

第九章 核酸降解和核苷酸代谢

生物体内的核酸，多以核蛋白的形式存在。核蛋白在酸性条件下可被分解为核酸和蛋白质。核酸在核酸酶的作用下，水解为寡核苷酸或单核苷酸，单核苷酸可进一步降解为碱基、戊糖和磷酸（图 9-1）。生物体也能利用一些简单的前体物质合成嘌呤核苷酸和嘧啶核苷酸。核苷酸不仅是核酸的基本成分，而且也是一类生命活动不可缺少的重要的物质。

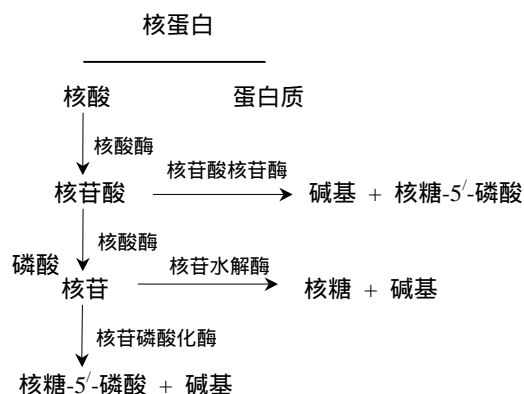


图 9-1 核酸的酶促降解过程

第一节 核酸的酶促降解

核酸分解的第一步是水解核苷酸之间的磷酸二酯键，在高等动植物中都有作用于磷酸二酯键的核酸酶。不同来源的核酸酶，其专一性、作用方式都有所不同。有些核酸酶只能作用于 RNA，称为核糖核酸酶 (RNase)，有些核酸酶只能作用于 DNA，称为脱氧核糖核酸酶 (DNase)，有些核酸酶专一性较低，既能作用于 RNA 也能作用于 DNA，因此统称为核酸酶 (nuclease)。根据核酸酶作用的位置不同，又可将核酸酶分为核酸外切酶 (exonuclease) 和核酸内切酶 (endonuclease)。

一、核酸外切酶

有些核酸酶能从 DNA 或 RNA 链的一端逐个水解下单核苷酸，所以称为核酸外切酶。只作用于 DNA 的核酸外切酶称为脱氧核糖核酸外切酶，只作用于 RNA 的核酸外切酶称为核糖核酸外切酶；也有一些核酸外切酶可以作用于 DNA 或 RNA。核酸外切酶从 3' 端开始逐个水解核苷酸，称为 3' → 5' 外切酶，例如，蛇毒磷酸二酯酶即是一种 3' → 5' 外切酶，水解产物为 5' 核苷酸；核酸外切酶从 5' 端开始逐个水解核苷酸，称为 5' → 3' 外切酶，例如：牛脾磷酸二酯酶即是一种 5' → 3' 外切酶，水解产物为 3' 核苷酸。

二、核酸内切酶

核酸内切酶催化水解多核苷酸内部的磷酸二酯键。有些核酸内切酶仅水解 5' 磷酸二酯键，把磷酸基团留在 3' 位置上，称为 5'-内切酶；而有些仅水解 3'-磷酸二酯键，把磷酸基团留在 5' 位置上，称为 3'-内切酶（图 9-2）。还有一些核酸内切酶对磷酸酯键一侧的碱基有专一要求，例如胰脏核糖核酸酶（RNaseA）即是一种高度专一性核酸内切酶，它作用于嘧啶核苷酸的 C₃ 上的磷酸根和相邻核苷酸的 C₅ 之间的键，产物为 3' 嘧啶单核苷酸或以 3' 嘧啶核苷酸结尾的低聚核苷酸（图 9-3）。

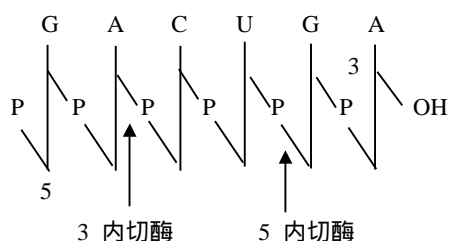


图 9-2 核酸内切酶的水解位置

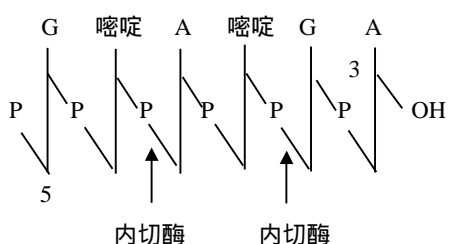


图 9-3 胰脏核酸内切酶的水解位置

20 世纪 70 年代，在细菌中陆续发现了一类核酸内切酶，能专一性地识别并水解双链 DNA 上的特异核苷酸顺序，称为限制性核酸内切酶（restriction endonuclease，简称限制酶）。当外源 DNA 侵入细菌后，限制性内切酶可将其水解切成片段，从而限制了外源 DNA 在细菌细胞内的表达，而细菌本身的 DNA 由于在该特异核苷酸顺序处被甲基化酶修饰，不被水解，从而得到保护。

近年来，限制性核酸内切酶的研究和应用发展很快，目前已提纯的限制性核酸内切酶有 100 多种，许多已成为基因工程研究中必不可少的工具酶（可参阅第三章部分内容）。

限制性核酸内切酶可被分成三种类型。I 型和 II 型限制酶水解 DNA 需要消耗 ATP，全酶中的部分亚基有通过在特殊碱基上补加甲基基团对 DNA 进行化学修饰的活性。III 型限制酶水解 DNA 不需要 ATP 也不以甲基化或其它方式修饰 DNA，能在所识别的特殊核苷酸顺序内或附近切割 DNA。因此，被广泛用于 DNA 分子克隆和序列测定。部分限制性核酸内切酶来源及识别位点见表 9-1

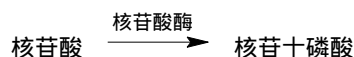
表 9-1 限制性核酸内切酶来源及识别位点

酶名称	来源	识别位点
EcoR	EcoR	-N-C-T-T-A-A G-N-5 5 N-G A-A-T-T-C-N-
BamH	Bacillus amyloliquefaciensH	-N-C-C-T-A-G G-N-5 5 N-G G-A-T-C-C-N-
Hind	Hemophilus influenzaeD	-C-A-Pu Py-T-G-5 5 G-T-Py Pu-A-C-
Hind	Hemophilus influenzaeD	-T-T-C-G-A A-5 5 A A-G-C-T-T-
Hap	Hemophilus influenzae	-N-G-G-C C-N-5 5 N-C C-G-G-N-

第二节 核苷酸的酶促降解

一、核苷酸的降解

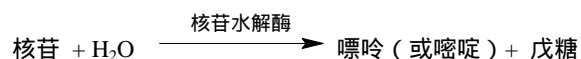
核酸经核酸酶降解后产生的核苷酸还可以进一步分解。生物体内广泛存在的核苷酸酶（磷酸单酯酶）可催化核苷酸水解，产生磷酸和核苷。核苷酸酶的种类很多，特异性也各不相同。有些非特异性的核苷酸酶对所有核苷酸都能作用，无论磷酸基在核苷的 2、3 还是 5 位置上。有些核苷酸酶具有特异性，如有的只能水解 3'-核苷酸，称为 3'-核苷酸酶，有的只能水解 5'-核苷酸，称为 5'-核苷酸酶。



核苷酸酶水解产生的核苷可在核苷酶的作用下进一步分解为戊糖和碱基。核苷酶的种类也很多，按底物不同可分为嘌呤核苷酶和嘧啶核苷酶。按催化反应的不同可分为核苷磷酸化酶（nucleoside phosphorylase）和核苷水解酶（nucleoside hydrolase）。核苷磷酸化酶催化核苷分解生成含氮碱基和戊糖的磷酸酯。此酶对两种核苷都能起作用。



核苷水解酶将核苷分解生成含氮碱和戊糖，此酶对脱氧核糖核苷不起作用。



核苷酸分解产生的嘌呤碱和嘧啶碱在生物体中还可以继续进行分解。

二、嘌呤的降解

在生物体内，嘌呤可进一步发生降解。首先，嘌呤在脱氨酶的作用下脱去氨基，腺嘌呤脱氨后生成次黄嘌呤 (hypoxanthine)，然后，在黄嘌呤氧化酶 (xanthine oxidase) 作用下，将次黄嘌呤氧化成黄嘌呤。黄嘌呤氧化酶是一种黄素蛋白，含 FAD、铁和钼；鸟嘌呤脱氨后直接生成黄嘌呤。黄嘌呤进一步氧化为尿酸 (uric acid)，尿酸在尿酸氧化酶 (urate oxidase, 一种含铜酶) 作用下降解为尿囊素 (allantoin) 和 CO_2 ，尿囊素在尿囊素酶 (allantoinase) 作用下水解为尿囊酸 (allantoic acid)，尿囊酸进一步在尿囊酸酶 (allantoicase) 作用下

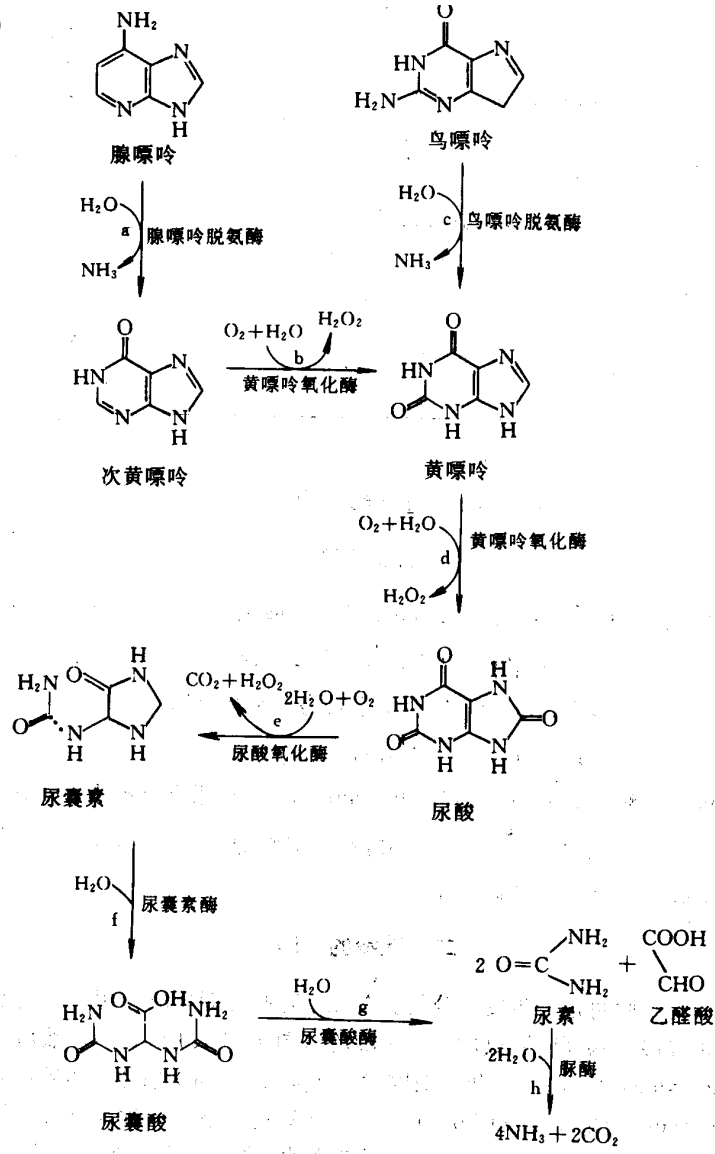


图 9-4 嘌呤碱基的降解过程

不同种类生物降解嘌呤碱基的能力不同，因而代谢产物的形式也各不相同。人类、灵长类、鸟类、爬虫类以及大多数昆虫体内缺乏尿酸酶，故嘌呤代谢的最终产物是尿酸；人类及灵长类以外的其它哺乳动物体内存在尿酸氧化酶，可将尿酸氧化为尿囊素，故尿囊素是其体内嘌呤代谢的终产物；在某些硬骨鱼体内存在尿囊素酶，可将尿囊素氧化分解为尿酸；在大多数鱼类、两栖类中的尿酸酶，可将尿酸进一步分解为尿素及乙醛酸；而氨是甲壳类、海洋无脊椎动物等体内嘌呤代谢的终产物，因这些动物体内存在脲酶，可将尿素分解为氨和二氧化碳。

植物、微生物体内嘌呤代谢的途径与动物相似。尿囊素酶、尿酸酶和脲酶在植物体内广泛存在，当植物进入衰老期，体内的核酸会发生降解，产生的嘌呤碱进一步分解为尿酸，然后从叶子内运输到贮藏器官，而不是排出体外，可见植物有保存和同化氨的能力。微生物一般能将嘌呤类物质分解为氨、二氧化碳及有机酸，如甲酸、乙酸、乳酸等。

此外，嘌呤的降解也可在核苷或核苷酸的水平上进行（图 9-5）：

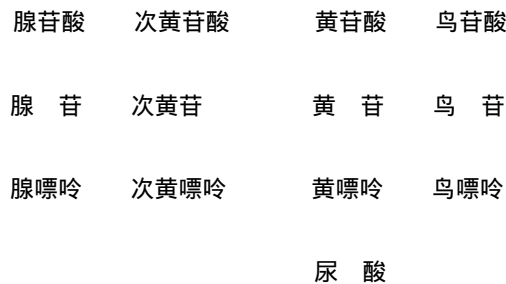


图 9-5 嘌呤类在核苷酸、核苷和碱基三个水平上的降解

三、嘧啶的降解

嘧啶碱可以在生物体内进一步被降解。嘧啶碱的分解过程比较复杂，包括水解脱氨基作用、氨化、还原、水解和脱羧基作用等。不同种类生物分解嘧啶的过程不同，在大多数生物体内嘧啶的降解过程如图 9-6 所示。

胞嘧啶先经水解脱氨转变为尿嘧啶。尿嘧啶或胸腺嘧啶降解的第一步是加氢还原反应，生成的产物是二氢尿嘧啶或二氢胸腺嘧啶，然后经连续两次水解作用，前者产生 CO_2 、 NH_3 和 β -丙氨酸，后者产生 CO_2 、 NH_3 和 β -氨基异丁酸。 β -丙氨酸和 β -氨基异丁酸脱去氨基转变为相应的酮酸，并入三羧酸循环进一步代谢。 β -丙氨酸亦可用于泛酸和辅酶 A 的合成。

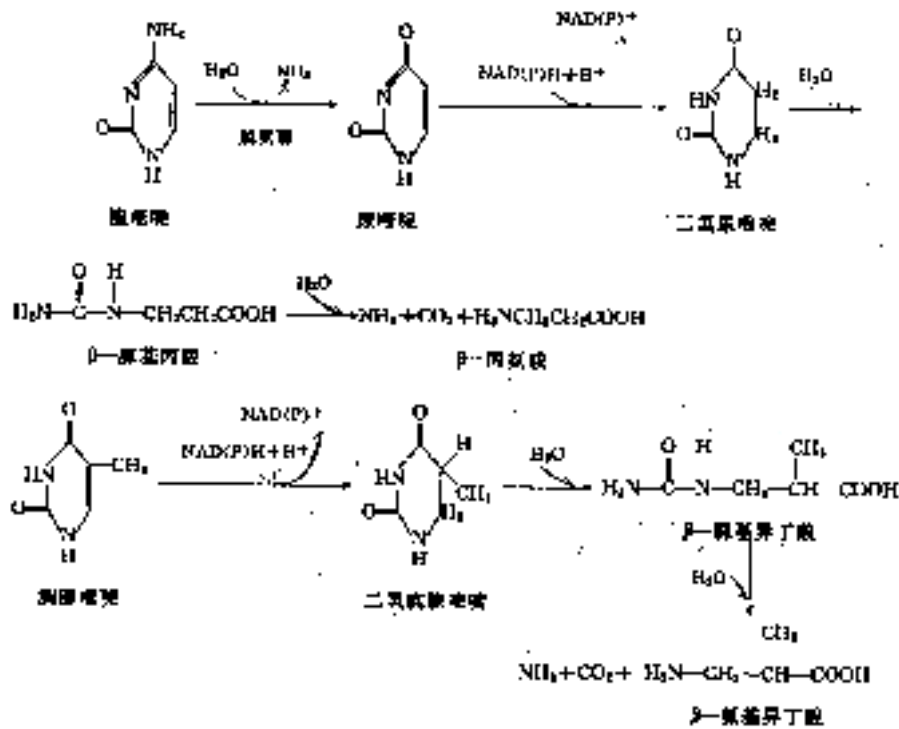


图 9-6 嘧啶碱的分解代谢

第三节 核苷酸的生物合成

生物体内的核苷酸，可以直接利用细胞中自由存在的碱基和核苷合成，也可以利用氨基酸和某些小分子物质为原料，经一系列酶促反应从头合成核苷酸。在不同的组织中，两条途径的重要性不同。

一、嘌呤核苷酸的生物合成

嘌呤核苷酸的合成有两类基本途径，一类是从氨基酸、磷酸核糖、 CO_2 和 NH_3 这些化合物合成核苷酸。由于此途径不经过碱基、核苷的中间阶段，所以又称为“从头合成”途径。另一类途径是由核酸分解产生的嘌呤碱基和核苷转变成核苷酸，此途径又称为“补救”途径。从头合成是生物体合成嘌呤核苷酸的主要途径。

(一)“从头合成”途径

1. 嘌呤碱的合成

除某些细菌外，几乎所有的生物体都能合成嘌呤碱。此途径主要是以 CO_2 、甲酸盐、甘氨酸、天冬氨酸和谷氨酰胺为原料合成嘌呤环（图 9-7）。

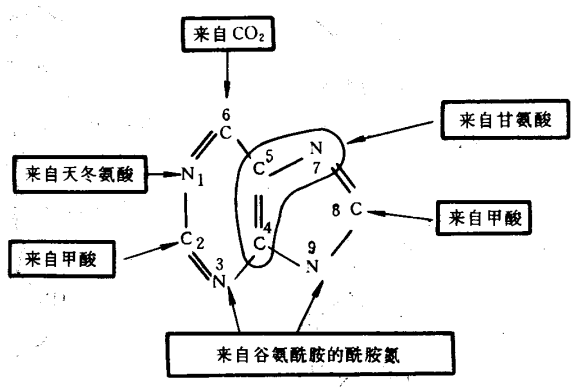


图 9-7 嘌呤环中各原子的来源

同位素示踪实验证明，嘌呤环中的第 1 位 N 来自天冬氨酸的氨基氮；第 3 位及第 9 位 N 来自谷氨酰胺的酰胺氮；四氢叶酸的活化衍生物供给第 2 位及第 8 位 C；第 6 位 C 来自 CO₂；第 4 位 C、第 5 位 C 及第 7 位 N 来自甘氨酸。

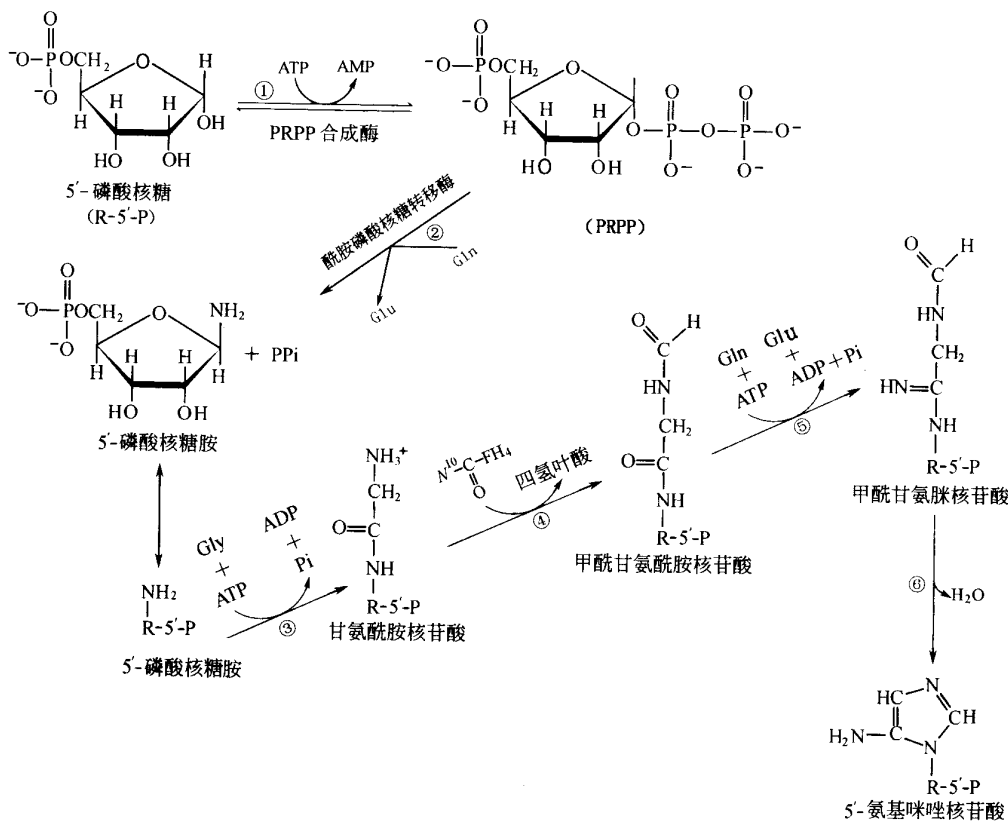


图 9-8 5-磷酸核糖形成 5-氨基咪唑核苷酸

- (1) PRPP 合成酶；(2) 磷酸核糖焦磷酸转酰胺酶；(3) 甘氨酰胺核苷酸合成酶；
(4) 甘氨酰胺核苷酸转甲酰酶；(5) 甲酰甘氨酰胺核苷酸合成酶；(6) 氨基咪唑核苷酸合成酶

2. 嘌呤核苷酸的合成

嘌呤核苷酸的合成并不是先形成游离的嘌呤,然后生成核苷酸,而是直接形成次黄嘌呤核苷酸(inosinic acid, IMP, 也叫肌苷酸),再转变为其他嘌呤核苷酸。嘌呤核苷酸的合成分为三个阶段:

(1) 从5-磷酸核糖形成5-氨基咪唑核苷酸 合成次黄嘌呤核苷酸是从5-磷酸核糖-1-焦磷酸(PRPP)的形成开始的。它是由ATP和5-磷酸核糖在磷酸核糖焦磷酸激酶(也称PRPP合成酶)催化合成的,5-磷酸核糖主要由戊糖磷酸途径提供。PRPP接受谷氨酰胺的酰胺基,生成5-磷酸核糖胺(PRA),然后PRA与甘氨酸结合生成甘氨酰胺核苷酸(GAR)。GAR中甘氨酸残基的 α -氨基被亚甲四氢叶酸甲酰化,产生 α -N-甲酰甘氨酰胺核苷酸,接着又进一步被谷氨酰胺氨基化生成甲酰甘氨脒核苷酸(FGAM),后者再脱水环化,产生5-氨基咪唑核苷酸(AIR)。这个中间产物含有嘌呤骨架的完整的五员环(图9-8)。

(2) 5-氨基咪唑核苷酸形成次黄嘌呤核苷酸 在氨基咪唑核苷酸羧化酶催化下,AIR经羧化生成5-氨基咪唑-4-羧酸核苷酸(CAIR),后者与天冬氨酸缩合,形成5-氨基咪唑-4-N-琥珀酸氨甲酰核苷酸,其脱去延胡索酸生成5-氨基咪唑-4-氨甲酰核苷酸(AICAR)。AICAR的5-氨基又从 N^{10} -甲酰四氢叶酸接受甲酰基并脱水闭环而形成次黄嘌呤核苷酸(图9-9)。

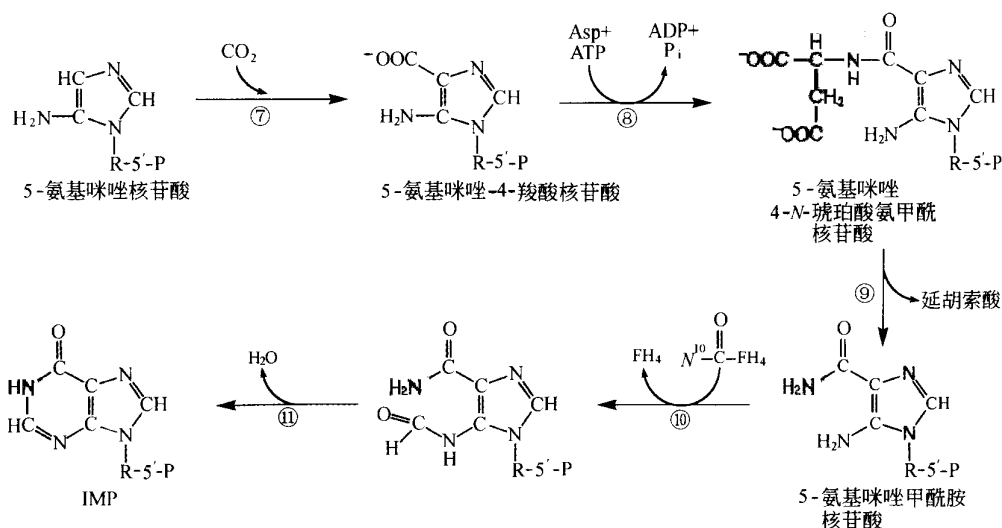


图 9-9 5-氨基咪唑核苷酸形成次黄嘌呤核苷酸

- (7) 氨基咪唑核苷酸羧化酶; (8) 氨基咪唑琥珀基甲酰胺核苷酸合成酶;
(9) 腺苷酸琥珀酸裂合酶, (10) 氨基咪唑甲酰胺核苷酸转甲酰基酶 (11) 次黄苷酸环化脱水酶

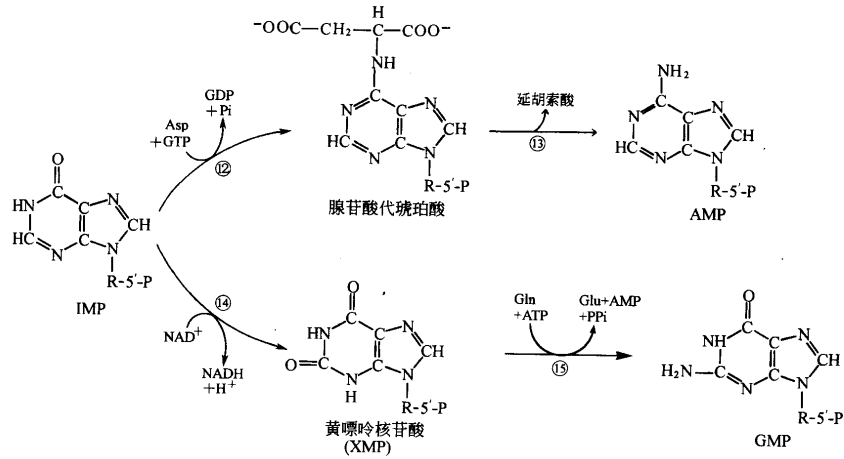


图 9-10 由次黄嘌呤核苷酸转变为腺苷酸和鸟苷酸

(12) 腺苷酸代琥珀酸合成酶; (13) 腺苷酸代琥珀酸裂解酶; (14) 脱氢酶; (15) 鸟苷酸合成酶

(3) 腺苷酸和鸟苷酸的合成

腺苷酸可由次黄嘌呤核苷酸经氨基化生成，由天冬氨酸提供氨基，GTP 提供能量。鸟苷酸可由次黄嘌呤核苷酸先氧化成黄嘌呤核苷酸 (XMP)，再氨基化而生成。谷氨酰胺的酰胺基作为氨基供体，由 ATP 提供反应所需能量 (图 9-10)。

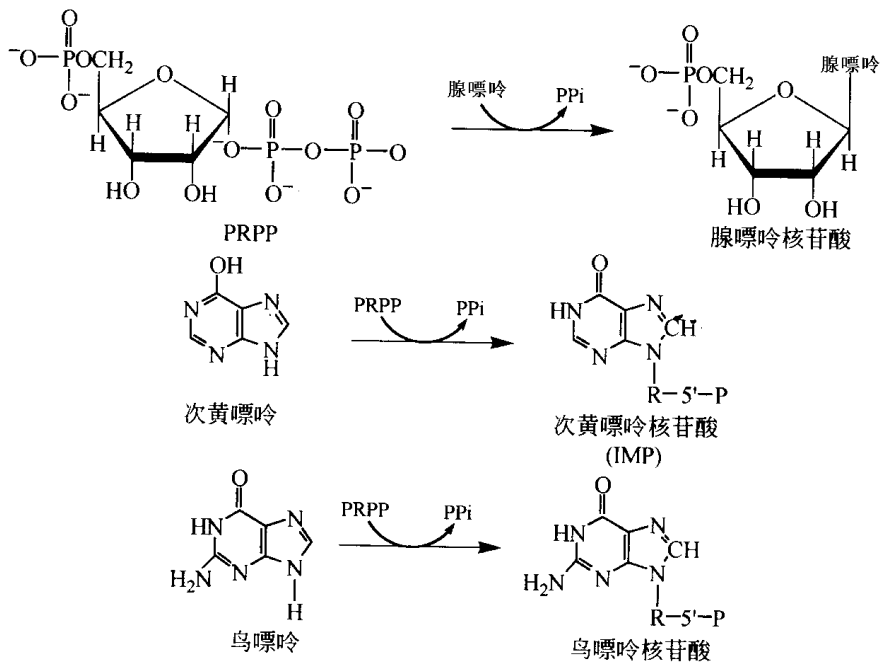


图 9-11 嘌呤核苷酸合成的补救途径

(二) 补救途径

嘌呤核苷酸也可通过补救途径合成(图 9-11)。在补救反应里 PRPP 的核糖磷酸部分转移给嘌呤形成相应的核苷酸。有两种酶可催化补救途径,它们的专一性不同,形成的产物也不同。腺嘌呤磷酸核糖转移酶催化腺苷酸的合成,次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶催化次黄苷酸和鸟苷酸的合成。

二、嘧啶核苷酸的生物合成

嘧啶核苷酸的合成也有“从头合成”途径和“补救”途径。

(一) 从“从头合成”途径

1. 嘧啶碱的合成

合成嘧啶的原料主要是 CO_2 、 NH_3 和天冬氨酸。同位素示踪实验表明,嘧啶环中的第 3 位 N 来自 NH_3 ,第 2 位 C 来自 CO_2 ,其余第 1 位 N 及第 4、5、6 位 C 来自天冬氨酸(图 9-12)。

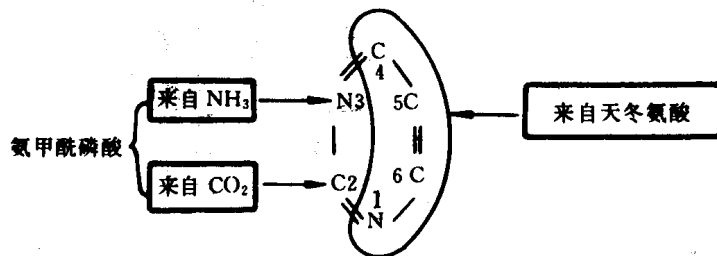


图 9-12 嘧啶环中各原子的来源

2. 嘧啶核苷酸的生物合成

嘧啶核苷酸与嘌呤核苷酸的合成有所不同。生物体先利用小分子化合物形成嘧啶环,然后再与核糖磷酸结合形成嘧啶核苷酸。首先形成的是尿苷酸,然后再转变为其它嘧啶核苷酸。

尿苷酸的合成是从氨基酰磷酸与天冬氨酸合成氨基酰天冬氨酸开始的,由天冬氨酸转氨基酶(aspartate transcarbamylase, ATCase)催化;然后经环化,脱水生成二氢乳清酸,并经脱氢作用形成乳清酸,至此已形成嘧啶环。乳清酸与 PRPP 提供的 5-磷酸核糖结合,形成乳清酸核苷酸,再经脱羧作用就生成了尿苷酸。整个过程如图 9-13 :

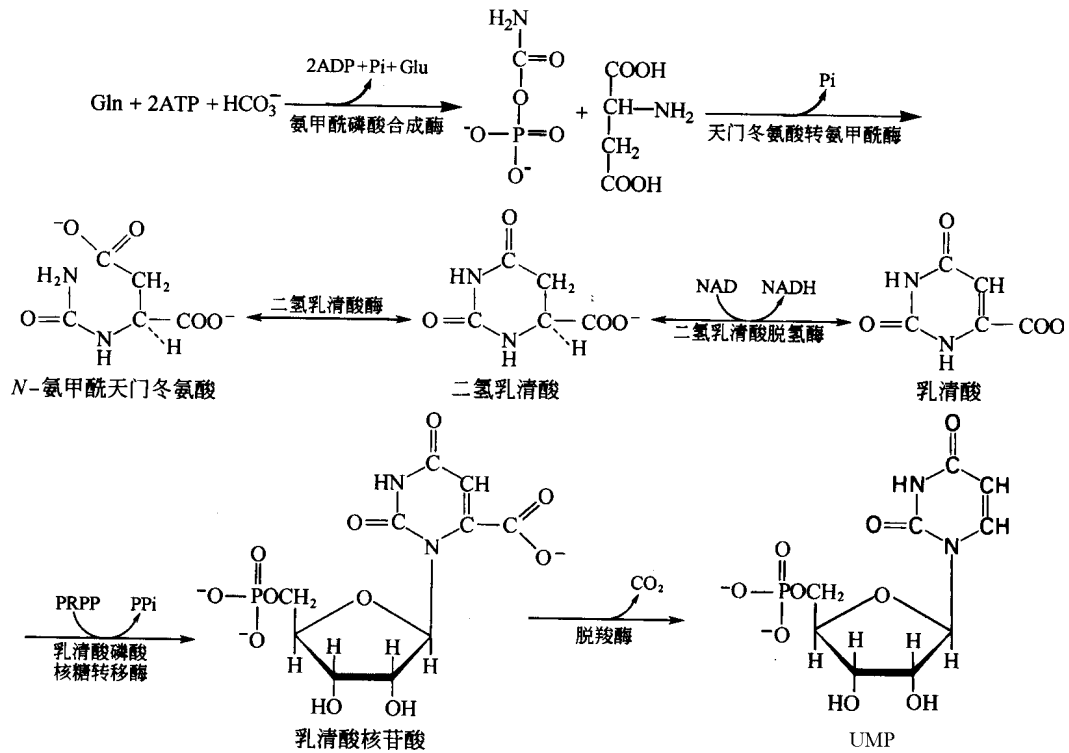
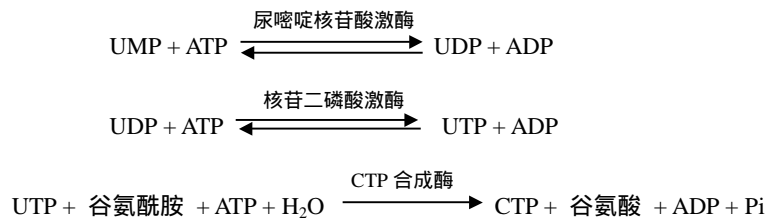


图 9-13 嘧啶核苷酸的合成过程

尿苷酸向胞苷酸的转变是在核苷三磷酸的水平上进行的。尿苷酸在尿苷酸激酶的作用下，可转变为尿嘧啶核苷二磷酸（UDP），后者在尿嘧啶核苷二磷酸激酶的作用下转变为尿嘧啶核苷三磷酸（UTP），然后经氨基化生成胞嘧啶核苷三磷酸。



(二)“补救”途径

尿嘧啶可以直接与 PRPP 反应产生尿苷酸。动物及微生物细胞中的尿嘧啶磷酸核糖转移酶可催化此反应。此酶不能催化胞嘧啶生成胞苷-5-磷酸。此外，尿苷激酶也可催化尿苷生成尿苷酸：



尿苷及胞苷均可作为此酶的底物，但次黄苷不能作为此酶的底物。

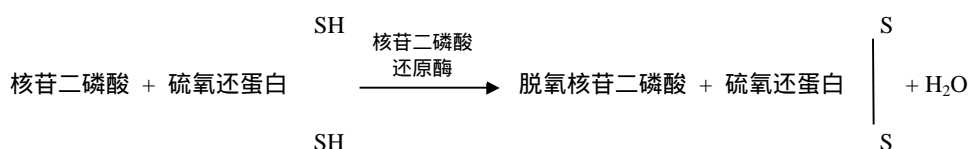
三、脱氧核糖核苷酸的生物合成

(一) 核糖核苷酸还原酶

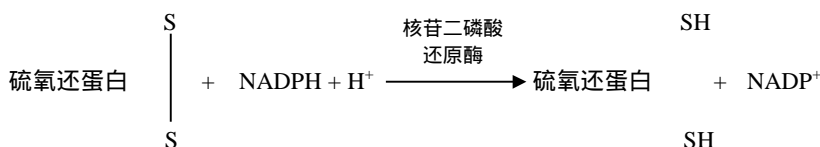
脱氧核糖核苷酸是由相应的核糖核苷酸还原形成的。通过对大肠杆菌的研究发现，这种还原反应是在核苷二磷酸水平上进行的，在核糖核苷酸还原酶作用下，核糖核苷二磷酸（NDP）核糖部分的 2'-羟基被氢原子取代，转变成脱氧核糖核苷二磷酸（dNDP）。总反应式为：



核糖核苷酸还原酶是由核苷二磷酸还原酶、硫氧还蛋白和硫氧还蛋白还原酶组成。其中核苷二磷酸还原酶由 B₁ 和 B₂ 两个亚基组成。B₁ 是一个相对分子量为 172 000 的二聚体，每条肽链除含有巯基外还有与核苷酸底物及变构效应物相结合的结合部位，巯基作为核糖单位还原的直接电子供体；B₂ 是一个相对分子量为 87 000 的铁-硫蛋白二聚体，它与 B₁ 共同组成此酶的活性部位参与催化作用。



硫氧还蛋白是将电子由 NADPH 转移到核苷酸还原酶催化部位巯基的载体，它具有两个紧密靠近的半胱氨酸残基。氧化型硫氧还蛋白在硫氧还蛋白还原酶的作用下被 NADPH 还原而再生。硫氧还蛋白还原酶是一个黄素蛋白。



以上还原酶系最早是以大肠杆菌为材料研究清楚的，后来证明大多数真核生物与此相似，只有

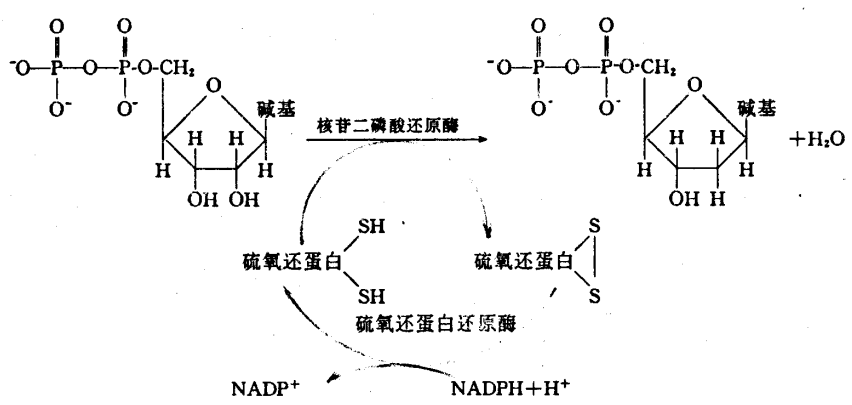
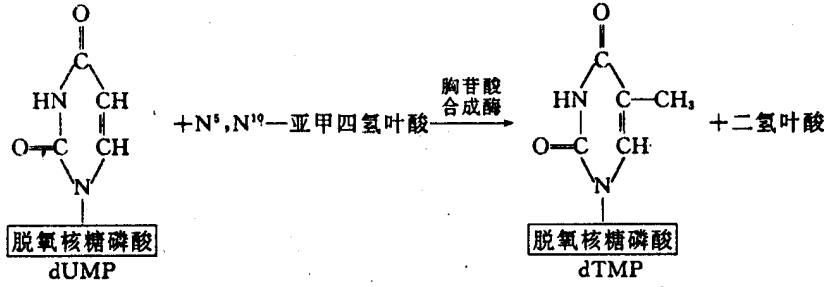


图 9-14 脱氧核苷酸的合成

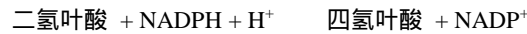
(二) 脱氧胸苷酸的生物合成

脱氧胸苷酸是由脱氧尿苷酸经甲基化生成的。

催化此反应的酶是胸苷酸合成酶，其辅基的辅因子是 N⁵, N¹⁰-亚甲基四氢叶酸

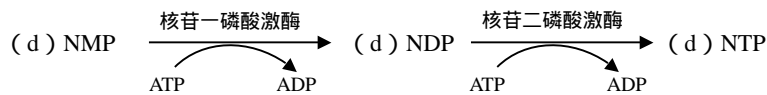


产生的二氢叶酸可在二氢叶酸还原酶的作用下得到再生，还原剂为 NADPH。



四、核苷三磷酸的生物合成

RNA 合成的底物是 4 种核糖核苷三磷酸，DNA 合成的底物是 4 种脱氧核糖核苷三磷酸。它们都可从核苷一磷酸或脱氧核苷一磷酸 (NMP 或 dNMP) 由相应的磷酸激酶催化，经核苷二磷酸 (NDP 或 dNDP) 生成：



这两种酶催化的反应均为可逆反应，并且都需要 ATP 作为磷酸基团的供体。

以嘌呤核苷一磷酸作为底物的核苷一磷酸激酶的专一性较严格。例如 AMP 激酶只能催化 AMP 的磷酸化；GMP 激酶只能催化 GMP 和 dGMP 的磷酸化。嘧啶核苷一磷酸激酶的专一性较差。核苷二磷酸激酶的底物专一性很广，几乎可催化各种核苷二磷酸与核苷三磷酸之间的磷酸基团的转移。各种核苷酸合成及相互关系总结于图 9-15。

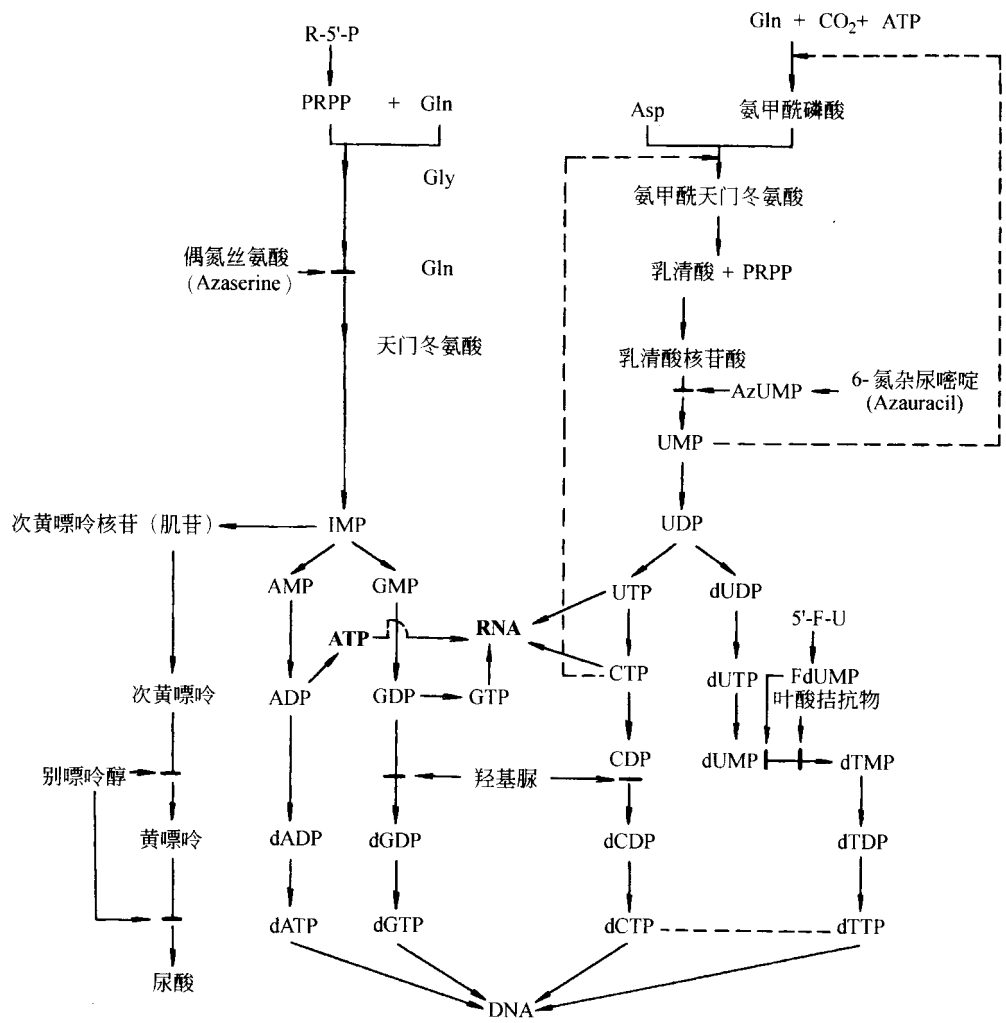


图 9-15 核苷酸与核酸合成的相互关系

主要参考文献

- [1] 唐咏主编. 基础生物化学. 吉林: 吉林科学技术出版社, 1995
- [2] 吴显荣主编. 基础生物化学. 北京: 中国农业出版社, 1999
- [3] 吴赛玉主编. 简明生物化学. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1999
- [4] 于自然主编. 现代生物化学. 北京: 化学工业出版社, 2001
- [5] Trudy Mckee. 生物化学导论. 北京: 科学出版社, 2001
- [6] 沈同. 王镜岩主编. 生物化学(下). 北京: 高等教育出版社, 1991
- [7] Lehninger, A. L., Nelson, D. L. and Cox, M. M. Principles of Biochemistry, second edition. Worth Publishers, Inc. 1993

任大明

第九章 核酸降解和核苷酸代谢	279
第一节 核酸的酶促降解	279
一、核酸外切酶	279
二、核酸内切酶	280
第二节 核苷酸的酶促降解	281
一、核苷酸的降解	281
二、嘌呤的降解	282
三、嘧啶的降解	283
第三节 核苷酸的生物合成	284
一、嘌呤核苷酸的生物合成	284
二、嘧啶核苷酸的生物合成	288
三、脱氧核糖核苷酸的生物合成	290
四、核苷三磷酸的生物合成	291