

结构分子生物学



刘次全 白春礼 张静 编著

高等教育出版社

结构分子生物学

刘次全 白春礼 张 静 编著

高等教育出版社

内 容 提 要

本书系一本具有专著性质的教学参考书。集中在分子层次上,介绍结构分子生物学的基本内容。试图结合核酸和蛋白质结构原理、功能的讨论,适度介绍作者的部分工作和结构分子生物学的研究进展,并刻意地以较多的篇幅安排了涉及研究方法的内容。共分四章,除引言外,有核酸的组分、核酸的结构原理、蛋白质结构原理、结构分子生物学研究技术。书中应用了大量的图表,以及参考文献以供读者深入学习和研究。

责任编辑 朱秀丽

图书在版编目(CIP)数据

结构分子生物学/刘次全等编著. —北京:高等教育出版社,
1997.9

ISBN 7-04-006298-4

I . 结… II . 刘… III . 生物结构-分子生物学 IV . Q71

中国版本图书馆 CIP 数据核字(97)第 10855 号

结 构 分 子 生 物 学

刘次全 白春礼 张 静 编著

高等教育出版社出版

北京沙滩后街 55 号

邮政编码:100009 传真:64014048 电话:64054588

新华书店总店北京发行所发行

北京外文印刷厂印装

*

开本 787×1092 1/16 印张 23.75 字数 597 000

1997 年 10 月第 1 版 1997 年 10 月第 1 次印刷

印数:0 001~2 000

定价 37.50 元

凡购买高等教育出版社的图书,如有缺页、倒页、脱页等

质量问题者,请与当地图书销售部门联系调换

版权所有,不得翻印

引 言

生物学的研究对象是生物系统(或者说包括环境在内的广义生物系统)。从一定意义上讲,万物都是一个系统。生物系统是非线性的复杂系统,是具有网络层次结构的系统。

近几十年来,对生物系统具有的整体性、关联性、网络层次性、统计涨落性、内在和外在的随机性、奇异性(非均匀性)、开放性和历史性等复杂系统所共有的特征方面,在多学科综合集成研究的推动下,取得了积极的进展。同样,在生物科学迅速发展的今天,非线性理论中的分岔、湍流、孤子、混沌以及非线性相互作用与反常涨落、非线性相互作用与突变等的研究,已经与生物学研究相结合,并在一些重要生物学问题的探索中取得了可喜的进展,如生物演化、生态学、种群的群体动力学、脑功能的研究、非线性药物代谢动力学、酶的活性、生物合成过程以及生理和病理现象的自动调节模型等等。^[1]

在自然科学中,对非线性和复杂性的研究由来已久。由于非线性、复杂性和复杂系统理论的研究,给生物学注入了新的概念体系和新的方法论,并成为现代生物学认识论和方法论的基础,从而推动了生物学向精确、定量学科的转化。另一方面,在生物学研究中,对非线性和复杂性认识不足的矛盾至今仍旧十分突出,面对生物系统的非线性和复杂性往往使生物学家感到迷惑,甚至无从下手。为此,作者认为,强调生物系统的非线性和复杂性,对于结构分子生物学(Structural Molecular Biology)研究是十分必要的。我们也试图在本书的阐述中贯穿这样的认识。

鉴于生物系统是具有高度复杂的网络层次性(生物系统大致可以分为10个层次,即分子、细胞、组织、器官、系统、个体、种群、群落、生态系统和生物圈)的系统,在一个层次上是不可能把生物过程完全弄清楚的,对它们的研究需要在多个层次上进行。层次间存在着极为复杂的各种联系和非线性相互作用,它们既有区别,又有联系,它们纵横相连,体现了多样性与整体性的统一,离开了生物系统的层次关系,我们就很难深刻认识任何一种生物和生命现象。

结构生物学名称的提出已近25年,但急剧发展并逐步形成一门新的学科领域则是近年来的事。^[2]结构生物学针对生物系统的网络层次结构,也相应地分化出若干个层次,分子层次的结构生物学——结构分子生物学即是其中的一个,而且也是结构生物学当今发展的主流。

在英国出版的最权威性的杂志《Nature》,在以往的一个时期里,每年11月召开一次以分子生物学为主题的国际学术讨论会,讨论生物学领域这一年最为重要的学科最新动态。在1993年以结构生物学为主题的讨论会议上,曾任哈佛大学、麻省理工学院教授,现为美国Brandeis大学教授的Petsko在会上宣称结构生物学的时代已经开始,并提出结构生物学的中心法则是:^[2]

序列→空间结构→功能

实际上,多种国际性的结构生物学专业刊物的创刊,表明了结构生物学的时代确实已经开始。仅自1990年以来,至少有5种新的结构生物学专业期刊问世,它们是:《J. Structural Biology, 1990》、《Current Opinions, Structural Biology, 1991》、《Macromolecular Structure, 1991》、《Structure, 1993》,以及由《Nature》1994年新出的《Structural Biology》专刊,尤其值得注意的是已有几十年历史的《J. Structural Biology》的几次更名。这份杂志创刊时的刊名是《J. Ultrastructure》,主要发表生物体结构的电子显微镜研究论文,1972年更名为《J. Molecular Structure Research》,1990年改为现在的刊名,这在一定程度上反映了结构生物学发展的

动向——朝向分子水平。从一些著名的国际期刊所发表的论文看,主要也是结构生物学的内容,如《Biological Macromolecules, Structure and Dynamics》、《Protein Science》、《Protein, Structure, Function and Genetics》、《Biopolymer》、《Structural Dynamics》和《J. Biomolecular NMR》等。而且,《Nature》、《J. Molecular Biology》等刊物发表的结构生物学论文正与日俱增。^[2,3]

《Current Opinion in Structural Biology》是1991年出版的介绍生物学领域内最新成就和观点的刊物,从其内容可以看出,结构生物学是以生物大分子的特定空间结构及结构的特定运动与其生物学功能的关系为基础来阐明生命现象的科学。由此看来,似乎无需再特别标明结构分子生物学,或分子结构生物学。但是,为与其他层次研究为主的“结构生物学”相区别,为突出分子层次研究的重要地位,本书仍标明为《结构分子生物学》。

在《生物学中的机会》(Opportunities in Biology)一书的概要部分,首先就指出:“在生物学里那些激动人心的进展中,许多是利用生物大分子结构的新知识发现的。”^[4]从生物学的发展趋势分析,未来生物学的主要挑战之一,可能仍旧是解决结构、功能的问题,正是在这一点上,也是结构分子生物学的核心。

对于生物大分子的结构和功能,生物学家最感兴趣的还是功能,因而结构分子生物学的研究最终也必将导致对生物功能的冲击。然而,大分子以及大分子复合物结构的阐明正是揭示功能的基础。仅以DNA结构和功能研究为例,随着对DNA精细结构、三链结构、四链结构、非线性多支链结构、花束形结构、超螺旋结构等结构多样性研究的进展,已经戏剧性地改变着人们对DNA分子结构的看法。在增加多样性和复杂性的同时,也为我们提供了揭示DNA生物学功能的大量信息。无数事实说明,不同学科的科学家的对结构、性质、功能等概念往往持有不同的看法。在化学家看来,化合物的性质是由该化合物的结构所决定的,性质是结构的表现。但在生物学中,化学家的这种结构概念已经暴露出了种种缺陷。确切地讲,在生物学中对生物大分子而言,主要研究的是它们的结构和功能,而不是它们的性质。因为性质可以由某种化合物在某一反应中表现出来,而生物功能则不同,它是指许多分子(包括生物大分子和其他一些小分子)在若干协同反应中,由整个系统表现出来(这里所指的系统可以是细胞或个体),亦即是说,生物分子的功能是与分子间相互作用和系统相联系。离开了系统,离开了系统条件下的分子间的“协调互补”,从单一的核酸或蛋白质的结构,或这些分子的结构之“和”是不能解释其生物学功能的。

一般地,我们可以将生物大分子的结构分为两类:孤立的静态结构(如由X射线衍射获得的分子图像)和处于系统中的三维动态结构。结构分子生物学面临的问题,首先是确定组成生物大分子的每个原子的三维空间排列。继而在静态分子结构测定的基础上,研究与生物大分子发挥生物功能相伴随的动态结构的变化以及生物大分子发挥功能时与其他分子相互作用的过程。

鉴于上述认识,在本书中,我们力图强调生物系统的特征,强调从结构—性质范畴与系统—功能范畴的关系来讨论生物大分子的结构与生物大分子的功能。

生物体内主要的大分子为核酸和蛋白质,它们是遗传、变异、免疫、细胞功能、光合作用、生长、发育、运动和繁殖等等生命活动的物质基础。事实上,不同层次的生命活动都是建立在生物大分子的结构、功能和大分子间相互作用的基础之上的。值得提及的是,就核酸和蛋白质这两类生物大分子的研究趋势看,现在似乎可以说又回到了以蛋白质为主的年代。从前面例举的几种结构生物学期刊论文内容分析,大多数(约占70%)是从蛋白质结构分析阐明其生物学功能的。

结构分子生物学当前的主要研究手段,可分为实验研究和理论研究手段。

实验研究手段,主要采用物理学方法,配合各种生物化学和分子生物学的方法。如DNA重组技术,微量化学技术,X射线晶体衍射分析,二维及多维核磁共振波谱分析,电镜的三维重组分析,电子和中子衍射技术,波谱技术(如圆二色谱、红外、拉曼和荧光等)以及近几年发展起来的扫描隧道显微技术(STM)和原子力场显微术(AFM)等等。其中,X射线晶体结构分析仍然是当今乃至今后的一段时期大分子空间结构测定的主要方法。目前,它正努力在第四维时间坐标上跟踪、分辨和描述大分子的结构变化。但是,X射线分析毕竟受晶体制备和收集衍射数据所需时间的限制等等,相比之下,二维核磁共振方法在对蛋白质溶液的空间结构和运动状态的研究方面占有明显的优势,有可能(也许需要相当的一段时间)发展成为测定生物大分子三维空间结构运动状态的最佳手段,从而带来生物大分子空间结构测定的又一次突破。^[2,3,5]

值得注意的是:理论方法在结构分子生物学的研究中已经占据一定的地位,其发展势头也是引人注目的。从原则上讲,由于处理生物系统的非线性和复杂性所面临的困难,即使是运用实验手段,也有可能出现一些相互矛盾的实验结果,以及对若干实验结果在解释上的捉摸不定。这种情形在分析和讨论大分子的结构和功能时,往往使问题变得更加复杂。作为实验手段的一种补充,尤其是在实验无法进行时,理论方法是相当有用的。与此同时,作为与实验手段并列意义上的理论手段,还有着其特殊的意义。实践证明,在一定范围内理论手段(如分子图形学方法、分子动力学模拟、半经验势能计算和量子力学计算等)确实是有效的。我们也初步建立起了一些处理大分子三维结构和动态变化的理论方法,本书中介绍的一部分工作正是作者运用理论方法获得的。

严谨的物理学理论和强有力的实验技术已经提供了对小分子性质的深入了解,同样的原理和手段,大体上也应该能导出和预测大分子的某些性质。

在结构分子生物学的研究中,迄今为止已有好几位学者获得诺贝尔奖金。他们分别占据了生理与医学奖和化学奖的一些席位,如F. H. C. Crick和J. D. Watson因提出“DNA分子双螺旋结构模型”而获1962年生理与医学奖;M. F. Perutz和J. C. Kendrew因阐明“血红蛋白与肌红蛋白结构”获1962年化学奖;A. Klug由于对病毒空间结构的研究而获1982年化学奖;R. Huber由于对紫色细菌光合反应中心三维结构的研究,获1988年化学奖。这些都标志着结构分子生物学的里程碑。

近几年来,科学家们纷纷预言:“生物学将成为21世纪自然科学的带头学科”。从结构分子生物学的现状和发展趋势看,它极有可能发展成为21世纪带头学科的生物学的“带头学科”。其原因不仅在于前面所述的,它的内容是当今生物科学研究的前沿领域,它在整个生物学学科群中所处的核心地位,以及它的迅速发展和取得的成就。同时,还在于它必将取得的成就,在于与生物学的各个分支学科相比,它与其他学科(包括生物学的分支学科、物理学、化学、数学和计算机科学等)有着更为紧密的联系或者说有最大的相关系数。

纵观生物学发展的历史和现状,生物学正向着宏观和微观,最基本的和最复杂的两极发展,正向着由定性→定量,从描述性科学向着精确科学发展。“生物学的研究大多起始于描述性科学。但是生物现象的丰富和多样性,有可能使得生物学陷入被各种现象的叙述所淹没而迷失统一的原理的危险。然而,结构生物学(包括结构分子生物学)则具有其统一原理中的大部分属于已知这样一种独特的地位”。^[4]可以预料,结构分子生物学将担负起作为分子生物学的核心学科的重任,在“生物学世纪”发挥它的作用。

参 考 文 献

1. 刘次全等. 大自然探索, 1992; 11: 41
2. 邹承鲁. 世界科技研究与发展, 1995; 17: 9
3. 梁栋材. 我国生命科学的前沿问题(中国国家自然科学基金委员会生命科学部, 中国科学院上海文献情报中心编). 上海: 上海科学技术出版社, 1994
4. 薛攀皋等译. 生物学中的机会(中国科学院生物科学与技术局, 中国科学院上海文摘情报中心主办). 上海: 中国科学院上海文献情报中心, 1990
5. Davies D B, Saenger W, Danyluk S S. Structural Molecular Biology Methods and Applications. New York, London: Plenum Press, 1982

目 录

引言	(1)
I 核酸的组分	(1)
1.1 核酸的化学组分	(1)
1.1.1 戊糖和脱氧戊糖的结构和构象性质	(1)
1.1.2 碱基的结构	(17)
1.1.3 磷酸基的几何形状与特性	(41)
1.1.4 核苷	(47)
1.1.5 核苷酸的构象性质	(54)
1.2 核酸组分构象性质小结	(62)
参考文献	(63)
II 核酸的结构原理	(65)
2.1 核酸结构的多样性	(65)
2.1.1 核酸分子的结构形态	(66)
2.1.2 多聚核苷酸双螺旋的多态性	(72)
2.1.3 多聚核苷酸右手螺旋: A型和B型	(75)
2.1.4 天然DNA的构象	(81)
2.2 RNA的结构	(82)
2.2.1 RNA的一般结构特征	(82)
2.2.2 RNA的一级结构	(84)
2.2.3 RNA的二级结构	(88)
2.2.4 RNA的三级结构	(103)
2.2.5 RNA的折叠	(110)
2.2.6 mRNA与其编码的蛋白质在空间结构上的对应	(113)
2.2.7 具有催化功能的RNA	(118)
2.3 DNA的结构	(122)
2.3.1 DNA的一级结构(脱氧核糖核苷酸顺序)	(122)
2.3.2 DNA的二级结构	(124)
2.3.3 DNA的三级结构	(137)
2.3.4 三链和四链DNA结构	(146)
2.4 基因组物质结构和信息结构	(157)
2.4.1 基因组测序计划	(157)
2.4.2 基因组的初步分析	(159)
2.4.3 基因组物质结构和信息结构的几个问题	(168)
2.5 核酸的功能	(171)
2.5.1 核酸分子作为遗传信息载体的功能	(172)
2.5.2 作为酶的核酸	(176)
参考文献	(177)

III 蛋白质结构原理	(181)
3.1 蛋白质组分结构	(181)
3.1.1 氨基酸的立体结构	(185)
3.1.2 氨基酸的电子结构	(197)
3.1.3 氨基酸对蛋白质三维结构的影响	(201)
3.1.4 肽平面和构象角(扭转角)	(204)
3.2 蛋白质分子的一级结构	(208)
3.2.1 蛋白质的二级结构	(210)
3.2.2 蛋白质的三级结构	(215)
3.2.3 蛋白质的四级结构	(220)
3.3 蛋白质的折叠	(226)
3.3.1 蛋白质折叠的起始过程	(228)
3.3.2 折叠结构分析	(232)
3.3.3 蛋白质折叠的研究现状	(237)
3.4 蛋白质的运动	(238)
3.5 蛋白质运动的功能方面	(247)
3.5.1 由配体引起的构象变化	(247)
3.5.2 在催化过程中蛋白质的运动,核糖核酸酶	(250)
3.5.3 配体的进入和离开,肌红蛋白	(251)
3.6 蛋白质与遗传信息	(252)
参考文献	(254)
IV 结构分子生物学研究技术	(258)
4.1 X射线单晶衍射分析(晶体结构分析)	(258)
4.1.1 生物大分子晶体学方法的发展	(259)
4.1.2 晶体及其对X射线的衍射	(260)
4.1.3 X射线衍射结构分析法的基本原理	(262)
4.1.4 X射线衍射分析步骤	(264)
4.1.5 蛋白质和核酸晶体的X射线衍射结构分析	(265)
4.1.6 晶体结构的表达	(271)
4.2 核磁共振技术	(272)
4.2.1 核磁共振技术基础	(273)
4.2.2 多维核磁共振	(278)
4.2.3 核磁共振测定生物大分子的空间结构	(283)
4.3 扫描隧道显微(STM)技术	(298)
4.3.1 扫描隧道显微镜	(301)
4.3.2 STM的局限性与发展	(303)
4.3.3 STM在结构分子生物学研究中的应用	(304)
4.3.4 原子力显微镜(AFM)	(314)
4.4 结构分子生物学的基本数据和计算机分析	(331)
4.4.1 生物大分子的序列数据和计算机分析	(331)
4.4.2 生物大分子的立体结构	(367)
参考文献	(369)

I 核酸的组分

在正常生理状态下的细胞里,通常含有 2 种类型的核酸——核糖核酸(RNA)和脱氧核糖核酸(DNA)。

核酸是重要的生物大分子之一,在生命活动中起着极其关键的作用。作为遗传信息载体的 DNA(或是在某些情况下的 RNA)和遗传信息流中间环节的 RNA,它们参与遗传信息在细胞内的储存、编辑、传递和表达(其中 RNA 还能行使特定的催化功能),从而促成代谢过程及其控制。在一定意义上,可以说生命的一切过程都是根据储存在 DNA(有时是 RNA)内的程序进行的。因此,要揭示生命过程的奥秘就必须从研究核酸的物质结构和信息结构入手,进而探索其生物学功能。^[1,2]

1.1 核酸的化学组分

作为化学结构的核酸,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成为长链多聚物。

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 1-1);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 1-2);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双螺旋结构基础上的超螺旋形式存在(图 1-3)。

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样性和复杂性的新知识的了解。

下面将从结构—性质、系统—功能上来探讨 RNA 和 DNA 的差别。

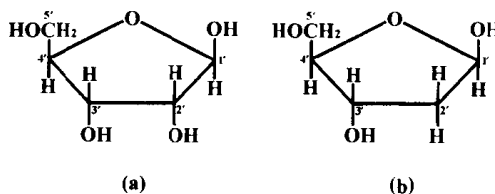


图 1-1 β -D-核糖(a)和 β -D-2'-脱氧核糖(b)

1.1.1 戊糖和脱氧戊糖的结构和构象性质*

从目前已经掌握的知识看,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 RNA 和 DNA 结构—性质差异的重要因素。因此,本书将以较多的篇幅予以阐述。

1.1.1.1 糖环的折叠形式^[3,4]

核酸中糖环的折叠形式是一个构象问题。所谓构象(conformation)是指化合物中可以自由转动的单键上的原子或基团绕单键旋转,或随单键扭转时产生的若干种不同的空间排列形式,构象的改变不伴随共价键的破坏。在有机化学、生物化学和结构分子生物学中,容

* 戊糖和脱氧戊糖都是以环状的呋喃糖的形式出现的。为方便起见,本书将“戊糖”与“核糖”并用。

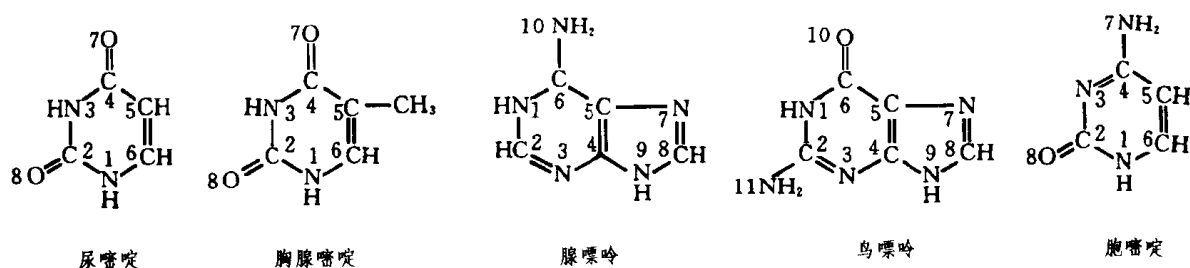


图 1-2 核酸的碱基

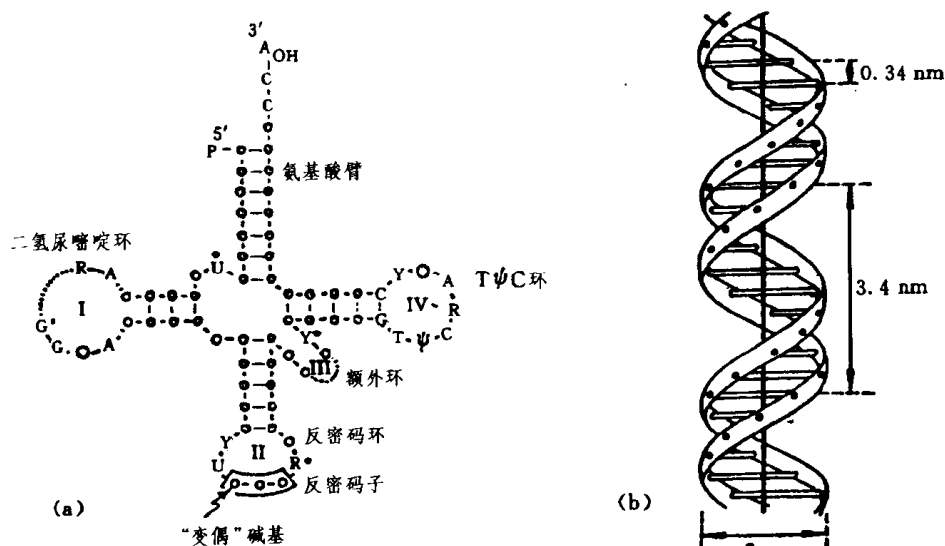


图 1-3

(a)tRNA 二级结构;(b)B-DNA 双螺旋结构

易与构象概念混淆的另一概念是构型(configuration)。所谓构型是指共价键化合物分子中各原子在空间的相对排列关系,由于共价键具有方向性,所以每一分子具有一定的几何构型。构型的改变要涉及共价键的破坏。然而,核酸中的戊糖和脱氧戊糖只有一种构型,即 β -D型,但它们的构象却有许多种。

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1-4)。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。

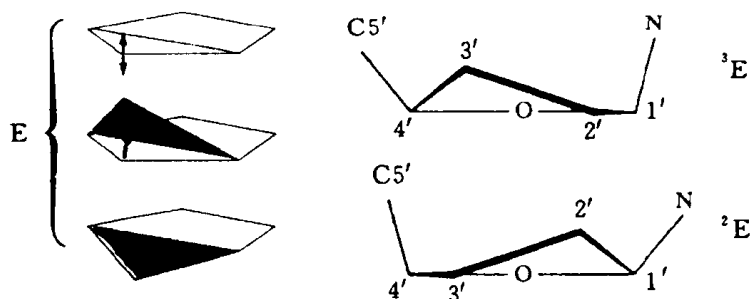


图 1-4 糖环的信封式折叠构象和³E、²E 构象

(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²₃T、³₂T 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³T₂、₂T³ 等(图 1-5)。

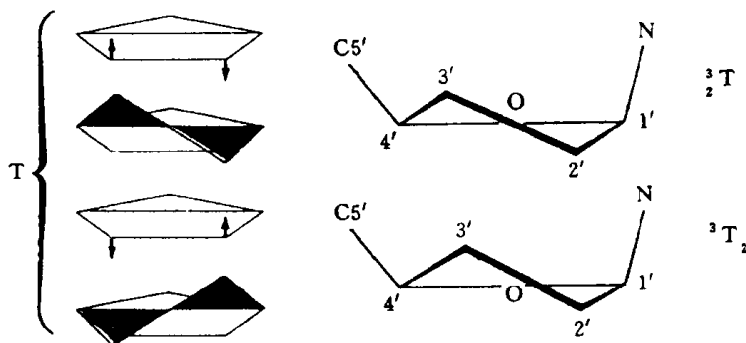


图 1-5 糖环的扭转式折叠构象

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³T₂、₂³T 和₂T³, S 式有²T₃、₃²T 和₃T² 等等。

归纳以上所述, 可用简图 1-6 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 1-6 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 构象各占一半的比例。在 B-DNA 螺旋中糖环构象为 C2'-endo, 而在 A-DNA 螺旋中糖环构象是以 C3'-endo 构象存在。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 1-7 中显示了糖环的折叠如何影响到核苷酸的空间构象。

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 1-8 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[6, 7]由环内糖的扭转角得到:

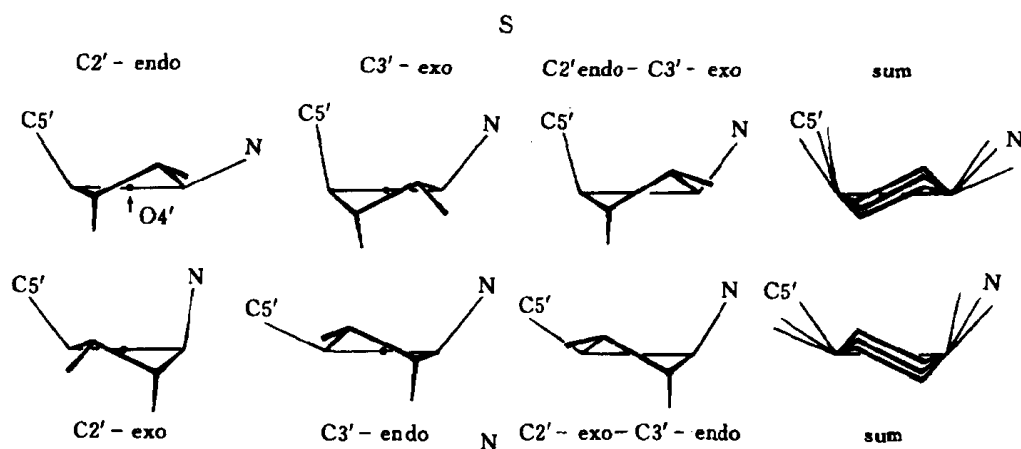


图 1-6^[5] 糖环折叠形式

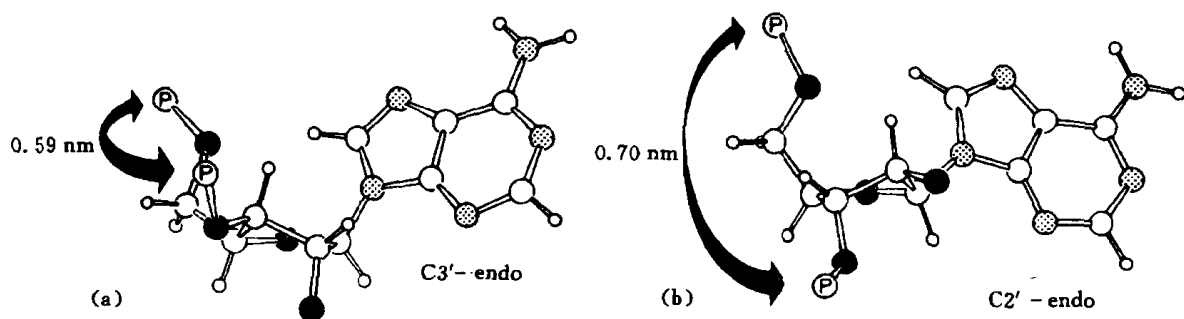


图 1-7 腺苷酸 2 种不同构象的图示

(a) 为 C3'-endo 构象。此时, 2 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

$$\tan \rho = \frac{(\nu_4 + \nu_1) - (\nu_3 + \nu_0)}{2 \cdot \nu_2 \cdot (\sin 36^\circ + \sin 72^\circ)} \quad (1.1)$$

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 C_{2'}-exo-C_{3'}-endo 扭转形式, 即³T(图 1-5), 其镜像 C_{2'}-endo-C_{3'}-exo(²T), 用 $\rho = 180^\circ$ (图 1-8)来表示。给定相角 ρ , 则 5 个扭转角(参见图 1-10)有如下关系:

$$\nu_j = \nu_{\max} \cdot \cos(\rho + j \cdot \varphi) \quad (1.2)$$

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:

$$\nu_{\max} = \nu_0 / \cos \rho \quad (1.3)$$

注意, 在方程(1.2)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 1-9 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

$$\nu_0 + \nu_1 + \nu_2 + \nu_3 + \nu_4 = 0 \quad (1.4)$$

图 1-10 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

* 本书仍按习惯称为“糖苷键”。

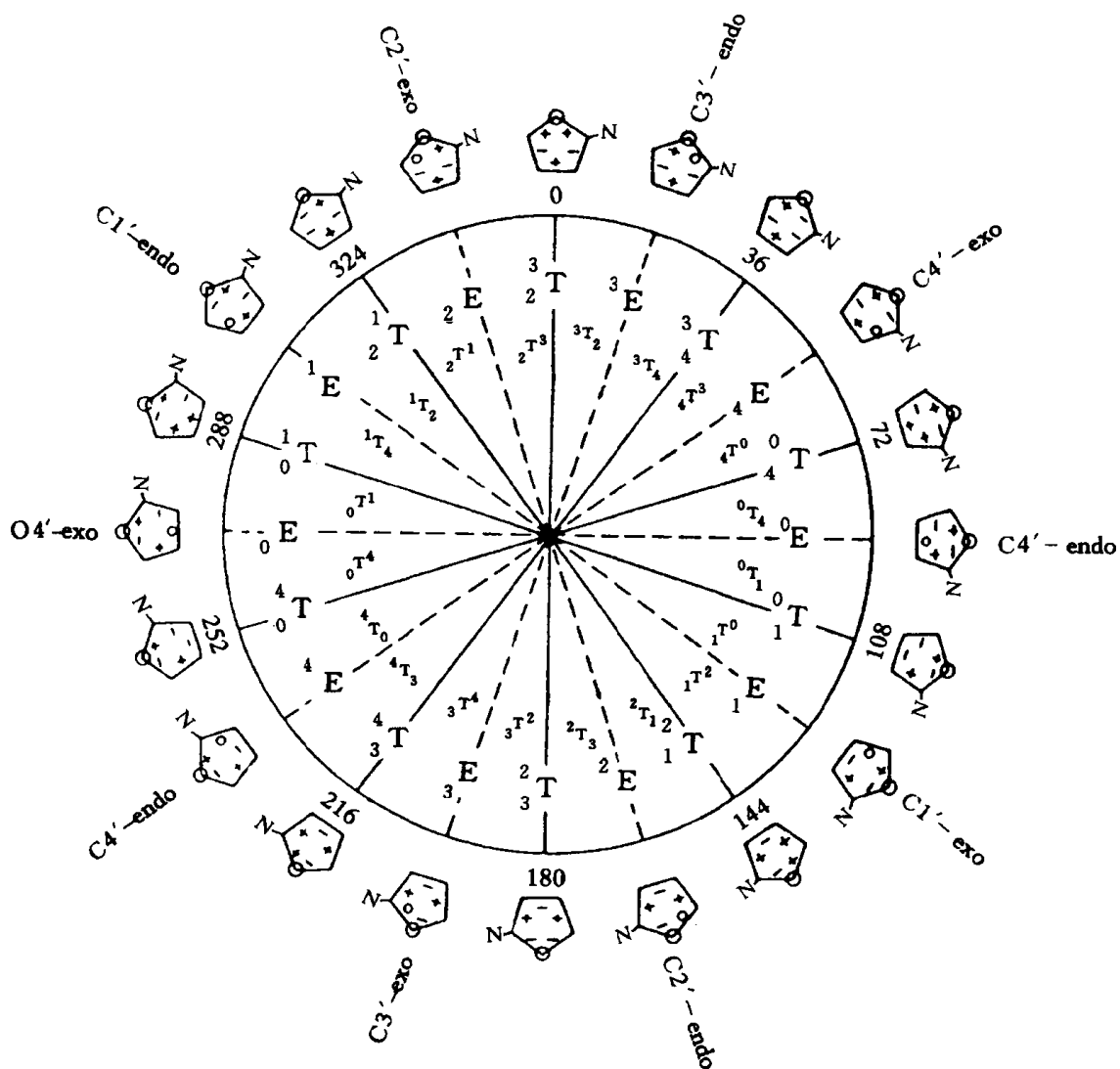


图 1-8 核苷中呋喃糖的脛转轮^[6]

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。在转轮的周围是标有环内扭转角符号的核糖。(+)正, (-)负, (○)角度是 0°

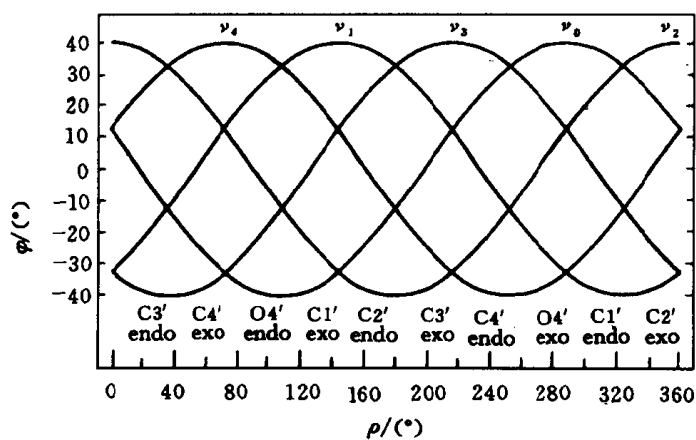


图 1-9 在一个完整的脛转动周期内, 5 个环内扭转角的变化^[7]

ρ 为脛转轮相角; φ 为轮扭转角

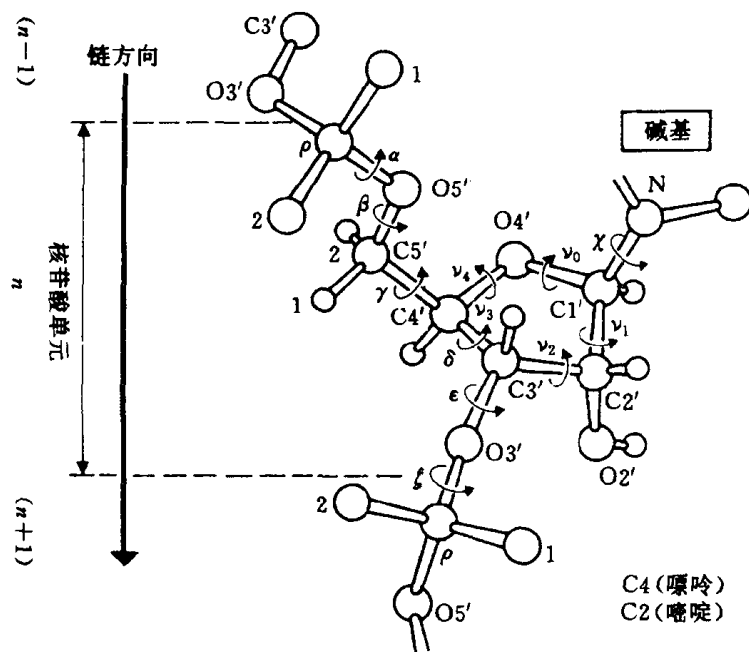


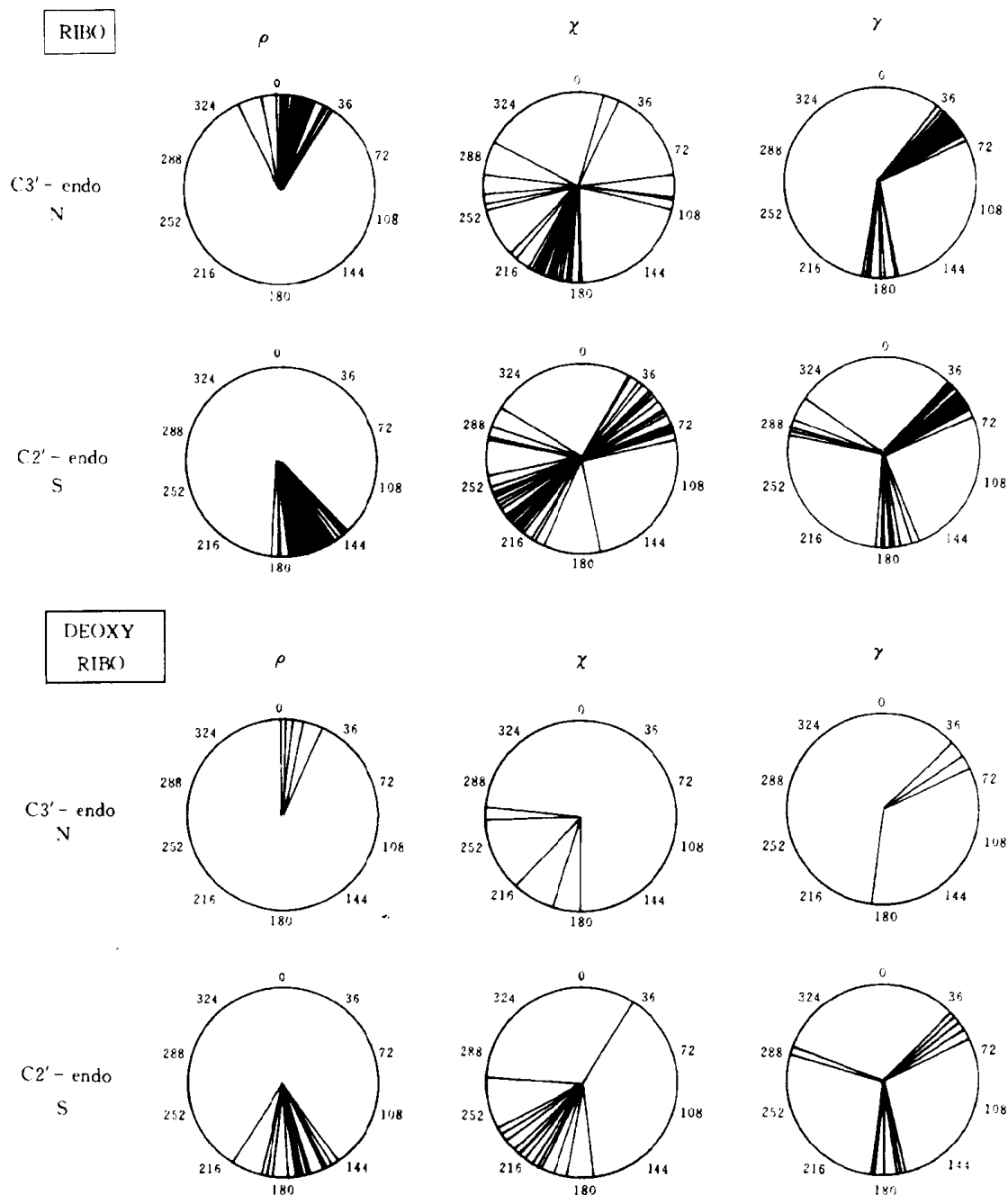
图 1-10 核苷酸单元组分原子和各个扭转角的定义
(碱基组分原子未全部画出)

相应于 $C4'-C5'$ 键的扭转角 γ 的不同分布。图中给出的数值(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。

由晶体学确定的数据分布(图 1-11)还显示,从 N 到 S 的 2 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 1-12,表 1-1)。

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 2 种构象被相当于 8.368 kJ/mol~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。

在作以上计算时,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只是近似的,因而对结果需要作综合分析和评价。



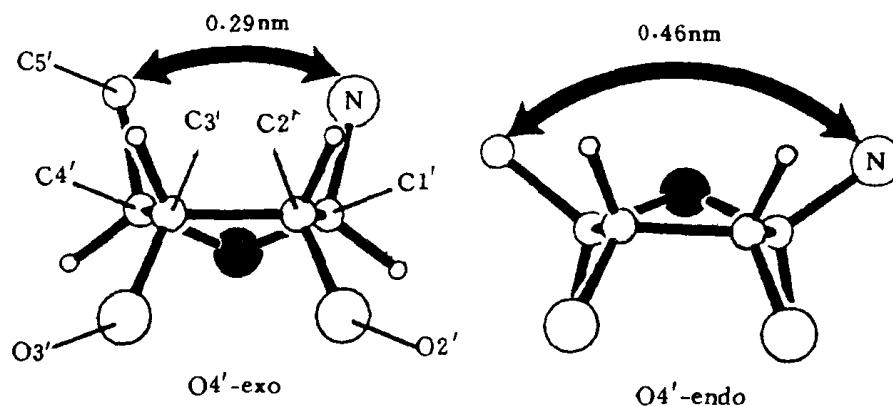


图 1-12 在糖环折叠模型 O4'-exo(左)和 O4'-endo(右)中,取代基 N(碱基氮原子或取代基 N)和 C5' 的赤道向和轴向的定位
在 O4'-exo 中, C5' 和 N 在空间上有干扰,因而 $C2'-endo \rightleftharpoons C3'-endo$ 的互换将经由 O4'-endo 作为中介而发生

关于糖环折叠的机理 呋喃糖环为什么会折叠? 这是我们感兴趣的问题。对此,已经作过不少的探索。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于折叠的。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 1-13)。

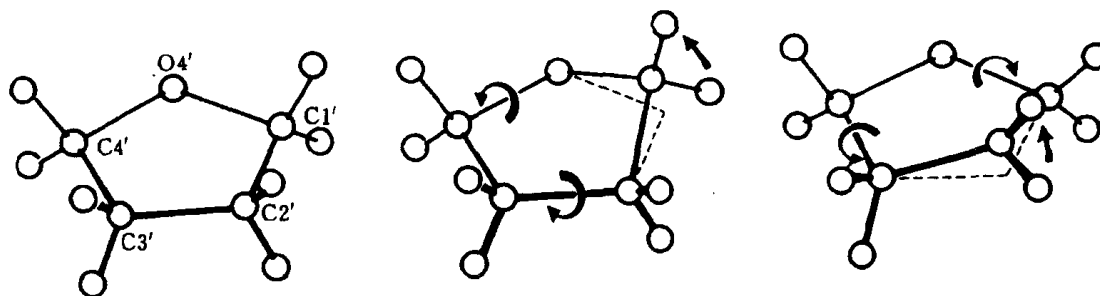


图 1-13

从图 1-13 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。

1.1.1.2 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