

第二章 核酸的结构与功能

本章要求

1. 熟悉核酸的分类、在细胞内的分布情况及其重要的生物学功能。
2. 掌握核酸的化学组成并熟悉平均磷含量及其与核酸含量之间的换算。
3. 熟悉核苷酸、核苷和碱基的基本概念及其结构。
4. 掌握两类核酸分子组成的异同，熟记常见核苷酸的缩写符号。
5. 熟悉 cAMP 和 cGMP 等体内重要环化核苷酸的结构及功用。
6. 掌握多核苷酸链中单核苷酸之间的连接方式，理解多核苷酸链的方向性。
7. 熟悉 DNA 的一级结构，掌握 DNA 双螺旋结构模型的要点。
8. 熟悉三类核糖核酸的结构与组成特征，并掌握其生物学功能。
9. 熟悉核酸的紫外吸收特性、DNA 变性、复性及杂交等概念。

核酸 (nucleic acid) 是细胞中最重要的生物大分子之一，它的构件分子是核苷酸 (nucleotide)。天然存在的核酸可分为核糖核酸 (ribonucleic acid, RNA) 和脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 两大类。核酸与生长、发育、遗传及变异均有着密切关系。核酸与蛋白质一起构成生命最重要的物质基础。

第一节 核酸的一般概述

一、核酸的发现与研究简史

1868 年，瑞士青年外科医生 Miescher 首次从外伤渗出的脓细胞中分离得到核酸样物质，当初取名为核素，后来被证明是核蛋白。对于核酸的生物学功能，人们一直到 20 世纪 40 年代初才有所认识，肺炎链球菌转化试验和噬菌体转染试验的完成，最终确定 DNA 是遗传的物质基础。1953 年 Watson 和 Crick 提出的 DNA 双螺旋结构模型，为现代分子生物学的研究发展奠定了基础，是生物化学、分子遗传学和分子生物学发展历史上的巨大里程碑。1973 年美国斯坦福大学首次将两个基因在体外切割与连接，从而促进了遗传工程技术突飞猛进的发展。1985 年 PCR 技术的诞生更使核酸的研究进入了崭新的发展时期，也为 1986 年人类基因组计划的提出及随后的开展提供了坚实的技术保障。同时各种实验又证实，病毒中的 RNA 也可作为遗传信息的载体。核酸和蛋白质能传递表达生命活动的生物信息，具有复杂的结构和重要的功能。研究核酸尤其是 DNA 的结构与功能，有助于人们从分子水平了解和揭示生命现象的本质。20 世纪末，还发现许多新的具有特殊功能的 RNA，几乎涉及细

胞功能的各个方面。随着研究的越加深入，生命的诸多奥秘终将被破解，为人类最终战胜各种遗传性疾病或基因性疾病提供理论和强大的技术支持。

二、核酸有固定的分布区域，并具有重要的生物学功能

在真核细胞中由 DNA 和 RNA 组成的核酸，可在细胞核和细胞质中同时共存，但在细胞以外的细胞间质或细胞外液中都不存在。以自由状态存在的核酸在真核细胞中只有小部分，大部分都与蛋白质结合成复合体。DNA 存在于细胞核和线粒体内，DNA 的功能是储存生命活动的全部遗传信息，决定着细胞和个体的遗传型 (genotype)，是物种保持进化和世代繁衍的物质基础。RNA 在遗传信息的传递与表达中起着极为重要的作用，主要存在于细胞质，仅 10% 存在于细胞核；RNA 根据在蛋白质生物合成中的作用可分为三类：信使 RNA (messenger RNA, mRNA)、转运 RNA (transfer RNA, tRNA) 和核蛋白体 RNA (ribosomal RNA, rRNA)。

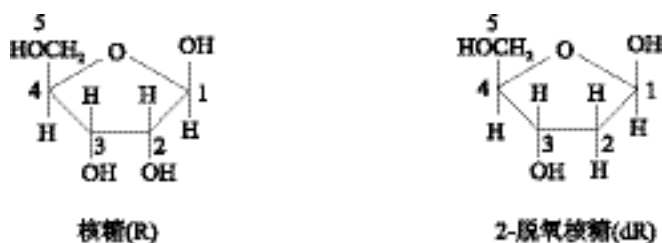
核酸和蛋白质都是生命的重要物质基础，二者在生物学功能方面有着不可分割的联系。DNA 是遗传信息的携带者，生物体的遗传特征主要由 DNA 决定；在 RNA 和蛋白质的参与下，DNA 可将遗传信息复制、转录并指导特定蛋白质的生物合成。因此，核酸对生长和发育、遗传和变异有重要意义。

第二节 核酸的化学组成

核酸的基本组成单位是核苷酸，主要元素有 C、H、O、N、P 等。其中 RNA 分子中 P 含量为 8.5%~9%，DNA 分子中 P 含量为 9%~10%。由于各种核酸分子中 P 的含量比较接近和恒定，故在测定组织中的核酸含量时常通过测 P 的含量来计算生物组织中核酸的含量。组成 RNA 的构件分子是核糖核苷酸 (ribonucleotide)，DNA 的构件分子是脱氧核糖核苷酸 (deoxyribonucleotide 或 deoxynucleotide)。核酸经核酸酶作用被水解成核苷酸，而核苷酸则由碱基、戊糖和磷酸三种成分连接而成。

一、戊糖是核苷酸组分之一

戊糖是核苷酸的重要组分。DNA 中的戊糖是 β -D-2-脱氧核糖，RNA 中的戊糖为 β -D-核糖，这种结构上的差异，使 DNA 分子在化学性质上比 RNA 分子更为稳定，从而被自然选择作为生物遗传信息的储存载体。为了与碱基中的碳原子编号相区别，组成核苷酸的核糖或脱氧核糖中的碳原子标以 C-1'、C-2' 等；两类戊糖的结构式及其碳位编号如下：



二、嘌呤和嘧啶是核苷酸的碱基组分

构成核苷酸的碱基均是含氮杂环化合物，主要有腺嘌呤 (adenine, A)、鸟嘌呤 (guanine, G)、胞嘧啶 (cytosine, C)、尿嘧啶 (uracil, U) 和胸腺嘧啶 (thymine, T) 五种碱基 (base)，分别属于嘌呤 (purine) 和嘧啶 (pyrimidine) 两类。腺嘌呤、鸟嘌呤和胞嘧啶既存在于 DNA 也存在于 RNA 分子中；尿嘧啶仅存在于 RNA 分子中，而胸腺嘧啶也只存在于 DNA 分子中。换言之，DNA 分子中的碱基成分为 A、G、C 和 T 四种，而 RNA 分子则主要由 A、G、C 和 U 四种碱基组成。这些碱基的结构式如图 2-1 所示。

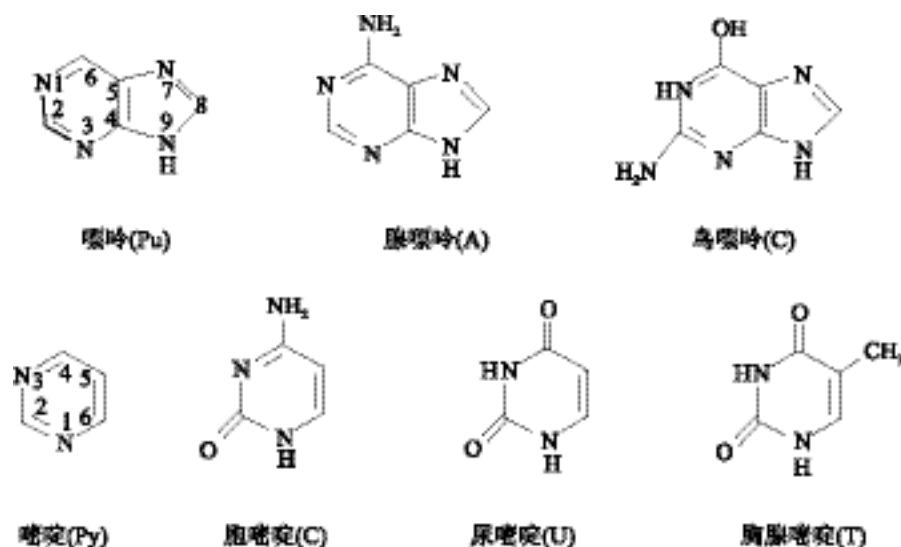
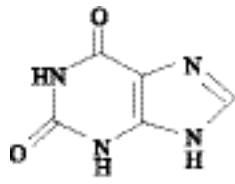


图 2-1 参与组成核酸的两类主要碱基结构式

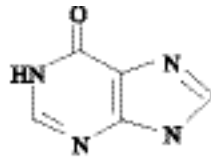
构成核酸的五种碱基，因酮基或氨基均位于杂环上氮原子的邻位，可受介质 pH 的影响而形成酮或烯醇两种互变异构体，或形成氨基亚氨基的互变异构体，这既是 DNA 双链结构中氢键形成的重要结构基础，又有潜在的基因突变的可能。两类碱基在杂环中均有交替出现的共轭双键，使嘌呤碱和嘧啶碱对波长 260nm 左右的紫外光都有较强吸收。利用这种紫外吸收特性测定 260nm 的吸光度值 ($A_{260\text{nm}}$)，已被广泛运用于核酸、核苷酸及核苷的定性和定量分析。

另外，RNA 及 DNA 合成后，因在 5 种碱基上发生共价修饰而形成稀有碱基。稀有碱基的种类有多种，如次黄嘌呤 (I) 和 7-甲基-鸟嘌呤 ($m^7\text{-G}$) 等，稀有碱基在 RNA 的组分中少量存在。

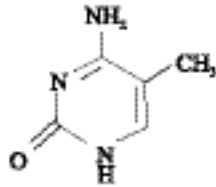
除上述核酸分子内存在的碱基外，医学上还常见到其他一些重要的碱基或其衍生物。例如天然存在的维生素 B_1 是一种嘧啶碱衍生物，在物质代谢中具有重要生理作用；5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤等常用作抗癌药；别嘌呤醇常用于治疗痛风症。以下所列是部分常见的稀有碱基结构式。



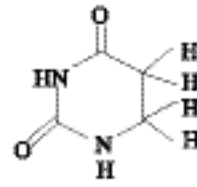
黄嘌呤(X)



次黄嘌呤(I)



5-甲基胞嘧啶(m⁵C)

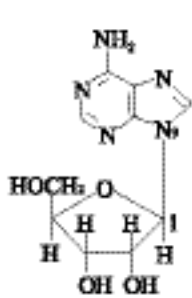


5,6-二氢尿嘧啶(hU)

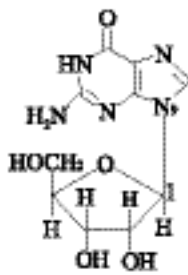
三、碱基与核糖连接形成核苷，核苷与磷酸连接形成核苷酸

(一) 碱基与核糖可连接形成核苷

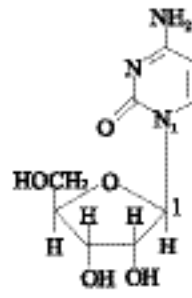
碱基与核糖或脱氧核糖通过糖苷键 (glycosidic bond) 缩合形成核苷或脱氧核苷。常以碱基第一个字母表示含相应碱基的核苷，以 d 表示含有脱氧核糖，如 A 可表示腺苷、dT 表示脱氧胸苷等。下面是部分核苷的结构式：



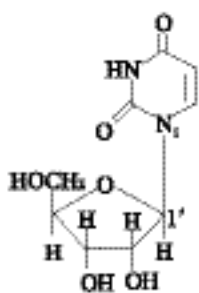
腺苷(AR)



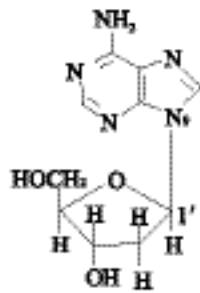
鸟苷(GR)



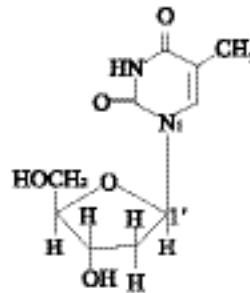
胞苷(CR)



尿苷(UR)



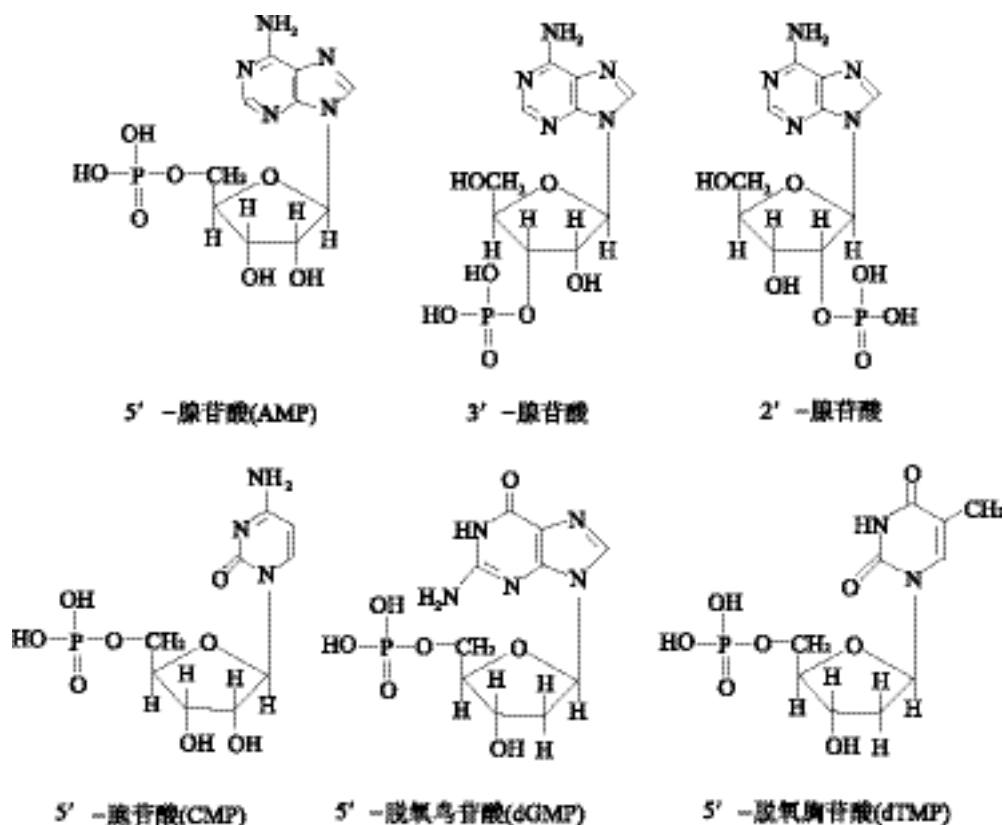
脱氧腺苷(AdR)



脱氧胸苷(TdR)

(二) 核苷与磷酸结合形成核苷酸

核苷酸是核苷的戊糖羟基与磷酸结合形成的磷酸酯。生物体内核苷酸多为5'-核苷酸，即磷酸基团位于核糖或脱氧核糖的第5位碳原子上，根据磷酸基团的数目不同，分别组成核苷一磷酸 (nucleoside monophosphate, NMP)，核苷二磷酸 (nucleoside diphosphate, NDP) 及核苷三磷酸 (nucleoside triphosphate, NTP)，再加上各碱基成分的不同，可构成了各种核苷酸的命名，例如腺苷一磷酸 (adenosine monophosphate, AMP)、鸟苷二磷酸 (guanosine diphosphate, ADP) 和脱氧胸苷三磷酸 (deoxythymidine triphosphate, dTTP) 等命名。



现将 DNA 和 RNA 中的碱基、核苷及相应的核苷酸组成及其中英文对照归纳于表 2-1 中。表中核苷和核苷酸名称均采用缩写，如腺苷代表腺嘌呤核苷、胞苷代表胞嘧啶核苷等。

表 2-1 参与构成核酸的主要碱基、核苷及相应的核苷酸

RNA		
碱基 base	核苷 ribonucleoside	核苷酸 nucleoside monophosphate (NMP) 或 ribonucleotide
腺嘌呤 adenine (A)	腺苷 adenosine	腺苷酸 (AMP) adenosine monophosphate*
鸟嘌呤 guanine (G)	鸟苷 guanosine	鸟苷酸 (GMP) guanosine monophosphate
胞嘧啶 cytosine (C)	胞苷 cytidine	胞苷酸 (CMP) cytidine monophosphate
尿嘧啶 uracil (U)	尿苷 uridine	尿苷酸 (UMP) uridine monophosphate

DNA		
碱基 base	脱氧核苷 deoxyribonucleoside	脱氧核苷酸 deoxyribonucleoside monophosphate (dNMP) 或 deoxyribonucleotide
腺嘌呤 adenine (A)	脱氧腺苷 deoxyadenosine	脱氧腺苷酸 (dAMP) deoxyadenosine monophosphate*
鸟嘌呤 guanine (G)	脱氧鸟苷 deoxyguanosine	脱氧鸟苷酸 (dGMP) deoxyguanosine monophosphate
胞嘧啶 cytosine (C)	脱氧胞苷 deoxycytidine	脱氧胞苷酸 (dCMP) deoxycytidine monophosphate
胸腺嘧啶 thymine (T)	胸苷 thymidine	脱氧胸苷酸 (dTMP) deoxythymidine monophosphate

* AMP 的英文名称还有: adenyate 或 adenylic acid; dAMP 的英文名称还有: deoxyadenyate 或 deoxyadenylic acid, 其他核苷酸和脱氧核苷酸亦有类似多种英文名称

四、ATP 等是体内重要的游离核苷酸

核苷酸除主要构成核酸的基本组成单位外, 体内游离的核苷酸还可参加各种代谢及其调节。如核苷三磷酸中的 ATP 和 UTP 等, 属于高能磷酸化合物, 起贮存及提供生物能的作用; 体内重要的核苷酸如下:

AMP CMP GMP UMP
ADP CDP GDP UDP
ATP CTP GTP UTP

脱氧核苷酸在符号前面再加个“d”以示区别, 如 dTMP、dTDP 和 dTTP。其结构通式如图 2-2 所示。

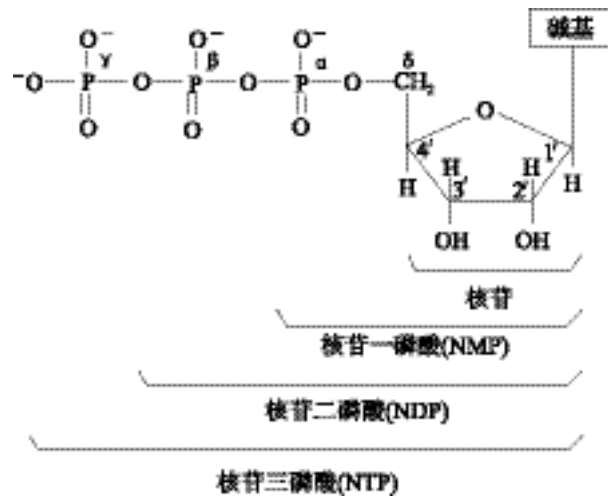


图 2-2 核苷和核苷酸的结构通式

体内另有两种重要的环化核苷酸, 即 3', 5'-环化腺苷酸 (3', 5'-cyclic adenosine monophosphate, 3', 5'-cAMP) 与 3', 5'-环化鸟苷酸 (3', 5'-cyclic guanosine monophosphate, 3', 5'-cGMP) (图 2-3), 是某些激素发挥作用的媒介物, 可作为激素的

第二信使，在细胞信号转导过程中起重要的调控作用。

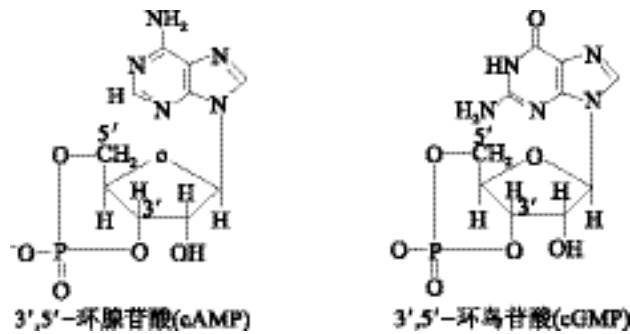


图 2-3 环化核苷酸的结构

核苷酸还参与某些生物活性物质的组成，如尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸（ NAD^+ ）和黄素腺嘌呤二核苷酸（FAD）等分子中都含有腺苷酸；它们都是重要酶的辅酶或辅基，在生物氧化和物质代谢中起着极其重要的作用。

第三节 DNA 的结构与功能

一、核苷酸序列是核酸分子的一级结构

核酸是由核苷酸以磷酸二酯键相连聚合而成的生物大分子，磷酸二酯键（phosphodiester linkage）是一个核苷酸的 C-3'-羟基和下一位核苷酸的 C-5'-磷酸之间脱水缩合形成的酯键（即 3', 5'-磷酸二酯键），故核苷酸或脱氧核苷酸的连接具有严格的方向性；核苷酸借此方式连接构成无分支结构的线性大分子，即多聚核苷酸（RNA）和多聚脱氧核苷酸（DNA）。核酸分子中相同的戊糖及磷酸交替连接成分子骨架，而四种不同碱基则伸展于骨架一侧。

DNA 的一级结构就是指 DNA 中脱氧核苷酸的排列顺序，即 A、T、C、G 的序列，而 RNA 的一级结构就是指 RNA 中的 A、U、C、G 的序列。值得指出的是，由于脱氧核苷酸之间或核苷酸之间的差异主要是碱基不同，因此碱基排列顺序即代表核苷酸排列顺序。DNA 和 RNA 对遗传信息的携带和传递，就是依靠核苷酸中的碱基序列变化而实现的。DNA 的书写方式可有多种，从简到繁如图 2-4 所示。每条 DNA 链都有方向性，一端为游离的 5'-磷酸基，称 5'末端；另一端为游离的核糖 3'-OH，称为 3'末端。习惯上将 5'-磷酸端作为核酸链的“头”，写在左侧，将 3'-OH 端作为“尾”，写在右侧。文献中一般采用简化式书写，如图 2-4 中③所示。RNA 的书写规则与 DNA 相同。

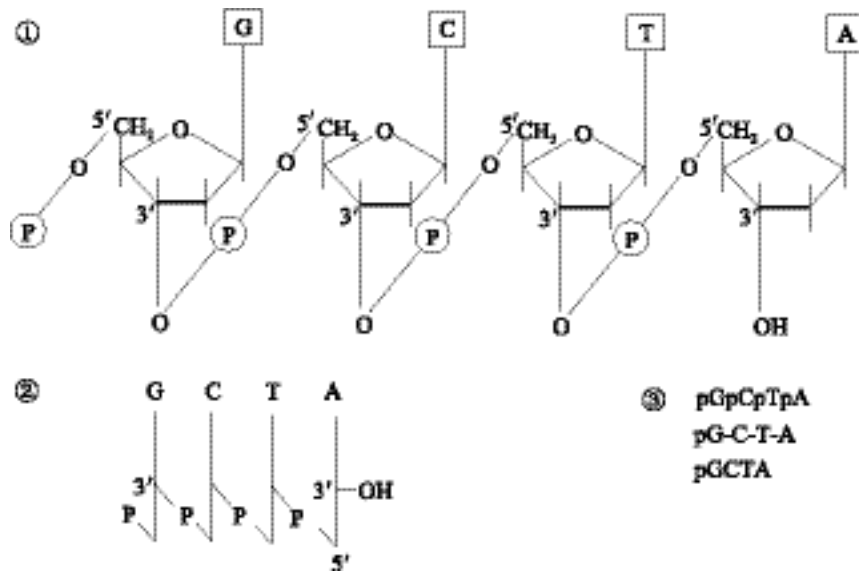


图 2-4 DNA 一级结构及其书写方式

核酸分子的大小常用碱基数目 (base 或 kilobase, kb, 用于单链 DNA 和 RNA) 或碱基对数目 (base pair, bp 或 kilobase pair, kbp, 用于双链 DNA 和 RNA) 表示。自然界 DNA 和 RNA 的长度多在几十至几万个碱基之间。小的核酸片段 (小于 50 bp) 常被称为寡核苷酸, 大于 50 个核苷酸组分的则被称为多核苷酸。DNA 的相对分子质量非常庞大, 通常一个染色体就是一条 DNA 分子, 不同种类的生物在其 DNA 的大小、组成和一级结构上差异甚大; 一般说来, 随着生物的进化, 遗传信息更加复杂, 细胞 DNA 的 bp 总数也随之相应增加。细胞内 RNA 的数量比 DNA 约多 10 倍, RNA 不仅种类很多, 且分子大小和结构也各不相同。DNA 和 RNA 的碱基序列的不同, 赋予了它们巨大的信息编码能力。

二、DNA 的二级结构是右手双螺旋

(一) DNA 碱基组成有重要特征

20 世纪 50 年代初期, 人们已经证实了 DNA 是遗传信息的携带者, DNA 分子中含有四种碱基: 腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶。1950 年前后, Chargaff 等人分析了多种不同生物 DNA 碱基组成, 发现所有 DNA 分子的碱基组成有一个共同的规律: ① 不同生物种属的 DNA 碱基组成不同; 但同一个体不同器官、组织的 DNA 的碱基组成相同; ② 某一特定生物其 DNA 碱基组成不随年龄、营养状况或环境因素而改变; ③ 腺嘧啶 (T) 和腺嘌呤 (A) 的数目相等, 胞嘧啶 (C) 和鸟嘌呤 (G) 的数目相等, 即 $A=T$, $G=C$; ④ 嘌呤碱总数和嘧啶碱总数也相等, 即 $A+G=T+C$ 。这种规律被称为 Chargaff 规则, 预示着 DNA 分子中的碱基 A 与 T, G 与 C 以互补配对方式存在的可能性, 对确定 DNA 分子的空间结构提供了有力的证据。此后, Rosalind Franklin 用 X 线衍射技术分析了 DNA 结晶, 显示出 DNA 是双链的螺旋形分子, 这一成果为 DNA 双螺旋结构提供了最直接的依据。

(二) DNA 双螺旋结构为现代分子生物学奠定基础

1953 年 Watson 与 Crick 综合了当时的研究成果, 正式提出了关于 DNA 二级结构的双

螺旋结构模型（图 2-5），这一结构模型的提出不仅能解释 DNA 的理化性质，又揭示了遗传信息稳定传递中 DNA 半保留复制的机理，成为分子生物学发展的里程碑，同时也为现代分子生物学奠定了基础，他们因此获得了 1962 年诺贝尔生理学 and 医学奖。DNA 双螺旋结构模型的主要特点如下：

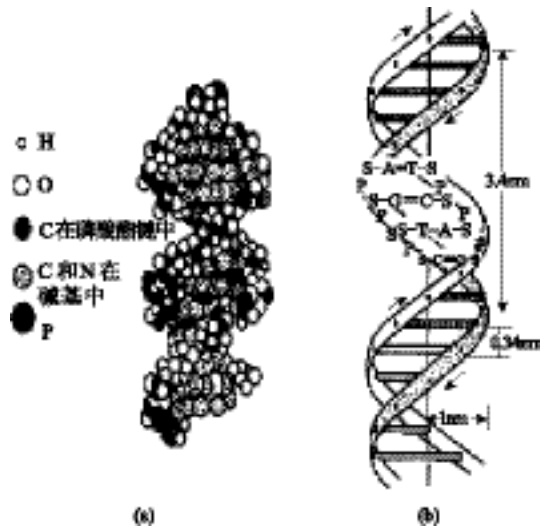


图 2-5 DNA 分子双螺旋结构模型 (a) 及其图解 (b)

1. DNA 是反向平行双链结构。DNA 分子由两条平行且方向相反的多聚脱氧核糖核苷酸链组成，一条链为 $3' \rightarrow 5'$ 走向，另一条链为 $5' \rightarrow 3'$ 走向，以一共同轴为中心缠绕成右手螺旋。双螺旋表面形成深沟和浅沟，这些沟状结构是蛋白质识别 DNA 的碱基序列并发生相互作用的结构基础。

2. 严格的碱基配对使双链结构互补。在 DNA 双链结构中，亲水的脱氧核糖基和磷酸基骨架位于双链的外侧，而碱基位于内侧，两条链的碱基之间以氢键相结合。由于碱基结构的不同，其形成氢键的能力不同，因此产生了固有的配对方式，即 A-T 配对，形成两个氢键；G-C 配对，形成三个氢键。这种配对关系也称为碱基互补（图 2-6），因而每个 DNA 分子中的两条链互为互补链。

3. 疏水力和氢键维系 DNA 双螺旋结构的稳定。DNA 双链结构的稳定横向由两条链互补碱基间的氢键维系，纵向则靠碱基平面间的疏水性堆积力维持。从总能量意义上讲，纵向的碱基堆积力对于双螺旋的稳定性更为重要。

4. 螺旋的直径为 2nm，由磷酸及脱氧核糖交替相连而成的亲水骨架位于螺旋的外侧而疏水的碱基对则位于螺旋的内侧。各碱基平面与螺旋轴垂直，相邻碱基之间的堆积距离为 0.34nm，并有一个 36° 的旋转夹角；因此，螺旋旋转一圈刚好为 10 个碱基对，螺距为 3.4nm。

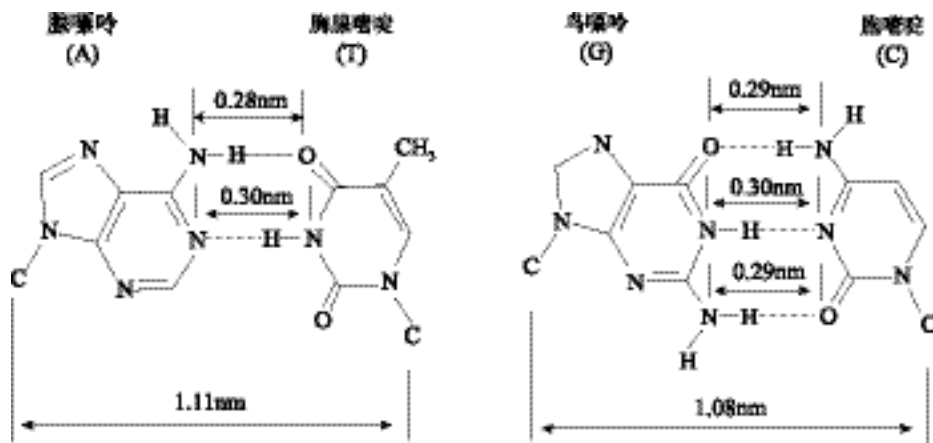


图 2-6 碱基配对示意图

由于自身序列、温度、溶液的离子强度或相对湿度不同，DNA 螺旋结构的沟的深浅、螺距、旋转角等都会发生一些变化。因此，双螺旋结构存在多样性，DNA 的右手双螺旋结构是自然界 DNA 存在的最普遍方式。生理条件下绝大多数 DNA 均以 B 构象存在，即 Watson 和 Crick 所提出的模型结构。1979 年 Rich 等人发现人工合成 DNA 片段主链呈 Z 字形左手螺旋，故称 Z-DNA。后续实验证明这种结构在天然 DNA 分子中同样存在，另外还有 A-DNA 的存在（图 2-7）。生物体内不同构象的 DNA 在功能上有所差异，这对基因表达的调节和控制是非常重要的。

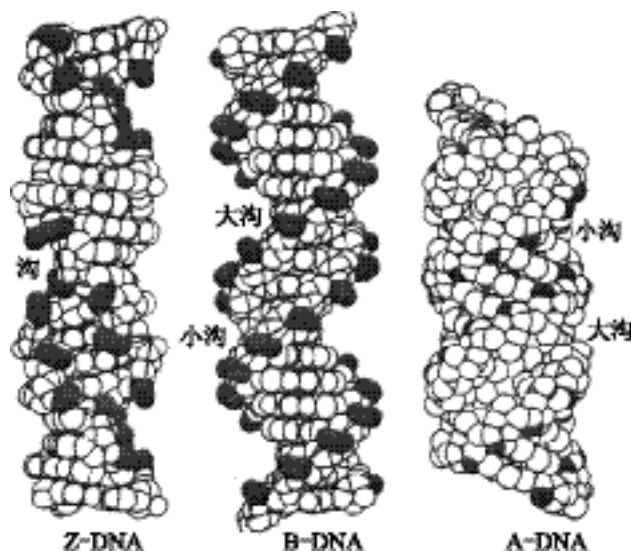


图 2-7 不同类型的 DNA 双螺旋结构

无论 DNA 双股螺旋类型如何，DNA 分子中的两条多核苷酸链的碱基组成总是遵循碱基互补规律的。因此，只要 DNA 分子中一条多核苷酸链的脱氧核苷酸排列顺序确定了，另一条链中的核苷酸排列顺序也就随之确定。