

泸州医学院

生物化学与分子生物学精品课程

第二章 核酸的结构与功能

制作：刘友平 审校：李洪

(2009年4月)

一、内容提示：

本章主要讨论核酸的组成与分类，核苷酸及其连接，DNA的结构与功能以及RNA的结构与功能。

(一) 核酸的组成与分类：

核酸(nucleic acid)是一类含磷的高分子化合物，它是细胞的主要成分之一，具有重要的生理功能。核酸分为两大类：脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA)。核酸的基本结构单位是核苷酸(nucleotide)。核苷酸由磷酸、戊糖及含氮碱基三种成分组成。其中由碱基与戊糖形成的 β -糖苷统称为核苷(nucleoside)，而核苷的磷酸酯便称为核苷酸。参与核苷酸组成的含氮碱基主要有五种(A、G、C、T、U)，戊糖有两种(D-核糖与D-脱氧核糖)。嘌呤碱(purine)中的原子编号为1~9，嘧啶碱(pyrimidine)中的原子编号为1~6，核糖与脱氧核糖中的原子编号为1'~5'。DNA由四种脱氧核糖核苷酸组成，RNA由四种核糖核苷酸组成。

(二) 核苷酸的连接：

各核苷酸间通过3',5'-磷酸二酯键(phosphodiester bond)按照一定的排列顺序连接成长链状，即多核苷酸链，链的方向是5'→3'。核苷酸在多核苷酸链上的排列顺序便是核酸的一级结构。

(三) DNA的结构与功能：

与蛋白质一样，核酸也具有一定的空间结构。DNA较为典型的空间结构是由Watson和Crick阐明的双螺旋结构(double helix)，这是DNA二级结构的重要形式。DNA双螺旋结构中的两条链间存在严格的碱基互补配对规律，这在分子遗传学上有极其重要的意义，即DNA的主要生物学功能是携带和传递遗传信息，它通过半保留复制将全部遗传信息传给子细胞，体现了遗传过程的相对保守性。其次还参与转录、逆转录、重组、修复、抑制和修饰等生命活动有关的过程。

(四) RNA的结构与功能：

RNA分子一般都是单链。单链的RNA分子可通过自身回折使链中A和U，G和C之间分别配对，形成局部双螺旋结构，这是各种RNA空间结构的共同特征。由于RNA分子中碱基配对是分子链自身回折形成的，且仅仅只是局部，故不存在严格的碱基互补关系。细胞内含有三种主要的RNA：信使RNA(mRNA)，转移RNA(tRNA)及核糖体RNA(rRNA)。除此之外，在真核细胞中还含有核不均一RNA(HnRNA)，小分子核RNA(snRNA)等。

1. mRNA的结构与功能：

在真核生物mRNA的结构中，5'端均具有一帽子结构，帽子通常是7-甲基鸟苷三磷酸

泸州医学院

生物化学与分子生物学精品课程

($m^7G^5ppp^5Nm$ 或 $m^7G^5ppp^5NmpNm$), 即 m^7GTP 。3' 末端大多都有一段多聚腺苷酸(polyA)的尾部。而原核生物 mRNA 未发现有这种特殊的首、尾结构。mRNA 的生物学功能是作为蛋白质合成的模板, 即把 DNA 的碱基顺序 (遗传信息), 按照碱基互补的原则, 抄录为 mRNA 并转送至核糖体, 用以决定蛋白质合成的氨基酸顺序。mRNA 分子上每三个核苷酸为一组, 可决定多肽链上一个氨基酸的位置, 故称此三联体为遗传密码 (codon, 密码子)。生物界中共有 64 个密码子, 地球上从最低等的病毒直到人类, 绝大多数生物的蛋白质合成都使用同一套密码。其中起始密码子有两个: AUG 与 GUG, 终止密码子有三个: UAA、UAG、UGA。

2. tRNA 的结构与功能:

tRNA 是细胞内分子量最小的一类核酸, 目前其二级结构、三级结构已基本上被阐明。tRNA 的二级结构为其多核苷酸链自身折叠形成的“三叶草”形 (cloverleaf pattern) 结构, 使其整个分子可分为 5 个部分: ① 氨基酸臂, 其功能为携带氨基酸; ② 反密码臂, 其功能为识别 mRNA 上的密码; ③ 二氢尿嘧啶臂(DHU), 其功能为识别氨基酰 tRNA 合成酶; ④ 假尿苷-胸苷臂(T ψ C 臂), 其功能为识别核糖体 rRNA; ⑤ 额外环(可变臂)。tRNA 的三级结构是倒“L”形。其生物学功能是在蛋白质生物合成中起着转运特异氨基酸和辨认密码参与肽链合成的作用。

3. rRNA 的结构与功能:

rRNA 在细胞内并不单独执行其功能, 它与核糖体蛋白共同构成核糖体。原核生物和真核生物的核糖体(又称核蛋白体)均由易于解聚的大、小两个亚基组成, 其功能是在蛋白质生物合成中起“装配器”作用, 即在 mRNA 和 tRNA 参与下将氨基酸装配成多肽链。目前研究发现, 各种 rRNA 二级结构含有多个局部双螺旋区和环状突起, 分子越大, 双螺旋区的数目越多; 其三级结构尚未确定。

(五) 核酸的理化性质及其应用:

核酸是线性高分子化合物, 因而粘度较大; 其分子中的含氮碱基对 260nm 的紫外光有吸收, 故可用于核酸含量的测定。

在某些理化因素的作用下, DNA 的双螺旋结构被破坏而变为单链, 称为 DNA 的变性(denaturation)。变性 DNA 对 260nm 紫外光的吸收度增加, 称为增色效应。DNA 变性时, 其 260nm 紫外吸收值增加达到 50%时的温度称为变性温度 (T_m)。 www.med126.com T_m 的高低主要与 DNA 分子中 G+C 的含量成正相关。

变性后的单链 DNA, 在适当的条件下进行保温处理 (退火, annealing), 则可重新形成原来的双螺旋结构, 称为复性。根据这一原理, 如将来源不同的单链核酸 (DNA 或 RNA) 进行退火处理, 只要它们具有大致互补的碱基序列, 也可形成双螺旋结构, 这种操作称为核酸分子杂交 (hybridization)。

二、重点解析:

(一) 核酸的组成及书写方式:

1. 核苷酸各组分间的连接方式:

泸州医学院

生物化学与分子生物学精品课程

核苷酸由磷酸、戊糖及含氮碱基三种分子组成，其各组分间的连接方式为：首先由含氮碱基与戊糖(核糖或脱氧核糖)以糖苷键连接构成核苷，即戊糖 C-1' 与嘌呤碱 N-9(C1',N9-β-糖苷键)或嘧啶碱 N-1(C1',N1-β-糖苷键)相连接，该糖苷键属于 N-糖苷键；然后由核苷的戊糖与磷酸以酯键连接构成核苷酸，即核糖 C-2'、C-3'、C-5' 位的羟基和脱氧核糖 C-3'、C-5' 位羟基均可以与磷酸形成酯键。所生成的核苷酸分别称为 2'-核苷酸、3'-核苷酸和 5'-核苷酸。其中以 5'-核苷酸最常见，通常所讲的核苷酸就是指这类核苷酸。戊糖为脱氧核糖者称为脱氧核糖核苷酸，戊糖为核糖者称为核糖核苷酸。

2. 多核苷酸链中单核苷酸的连接方式、链的方向及书写方式：

由数量巨大的各种脱氧核糖核苷酸(或核糖核苷酸)按照一定排列顺序通过 3',5'-磷酸二酯键连接构成多核苷酸链，即 DNA 与 RNA 中单核苷酸间的连接键都是 3',5'-磷酸二酯键。具体连接方式为前一个核苷酸的 3'-羟基与后一个核苷酸的 5'-磷酸基脱水形成共价键，把核苷酸彼此连接起来。可见，多核苷酸链的主链(或骨架)是由戊糖与磷酸交替排列连接构成，碱基为多核苷酸链的特征性侧链基团。多核苷酸链具有方向性，存在 5'-末端和 3'-末端，其方向是由 5'端至 3'端(5'→3')。书写时，5'端通常写在左侧或上方，3'端通常写在右侧或下方；构成主链的戊糖和磷酸基可以省略。

(二) DNA 双螺旋结构的特征及其意义：

DNA 双螺旋结构是核酸二级结构的重要形式，其结构特征具有重要的生物学意义。① DNA 分子由两条反向平行的多核苷酸链组成，两条链围绕共同的轴心盘绕成右手双螺旋分子。螺旋一圈含 10 个核苷酸，螺距为 3.4nm，直径为 2nm。这种结构使 DNA 呈线形的刚性分子。② 两条链通过链间碱基之间形成氢键并联起来，形成氢键的碱基称互补碱基。DNA 分子中碱基互补规律是 A 对 T，G 对 C，A 与 T 之间形成 2 个氢键(A=T)，G 与 C 之间形成 3 个氢键(G≡C)。氢键连接的 2 个碱基称为碱基对，碱基对的互补关系使两条链彼此成为互补链。碱基互补规律是遗传信息传递的物质基础。③ 脱氧核糖与磷酸交替连接形成 DNA 的主链，它们暴露在双螺旋分子的表面，使核酸呈酸性和亲水性；疏水的碱基则位于分子内部，重叠形成碱基堆。④ 由于碱基对占据的空间不对称，使双螺旋分子表面形成凹陷的沟(大沟和小沟)，这是碱基与其它分子接触的门户。辨认碱基信息的酶或攻击碱基的致癌物或抗癌物，可通过 DNA 的沟与碱基相互作用。⑤ 维持双螺旋稳定的力主要是氢键和重叠碱基之间的碱基堆砌力。破坏氢键的理化因素同时也破坏碱基堆砌力，使双链解开，称为 DNA 变性。

(三) DNA 与 RNA 的区别：

DNA 与 RNA 的主要区别存在以下几个方面：

(1) 存在部位：在真核生物中，DNA 主要存在于细胞核的染色体中，线粒体中有少量；RNA 开始在核内合成，以后大部分(90%)转移至胞液中，仅少量仍留于细胞核内，用于传递 DNA 的信息。

(2) 分子组成：DNA 的戊糖为脱氧核糖，碱基为 A、T、G、C；RNA 的戊糖为核糖，碱基为 A、U、G、C。二者在分子组成上的区别见下表：

泸州医学院

生物化学与分子生物学精品课程

	DNA	RNA
嘌呤碱	A、G	A、G
嘧啶碱	C、T	C、U
戊糖	脱氧核糖	核糖
磷酸	磷酸	磷酸
组成单位	脱氧腺苷酸(dAMP)	腺苷酸(AMP)
	脱氧鸟苷酸(dGMP)	鸟苷酸(GMP)
	脱氧胞苷酸(dCMP)	胞苷酸(CMP)
	脱氧胸苷酸(dTMP)	尿苷酸(UMP)

(3) 分子结构: DNA 的一级结构是由几千至几千万个脱氧核糖核苷酸通过磷酸二酯键相连接, 其二级结构是双螺旋结构; RNA 的一级结构是由几十至几千个核糖核苷酸相连而成, 二级结构是自身折叠卷曲成局部双螺旋结构, 形似发夹形, tRNA 的典型二级结构为“三叶草”形结构。

(4) 生理功能: DNA 分子带有大量遗传信息, 是遗传信息的储存体和携带者; RNA 主要有三种, mRNA 是蛋白质合成的直接模板, tRNA 为转运活化氨基酸的工具, rRNA 主要参与构成蛋白质合成的场所。

三、知识扩展:

(一) tRNA “三叶草”形二级结构的特点及其意义:

tRNA 多核苷酸链自身折叠形成“三叶草”形 (cloverleaf pattern) 的二级结构, 大约有 50% 的碱基可按 A=U、G≡C 配对形成氢键, 碱基不能配对形成氢键的区域则形成 4 个环状突起, 因此整个分子可分为五个部分。

(1) 氨基酸臂: 是由 7 对核苷酸组成的双螺旋区, 其 3'-末端为-CCA 顺序, 为氨基酸接受端。其功能是接受活化的氨基酸, 后者以酯键连接于-CCA 末端腺苷酸核糖的 3'或 2'-OH 上。

(2) 二氢尿嘧啶臂(DHU 臂): 由 8~12 个核苷酸组成, 其中有 3~4 对核苷酸构成短双螺旋区柄部。该部分因通常含有 2 个二氢尿嘧啶, 故此得名。其功能与氨基酰 tRNA 合成酶的结合有关。

(3) 反密码臂: 包括由 5 对核苷酸构成的双螺旋区反密码柄和 7 个核苷酸围成的反密码环。此环中央的 3 个核苷酸组成反密码子, 它与 mRNA 上相应密码子的 3 个核苷酸反平行互补。反密码环辨认密码子的功能即由反密码子来实现。

(4) 额外环: 又称可变臂, 由 3~18 个核苷酸组成, 不同的 tRNA 具有大小不同的额外环, 是 tRNA 分类的重要指标, 但其功能未知。

(5) 假尿苷-胸苷臂(T Ψ C 臂): 包括由 5 对核苷酸构成的双螺旋区 T Ψ C 柄和 7 个核苷酸围成的 T Ψ C 环, 此环因存在 T Ψ CG 序列而得名, 这个序列与核蛋白体中 5S rRNA 的 GAAC 序列互补, 对于 tRNA

泸州医学院

生物化学与分子生物学精品课程

与核蛋白体的结合起着重要作用。

(二) DNA 的变性、复性及其应用:

1. DNA 的变性:

凡能破坏氢键和疏水键的理化因素,如加热、极端的 pH 值、一定浓度的极性有机溶剂(尿素、甲酰胺)等,可使 DNA 双链解开,空间结构破坏,称 DNA 变性。变性后的 DNA 理化性质发生改变。其中较为重要的改变有:① 溶液粘度显著降低:DNA 是一个很长的刚性分子,即高度不对称分子,其溶液粘度很大。变性后,双链解开,而单链没有断裂,但卷曲成无规线团,其不对称性大大减少,故粘度明显下降。② 增色效应:DNA 变性后对 260nm 紫外光吸收增加,这种现象称为增色效应。这是因为当两条链形成双螺旋时具有强烈紫外光吸收的碱基紧密堆砌在一起,对紫外光的吸收相对减少;而变性后,解除了碱基的紧密堆砌,故对紫外光吸收增加。这一现象很有实用价值,可用它来跟踪 DNA 变性过程。如在热变性过程中,将温度改变对 260nm 吸光度作图,可得到一条 S 形曲线,称为溶解曲线。通常把 DNA 变性 50% 时的温度称为溶解温度(T_m),即变性温度,相当于 S 形溶解曲线中点的温度。不同的 DNA 因其碱基组成不同而有不同的 T_m 值, T_m 值大小与 DNA 的 G+C 含量百分数成正比关系,即 $(G+C)\% = (T_m - 69.3) \times 2.44$ 。所以通过测定 T_m 值可以粗略推算 DNA 的碱基组成情况。

2. DNA 的复性与核酸分子杂交:

变性 DNA 在去除变性因素后,如条件适宜,可重新形成双螺旋结构,称为 DNA 复性。DNA 变性后,通过维持适当的温度使其复性的处理过程称为退火。因此,利用变性作用将 DNA 双链解开,加入不同来源 DNA 单链或 RNA 链,经过退火处理,不同来源的两条多核苷酸链依靠碱基互补关系形成杂种双螺旋,这一过程称为核酸分子杂交 (hybridization)。

目前分子杂交技术已广泛应用于核酸结构与功能分析。利用杂交方法可求出某种基因的出现频率和异源 DNA 的相似程度。配合电镜方法还可以了解基因的组织 and 基因定位。用 DNA 与 RNA 杂交方法可探测基因插入顺序的长短和数量。利用杂交技术也可测定突变基因,用于遗传病的产前诊断等。目前,在核酸分子杂交的基础上发展起来的一种用于研究和诊断的新技术称为探针技术 (probe),即在分子杂交时,将一段已知的核苷酸聚合体单链用放射性同位素,如 ^{32}P 、 ^{35}S 或生物素标记其末端或全链作为探针。这样,通过同位素的放射自显影或生物素的化学显色,就可判断探针是否与被测的 DNA 发生了杂交。有杂交现象则说明被测 DNA 与探针有同源性。探针技术在临床诊断上已开始应用,如想知道某种病毒是否和某种肿瘤有关,可把病毒的 DNA 制成探针,从肿瘤组织提取 DNA,与探针杂交处理后,有杂交双链的出现,就说明两种 DNA 之间存在同源性。