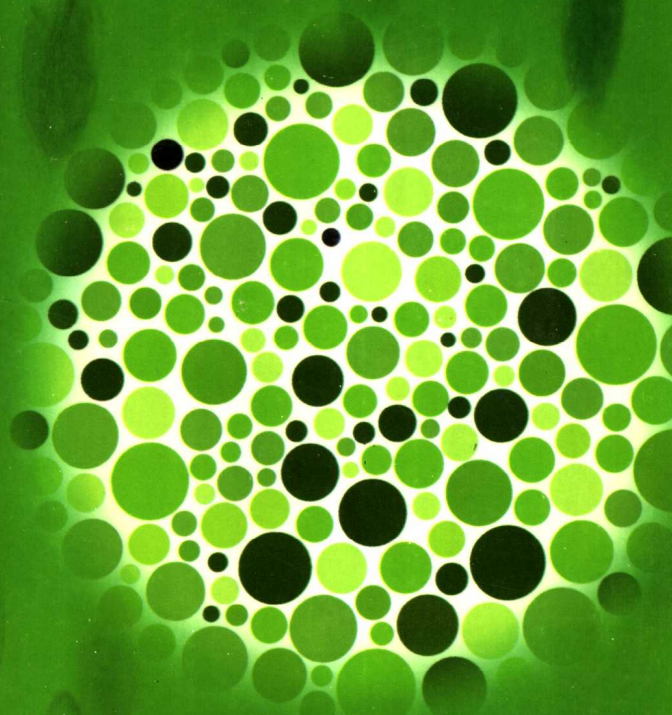




生物化学与 分子生物学学习指导

赵亚华 编著



华南理工大学出版社



生物科学与工程系列教材

生物化学与分子生物学 学习指导

赵亚华 编著

华南理工大学出版社

内 容 简 介

本书是配合基础生物化学与分子生物学课程学习的指导书。书中的生物化学部分列出了每章的学习提示、重点问题解答及练习题,分子生物学部分主要给出了练习题。所有的习题后面都附有较详细的解答,便于学习者复习或自学。本书适用于生物类本科生学习巩固所学知识和考研复习指导,也可作为相关学科教师的教学参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

生物化学与分子生物学学习指导/赵亚华编著. —广州: 华南理工大学出版社, 2002.10
生物科学与工程系列教材
ISBN 7-5623-1881-6

I. 生… II. 赵… III. ①生物化学-高等学校-教学参考资料 ②分子生物学-高等学校-教学参考资料 IV. ①Q5 ②Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2002) 第 057702 号

总 发 行: 华南理工大学出版社 (广州五山华南理工大学 17 号楼, 邮编 510640)

发行部电话: 020-87113487 87111048 (传真)

E-mail: scut202@scut.edu.cn

<http://www2.scut.edu.cn/press>

责任编辑: 胡 元

印 刷 者: 广东农垦印刷厂

开 本: 787×1092 1/16 印张: 18.25 字数: 468 千

版 次: 2002 年 10 月第 1 版第 1 次印刷

印 数: 1~5000 册

定 价: 28.50 元

版权所有 盗版必究

前 言

生物化学与分子生物学是生命科学领域十分重要的专业基础课。随着相关科学技术的飞速发展和研究的不断深入,这两门课程的内容愈来愈多,真正全面、系统地掌握生物化学和分子生物学的知识并不容易。怎样能在有限的时间内较好地掌握这两门课程的主要内容,既满足本科学生的基本学习要求,又能在学完教材内容之后,进一步融会贯通全部知识点,领会基本原理、基本概念、基本规律和基本研究方法等,从而抓住重点,满足报考相关专业研究生的需要,一直是本科生、特别是报考研究生的学生迫切需要解决的问题。基于这一目的,作者集多年来从事生物化学与分子生物学教学的经验和体会,并跟踪分析和研究了大量的生物化学与分子生物学测试内容之后,撰写了本学习参考书。

《生物化学与分子生物学学习指导》包括了11章生物化学内容和分子生物学的部分内容,习题达1630多个,力求覆盖全国高等院校相应教学大纲所规定的内容,每章开始都列有简明扼要的学习要点,而后是重点问题解答,其中包括许多重要的概念与知识点,其次是练习题和答案,最后附有5套生物化学试卷与答案,供学习者自测。

考虑到篇幅有限以及本书的特点,对于那些在教科书中多用图表说明的内容,本书尽可能以归纳总结的方式直接叙述,使读者能从冗长的代谢反应过程中找到规律,便于记忆。书中基本概念明确、知识点全面、信息量充足,且简明扼要,具有较强的针对性、实用性和可读性,是一本有学有问有答的学习指导书。

对于分子生物学部分,由于该学科发展迅速,教学内容更新快,作者只列出了一部分练习与解答,还很不完善,有待今后补充。一本再好的参考书,终究不能替代教科书,建议使用本书的读者应以教材为主,辅之以本指导书。

在本书的编写过程中,得到了本教研室刘奕田、高向阳两位老师的支持和帮助,同时,徐伟同学做了部分计算机辅助工作,在此表示衷心的感谢!

在本书的编写过程中,参阅了国内外许多优秀的有影响的教材(已列于参考文献中),作者在此表示衷心的感谢。

作者怀着一颗对教学工作尽心尽力的心情,从事本书的编写工作,但由于生物化学和分子生物学的内容繁多,所涉及的理论层出不穷,且国内外从事生化和分子生物学教学和研究的专家、学者很多,关注的侧重点各有不同,本书难以面面俱到,疏漏之处在所难免,恳请专家和广大读者批评指正。

作 者

2002年7月

目 录

上篇 生物化学

第一章	核酸的化学	(2)
	要点提示	(2)
	重点问题解答	(3)
	习题	(12)
第二章	蛋白质化学	(18)
	要点提示	(18)
	重点问题解答	(19)
	习题	(34)
第三章	酶	(41)
	要点提示	(41)
	重点问题解答	(42)
	习题	(60)
第四章	生物膜与脂类	(68)
	要点提示	(68)
	重点问题解答	(69)
	习题	(79)
第五章	碳水化合物及其代谢	(83)
	要点提示	(83)
	重点问题解答	(84)
	习题	(95)
第六章	生物氧化	(101)
	要点提示	(101)
	重点问题解答	(101)
	习题	(112)
第七章	脂类代谢	(117)
	要点提示	(117)
	重点问题解答	(117)
	习题	(120)
第八章	含氮化合物及其代谢	(125)
	要点提示	(125)
	重点问题解答	(127)
	习题	(132)

第九章 核酸的生物合成	(139)
要点提示	(139)
重点问题解答	(140)
习题	(147)
第十章 蛋白质的生物合成	(152)
要点提示	(152)
重点问题解答	(153)
习题	(158)
第十一章 物质代谢的相互联系与调节控制	(164)
要点提示	(164)
重点问题解答	(164)
习题	(171)
生物化学试卷一	(177)
生物化学试卷二	(180)
生物化学试卷三	(182)
生物化学试卷四	(184)
生物化学试卷五	(186)

下篇 分子生物学

习题	(190)
参考答案	(207)

上篇 生物化学

第一章 核酸的化学

【要点提示】

①核酸按含核糖的不同分为核糖核酸(RNA)和脱氧核糖核酸(DNA),它们是核苷酸的聚合物。核苷酸之间通过 3-5 磷酸二酯键连接。DNA 中的主要碱基是腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶和胸腺嘧啶。RNA 中的主要碱基是腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶和尿嘧啶。

②核苷酸由杂环碱基与磷酸化的戊糖组成,核苷酸的含氮碱基是嘌呤和嘧啶的衍生物。常见的嘧啶碱基有胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)和尿嘧啶(U);常见的嘌呤碱基有腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G)。

③DNA 是脱氧核糖核苷酸的聚合物,遗传信息贮存于 DNA 分子的碱基序列之中。证明 DNA 是遗传物质的两个著名的实验是肺炎双球菌转化实验和噬菌体双标记感染实验。

④DNA 分子中的碱基组成有一定规律。Chargaff 法则提出了一个重要的碱基定量关系,即不管生物种属如何不同,在所有的 DNA 分子中,腺嘌呤物质的量总是等于胸腺嘧啶物质的量($n(A) = n(T)$),鸟嘌呤物质的量总是等于胞嘧啶物质的量($n(G) = n(C)$)。嘌呤碱基的总物质的量等于嘧啶碱基的总物质的量($n(A + G) = n(T + C)$)。

⑤1953 年 Watson 和 Crick 首先提出 DNA 双螺旋模型。B-DNA 是两条反向平行的多核苷酸链围绕同一中心轴缠绕形成的右手双螺旋。核糖和磷酸形成每条链的骨架,暴露在螺旋的外侧,碱基堆积在螺旋的内部,一条链上的 A 与另一条链上的 T 之间、G 与 C 之间配对,使得每一条链都可作为另一条链的模板。双螺旋结构内部的碱基层层堆积和相互作用是稳定双螺旋结构的主要因素。

⑥生物体内存在 3 类 RNA 分子:rRNA,tRNA,mRNA。RNA 分子通常都是单链的,但也有部分的双螺旋区,有些 RNA 分子也存在二级结构,主要是一些单一的或组合式的茎环结构。

⑦cAMP 和 cGMP 是第二信使,它们在将细胞外激素的信息传递给细胞内酶的信息传导过程中起着重要的作用。

⑧嘌呤碱和嘧啶碱分子内具有共轭双键,使碱基、核苷、核苷酸和核酸在 240~290nm 的紫外波段有强烈吸收,最大吸收值在 260nm 处。利用不同核苷酸在 260nm 附近有不同的吸收特性,可以定性或定量地检测核酸和核苷酸,核酸的光吸收值比其各核苷酸组分的光吸收值的总和低 30%~40%。

⑨影响 DNA 分子变性的因素很多,加热引起的 DNA 变性称为热变性,还有酸碱变性和生物试剂引起的变性。变性 DNA 分子的溶液其紫外吸收值增加(增色效应)。处于熔点(T_m)温度时的 DNA 分子有 50% 的双链已解链。变性后分开的单链 DNA 分子可经退火过程复性为双链 DNA 分子,紫外吸收值也随之降低(减色效应)。

⑩变性的核酸分子混合溶液在缓慢冷却(退火)过程中可形成杂交的双链分子。利用核酸

分子之间的杂交可以确定其核苷酸序列的同源程度。

⑪核酸酶可水解核酸的磷酸二酯键,核酸酶分为 DNase 或 RNase,又可分为外切酶或内切酶。限制性内切酶作用于 DNA 分子中的特殊序列。

⑫常用的 DNA 核苷酸序列测定方法是桑格(Sanger)双脱氧链终止法。该方法的最大特点是引入了双脱氧核苷三磷酸(2',3'-ddNTP)作为链终止剂,2',3'-ddNTP 与普通的 dNTP 不同之处在于前者的脱氧核糖的 3'位少了一个羟基。

【重点问题解答】

1.1 什么是核酸?怎样分类?各类中包括哪些类型?

核酸是一类生物高分子化合物。它的基本结构单位为核苷酸,是由数量巨大的单核苷酸聚合而成的长链,因此,核酸又称为多聚核苷酸。

根据其化学组成和生物功能,可把核酸分为两大类:含有核糖的称为核糖核酸,简称 RNA;含有脱氧核糖的称为脱氧核糖核酸,简称 DNA。这两类核酸除所含的核糖有差别外,碱基组成也有差别。RNA 中含有腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶和尿嘧啶;DNA 中不含尿嘧啶而含有胸腺嘧啶。其余 3 种碱基则和 RNA 相同。

在生物细胞内,RNA 可分为 3 种类型:

(1)核糖体 RNA 简称 rRNA。约占全部 RNA 总量的 80%,是构成核糖体(又称核糖核蛋白体)的成分之一。在原核细胞中,rRNA 有 3 种,即 5SrRNA、16SrRNA、23SrRNA。真核细胞中,rRNA 有 4 种,即 5SrRNA、5.8SrRNA、18SrRNA、28SrRNA,这些 rRNA 不仅分子质量不同,其核苷酸排列顺序也不相同。

(2)转移 RNA 简称 tRNA。约占 RNA 总量的 16%,分子质量较小,约 25 000u,含 70~90 个核苷酸。它的主要功能是在蛋白质合成中转运氨基酸。细胞内 tRNA 种类很多,据估计有 60~120 种。

(3)信使 RNA 简称 mRNA。约占 RNA 总量的 5%,是合成蛋白质的直接模板。每一种多肽链都有一种特定的 mRNA 作模板。因此,细胞内 mRNA 的种类也是很多的。

DNA 的种类很多,相对分子质量大小不一,通常在 $10^6 \sim 10^9$ 之间,最大的达 10^{11} 。从 DNA 分子的结构来看,有双链 DNA 和单链 DNA 两种类型,绝大多数生物的 DNA 分子均为双链,只有少数病毒 DNA 是单链,如大肠杆菌噬菌体 Φ X174、噬菌体 S13、M13、fd 多瘤病毒等。

根据 DNA 分子的形状,也可把 DNA 分子分为线型和环状两种类型。具线型 DNA 的生物是绝大多数,但某些病毒如大肠杆菌噬菌体 Φ X174、噬菌体 M13、S13、fd 多瘤病毒、各种质粒、大肠杆菌染色体,以及真核细胞的线粒体和叶绿体 DNA 分子均呈环状。

在环状 DNA 中,也可以分为双链环状 DNA 和单链环状 DNA 两种。在线型 DNA 中,也有双链线型和单链线型(如腺病毒、结合病毒)之分。

1.2 什么是核酸的修饰成分?

在核糖核酸中,含有 4 种核苷酸,即腺苷酸、鸟苷酸、胞苷酸、尿苷酸。在脱氧核糖核酸中,也含有 4 种,为脱氧腺苷酸、脱氧鸟苷酸、脱氧胞苷酸和脱氧胸苷酸。除此之外,还发现有其他一些稀有核苷酸存在,据不完全统计,约有 70 余种,其中 RNA 中存在 69 种,DNA 中存在 9 种。这些成分含量很少,其中绝大部分是上述 8 种主要成分的衍生物,因此把它们叫做修饰成

分(或稀有成分)。

核酸中的修饰成分,绝大部分存在于 tRNA 和噬菌体 DNA 中,有以下几种:

(1)修饰腺苷 在 RNA 中,发现有多种腺苷衍生物,它们是:①甲基化腺苷,如 1-甲基腺苷、N⁶-甲基腺苷等;②侧链带氨基酸的腺苷,如 N⁶-苏氨酸羧基腺苷;③侧链含异戊烯基的腺苷,如 N⁶-(Δ^2 -异戊烯基)腺苷;④侧链含硫的腺苷,如 2-甲硫基腺苷;⑤侧链脱氨的产物,如肌苷(次黄嘌呤核苷)和 1-甲基肌苷。

(2)修饰鸟苷 主要为甲基化鸟苷,如 1-甲基鸟苷、N²-甲基鸟苷、N²-二甲基鸟苷等。

(3)修饰胞苷 RNA 中胞苷的衍生物种类较少,目前只发现 6 种。在胞嘧啶环上各个部位都可被侧链基团取代,如 2-硫代胞苷、3-甲基胞苷、N⁴-甲基胞苷、N⁴-乙酰胞苷等。

(4)修饰尿苷 尿苷衍生物的种类是修饰核苷中最多的,达 20 多种。修饰的侧链基团有甲基(如 3-甲基尿苷)、羟基(如 5-羟基尿苷)、甲氧基(如 5-甲氧基尿苷)、羟甲基(如 5-羟甲基尿苷)、含硫的(如 4-硫代尿苷)、5,6 位加氢的(如 5,6-二氢尿苷)等。在修饰尿苷中,有一种结构特殊的尿苷叫假尿苷,它的碱基与核糖的连接部位不是在 N₁ 位,而是以 C₅ 位与核糖的 C'₁ 连接,形成 C—C 键。

(5)2'-O-甲基核苷 RNA 中含有少量的以 D-2'-O-甲基核糖代替核糖的核苷,如 2'-O-甲基腺苷、2'-O-甲基鸟苷、2'-O-甲基胞苷、2'-O-甲基尿苷、2'-O-甲基胸苷。

DNA 分子中的修饰核苷,除 N⁶-甲基脱氧腺苷和 5-甲基脱氧胞苷较为广泛分布外,其余修饰成分都在噬菌体 DNA 中发现。

以上谈到的修饰核苷,归纳起来可分为 3 大类:①由修饰碱基构成的核苷;②2'-O-甲基核糖构成的核苷;③由碱基与戊糖连接方式异常而构成的核苷(如假尿苷及其衍生物)。

1.3 环化核苷酸是怎样形成的? 它有什么重要的生理功能?

在核苷酸环化酶的作用下,三磷酸核苷可以形成环化核苷酸。最常见的环化核苷酸有 3',5'-环腺苷酸(cAMP)、3',5'-环鸟苷酸(cGMP),它们分别由腺苷酸环化酶和鸟苷酸环化酶作用形成。

环化核苷酸广泛存在于动植物和微生物中,细胞中的含量虽然极微,但具有极重要的生理功能。

cAMP 可调节细胞内糖原和脂肪的分解代谢,蛋白质和核酸的生物合成,细胞膜上的物质运转,以及细胞的分泌作用。哺乳动物体内的激素很多是通过 cAMP 起作用的,因此,人们把激素称为第一信使,把 cAMP 称为第二信使。

细胞内 cAMP 的含量的变化,除了受膜上的腺苷酸环化酶的活力影响外,还受到细胞内磷酸二酯酶活力的影响,后者可以分解 cAMP 为 5'-AMP,失去生理效应。

cGMP 也具有重要的生理作用,它能激活依赖 cGMP 的蛋白激酶来调节细胞内代谢,还能激活降解 cAMP 的磷酸二酯酶,以降低细胞内 cAMP 的含量。所以 cAMP 和 cGMP 是一对互相制约的化合物,它们的生理效应往往是相反的,它们共同调节着细胞的许多代谢过程。

在微生物细胞中,除了存在 cAMP 及 cGMP 外,还发现有 cUMP、cCMP、cIMP,但这些环式核苷酸的功能尚不清楚。

1.4 核苷酸为什么能吸收紫外光?

核苷酸具有吸收紫外光的能力,是由于嘌呤环和嘧啶环具有共轭双键($—C=C—C=C—$)的缘故。它能强烈吸收 250~290nm 波长的紫外光,最大吸收值在 260nm 左右(图 1-1)。

不同的核苷酸具有不同的吸收特性,在 pH 7 的条件下,腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧

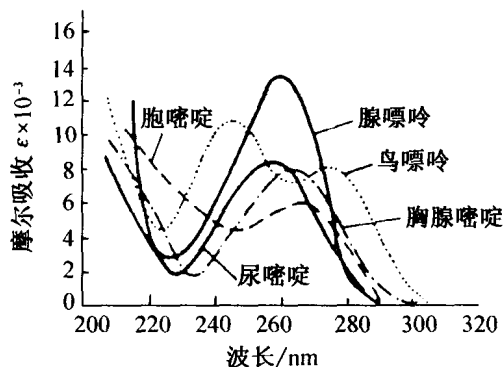


图 1-1 嘌呤、嘧啶碱在 pH 7 时的吸收曲线

腺、尿嘧啶的最大吸收峰分别为 260nm、267nm、252nm、265nm 和 260nm。

利用核苷酸能吸收紫外光这一特性,可鉴定缓冲液中核苷酸的种类,也可以定量测定其含量。

1.5 怎样用缩写符号表示核酸的组分?

核酸的组分种类繁多,各组分在核酸链中的排列又有特定的顺序性和方向性,因此为了书写简便、表达准确,必须用统一的缩写符号及书写方式表示,目前文献中常用的表示方法归纳如下:

(1)碱基 核酸中的碱基一般采用三字母符号表示,即取碱基的英文名称前 3 个字母表示,如腺嘌呤,英文名称为 Adenine,缩写符号为 Ade;鸟嘌呤 Guanine,缩写为 Gua;胸腺嘧啶 Thymine,缩写为 Thy;胞嘧啶 Cytosine,缩写为 Cyt;尿嘧啶 Uracil,缩写为 Ura。

(2)核苷 常用单字母符号表示,如腺苷用 A 表示,鸟苷、胸苷、胞苷、尿苷分别用 G、T、C、U 表示。脱氧核苷则在符号前加上小写字母 d,如脱氧腺苷用 dA 表示,其他的核苷依次为 dG、dT、dC、dU。

对于由修饰碱基组成的核苷,均在 A、G、T、C、U、dA、dG、dT、dC、dU 符号的左面以小写字母及其右上角数码表示其取代基团的性质、数目和位置。例如,2-甲基腺苷表示为 m²A,3-甲基胞苷表示为 m³C,2-硫代尿苷为 s²U, N⁶-甲基脱氧腺苷为 m⁶dA。

如果在核苷符号右边有小写字母,则表示为糖环上的取代基团,如 2'-O-甲基腺苷,写成 Am;2'-O-甲基胞苷,写成 Cm;2'-O-甲基肌苷为 Im。

(3)核苷酸 ①核苷单磷酸酯表示法:在核苷符号左下方注小写字母 p 时,为 5'-磷酸酯;在右下方注小写字母 p 时,为 3'-磷酸酯,如 pA 为 5'-腺苷酸, Cp 为 3'-胞苷酸。

②核苷多磷酸酯表示法:ppU 表示 5'-尿苷二磷酸,pppA 表示 5'-腺苷三磷酸,ppGpp 表示鸟苷四磷酸,其中两个磷酸在 5'位,另两个在 3'位。

③环化核苷酸表示法:2',3'-环化核苷酸一般用 >P 表示,如 U>P 表示 2',3'-环化尿苷酸。cNMP 表示 3',5'-环化核苷酸,如 cAMP 表示 3',5'-环化腺苷酸,cGMP 表示 3',5'-环化鸟苷酸。

(4)核苷酸链 书写核苷酸链时,一般把 5'端写在左边,3'端写在右边,如 5'pApG-pCpU3',此链也可简写成 5'pAGCU3'。简写时,注意末端的磷不能省去。

1.6 核苷酸及其衍生物有哪些重要的生理功能?

核苷酸及其衍生物是一类极其重要的生物分子,其生理功能简要叙述如下:

①核苷酸是遗传信息的载体核酸(DNA、RNA)的组成成分。

②核苷酸是某些辅酶如 NAD^+ 、 NADP^+ 、 FAD 、 CoASH 的组成成分,参加细胞内的氧化还原反应和酰基转移反应。

③ATP、ADP 在生物能量代谢中充当(光合磷酸化、氧化磷酸化和底物水平的磷酸化)转运能量和暂时贮存能量的载体。

④ATP、ADP、AMP 在细胞中的相对含量即能荷水平对生物的代谢起着极其重要的调节作用(能荷调节)。能荷高时促进合成代谢,低时促进分解代谢。

⑤核苷酸及衍生物参与细胞内一些重要的生物合成反应,如 GTP 参与蛋白质合成,CDPG 参与磷脂合成,ADPG、UDPG、GDPG、TDPG 参与糖原、淀粉、纤维素、半纤维素、果胶等多糖的合成。

⑥ATP 是提供能量促进膜上和维管束中物质主动运输的高能分子。

⑦cAMP 及 cGMP 与激素调节、基因表达、细胞生殖与分化等方面有密切关系。

⑧多磷酸核苷酸对代谢也有重要的调节作用,如鸟苷四磷酸(ppGpp)和鸟苷五磷酸(ppGppp)参与细菌基因转录的调节作用。二腺苷多磷酸化合物(A^5ppppA)也是一种调节因子,在生长迅速和分裂期的细胞中含量很高,具有诱导 DNA 合成的起始功能。

⑨某些核苷酸在医疗中也有重要作用,如 ATP 可作为能源药物用于心力衰竭急救。cAMP 有调节心脏收缩的功能,用于治疗心肌梗死。阿拉伯糖胞苷有抗 DNA 病毒的作用,用于抗癌。5-氟环胞苷具有抗白血病功能,胞二磷胆碱可治疗肝硬化及急性肝炎等。

1.7 什么是 Chargaff 定则?

在 20 世纪 50 年代初,E. Chargaff 等应用纸层析技术及紫外分光光度法,对各种生物的 DNA 分子的碱基组成进行了定量分析,总结出一些共同的规律,这些规律称之为 Chargaff 定则。要点如下:

①同一生物的所有器官和组织中的 DNA 的碱基组成是相同的,也就是说,在同一生物中,DNA 的碱基组成没有器官和组织的特异性。

②不同生物的 DNA 的碱基组成是不相同的,具有种的特异性,这种差异可用“不对称比率” $w\left(\frac{A+T}{G+C}\right)$ 表示。

③亲缘相近的生物中,其 DNA 碱基组成相似,即不对称比率近似。

④在所有双链 DNA 中,腺嘌呤与胸腺嘧啶物质的量相等,即 $n(A) = n(T)$;鸟嘌呤与胞嘧啶(包括 5-甲基胞嘧啶)物质的量相等,即 $n(G) = n(C)$;因此,嘌呤的总物质的量与嘧啶总物质的量也相等,即 $n(A+G) = n(C+T)$,含氨基的碱基总物质的量与含酮基的碱基总物质的量同样相等,即 $n(A+G) = n(C+T)$ 。

⑤年龄、营养状况、环境的改变不影响 DNA 的碱基组成。

⑥E. Chargaff 等发现的 DNA 中的碱基组成规律($n(A) = n(T)$, $n(G) = n(C)$),为 DNA 双螺旋结构模型的建立、用 DNA 分子的碱基组成作为生物分类的指标,提供了重要依据。

1.8 DNA 双螺旋结构模型的主要特点是什么? 该模型的建立有什么生物学意义?

1953 年由 Watson 和 Crick 两人提出的 DNA 双螺旋结构模型主要特点如下:

①DNA 两条链走向相反,即一条为 $3' \rightarrow 5'$ 走向,另一条为 $5' \rightarrow 3'$ 走向,两条链成反向平行,并围绕一假想的中心轴呈右手螺旋盘绕。

②碱基在螺旋内侧,磷酸与脱氧核糖链在外侧,碱基平面和中心轴垂直,脱氧核糖平面则

与中心轴平行。由于几何形状的限制,碱基对只能由嘌呤和嘧啶配对,即由 A 与 T、G 与 C 配对。

③双螺旋直径为 2nm,相邻两对碱基间垂直距离为 0.34nm,旋转角为 36°,每 10 对碱基旋绕一周为 360°,每周螺距高度为 3.4nm。

④由于碱基对排列的方向性,使得碱基对占据的空间是不对称的,因此,在双螺旋的表面形成大小两个凹槽,分别称为大沟和小沟。

⑤两条链借碱基之间的氢键和碱基堆积力(即碱基之间的范德华力)牢固地连接起来,维持 DNA 双螺旋的三维结构。

该模型的建立对 DNA 本身的复制机制、遗传信息的贮存方式和遗传信息的表达、生物遗传的稳定性和变异性规律等的阐明都起到重要的作用。

1.9 什么是 A 型 DNA 双螺旋结构?

DNA 的 A 型双螺旋结构和 B 型双螺旋结构是 DNA 分子的两种基本的双螺旋形式,都属于右手螺旋。Watson 和 Crick 提出的 DNA 双螺旋结构模型属于 B 型。

B 型双螺旋结构是指 DNA 钠盐在相对湿度为 92%时所具有的结构状态。而 A 型双螺旋结构是 DNA 钠盐在相对湿度为 75%时具有的结构状态,它们的区别列于表 1-1 中。

表 1-1 DNA 的 B 型和 A 型双螺旋结构参数

双螺旋 构型	碱基 倾角 /(°)	碱基 夹角 /(°)	碱基对 升高/nm	螺距 /nm	每螺内碱 基数/个	小沟宽 /nm	大沟宽 /nm	小沟深 /nm	大沟深 /nm
B-DNA	0	36	0.34	3.32	10	0.57	1.17	0.75	0.85
A-DNA	20	32.7	0.26	2.46	11	1.10	0.27	0.28	1.35

从表中数值可看到,A 型的结构中碱基平面与螺旋主轴不是垂直的,倾斜 20°,每对碱基的升高较少,只 0.26nm,碱基间的夹角也小,为 32.7°,螺距缩短,只有 2.46nm。总之,各个参数都有变化,这些参数的变化是由于 DNA 分子所处的环境条件不同而产生的。一般认为,B 型结构最接近于 DNA 分子在溶液中的状态,生物细胞中的 DNA 属于 B 型结构。

1.10 什么是 Z-DNA?

在人工合成约 1 000 个 GC 碱基对的 DNA 链中,科学家观察到了左旋 DNA,并发现左旋 DNA 不限于由 G 和 C 交替排列的 DNA 中,在其他嘌呤碱基和嘧啶碱基交替排列的 DNA 中也存在。

左旋 DNA 构型虽然也是两条链反向平行的双螺旋,但与 Watson 和 Crick 的右手双螺旋 DNA 构型(B 型 DNA)不同,其主要特点是:①两条多核苷酸链绕成一个左手螺旋;②糖磷酸骨架链的走向呈“Z”字形,因此被称为 Z-DNA;③分子外表只有一道沟槽(大沟消失,小沟加深);④碱基对在分子轴外侧,并构成分子的凸面;⑤DNA 双螺旋体比较细长。

Z-DNA 是否天然存在?科学家们认为,如果在天然 DNA 中存在有 G-C 交替序列时,Z-DNA 也有可能存在。有人制得鼠和兔的抗 Z-DNA 抗体,使其与天然 DNA 作用,发现天然 DNA 中有的部分可以与 Z-DNA 的抗体相结合。因此,说明 Z-DNA 的确是 DNA 的一种存在形式,但不是主要形式。

1.11 维持 DNA 分子双螺旋结构的力是什么?

DNA 分子的双螺旋结构是很稳定的,这种稳定的结构主要靠 3 种力维持。

(1)氢键 在 DNA 分子中,两条走向相反的互补链间可以形成大量的氢键,G-C 碱基间形成 3 条,A-T 之间形成两条,氢键的强度虽比共价键弱,但比范德华力大,由于氢键量多,所以是维持双螺旋结构的 3 种力之一。

(2)碱基堆积力 这是维持 DNA 分子双螺旋结构稳定性的主要作用力。DNA 分子的碱基都是由芳香环构成的,具有很强的疏水性质。碱基的有规律的堆积,使碱基之间发生缔合,形成了碱基堆积力,这种力是由芳香族碱基的 π 电子之间的相互作用而产生的。由于碱基层层堆积,在 DNA 分子内部形成了一个疏水核心区,也有助于氢键的形成。

(3)离子键 使 DNA 分子稳定的第三种力是磷酸残基上的负电荷与介质中阳离子之间形成的离子键。在生理 pH 条件下 DNA 带有大量的负电荷,吸引着各种阳离子,如多胺、组蛋白、 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 等,形成离子键,消除了自身各部位之间因负电荷而产生的斥力,增加了 DNA 分子的稳定性。

1.12 什么是 DNA 的三级结构,其理化性质上有什么特点?

DNA 双螺旋结构是 DNA 的二级结构,当双螺旋的链扭曲再次形成螺旋结构时,就称为 DNA 的三级结构。例如,某些病毒和细菌的环状双螺旋 DNA,可以作多次扭曲而形成“麻花状”的超螺旋结构,就是一种三级结构。另外,真核生物的线状双螺旋 DNA 分子在核小体结构中的扭曲方式,也是一种三级结构。

核小体还可以组成更高层次的结构——染色质和染色体,这时,DNA 分子也将进一步扭曲,因此在真核生物中,DNA 的三级结构可以分成若干层次。

具有三级结构的 DNA 分子与具有二级结构的 DNA 分子相比,在物理化学性质上均有所不同:

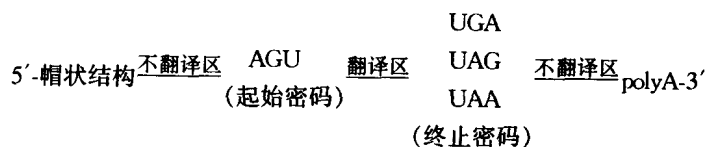
(1)溶解温度高 具三级结构的 DNA 分子,其溶解温度比具有二级结构的高得多。例如具超螺旋的多瘤病毒 DNA,熔点达 140°C ,而当它的复制型双螺旋 DNA 存在时,熔点只有 89°C 。

(2)分子结构紧密 由于分子结构紧密,因此,它的粘度比较低,浮力密度比较大,沉降速率也比较快。

(3)抗 pH 变化能力强 具三级结构的 DNA,需用较高的 pH 才能将其超螺旋结构中的碱基对破坏。

1.13 真核 mRNA 和原核 mRNA 各有什么特点?

真核细胞 mRNA 的一般结构为:



从上面的结构看出,真核 mRNA 的特点是:

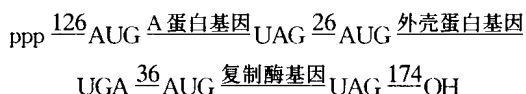
①在 mRNA 5'端有一“帽子结构” $\text{m}^7\text{G}(5')\text{ppp}(5')\text{Nm}\cdots$,在帽子结构中,5'端的鸟嘌呤 N-7位被甲基化,形成 7-甲基鸟苷(m^7G),7-甲基鸟苷的核糖 C-5'通过 3 个磷酸残基与相邻的 2'-O-甲基核苷的 C-5'连接。这个帽子结构在 mRNA 的翻译中可能有重要作用。

②在 mRNA 链的 3'端,有一段多聚腺苷酸(polyA)结构。不同的 mRNA 的 polyA 长度是

不相同的,如兔珠蛋白 mRNA 有 30~40 个腺苷酸,鸡肌球蛋白重链 mRNA 有 170 个腺苷酸,鼠免疫球蛋白的轻链 mRNA 有 200 个腺苷酸。

③mRNA 一般为单顺反子,即一个 mRNA 只含一条肽链的信息,指导一条肽链的生物合成。

④mRNA 的代谢很慢,即 mRNA 的代谢半衰期较长,如兔珠蛋白 mRNA,可以存在几天。原核细胞 mRNA 的结构,以 MS₂ 为例,结构如下:



1.14 mRNA 帽状结构是怎样形成的? 有什么功能?

mRNA 5'端的帽状结构,是真核细胞 mRNA 和某些病毒 mRNA 的重要结构。帽状结构的一般形式如下:

鸟苷残基以 5'-5'-三磷酸结构构成了 5'端,鸟苷残基的 N-7 位被甲基化。有时碱基 1 和碱基 2 也发生甲基化,因此帽状结构有以下 3 种类型:

- (1)0 式帽状结构 $\text{m}^7\text{G}(5')\text{ppp}(5')\text{N}_1\text{pN}_2\text{p}\cdots$
- (2)1 式帽状结构 $\text{m}^7\text{G}(5')\text{ppp}(5')\text{N}_1\text{mpN}_2\text{p}\cdots$
- (3)2 式帽状结构 $\text{m}^7\text{G}(5')\text{ppp}(5')\text{N}_1\text{mpN}_2\text{mp}\cdots$

在病毒中,碱基 N₁ 都是嘌呤,并被甲基化。在真核细胞中,N₁ 可为嘌呤,也可为嘧啶。有的真核细胞含 1 式结构,有的含 2 式结构,但在酵母中只有 0 式结构。

帽状结构的形成机制:通过对 mRNA 5'端甲基化的研究证明,1 式帽状结构是来自 hnRNA(核内不均一 RNA),在 hnRNA 的加工过程中保存下来的。

2 式帽状结构(在细胞核中未发现过),可能是在 mRNA 进入细胞质后合成的。其形成机制可能如下(图 1-2):

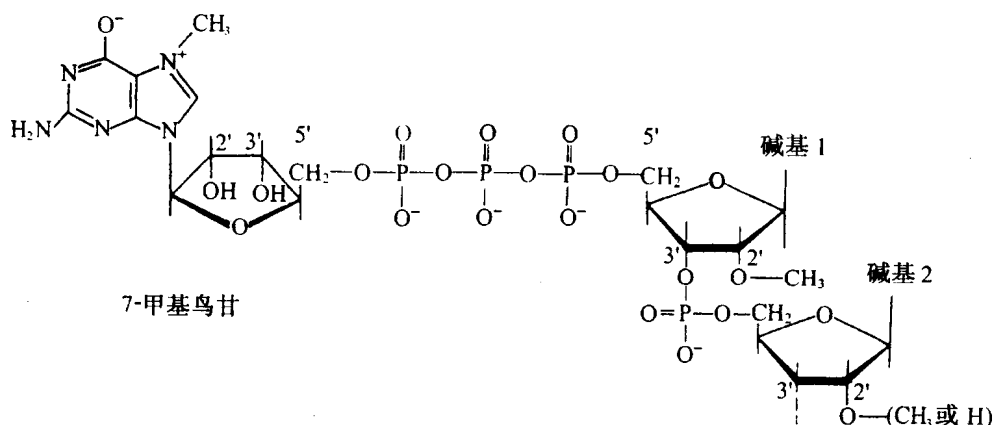


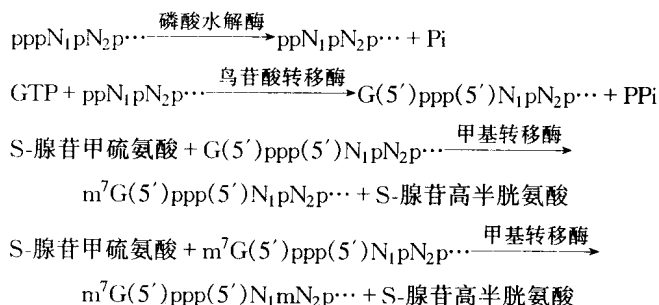
图 1-2 mRNA 5'端的“帽子”结构

原核细胞 mRNA 结构中的数字 126、26、36、174,分别表示不翻译区的核苷酸个数。由图 1-2 看出,原核 mRNA 和真核 mRNA 有显著不同,表现在:

- ①5'端无帽状结构存在。
- ②3'端不含 polyA 结构。

③一般为多顺反子结构,即一个 mRNA 中常含有几个蛋白质信息,能指导几个蛋白质的生物合成。如 MS₂ 的 mRNA 就含有 A 蛋白基因、外壳蛋白基因、复制酶基因等 3 个基因。

④mRNA 代谢很快,代谢半衰期一般以秒计,很少达到 10min 以上。



mRNA 帽状结构的功能,目前知道的有如下两方面:

①与蛋白质合成起始有关。现已证实,在许多病毒蛋白和真核细胞蛋白的生物合成中, mRNA 5' 端如缺乏 m⁷G 时,则不能作为蛋白质合成的模板。具有帽状结构的 mRNA 比缺乏帽状的更容易与 40S 核糖体形成稳定的起始复合物,这说明帽状结构具有使 40S 核糖体识别 mRNA 起始点的信号作用。

②帽状结构增加了 mRNA 的稳定性,因为它有抵抗核酸酶降解的作用。

1.15 tRNA 分子有哪些共同的特征?

细胞内 tRNA 的种类很多,目前已有 70 种以上的 tRNA 已经被分离提纯,并测定了它们的碱基顺序。研究结果说明,各种 tRNA 的二、三级结构是相似的,它们的结构具有一些共同特征。

①tRNA 的分子质量在 25ku 左右,含 70~90 个核苷酸,沉降系数在 4S 左右。

②分子中含有较多的稀有碱基(修饰碱基)。

③tRNA 分子的 3' 端都具有 CCA 结构。

④tRNA 分子的 5' 端大多为 pG..., 有的为 pC...

⑤tRNA 的二级结构呈三叶草型,由氨基酸臂、二氢尿嘧啶环、反密码环、额外环和 T_ψC 环 5 部分构成。不同的 tRNA 分子具有大小不同的额外环,额外环由 3~18 个核苷酸组成,是 tRNA 分类的重要指标。

⑥tRNA 分子的三级结构呈倒写的字母“L”形状,“L”的一端是一 CCA,另一端是反密码结构。

1.16 什么是 T_m 值? T_m 值大小与哪些因素有关?

天然状态的 DNA 在比较高的温度下(70~90℃)会发生变性,这时,氢键断裂,双螺旋解开为单链,并变成无规则的线团。在光学性质上则产生“增色效应”,即紫外吸收(260nm 波长)值增高。这同结晶的熔化现象类似,DNA 发生了“熔解”。DNA 发生“熔解”的温度范围比较窄,只有几度。通常以增色效应达到最大值的一半时的温度叫 DNA 的熔解温度(或熔点),以符号 T_m 表示。DNA 的 T_m 值的高低与下列因素有关。

(1)G-C 的含量 在一定条件下,T_m 高低由 DNA 分子中的 G-C 含量所决定。G-C 含量高时,T_m 值比较高,反之则低。这是因为 G-C 之间的氢键较 A-T 多,解链时需要较多的能量之故。T_m 值和 G-C 的含量可用一个经验公式表示:

$$w(\text{G-C})\% = (T_m - 69.3) \times 2.44$$

在一定条件下($\text{pH}7.0, 0.165\text{mol/L NaCl}$ 中) T_m 值与 $w(\text{G-C})\%$ 呈正比关系。因此,通过测定 T_m 值,可以推算出DNA分子中的碱基组成。

(2)DNA所处的溶液条件 DNA溶液中离子强度低时, T_m 较低,而且熔解温度范围较宽;离子强度高时, T_m 较高,熔解温度范围较窄。因此,在表示某一来源DNA的 T_m 值时,必须指出其测定条件。

1.17 什么是DNA变性? DNA变性后理化特性有何变化?

DNA变性是指DNA分子中的氢键断裂,双螺旋解开,DNA分子由双螺旋结构转变成无规则线团的现象。引起DNA变性的因素很多,如温度、超声波、强酸、强碱、有机溶剂和某些化学试剂(如尿素、酰胺)等都能引起DNA的变性。

随着DNA分子变性的发生,许多理化性质也发生显著的变化,如:

(1)分子结构和形状 天然的DNA分子是具双螺旋结构的线型分子,或共价闭环超螺旋结构,变性后,发生分子解链,分子由双螺旋结构变成无规则的线团,生物活性丧失。

(2)粘度 天然的线型DNA分子,其直径与长度之比可达 $1:10^7$,它的水溶液具有很大的粘度。变性后,发生了螺旋-线团转变,粘度显著降低。

(3)浮力密度 如果把变性的DNA分子和天然的DNA分子放在氯化铯溶液(8.0mol/L)中,进行密度梯度离心($25\ 000\text{r/min}$),可以看到DNA变性后其浮力密度大大增加。

(4)沉降系数 沉降系数增加。

(5)紫外吸收 DNA分子中,由于存在有嘌呤环和嘧啶环,所以在 260nm 波长处具有强烈的紫外吸收。DNA变性后,碱基的有序堆积被破坏,碱基暴露出来,因此,紫外吸收值明显增加,产生所谓增色效应。

(6)比旋光值 DNA分子具旋光性,旋光方向为右旋。由于DNA分子的高度不对称性,因此旋光性很强,其 $[\alpha]_D = 150^\circ$ 。当DNA分子变性时,比旋光值就大大下降。

1.18 提取DNA时要注意什么?

提取与纯化DNA时,最重要的问题就是要保持DNA分子的完整性。只有这样,才能对其进行结构与功能的研究,才能用它来进行分子重组。DNA分子是生物大分子,除小的病毒(5.1×10^3 碱基对)外,一般分子都比较大。如细菌DNA分子有 0.2×10^7 个碱基对;高等植物有约 2.3×10^9 个碱基对;人有约 2.9×10^9 个碱基对。这样大的分子很容易在提取和纯化过程中断裂成小片段。为了尽可能保持它的完整性,要注意如下一些问题:

首先,要防止机械张力的剪切。在提取纯化过程中,不要作剧烈的振荡和搅拌。甚至在用滴管吸取时,稍不小心都可以使其断裂,因此,在提取纯化时,操作动作要缓慢。

第二,要防止提取液过酸或过碱。过酸或过碱的抽提液都可使DNA链断裂和变性。通常保持抽提液 pH 接近 7.0 较好。

第三,防止细胞内核酸酶对它进行降解。在破碎细胞时,核酸酶有机会与DNA接触而使DNA降解。为了避免这一点,需要用某些办法抑制核酸酶的活性。其主要方法就是除去溶液中使核酸酶发挥作用的 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} ,因此,在抽提DNA时必须向缓冲液中加入一定量金属螯合剂EDTA(乙二胺四乙酸)。

此外,在纯化DNA时,常常要加入一定量的核糖核酸酶以除去RNA。通常在核糖核酸酶制品中,混杂有微量的核酸酶,为了除去核酸酶,可将核糖核酸酶配成溶液后,在 85°C 加热 15min ,使核酸酶失去活性,而核糖核酸酶则不易失活,然后再加入。