

高级动物生物化学

核酸结构与功能

下 册

张喜南编

河北农业大学

1987年1月

高等动物生物化学

1984年10月

· 1 ·

1984

1984年10月

1984

目

录

第一章 核酸的化学组成及物化性质	1
一、引言	1
二、核酸的化学组成	8
三、核酸的物化性质	26
主要参考文献	34
第二章 DNA的结构	36
一、DNA的一级结构	37
二、DNA的二级结构	77
三、DNA的三级结构	85
主要参考文献	97
第三章 RNA的种类和结构	99
一、核特异性RNA	99
二、可移动性RNA	111
主要参考文献	143
第四章 DNA的生物合成—复制	145
一、DNA的复制 (Replication)	145
二、DNA损伤和修复	199
三、RNA指导下DNA的合成 (反信转录)	210
主要参考文献	211
第五章 转录与加工	213
一、参与RNA合成的酶	213
二、转录机制	221
三、mRNA的转录与加工	239
四、rRNA的转录与加工	251

五、tRNA的转录与加工	263
六、RNA指导下RNA的生物合成	
(RNA的复制)	270
主要参考文献	275
第六章 蛋白质的生物合成	277
一、遗传密码 (Genetic code)	277
二、核糖体 (Ribosome)	287
三、蛋白质生物合成	
(protein Biosynthesis)	301
四、遗传工程简介	326
主要参考文献	331

第一章 核酸的化学组成及理化性质

一、引言

核酸是当代生物学领域内最重要的方面，它不仅生物学方面占有重要地位，而且在医学、农业以及某些轻工业方面也是非常重要的课题。核酸和蛋白质是生命的物质基础，而且也是当前分子生物学研究的中心。

核酸广泛存在于一切生物体内，它不仅是细胞核、细胞质及某些细胞器（如线粒体、叶绿体和质粒等）的重要组成部分，而且与机体物质代谢有密切关系。

尤其是从七十年代以来，由于分子生物学的迅猛发展，充分证明了蛋白质的生物合成、遗传变异、个体发育、器官分化、机体形态形成、癌变、衰老和死亡等生命现象，以及病毒、噬菌体的侵染等均与核酸有密切的关系。因此，核酸是当前分子生物学、分子病理学、分子药理学、分子遗传学、和生物工程等学科研究的核心问题。

近年来，由于核酸和蛋白质结构与功能的研究进展，使人们可以在分子水平上，去认识生命现象的本质，为人类控制生命和创造生命，以及健康、长寿开辟了广阔的道路。

核酸的发展经过了一百多年的历史。核酸是1868~69年由瑞士青年科学家Friedrich Miescher (1844~1895, 当时年仅24岁)发现的。他被认为是细胞核化学的创始人。Miescher是瑞士一个内科医生的儿子，其父在巴塞尔(Basel)市行医，并在大学任教，Miescher跟随其父进入医学院。其叔父(M. His)也是该校解剖学教授和著名

研究者，也是 Miescher 的老师，His 对 Miescher 的影响很深，因此 His 认为当时组织学的发展和一些根本问题的解决都是建立在化学的基础上，所以 His 支持 Miescher 学习组织化学。于是 Miescher 在医学院毕业后，在 1868 年去德国提宾根 (Tübingen) 大学，先学习有机化学，而后在生物化学家下 Hoppe-Seyler 的实验室学习生物化学，该实验室是当时世界上第一个生物化学实验室。他从邻近的提宾根外科诊所的绷带上，得到新鲜的腺细胞中，分离出细胞核，再从腺细胞核中分离出一种物质，呈酸性，易溶于稀碱，而不溶于稀酸，含 N 14%，含 P 2.5%，Miescher 命名为核素 (Nuclein)。由于核素含磷很高，引起了他老师的重视，但为了慎重 Hoppe-Seyler 又指定他的另外二个学生，用 Miescher 的方法，研究了卵黄和酵母等物质有无“核素”存在，而且他本人亲自重复了 Miescher 的实验，直到获得肯定的结果后，才把 Miescher 的原始论文以及他本人和二学生的确证材料，在 1871 年发表在他主编的 *Medicinischem chemisch Untersuchungen* 杂志上。核素实际是核蛋白，Miescher 的第一个核素制剂含 DNA 低于 30%。

Miescher 学完之后，于 1870 年回到瑞士巴塞尔市，在其母校任教，并从事核酸研究工作。1872 年他从鲑鱼精子头部分离出一种碱性物质，命名为鱼精蛋白；和一种酸性物质含磷 9.59%，与现在核酸的分析结果相同，这种酸性物质就是今天所说的核酸。Miescher 在 1872 年 28 岁时，被任命为生理学教授。Miescher 死于 1895 年，享年 51 岁。他死后由其叔父 His 整理出版了他的论文集，以后，由 Altmann 继续了他的核酸研究工作，1889 年 Altmann 制

是一个从动物组织和酵母中制备核酸的方法，并分离出不含蛋白质的游离核酸，并首次命名为核酸。

自此以后，核酸吸引了不少著名化学家的注意，他们对核酸的成分感到兴趣，用多种方法分解核酸，从中分离得到各种碱基和戊糖。1874年 Piccard 在 Miescher 的建议下，从鲑鱼精子中分离出鸟嘌呤和次黄嘌呤。1879年 Kossel 从核酸中分离出腺嘌呤与黄嘌呤。1894年 Kossel 和 Neuman 从胸腺核酸中分离出胸腺嘧啶。1900年 Ascoli 从酵母核酸中分离出尿嘧啶。1902~1903年 Kossel 和 Steudel 分离鉴定了胞嘧啶，除鸟嘌呤外其他四种正常碱基均由 Kossel 学派分离鉴定。1909年 Levene 和 Jacobs 分离和鉴定了腺核苷，并证明为 D-核糖。到二十世纪初叶，Kossel 学派的工作已经搞清了胸腺核酸与酵母核酸的含氮碱基。

至1930年已确定酵母核酸水解后，产生腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶，磷酸和一种戊糖，后者被 Levene 和 Jacobs 鉴定为核糖。而胸腺核酸水解后，产生腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶，磷酸和一种脱氧戊糖，后者被 Levene 鉴定为脱氧核糖。因而可以发现有二种迥然不同的核酸。Levene 学派对二种核糖、核苷与核苷酸的鉴定有过贡献。当时发现从动物组织如鱼的精子和小牛胸腺制备的核酸与胸腺核酸相似；而从植物如小麦胚中制备的核酸与酵母核酸相似。因此，在本世纪廿年代有人曾把核酸分为动物核酸与植物核酸二大类。但不久就对这种分类方法产生了怀疑，因为从动物组织如胰脏、乳腺、鸡胚和海胆卵中分离出与酵母核酸相似的核酸；而从植物组织中也分离出与胸腺核酸相似的核酸。此后，用组织化学方法证明，同一细胞内含有二种核酸。细胞

核内的核酸与胸腺核酸相似；而细胞质内的核酸与酵母核酸相似。于是就不再有动物核酸与植物核酸之分。而出现了核糖核酸（RNA）和脱氧核糖核酸（DNA）的分类方法，一直沿用至今。

无论 RNA 或 DNA 都是由许多核苷酸组成。核苷酸则由碱基（嘌呤和嘧啶）戊糖（核糖或脱氧核糖）和磷酸三种成分构成。核苷酸与核苷酸之间由磷酸二酯键连接起来。由于当时实验条件的限制，对核酸分子的大小不了解，但从分析结果看，RNA 或 DNA 都含有四种碱基，它们的克分子比接近 1:1:1:1。因此，在三十年代 Levene 提出了“四核苷酸”假说，他认为核酸就是四核苷酸或者四核苷酸的重复。即 A、G、C、和 T 在 DNA 中是等量的。按照四核苷酸假说，以四个核苷酸作为重复单位，四种碱基仅有 $4^4 = 256$ 种排列，即仅有 256 种 DNA 分子。这种有限的信息容量不能负载基因的复杂性，于是有人认为由 20 种氨基酸组成的蛋白质更适合负担遗传任务。这种观点一直维持到四十年代末期，大大阻碍了核酸研究工作的进展。

显然，四核苷酸假说是错误的，简单而明显的理由是：

- (1) 最小的核酸分子量也有几万道尔顿，不可能是四个核苷酸。
- (2) 核酸中四种正常碱基的克分子比也不是 1:1:1:1。但由于当时的科学水平缺乏反证证据，使它暂时占了统治地位，大约一直到 1950 年。

一直到 1944 年 Avery 等证明了细菌的转化因子是 DNA，才初步确定 DNA 是遗传物质，但因四十年代初对核酸的分离技术还不能达到百分之百的纯洁，总带有少量蛋白质，所以仍然不能被公认。到 1952 年 Hershey 和 Chase 的 T4 噬菌体感染实验，进一步证明了 DNA 是遗传信息的载体。

这时在核酸研究方面也取得了进展。1947年 Chargaff 等对各种不同来源 DNA 的组成进行了大量分析，发现各种生物核糖与碱基比例不同，并提出了“碱基对应”规律（即碱基当量定律）（ $p_u = p_y$ ），打破了“四核苷酸”假说的束缚。

1953年 Watson 和 Crick 在 Chargaff 碱基当量定律和 Wilkins 与 Franklin 的 DNA 纤维 X-衍射分析的基础上，提出了 DNA 双螺旋模型，为 DNA 的生物学功能奠定了坚实基础。至此，DNA 是遗传物质的结论才得到了公认。

并从此，诞生了一门崭新的科学分子生物学，基因是 DNA 的问题解决之后，DNA 和蛋白质之间的关系就成为生物学领域的一个重要课题。早在 1941 年 Beadle 和 Tatum 就提出了“一个基因，一个酶”的学说。1958 年 Crick 又提出了分子生物学的“中心法则”。进入六十年代，1961 年 Nirenberg 等解决了遗传密码的解读问题，使人们看到了遗传信息的本质。此后，核酸研究进展之快，涉及范围之广，影响之大，内容之丰富，在生物学领域内是罕见的。

为了说明三十年来核酸研究的进展，现在把从事这方面研究获得诺贝尔奖金的科学家列表如下：

表 1.1 因与核酸研究有关而获得诺贝尔奖金的科学家

科学家	年份	种类	成果
A. R. Todd (英)	1957	化学	确定核苷酸结构, 合成二核苷酸等
G. W. Beadle (美)	1958	生理医学	化学试剂对基因的控制和影响
E. L. Tatum (美)	"	"	
J. Lederberg (美)	"	"	提出新的遗传论点
S. Ochoa (美)	1959	"	酶促合成 RNA
A. Kornberg (美)	"	"	酶促合成 DNA
J. D. Watson (美)	1962	"	DNA 的双螺旋结构
F. H. C. Crick (英)	"	"	
M. H. F. Wilkins (英)	"	"	DNA 的 X-射线衍射研究
F. Jacob (法)	1965	"	基因对酶与病毒合成的控制
A. M. Lwoff (法)	"	"	
J. L. Monod (法)	"	"	
R. W. Holley (美)	1968	"	酵母 tRNA ^{Ala} 一级结构测定
H. G. Khorana (美)	"	"	合成遗传密码
M. W. Nirenberg	"	"	发现遗传密码
M. Delbrück (美)	1969	"	基因结构与病毒复制机制
A. D. Hershey (美)	"	"	
S. F. Luria (美)	"	"	
E. W. Sutherland (美)	1971	"	发现 3', 5'-环 AMP 和和激素作用机制
H. M. Temin (美)	1975	"	发现反转录酶

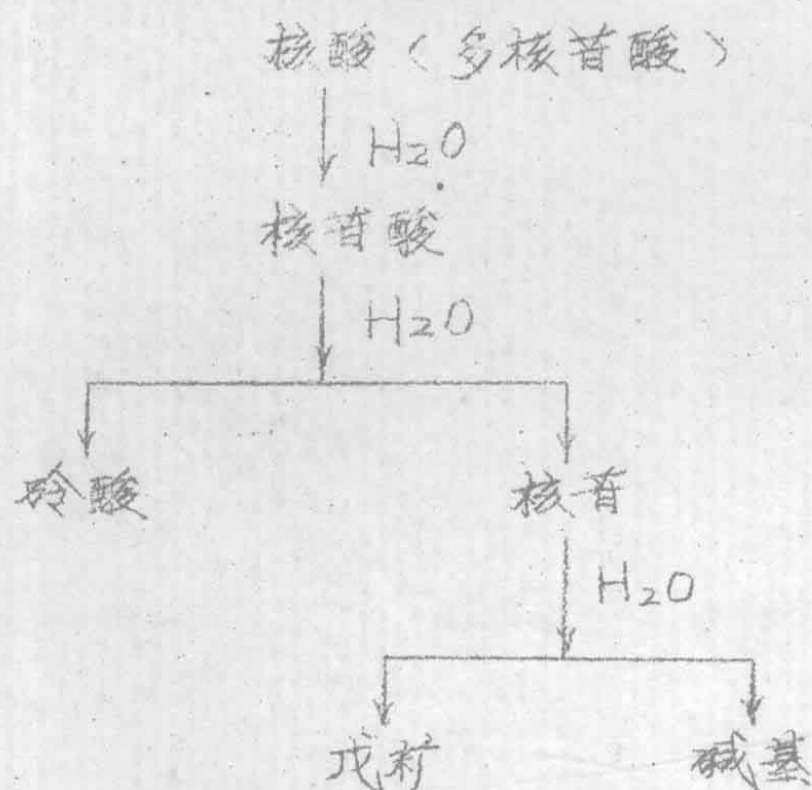
科学家	年份	种类	成果
D. Baltimore(美)	1975	生理、医学	
R. Dulbecco(意)	"	"	肿瘤病毒和细胞遗传物质之间的相互作用
W. Arber(瑞士)	1978	"	发现细菌限制性内切酶
H. O. Smith(美)	"	"	发现限制性内切酶作用方式的特点
D. Nathans(美)	"	"	用限制性内切酶制成肿瘤病毒的基因图谱
P. Berg(美)	1981	化学	建立 DNA 重组技术
W. Gilbert(美)	"	"	DNA 一级结构测定方法
F. Sanger(英)	"	"	DNA 一级结构测定方法
A. Klug(英)	1982		建立晶体电子显微技术测定核酸-蛋白质复合体的构造
B. McClintock(女美)	1983	生理、医学	发现跳跃基因

此外，在早期诺贝尔奖金获得者中，与核酸及遗传有关的还有 A. Kossel 是德国人 1910 年生理、医学获奖者，主要在核酸成分的性质结构方面有贡献；T. H. Morgan 美国人在 1933 年获得生理、医学奖，主要成果是基因论的发表；H. J. Muller 美国人 1946 年获得生理、医学奖，主要贡献是发现 X-射线能促使基因变异。获奖者之多在其他科学领域内是罕见的。

二、核酸的化学组成

核酸是以核苷酸为单体聚合而成的高分子化合物，犹如蛋白质是以氨基酸作为单体一样。不过氨基酸是单一分子，而核苷酸是由含氮碱、戊糖和磷酸三种分子组成的。

核酸的分子量很大，是由几十至几十万个单体（核苷酸）组成的，故又称为多核苷酸。在一定条件下将核酸水解，可生成核苷酸；再经水解，即生成核苷与磷酸；核苷继续水解，最后生成戊糖与碱基。



(一) 核酸的组成成分

核酸的主要成分早在十九世纪末和本世纪初，已经确定，DNA是由脱氧腺苷酸、脱氧鸟苷酸、脱氧胞苷酸和脱氧胸腺苷酸组成；RNA则由腺苷酸、鸟苷酸、胞苷酸和尿苷酸组成。

但是，近一、二十年以来，由于分离方法的改进和新技术的应用，又发现了大量修饰成分 (Modified Component)

包括修饰含氮碱基 (Modified Base)、修饰核苷 (Modified Nucleoside)、或修饰核苷酸 (Modified Nucleotide)。自 1963 年以来, 大约有 70 种之多, 主要是在 RNA, 尤以 tRNA 中存在较多。其中主要是修饰碱基, 包括甲基化、硫化、甲硫化、乙酰化以及带有各种侧链的含氮碱, 如带有氨基羧基、异戊烯基、羟基羰基、羧基及其衍生物等。还有脱氢或加氢的衍生物, 有些被称为高级修饰成分 (Hypermodified Component)。除主要成分以外的这些成分又称为稀有成分。

1、含氮碱 组成核酸的含氮碱主要是嘌呤和嘧啶的衍生物。

(1) 嘧啶碱 嘧啶碱是嘧啶的衍生物, 属于含氮杂环碱, 组成核酸的主要嘧啶碱有三种, 即胞嘧啶 (Cytosine, 简写 Cyt)、尿嘧啶 (Uracil, 简写 Ura) 和胸腺嘧啶 (Thymine, 简写 Thy)。

除了上述三种主要嘧啶碱基外, 在某些核酸中还存在稀有碱基 (见表 1、2), 如小牛胸腺 DNA 中含有少量 5-甲基胞嘧啶, T₂ 噬菌体 DNA 中含有 5-羟甲基胞嘧啶。在 tRNA 中含有二氢尿嘧啶, 5-羟基尿嘧啶等。

(2) 嘌呤碱:

核酸中的嘌呤衍生物主要是腺嘌呤 (Adenine, 简写 Ade)、和鸟嘌呤 (Guanine, 简写 Gua), 除两种嘌呤外, 在某些 RNA 中还含有嘌呤碱基, 见表 1、2, 如 N⁶-甲基腺嘌呤 (m⁶A)、7-甲基鸟嘌呤 (m⁷G) 等。此外, 自然界中还存在其它嘌呤衍生物, 如黄嘌呤 (Xanthine) 和次黄嘌呤 (Hypoxanthine) 以及尿酸等 (uric acid) 等。

2、糖 在核酸中主要糖分有两种, 在 DNA 中含有 2'-

脱氧核糖，在 RNA 中含有核糖。此外，在 RNA 中还发现少量 2'-O-甲基核糖，在丁偶数链菌体中发现葡萄糖和甘露糖，在某些 RNA 的修饰成分如接首 Q^x 中发现甘露糖和丰乳糖。在核酸中存在的这些成分，均以 β -D-构型环氧式存在。

表 1.2 RNA 中的稀有碱基

- 1-甲基腺嘌呤 (m^1A)
- 2-甲基腺嘌呤 (m^2A)
- N^6 -甲基腺嘌呤 (m^6A)
- N^6, N^6 -二甲基腺嘌呤 (m_2^6A)
- 2-甲硫- N^6 -异戊烯腺嘌呤 (ms^2i^6A)
- N^6 -异甲基丁烯基-2-甲硫腺嘌呤
- 1-甲基鸟嘌呤 (m^1G)
- N^2 -甲基鸟嘌呤 (m^2G)
- N^2, N^2 -二甲基鸟嘌呤 (m_2^2G)
- 7-甲基鸟嘌呤 (m^7G)
- $N^2, N^2, 7$ -三甲基鸟嘌呤 ($m_3^2, 2, 7G$)
- 1-甲基-6-羟基嘌呤 (m^1I)
- N^6 -乙酰基腺嘌呤 (ac^6A)
- 二氢尿嘧啶 (hu) 或 (D)
- 5-羟基尿嘧啶 (h^5u)
- 5-羧甲基尿嘧啶 (cm^5u)
- 5-甲基尿嘧啶 (胸腺嘧啶) (m^5u)
- 5-羟甲基尿嘧啶 (hm^5u)
- 2-硫代尿嘧啶 (s^2u)
- 3-甲基尿嘧啶 (m^3u)
- 4-硫代尿嘧啶 (s^4u)

5-甲基 氨基-2-硫代尿嘧啶 (m^5s^2u)

5-甲基-2-硫代尿嘧啶 (m^5s^2u)

3-甲基胞嘧啶 (m^3c)

4-甲基胞嘧啶 (m^4c)

5-甲基胞嘧啶 (m^5c)

5-羟甲基胞嘧啶 (hm^5c)

2-硫代胞嘧啶 (s^2c)

4-乙酰胞嘧啶 (ac^4c)

3. 磷酸 在核酸中含有磷酸，在每一个核苷酸中含有一个磷酸基，磷酸 (H_3PO_4) 是三元酸，有三级解离，不但可以和一个羟基发生酯化反应形成磷酸单酯，而且可以和二个羟基发生酯化反应形成磷酸二酯，这是核酸单体互相连接形成多聚物的化学基础。

4. 核苷 核苷是核酸中的核苷与含氮碱形成的核苷，它是核苷的半缩醛羟基与含氮碱脱水生成的缩醛类物质。称为核苷 (Nucleoside)。由于主要含氮碱有二类，核苷也有二类，故核苷分为四类，即嘌呤核苷，嘧啶核苷，嘌呤脱氧核苷和嘧啶脱氧核苷，嘌呤核苷是嘌呤的 N_9 与核苷环的 C_1 相连，嘧啶核苷是嘧啶的 N_1 与核苷环的 C_1 相连。

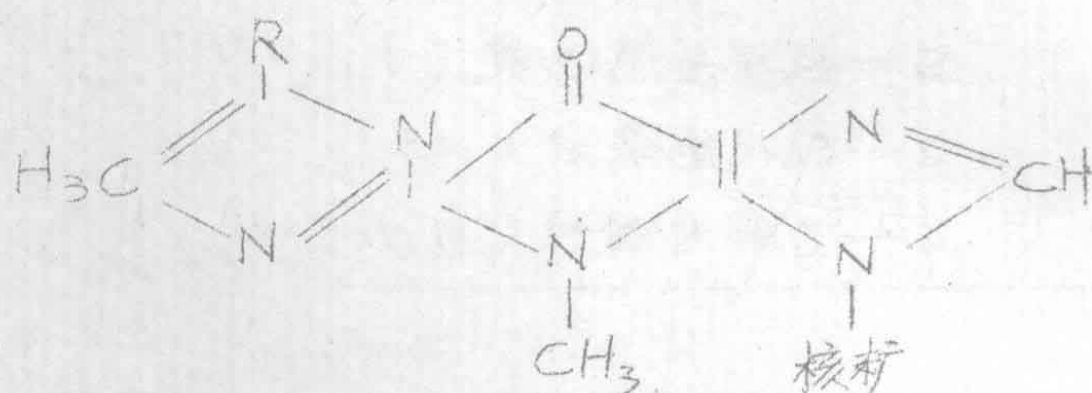
(1) 核苷

RNA 中主要核苷有四种，即鸟苷、腺苷、胞苷和尿苷。

在 RNA 中现已发现 15 种修饰腺苷，其中有甲基化腺苷如 m^1A 、 m^6A 等；有侧链带氨基酸的腺苷，如 gC^6A 、 tC^6A 等；有腺苷的脱氨产物 I 和 m^1I ，以上修饰腺苷见表 1.4。

在鸟苷衍生物中，除甲基化鸟苷外，还有一些特殊结构的衍生物，如 W 和 Q 的衍生物，鸟苷衍生物见表 1.4。

A. W的衍生物: 1968年从酵母tRNA^{Phe}中分离出一种有荧光性的核苷Y, 依其来源命名, 来自同酵母的称为Yt, 来自小麦胚的称为YW, 来自鼠肝的称为Yr, 它们含有一个二甲基三杂环部分。而在Y和YW(或Yr)中带有修饰侧链, 而Yt则无。



1, N²-异丙烯-3-甲基鸟苷

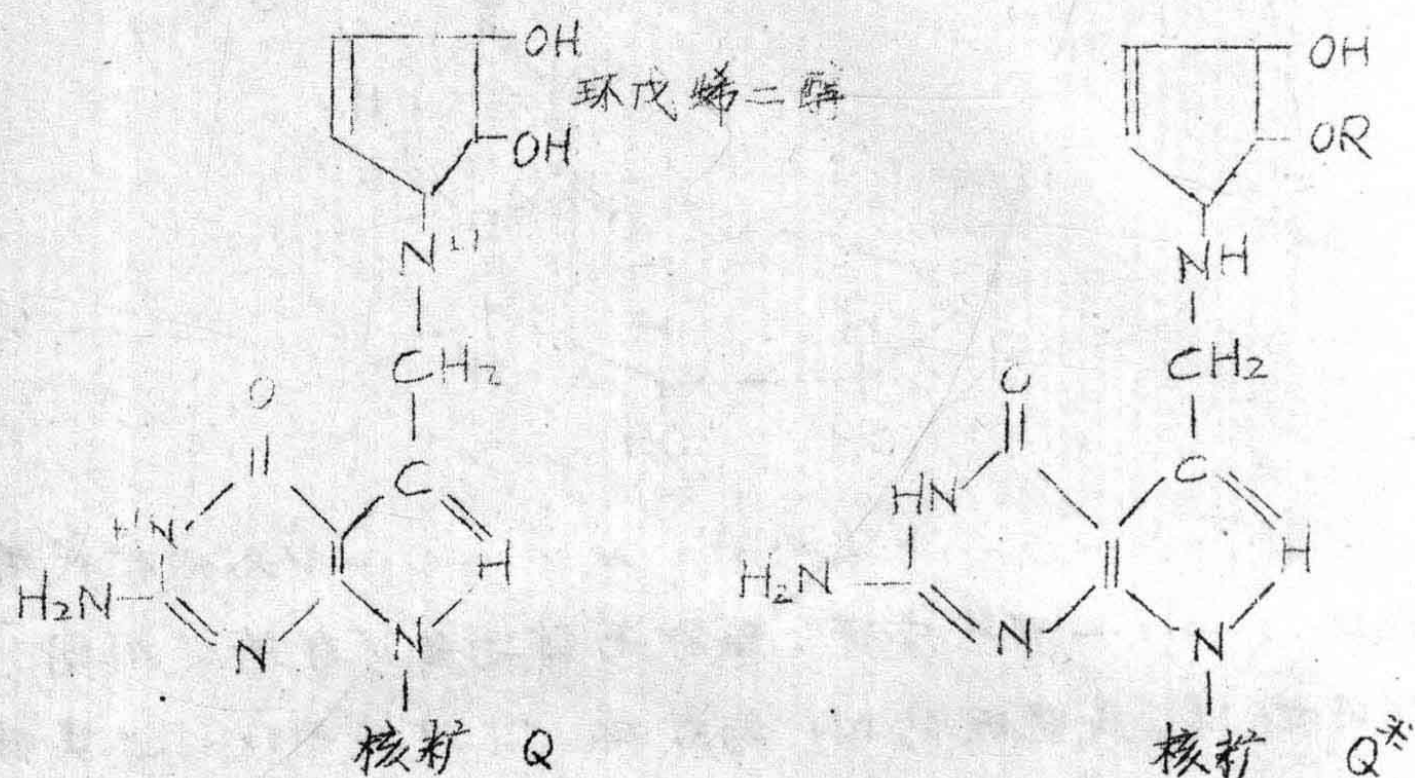
有人建议将命名和符号统一如下:

表 1.3

代号	R	命名	符号	
			现称	尊称
G-IV	-H	wyosine	W	Yt
G-IV	CH ₂ CH ₂ CH(NHCOOCH ₃)COOCH ₃	Wybutosine	yW	Y
G-IV	CH ₂ CH(OH)CH(NHCOOCH ₃)COOCH ₃	proxWybutosine	oyW	YW·Yr

B. Q的衍生物: 1968年从大肠杆菌的某些tRNA中分离出一种称为Q的核苷核苷, 后来又发现了Q的衍生物Q*, 经测定含有 7-去氮鸟嘌呤化合物, 其C₇通过氮甲基与环戊烯二醇连接, 在Q*中证明是Q的β-D-甘露糖苷和β-

D-半乳糖苷。核苷Q虽然是在大肠菌的 tRNA 中发现的，但是后来发现在高等动物、植物和微生物的 tRNA 中普遍存在。核苷Q和Q*结构式如下：



在Q*中R键中75%为β-D-甘露糖基，25%为β-D-半乳糖基，这是在RNA中首次发现侧链中含有糖分的修饰核苷。另外，在T-偶数噬菌体DNA中发现5-O-(葡萄糖基)-羟甲基胞嘧啶。

另外，在某些RNA中发现了少数胞苷的衍生物，如大肠杆菌16S rRNA中发现双甲基胞苷(m⁴Cm)，在某些RNA中还有3-甲基胞苷(m³C)以及5-甲基胞苷(m⁵C)，4-乙酰胞苷(ac⁴C)，5-甲基-6-乙酰胞苷(ac⁴m⁵C)等。胞苷衍生物见表1.4。

此外，发现的修饰尿苷约有20种之多，大多数是尿苷的5-取代物。其侧链包括甲基、甲氧基、羟基、羟甲基、羟甲氧基、羟甲氧基以及其甲醚和酰胺衍生物等；其中还有5、6-加氢以及假尿苷及其衍生物。尿苷衍生物见表1.4。

C. 假尿苷(ψ)：当尿嘧啶的C5与核环的C1相连生