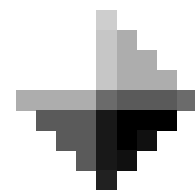
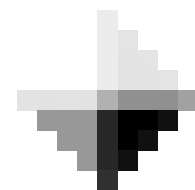


第一章 核酸化学

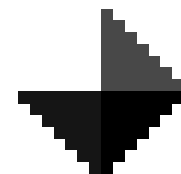
第一节 核酸的概述



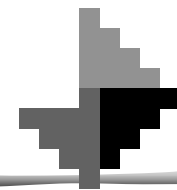
第二节 核酸的种类、分布
和化学组成



第三节 核酸的分子结构



第四节 核酸的理化性质



第一章 核酸化学

第一节 核酸的概述

一、核酸的发现

早在1869年, 瑞士的一位年青科学家F. Miescher从外科绷带上脓细胞的细胞核中提取得到一种溶于稀碱不溶于稀酸并含有P的酸性物质, 现在证实是核酸和蛋白质的复合物。1889年R. Altman从酵母及其他动物细胞中分离得到不含Pr的核酸并首先用“核酸”命名他的制品。

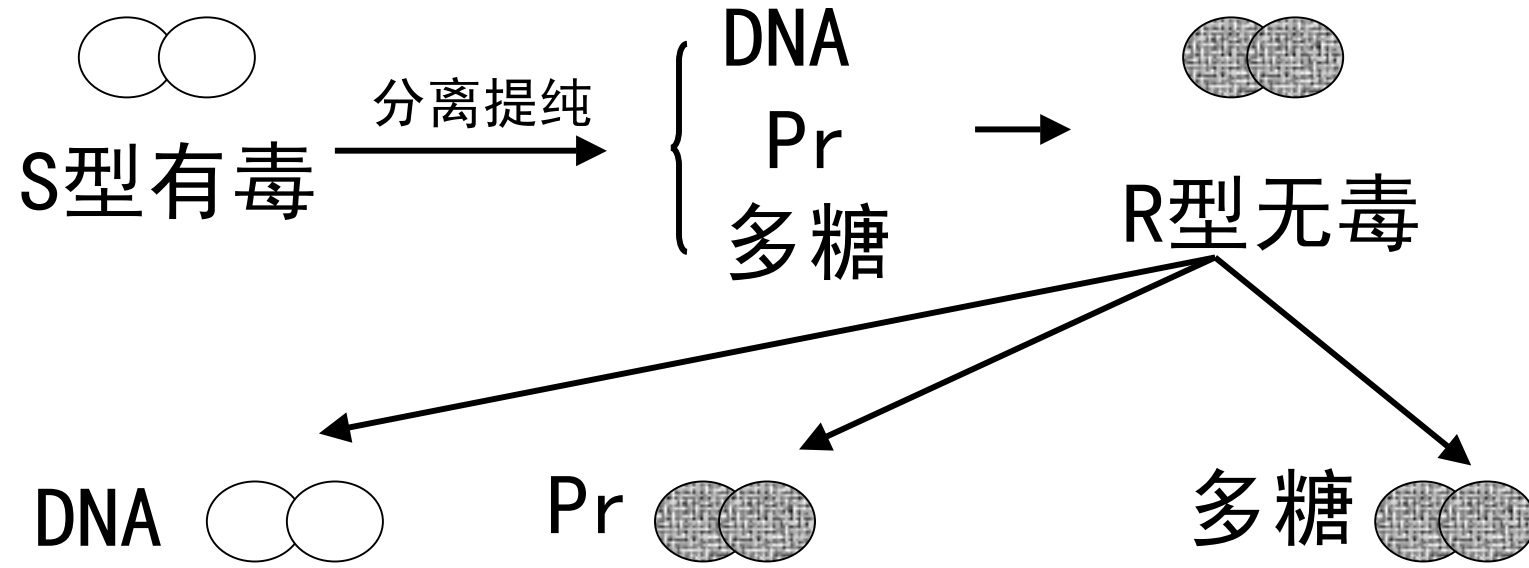
二、核酸的生物学功能

(一) 核酸是遗传变异的物质基础

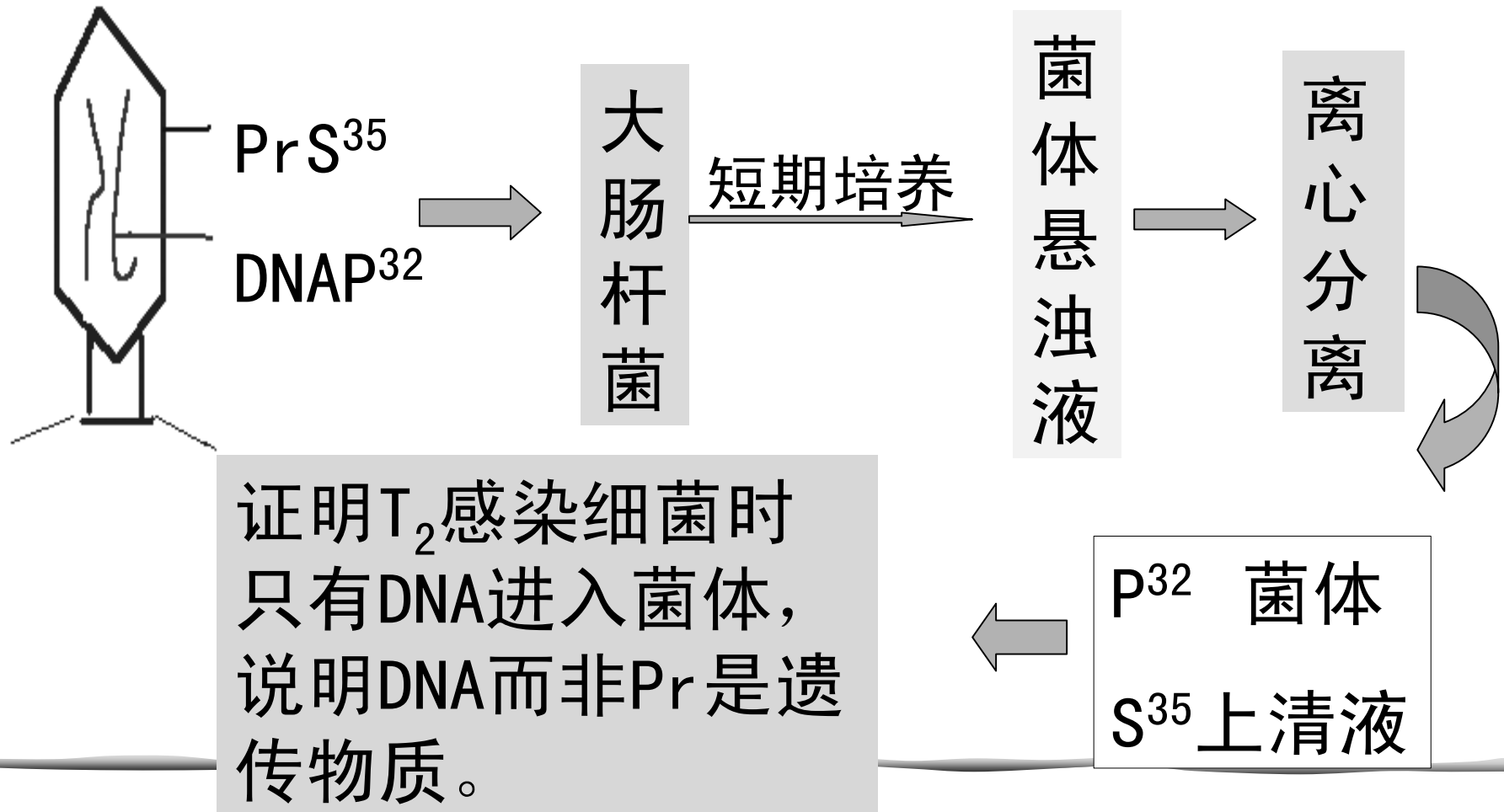
- 1、DNA的恒定性 性细胞: $1.3 \times 10^{-12} \text{g}$
体细胞: $2.6 \times 10^{-12} \text{g}$

2、细菌的转化因子实验

1944年, O. T. Avery等人通过一系列实验, 发现肺炎双球菌的转化因子是DNA, 首次证明DNA是遗传性状的物质基础。



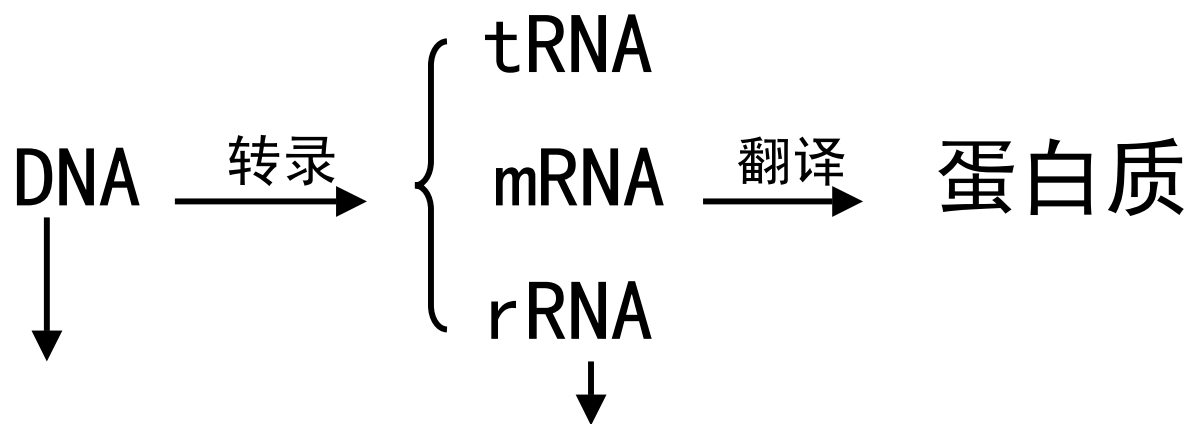
3、噬菌体的感染实验



4、1953年，J. D. Watson和F. Crick提出DNA双螺旋结构的主体模型，为阐明DNA是遗传和变异的物质基础提供了科学依据。

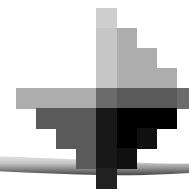


(二) RNA指导蛋白质的生物合成



遗传信息的储存和传递

遗传信息的表达。
在RNA病毒, RNA作为遗传信息的载体



第二节 核酸的种类、分布 和化学组成

一、核酸的种类和分布

核酸中的戊糖有两种：D-核糖，D-2-脱氧核糖。核酸的分类就是根据核糖的不同而分为核糖核酸(RNA)和脱氧核糖核酸(DNA)。

1、核糖核酸 (RNA, ribonucleic acid)

大约75%分布于细胞质，15%分布于线粒体、叶绿体，10%分布于细胞核。

| | 核糖体RNA (rRNA) | 转移RNA (tRNA) | 信使RNA (mRNA) |
|----|------------------|-----------------|-----------------|
| 种类 | 少 (3-4种) | 最多 | 较多 |
| 含量 | 高 (80%) | 较少 (15%) | 最少 (5%) |
| 功能 | 构成核糖体 骨架 | 转运AA到核 糖体上 | Pr合成的 模板 |

2、脱氧核糖核酸 (DNA, deoxyribonucleic acid)

95%分布于细胞核，少量分布于叶绿体、线粒体。

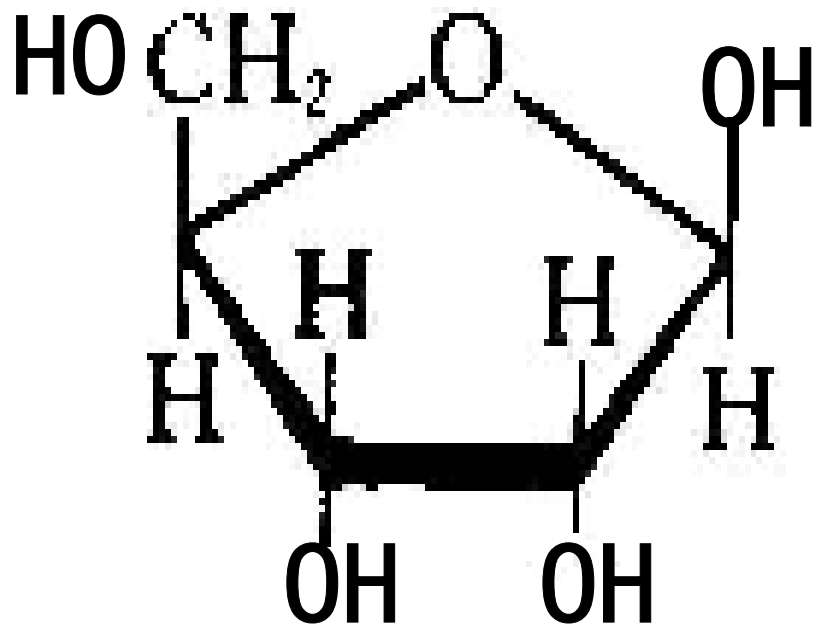
二、核酸的化学组成

DNA-脱氧核苷酸 { 磷酸
 { 脱氧核苷 { 脱氧核糖
 { A, G, C, T

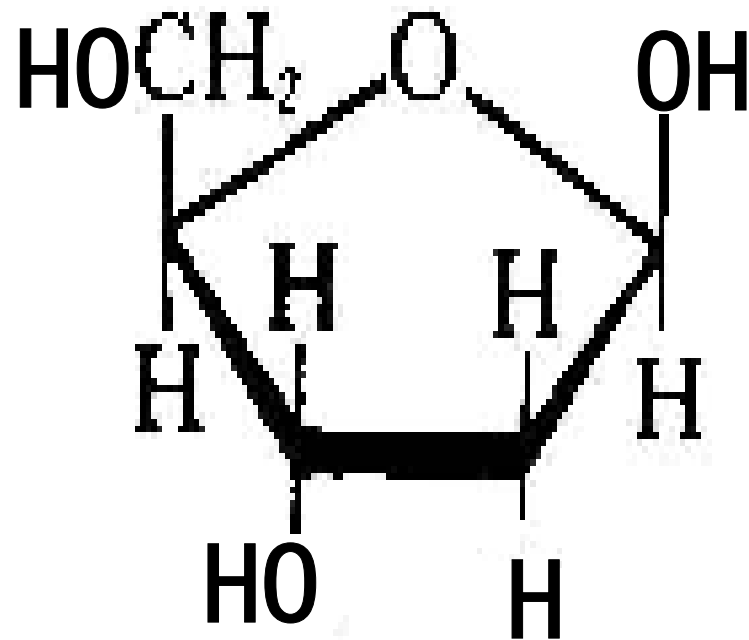
RNA- 核苷酸 { 磷酸
 { 核苷 { 核糖
 { A, G, C, U

(一) 核糖

β -D-核糖

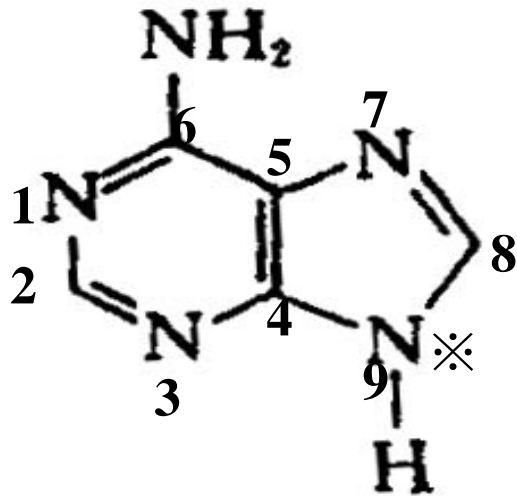


β -D-脱氧核糖

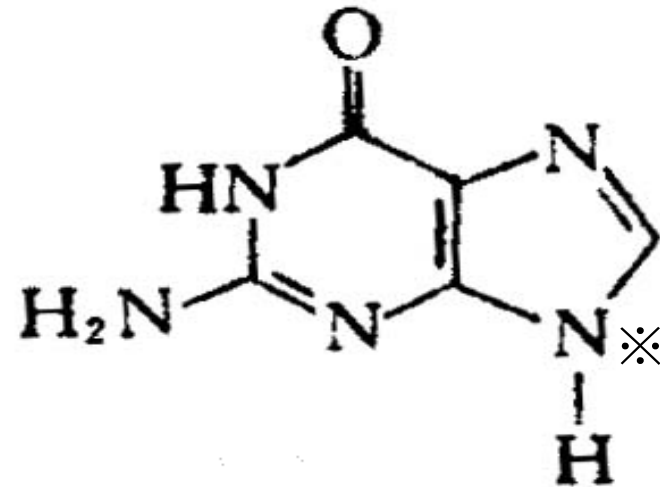


(二) 碱基

1、嘌呤 (Pu) : 腺嘌呤 (A)、鸟嘌呤 (G)

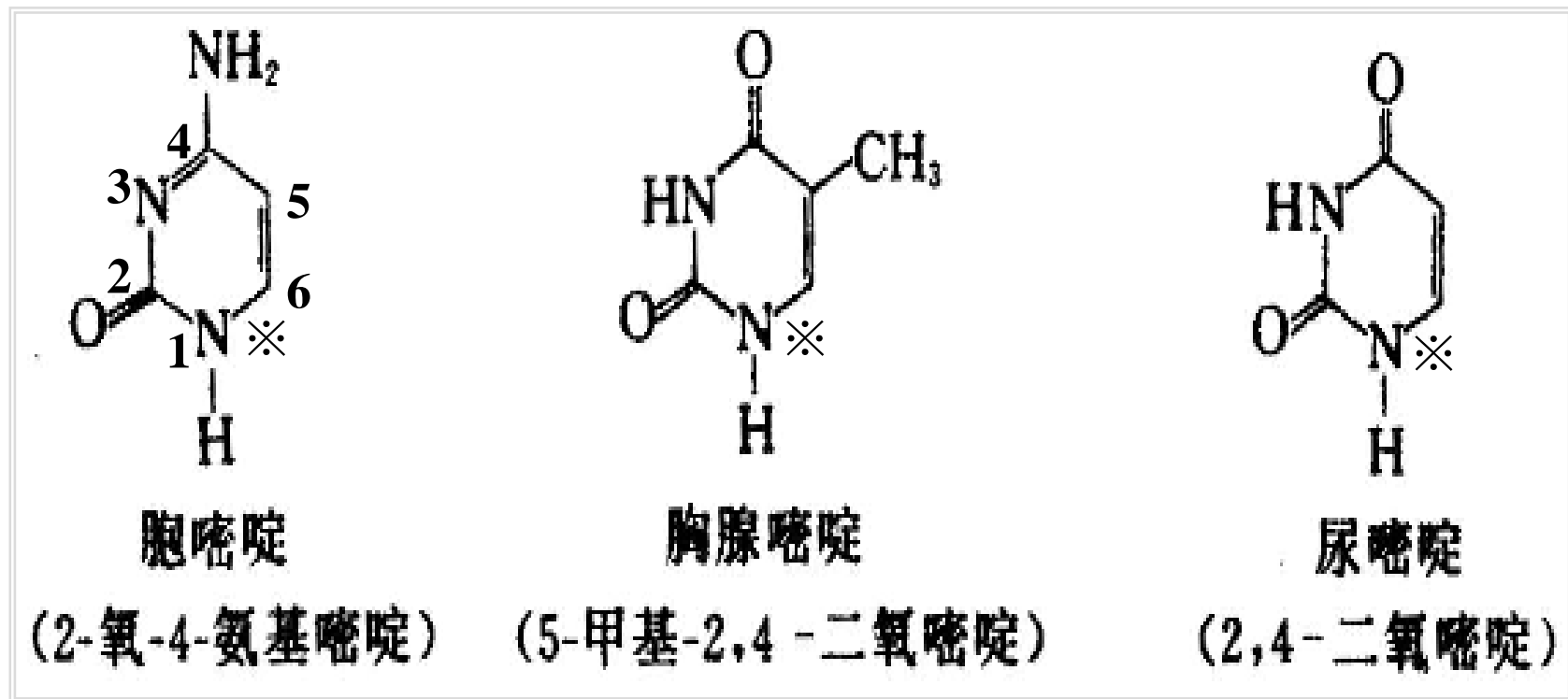


腺嘌呤
(6-氨基嘌呤)



鸟嘌呤
(2-氨基-6-氧嘌呤)

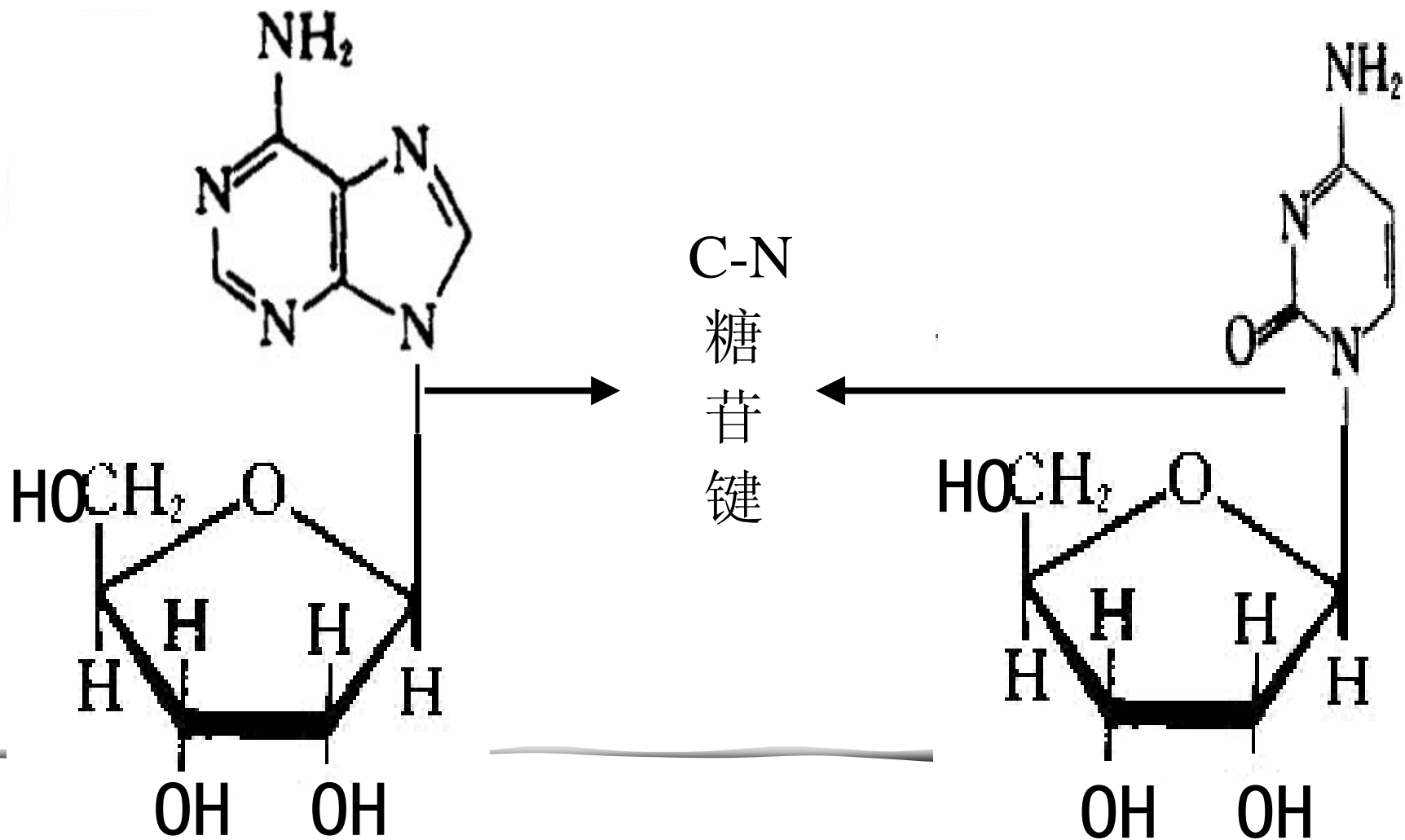
2、嘧啶 (Py)：胞嘧啶 (C)、胸腺嘧啶 (T)、尿嘧啶 (U)



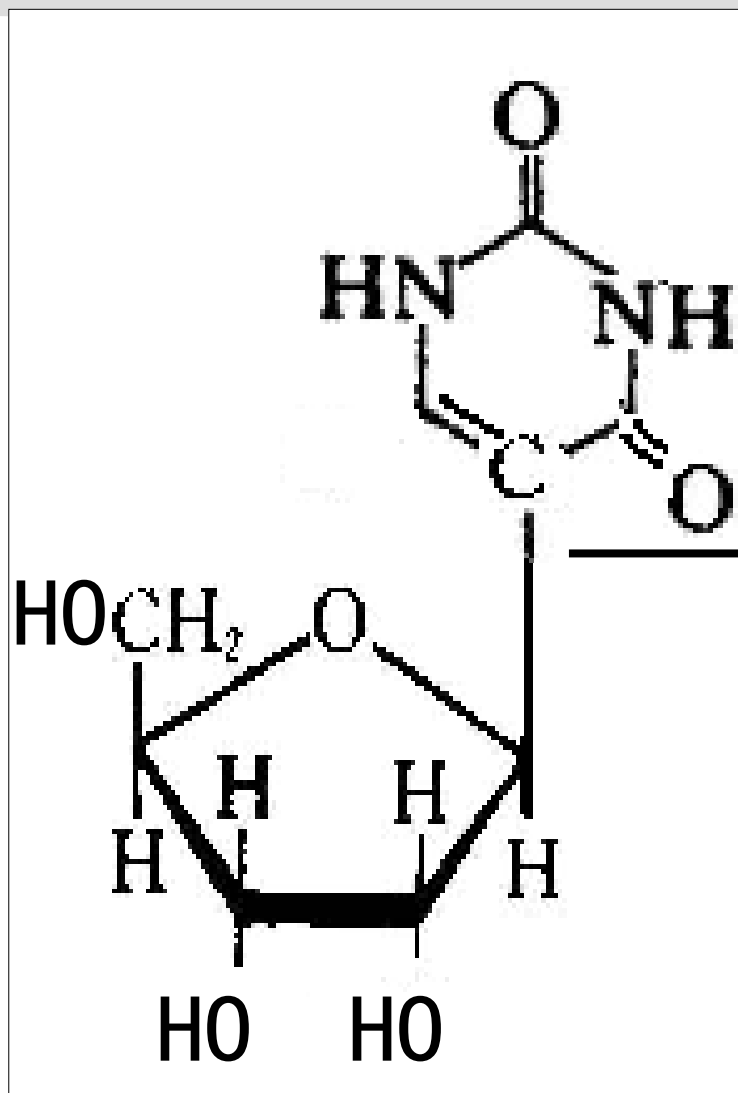
注意结构的区别

(三) 核苷 (戊糖+碱基)

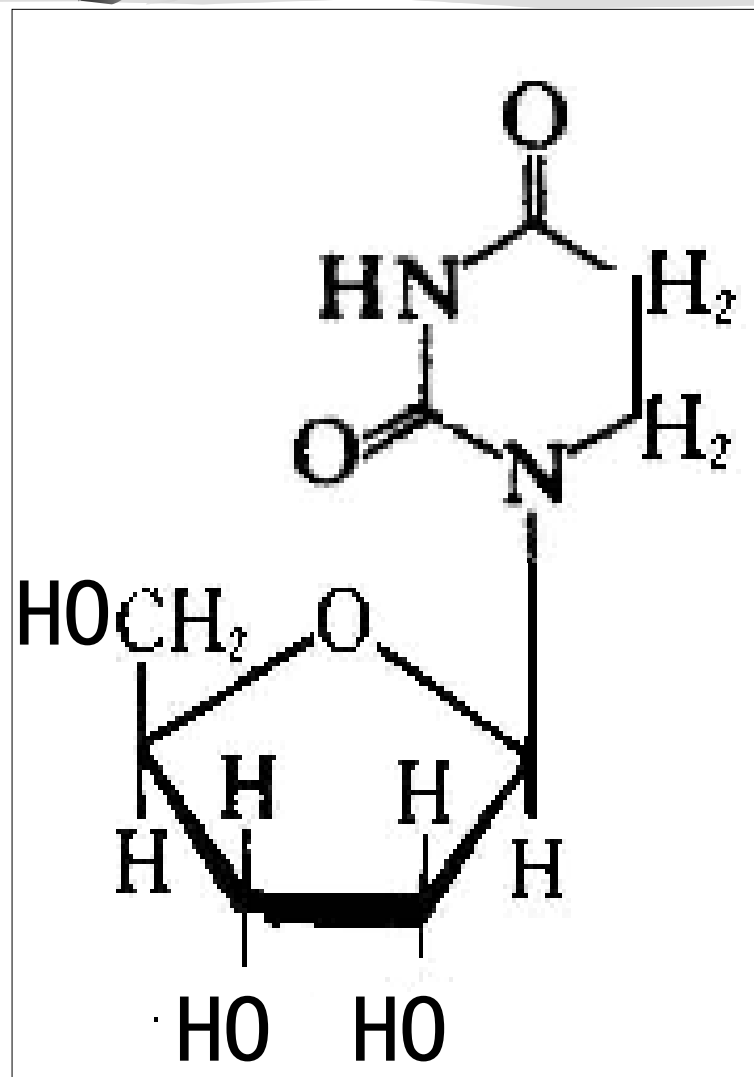
糖环上的C_{1'}与嘧啶碱的N₁或嘌呤碱的N₉相连接, 即戊糖与碱基之间的连键是C - N糖苷键。



稀有核苷



C-C
糖
苷
键

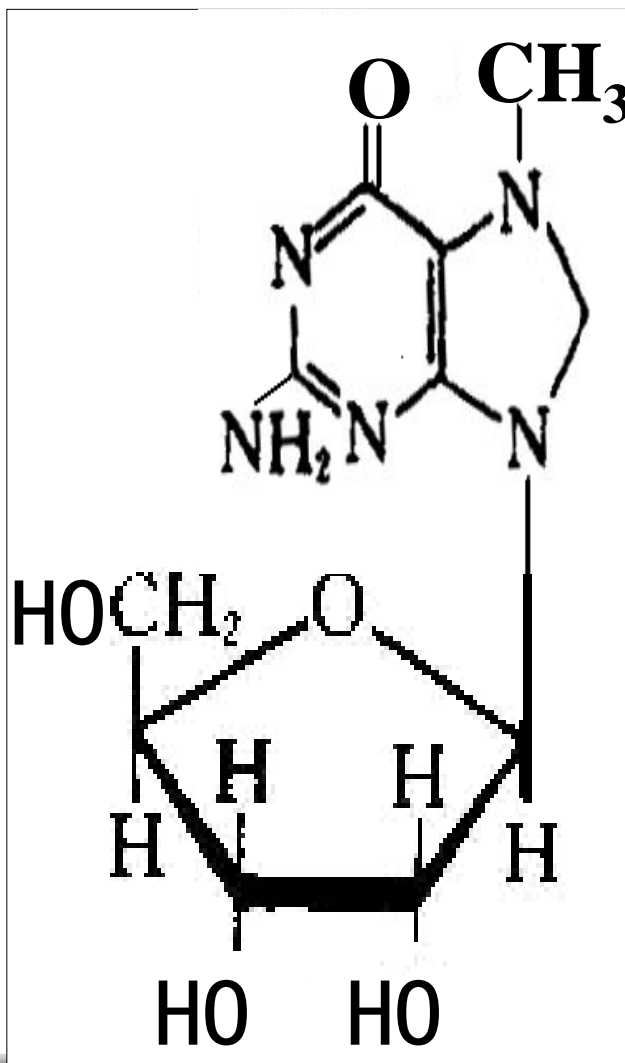


假尿苷(Ψ)

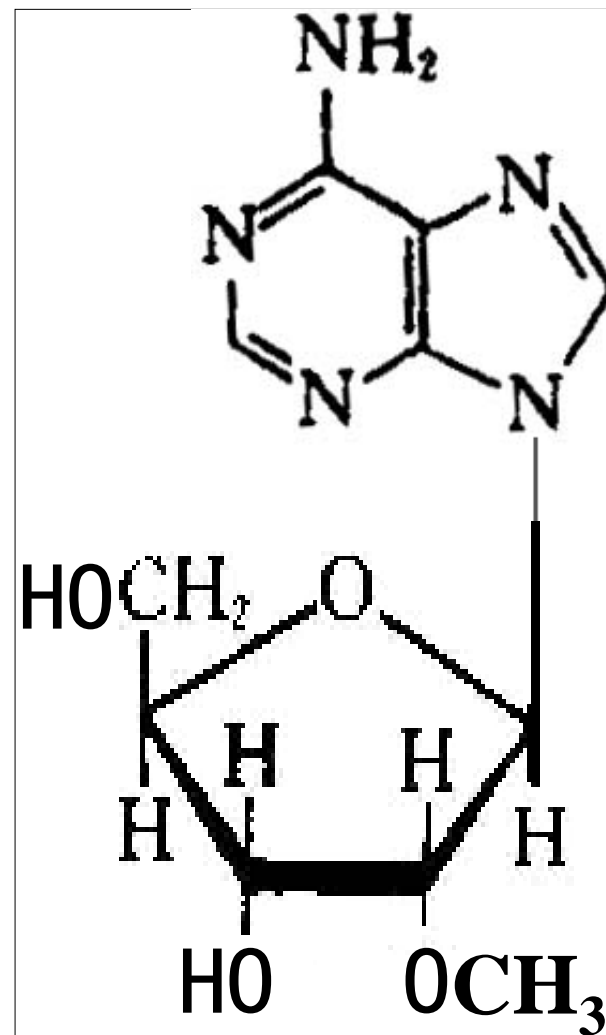
二氢尿嘧啶核苷(DHU)

修饰核苷

常见的修饰基团是甲基，以“m”表示。



7-甲基鸟苷(m^7G)

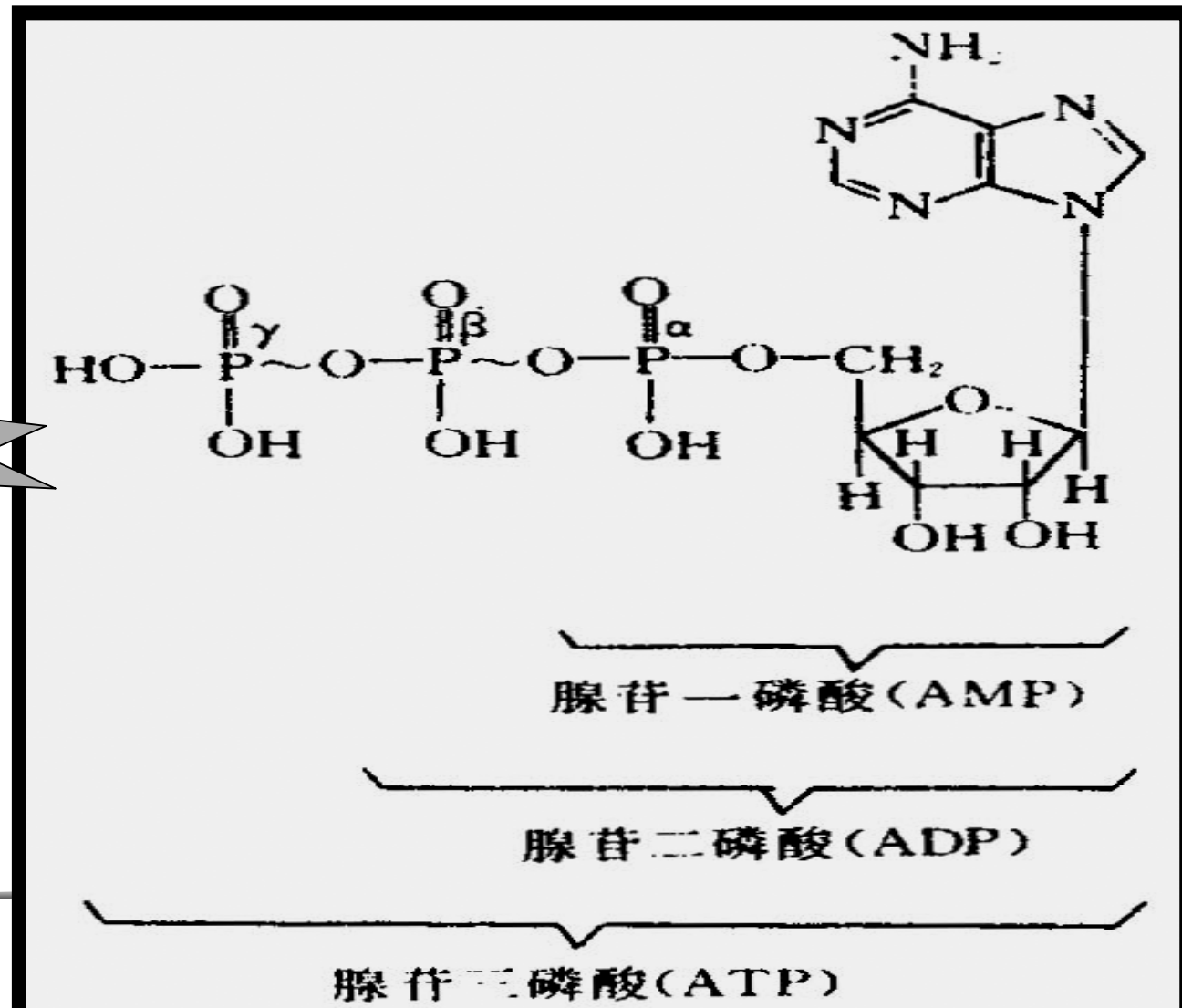


2'-O-甲基腺苷(Am)

(四) 核苷酸 (核苷+磷酸)

核苷中的戊糖羟基被磷酸酯化形成。

ATP!



（五）细胞内游离核苷酸及其衍生物

核苷酸除了作为核酸的基本组成单位外，在生物体内也有游离状态存在或以其衍生物起着重要的生理作用。

1、多磷酸核苷酸

ATP 大多数细胞中能量的直接供体

GTP、CTP、UTP 在某些反应中传递能量

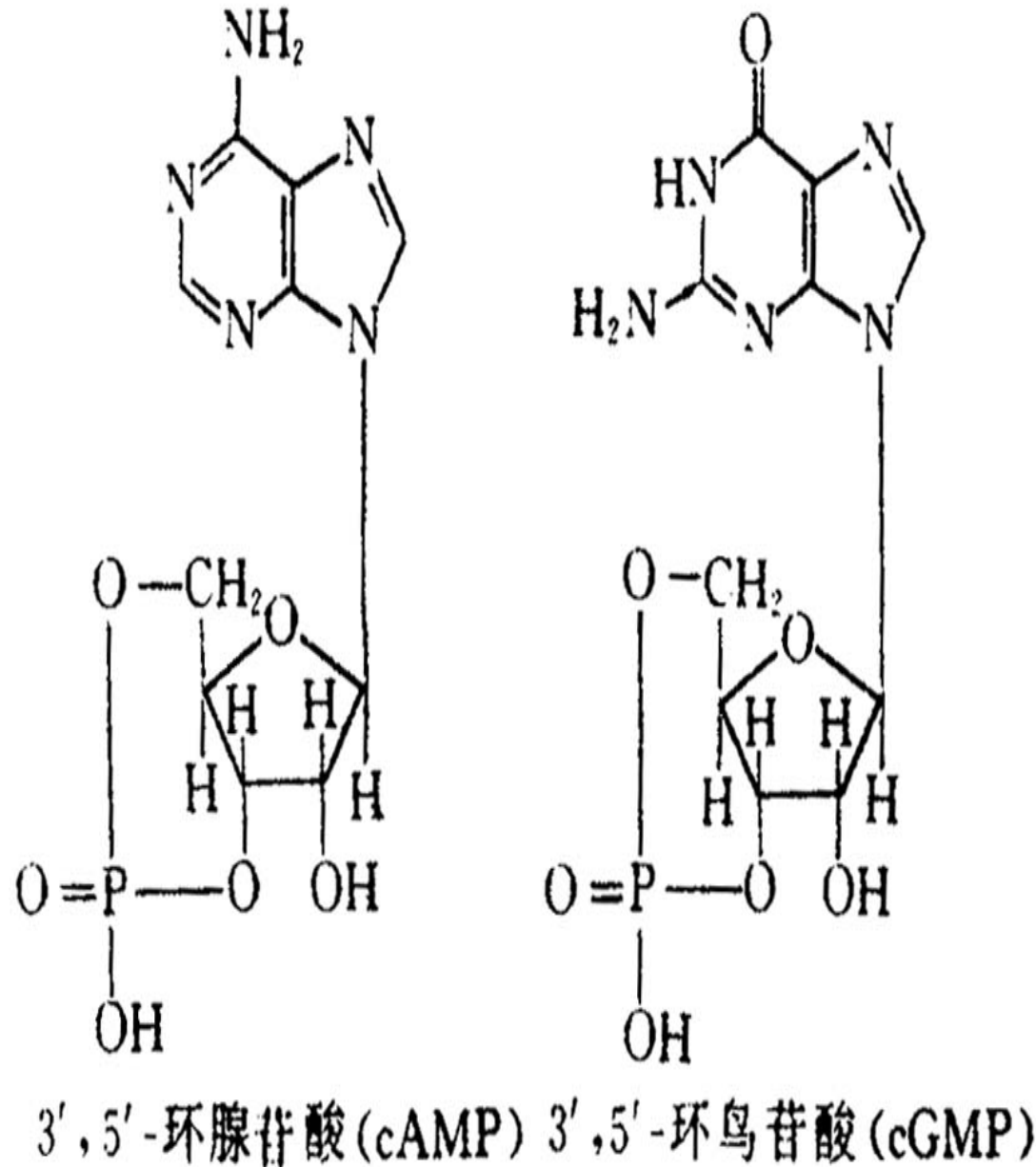
UDP、ADP、GDP 在多糖合成中作为葡萄糖基载体

CTP 参与甘油磷脂的生物合成

GTP 参与Pr合成，为其提供能量

2. 环核苷酸
常见的有cAMP、
cGMP。它们是传
递激素作用的媒
介质，在细胞代
谢调节中具有重
要作用。

3. 辅酶类核苷
酸 NAD^+ 、 NADP^+
、CoA、FAD



第三节 核酸的分子结构

一切生物大分子执行生物功能的基础是其分子结构。

一、DNA的分子结构

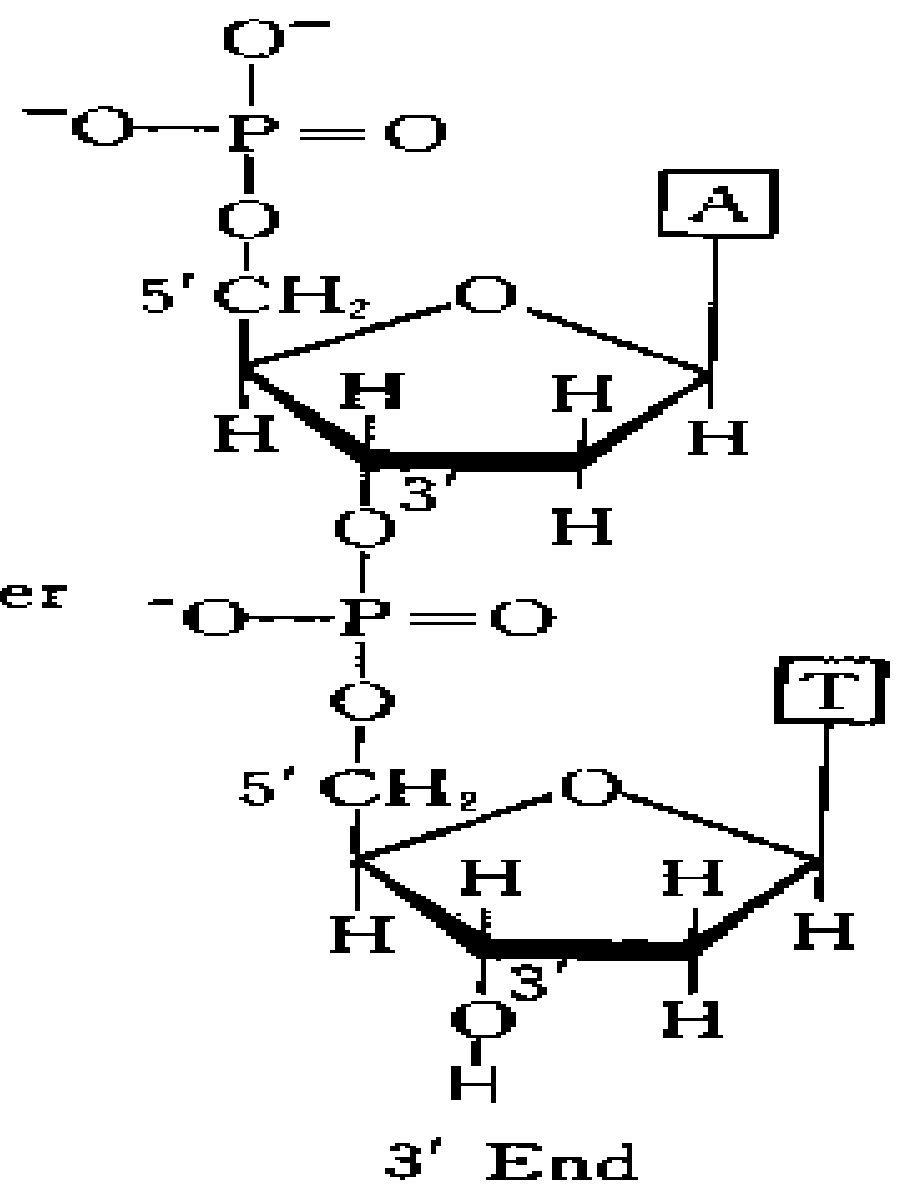
(一) DNA的一级结构

是由数量庞大的dAMP、dGMP、dCMP、dTTP通过3'-5'-磷酸二酯键连接起来的直线形或环形多聚脱氧核苷酸链。

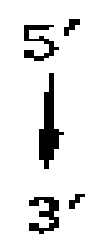
DNA分子上核苷酸的排列顺序称DNA的一级结构。

DNA

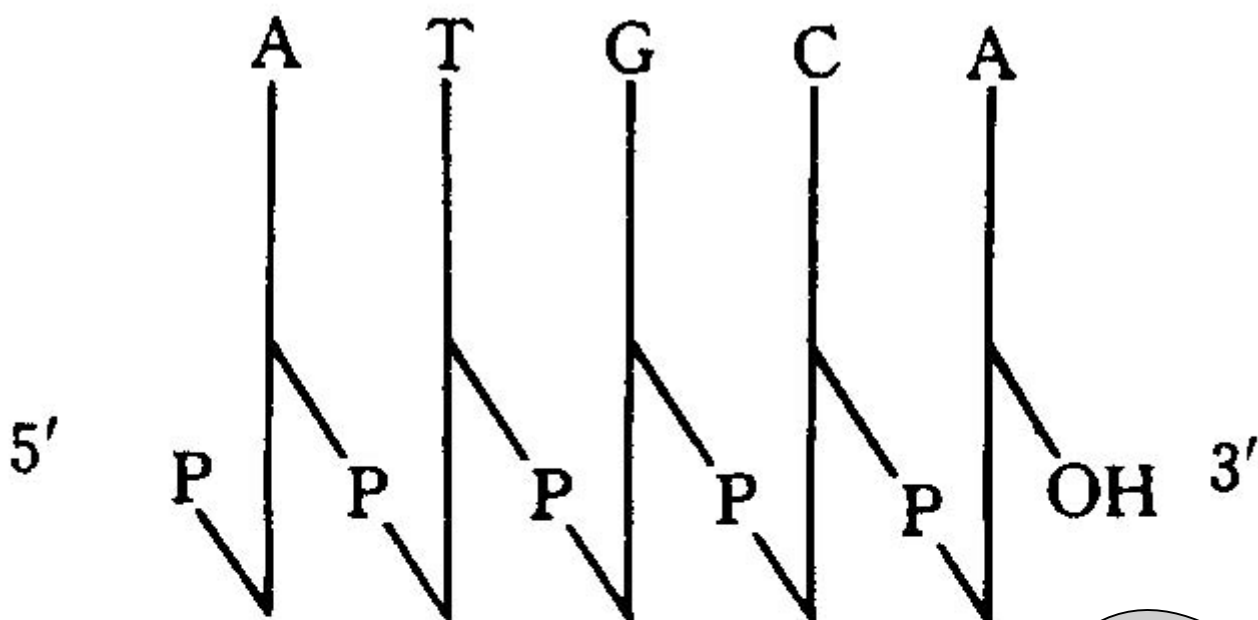
5' End



Phosphodiester bridge



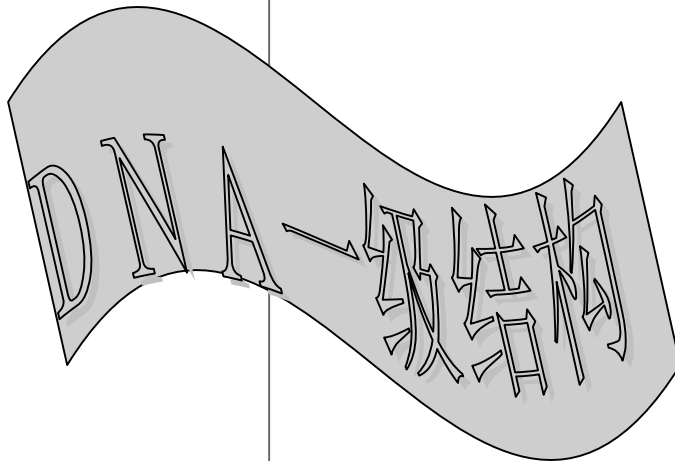
3' End



(b)



(c)




(二) DNA的二级结构

1、DNA的碱基组成分析


Chargaff等应用纸层析法对多种生物DNA的碱基进行了分析，发现一些共同规律，即Chargaff定则：

(1) 所有DNA中 $A=T$ ， $G=C$ ，嘌呤碱基总量与嘧啶碱基总量相等， $A+G=C+T$ ，即碱基当量定律



(2) DNA的碱基组成有种的特异性。
即不同生物种的DNA具有自己独特的碱基组成。 $(A+T)/(G+C)$ （不对称比率）的比值因种的差异而不同。

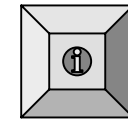
没有组织、器官、生长发育、营养状态和环境的影响。



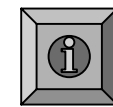
2、DNA双螺旋结构模型的基本特征

1953年由Watson和F. Crick提出

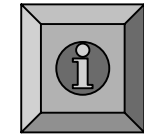
(1) 双螺旋结构是反平行双链右手螺旋。一条链的走向 $5' - 3'$ ，另一条链 $3' - 5'$ 。多核苷酸的链的方向取决于核苷酸间磷酸二酯链的走向。习惯上以 $C'_{3} - C'_{5}$ 为正向。



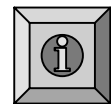
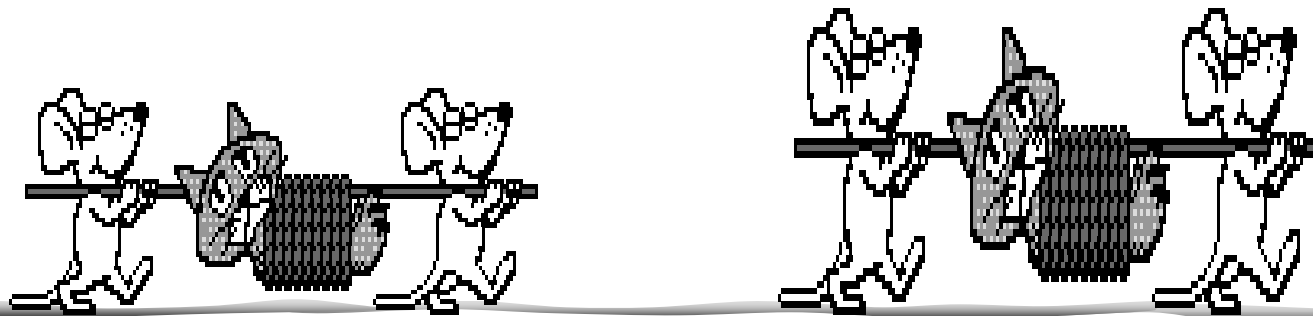
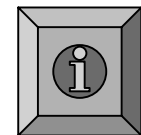
反平行链相互缠绕沿同一中心轴按右手定则向上旋转形成右手螺旋，形成大沟和小沟，大沟的宽度为 1.2nm ，深度为 0.85nm ，小沟的宽度为 0.6nm ，深度为 0.75nm 。



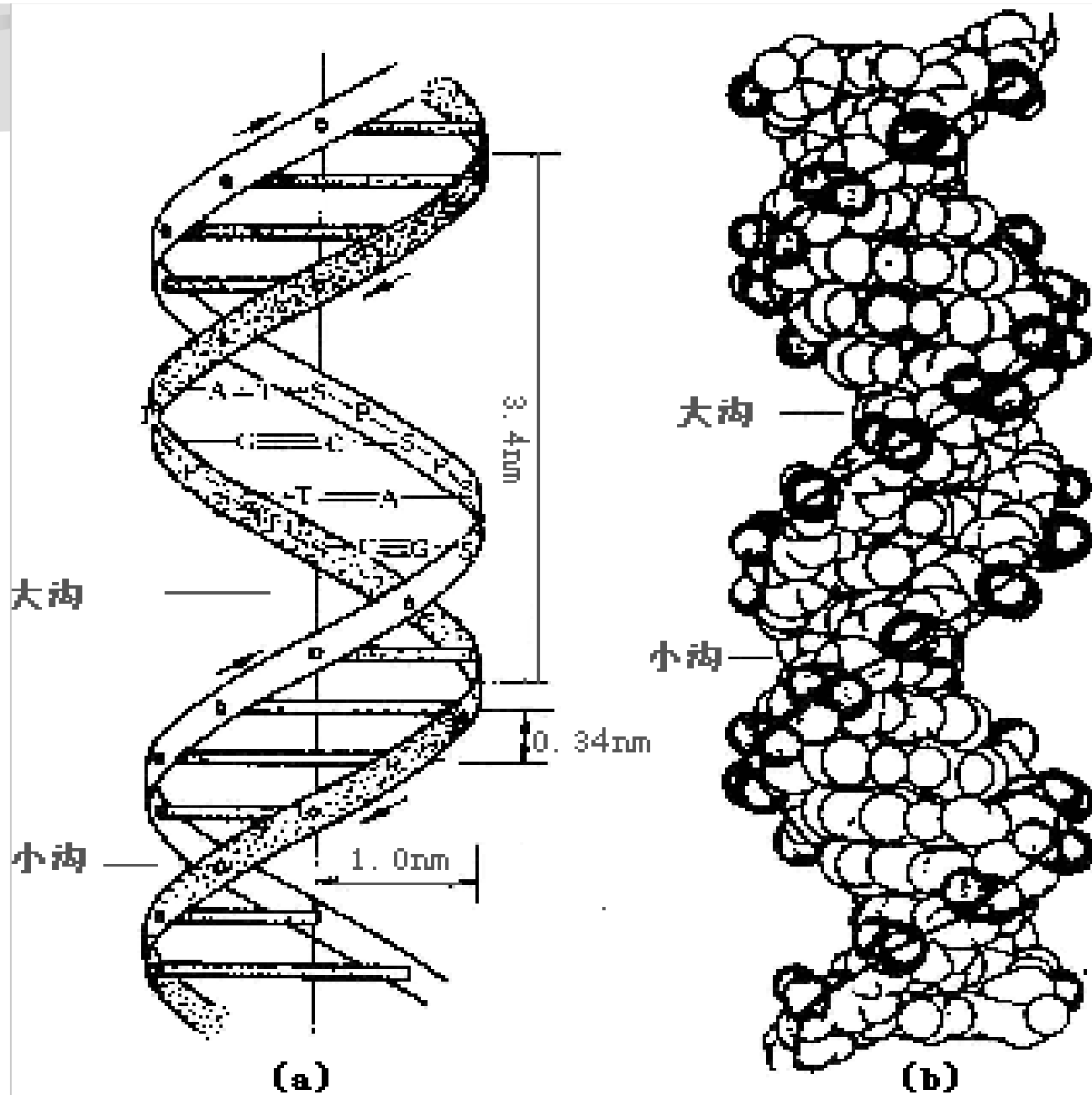
(2) 螺旋的外侧是两条由脱氧核糖—磷酸构成的主链，内部是配对的碱基（A=T、G≡C）。



(3) 双螺旋的平均直径为2nm，相邻碱基平面的垂直距离为0.34nm，螺旋结构每隔10个碱基对重复一次，间距3.4nm，两个核苷酸之间的夹角为36°。

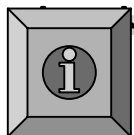


DNA的二级结构



DNA的双螺旋结构模型
(a) 双螺旋结构示意图 (b) 双螺旋结构原子模型图

碱基氢键配对图



566

Figure 24-9
Model of an
adenine-thymine
base pair.

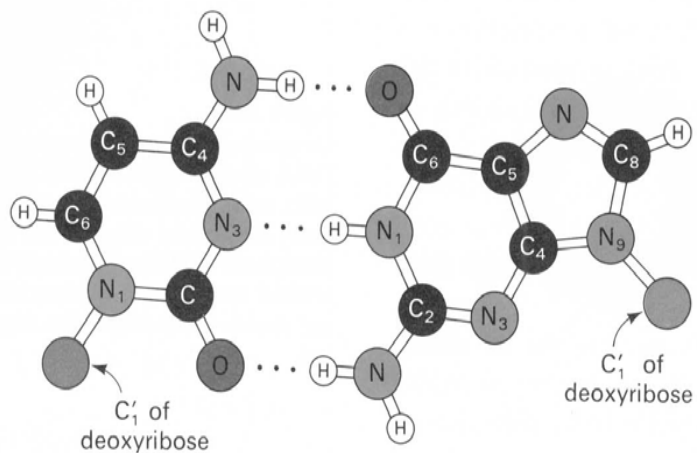
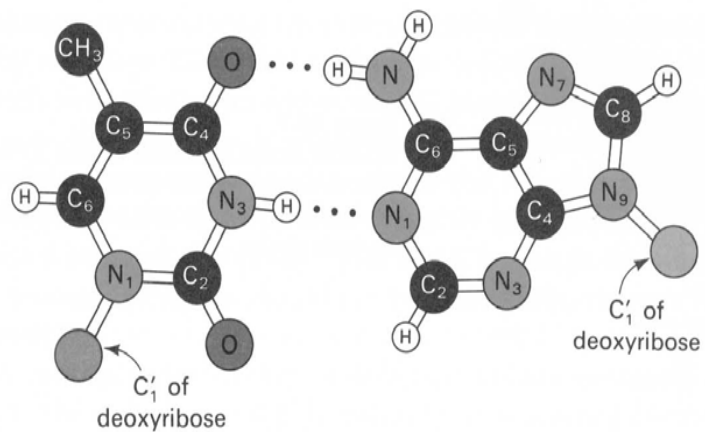


Figure 24-10
Model of a
guanine-cytosine
base pair.

碱基氢键配对图

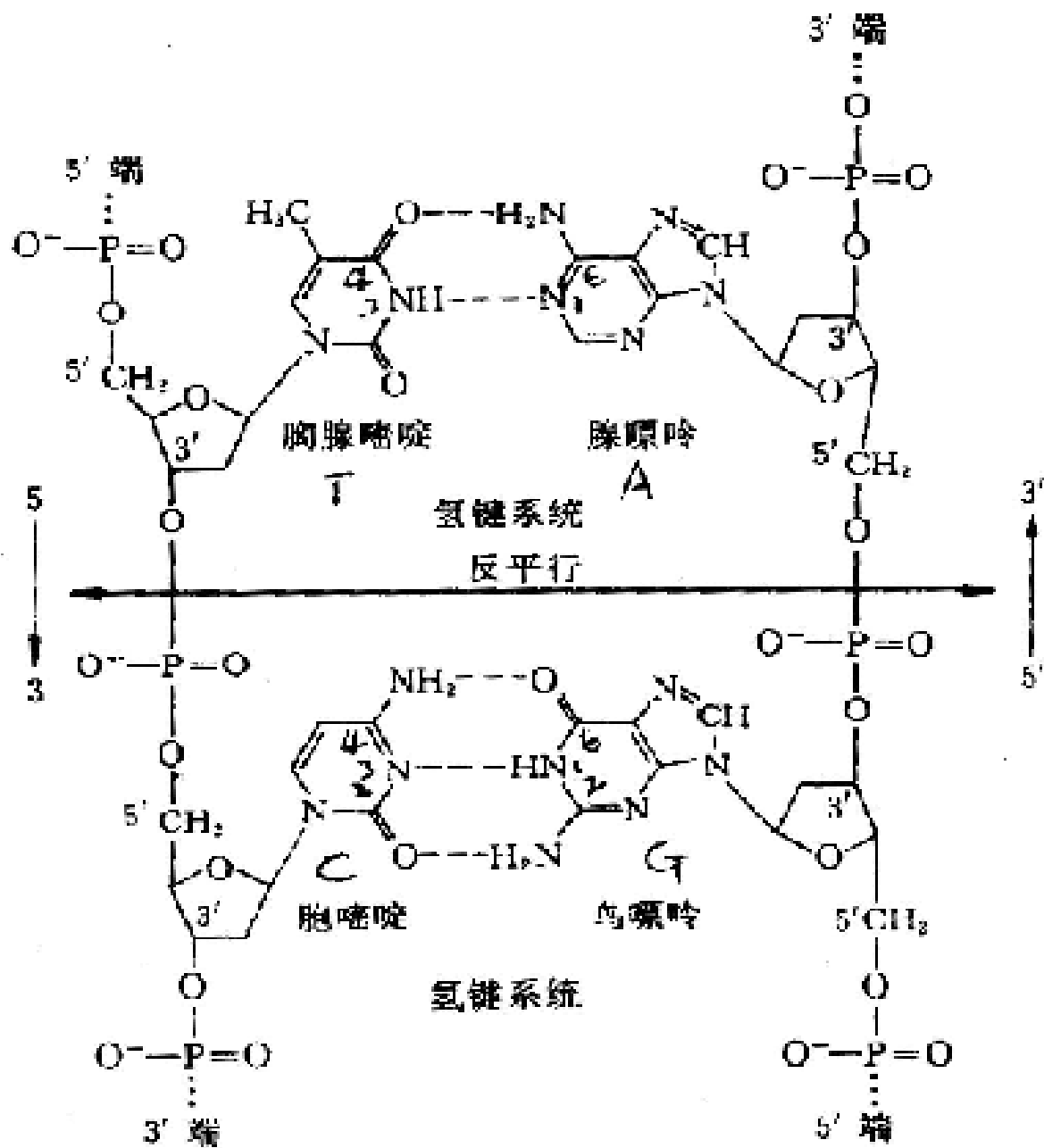
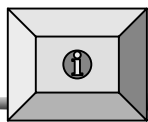



图 2-5 DNA 的碱基配对氢键



3、维持双螺旋结构的稳定因素


(1) 碱基堆集力：双螺旋内部的碱基对在垂直方向堆集起来形成的力。是维持DNA双螺旋结构的最主要因素。

(2) 碱基配对的氢键： $A=T$ 、 $G\equiv C$ ， $G\equiv C$ 对含量越多，DNA分子越稳定。



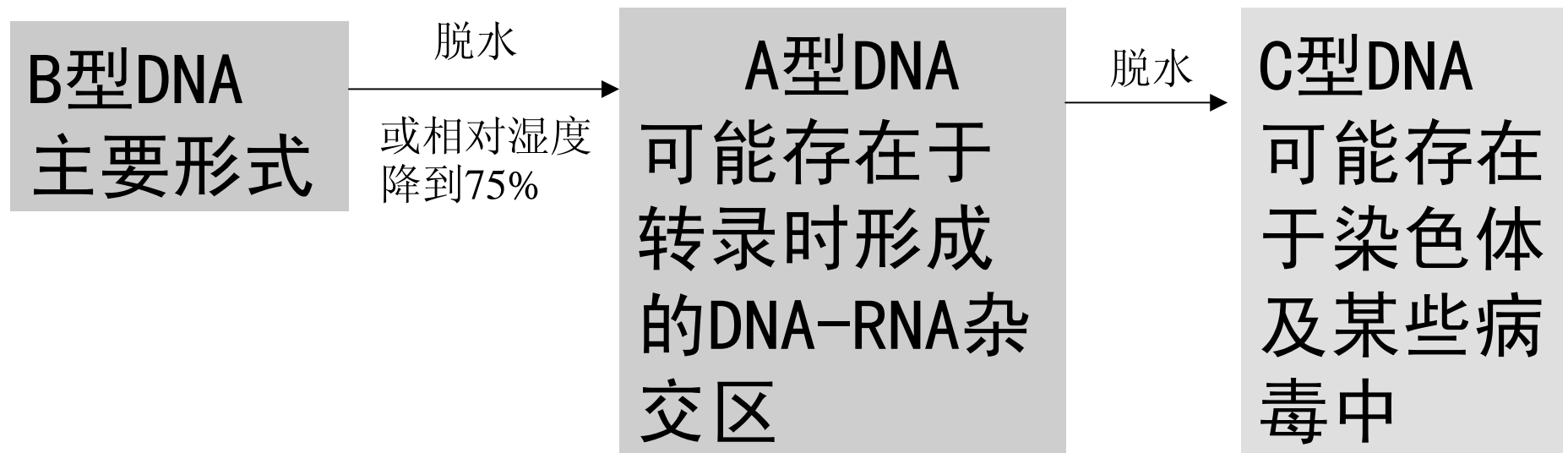
(3) 离子键：双螺旋外侧带负电荷的磷酸基团同带正电荷的阳离子之间形成的离子键可以减少双链间的静电斥力，有助于DNA分子的稳定。

(4) 碱基处于双螺旋内部的疏水环境中，避免了遭到水溶性活性小分子的攻击，保证了碱基在化学上的稳定性。



4、DNA二级结构的多态性

Watson和Crick所描述的DNA双螺旋构象，是以相对湿度为92%的DNA钠盐为研究对象，即B型DNA。




Z型DNA：左手螺旋，是嘌呤或嘧啶沿双螺旋相间排列，常存在于基因的调控制区域。

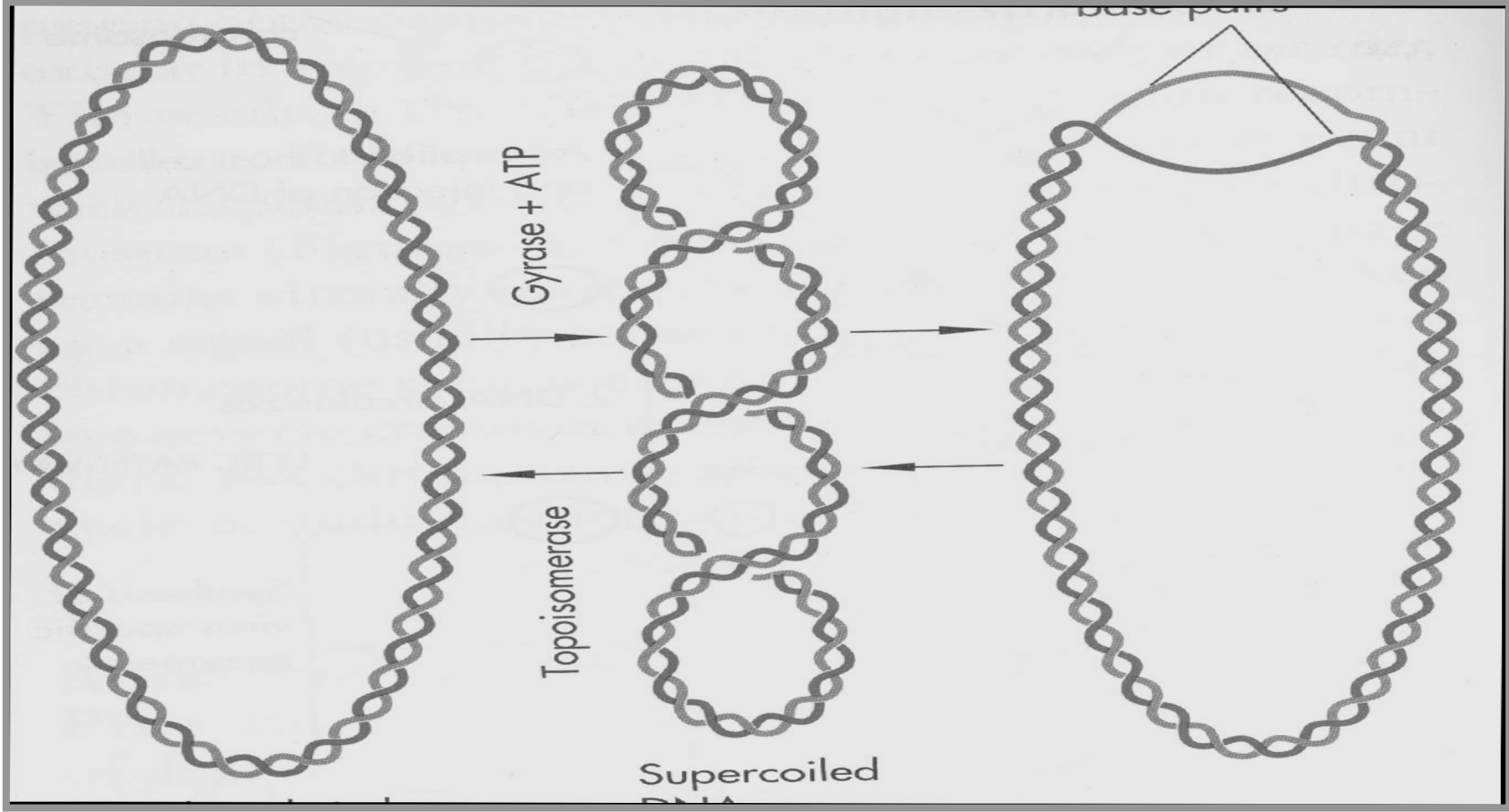


(三) DNA的三级结构

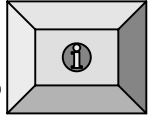
生物体内有些DNA是以双链环形DNA形式存在的，如真核细胞中的线粒体DNA、叶绿体DNA。

在细胞内，由于DNA分子与其他分子的相互作用，使DNA双螺旋进一步扭曲成三级结构，超螺旋是DNA三级结构中最常见的形式。



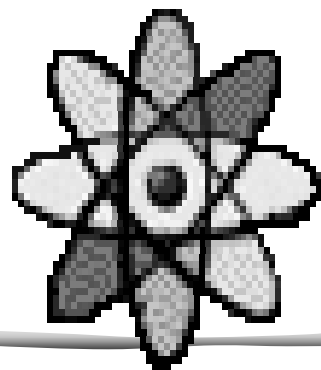
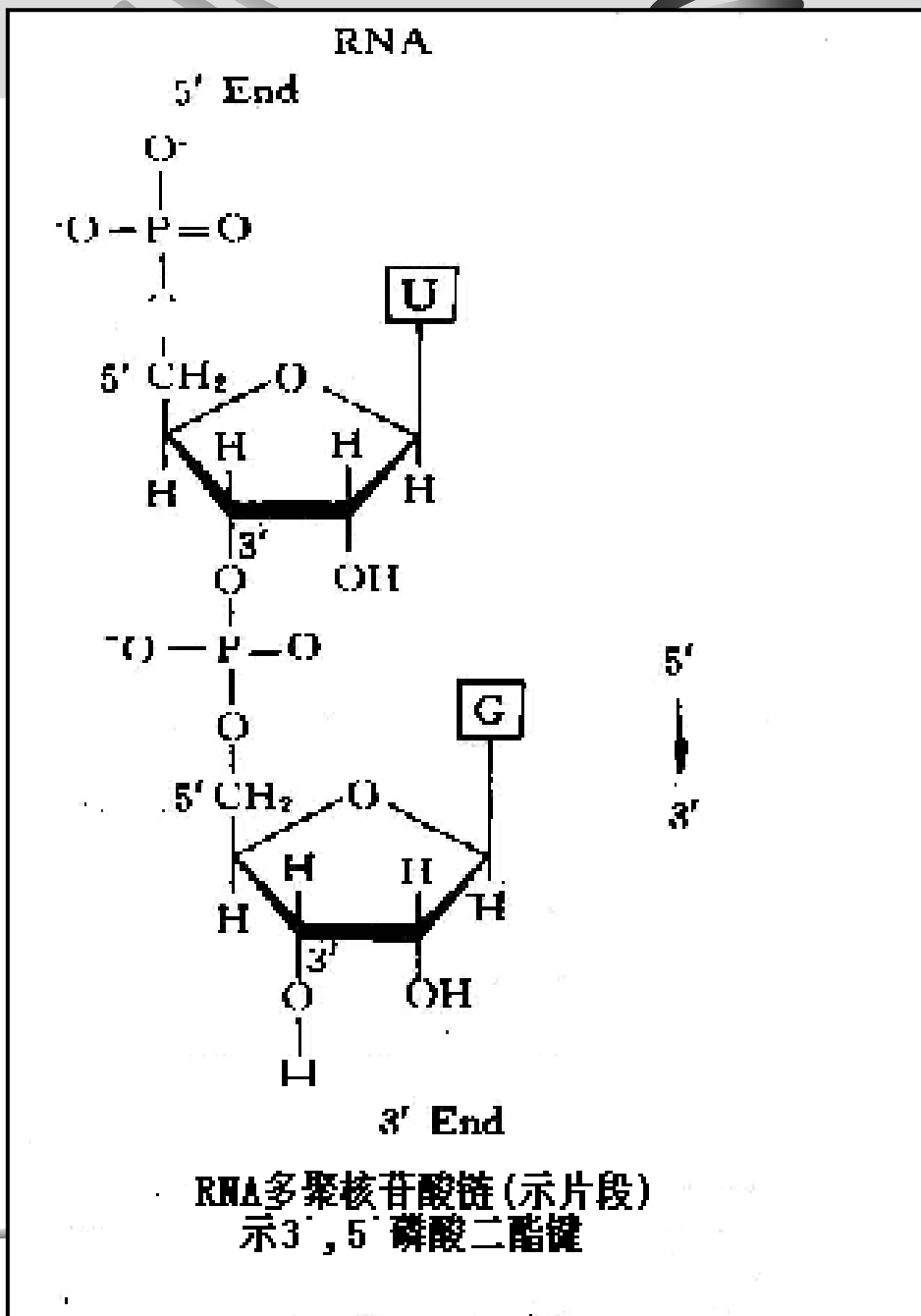


二、RNA的分子结构

RNA的一级结构是无分支的线形多聚核糖核苷酸,分子内是以3', 5'-磷酸二酯键相连。

RNA的二级结构是通过单链自身折叠形成局部的双螺旋（茎），不能配对的区域呈单链状或突环（环）。但病毒例外，也有双链RNA病毒。茎环结构是各种RNA的共同的二级结构特征。

RNA 结构图



(一) tRNA

1、 tRNA的一级结构

(1) 74-93核苷酸残基组成。分子小4S (S:指单位离心力场沉降分子下沉的速度, $1S=1 \times 10^{-13}$ 秒。)

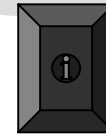
(2) 含有2-19个稀有核苷酸: DHU、 m^5C 、 Ψ

(3) 5' 端为 pG (少数为 pC)

(4) 3' 端皆为 $-CCA_{OH}$ 序列, 其中 A_{OH} 可与氨基酸共价连接

(5) 有十几个恒定核苷酸, 说明tRNA在进化上的保守性

2、 tRNA的二级结构 三叶草型结构

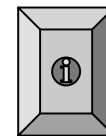


(1) 四茎四环结构 约50%的核苷酸配对形成四茎：AA接受茎、二氢尿嘧啶茎、反密码茎、TΨC茎；约50%的核苷酸不配对形成四环：D环、反密码子环、TΨC环、额外环

(2) 在3`端有一段以-CCA为主的单链区

(3) 所有tRNA都有一个反密码子

3、 tRNA的三级结构 (倒L型)



tRNA二级结构

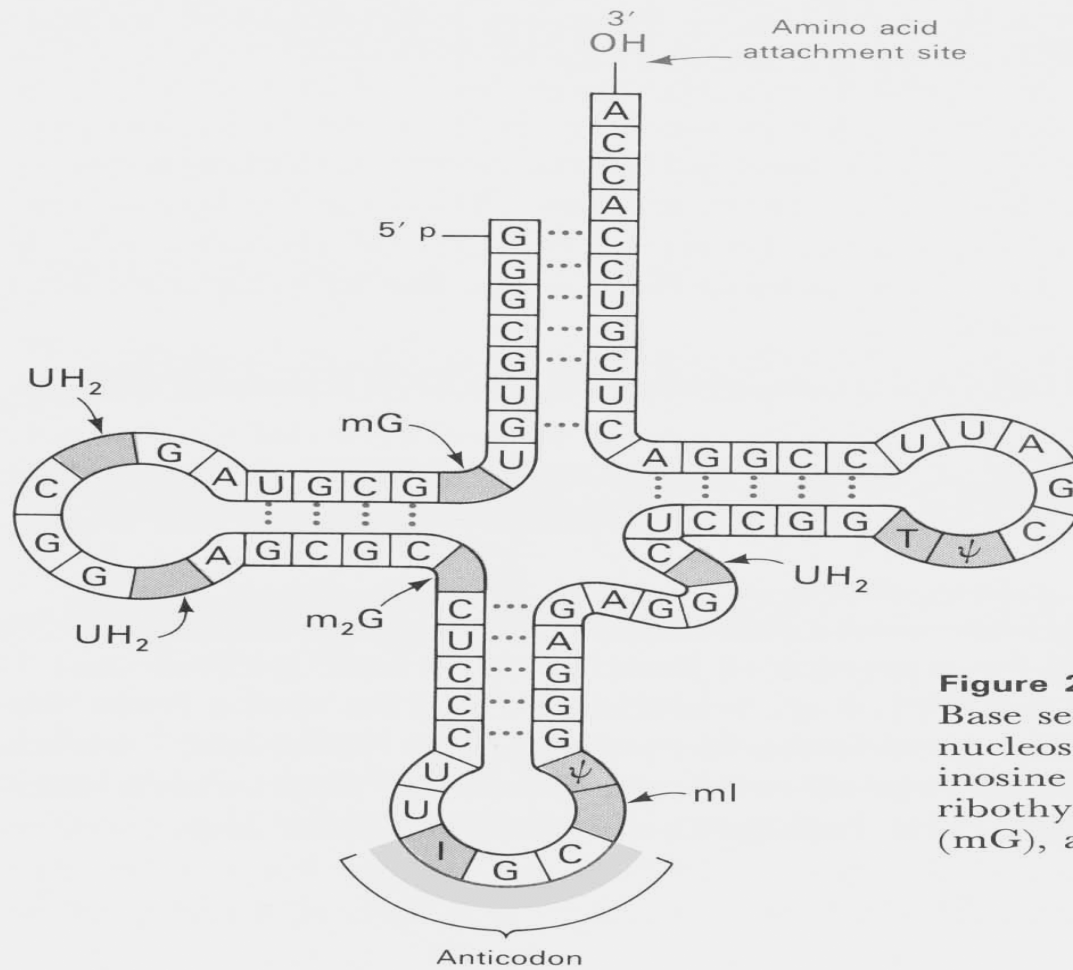
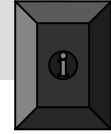


Figure 27-4
Base sequence of yeast tRNA. Modified nucleosides (shown in shaded boxes) include inosine (I), methylguanosine (mG), methyllysine (ml), and dimethylguanosine (m₂G).

tRNA三级结构

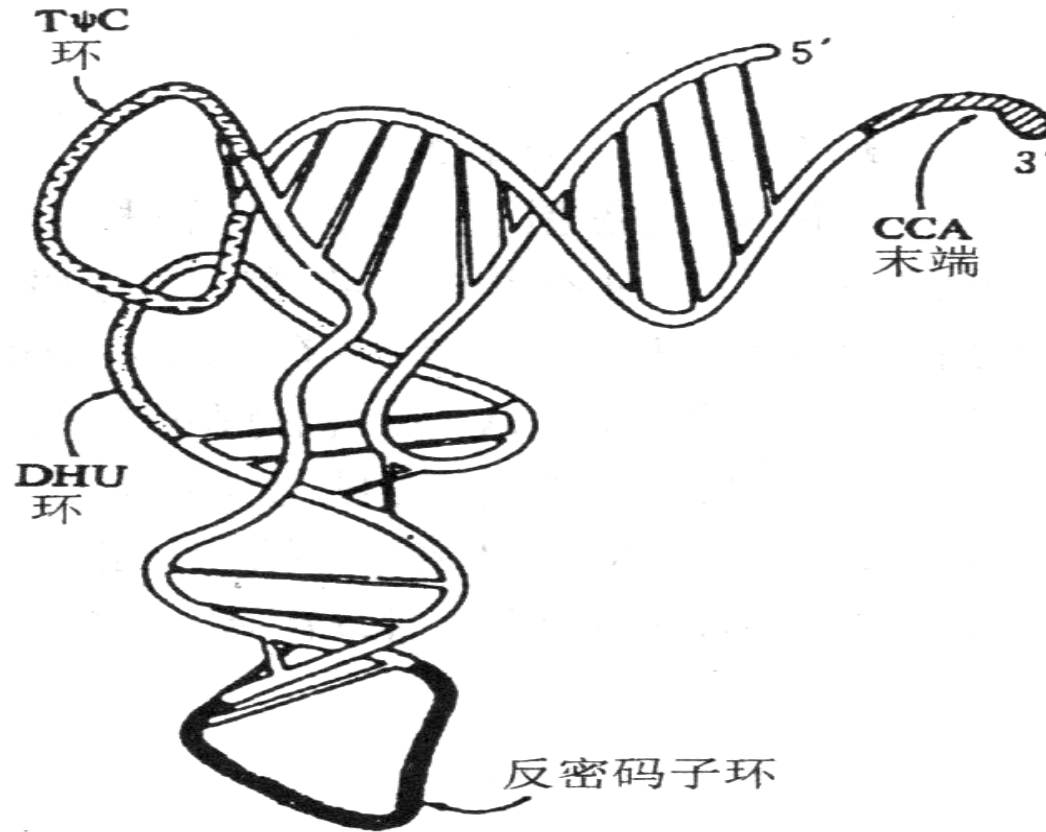


图 1-9 tRNA 的三维空间结构

(二) rRNA

rRNA的种类和大小:

| 核糖体亚基 | | rRNA 大小 |
|-------|-----|-------------|
| 原核生物 | 30S | 16S |
| | 50S | 23S+5S |
| 真核生物 | 40S | 18S |
| | 60S | 28S+5.8S+5S |

大肠杆菌5S rRNA的二级结构模型

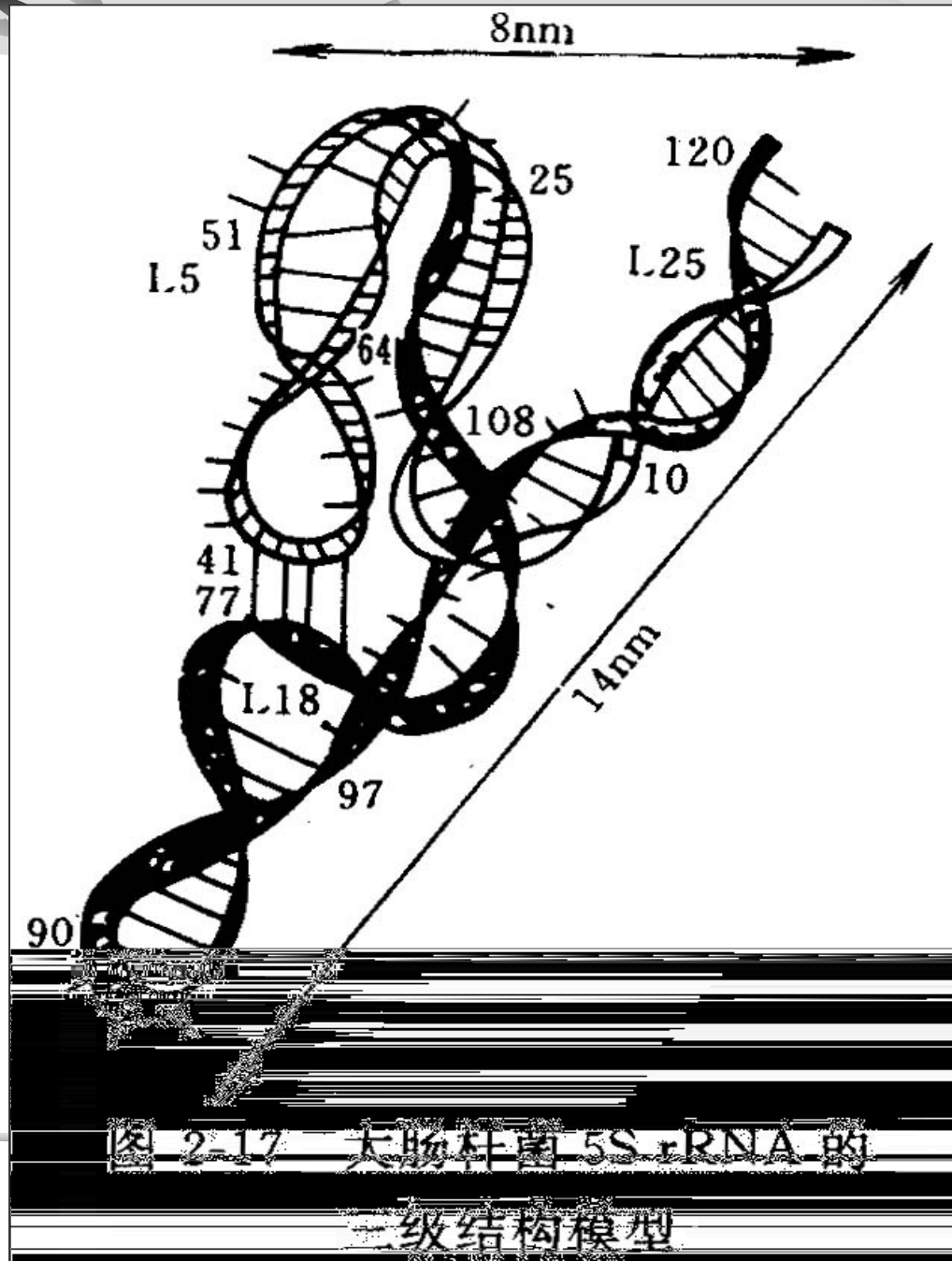


图 2-17 大肠杆菌 5S rRNA 的二级结构模型

(三) mRNA

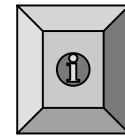
mRNA含量少、种类多，携带DNA的遗传信息，是蛋白质生物合成的模式板，单链，分子大小不一。其二级结构也是通过单链自身折叠而形成的茎环结构

真核生物与原核生物mRNA的结构区别：

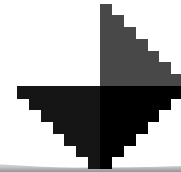
1、原核生物mRNA一般是多顺反子，而真核生物mRNA是单顺反子。

顺反子(cistron)：通过顺反位置效应测验而鉴定的遗传功能单位，相应于一个多肽链的DNA顺序加上翻译的起始和终止信号，和基因是同义词。

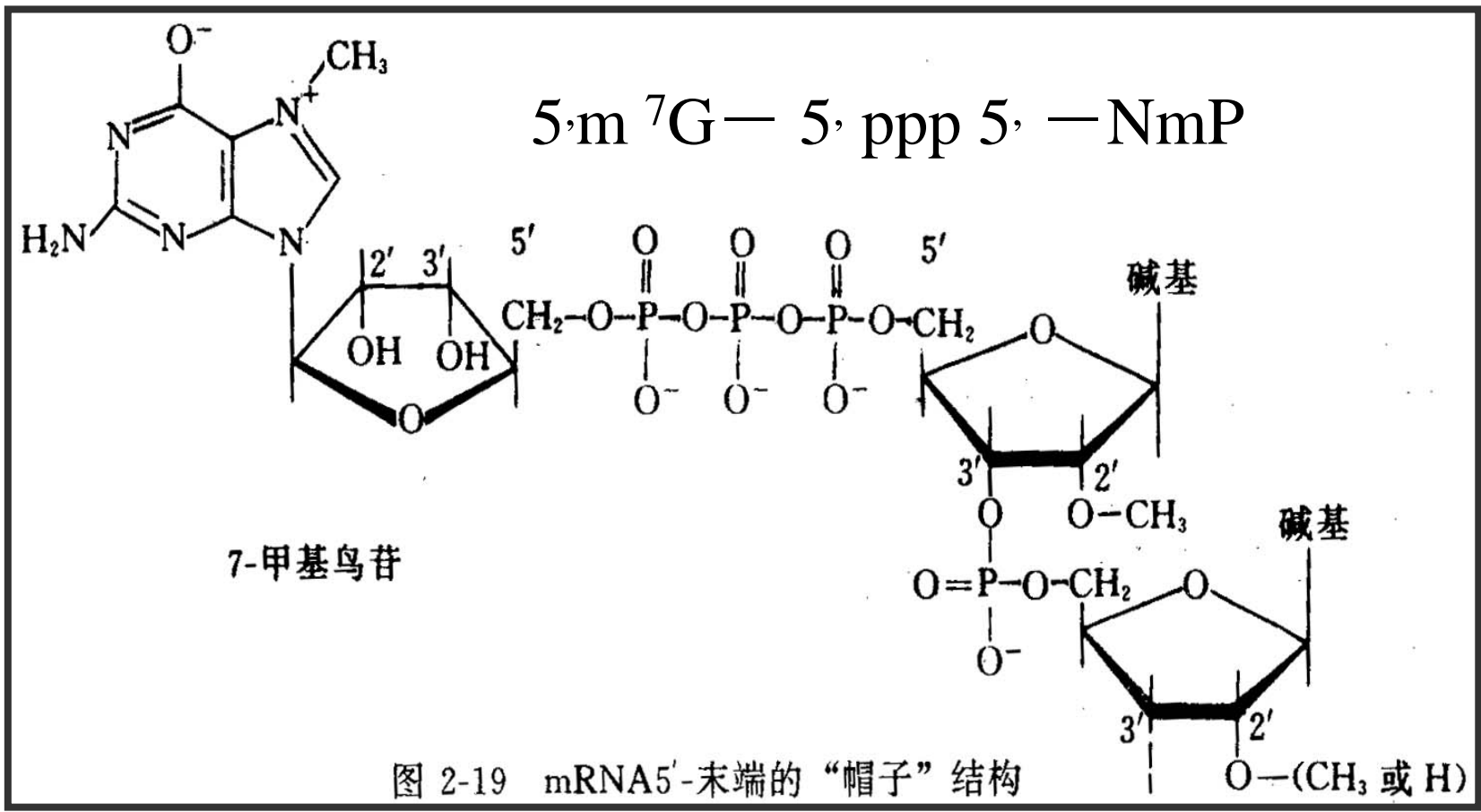
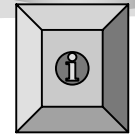
2、真核生物的mRNA 5`端有一段帽子结构，而原核生物无。



3、真核生物的mRNA 3`端有polyA（多聚腺苷酸），而原核生物无。



mRNA 5' 末端的“帽子”结构

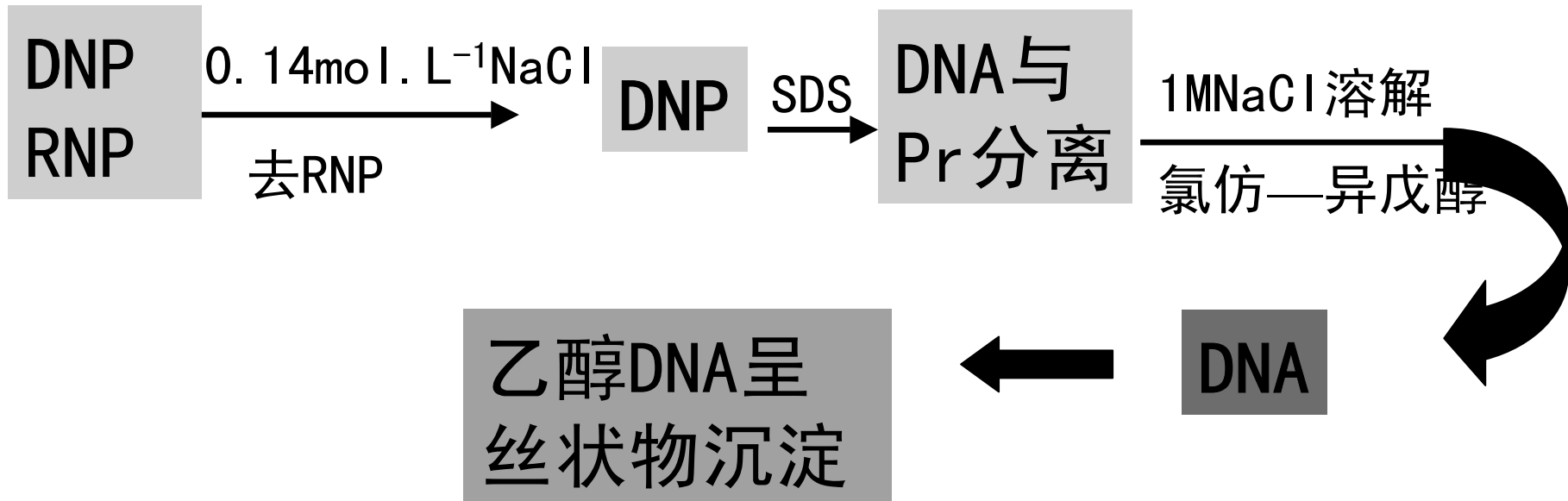


第四节 核酸的理化性质

一、核酸的分离

DNA以DNP（脱氧核蛋白）的形式存在，RNA以RNP（核蛋白）的形式存在。

分离原理（盐溶法）：DNA能溶于 $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NaCl溶液，不溶于 $0.14\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NaCl溶液，而RNA溶于 $0.14\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NaCl溶液。



二、核酸的溶解性

核酸微溶于水，不溶于一般有机溶剂。在70%乙醇中沉淀，常在核酸粗提液中加入二倍体积70%乙醇使核酸沉淀而使其纯化。

三、核酸的解离性

质 核酸即有酸性基因，又有碱性基因，是两性电解质。

1、磷酸基在 $\text{pH} > 4$ 时，H全部解离，呈多阴离子状态。高等生物中，这种状态下的核酸与碱性组蛋白结合而保持稳定。

2、核酸的 $\text{pI} = 2 - 2.5$ ，中性带负电，酸性带正电。

3、只有在中性条件下才能进行正常的碱基配对。

4、核酸在一定pH的溶液中带电荷，可利用电泳分离核酸。

四、核酸的紫外吸收

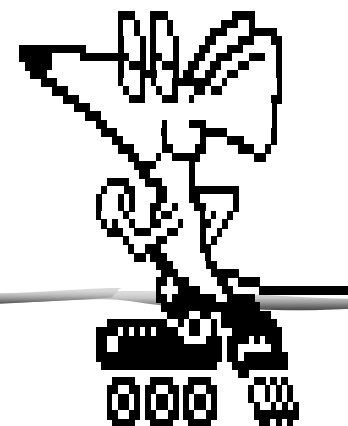
嘌呤碱和嘧啶碱具有共轭双键，使碱基、核苷、核苷酸和核酸在240—290nm的紫外波段有强烈吸收，最大吸收值在260nm附近。可以利用紫外吸收特性定性和定量地检测核酸和核苷酸。


Pr 在280nm附近有最大吸收峰，因此利用 A_{260} / A_{280} 判断样品的纯度。

纯DNA $A_{260} / A_{280} = 1.8$ 。

纯RNA $A_{260} / A_{280} = 2.0$ 。

样品中若有Pr及苯酚， A_{260} / A_{280} 比值明显降低。






引起变性的因素：加热、酸、碱、尿素、
有机溶剂

变性的性质变化：增色效应、粘度降低、
生物活性部分或全部丧失

增色效应：核酸变性后， A_{260} 的光吸收
增加的现象



五、核酸的变性、复性和分子杂交

(一) 变性(denaturation)

1、核酸的变性

核酸的变性：指核酸分子中的氢键断裂，双螺旋区解开，变成无规则单链的过程。

实质：二级结构改变（氢键断裂），一级结构不破坏（共价键不断裂）。

2、DNA的热变性与解链温度 (T_m)

DNA的热变性是爆发式的，变性作用发生在一个很窄的温度范围。

T_m (melting temperature): 通常把DNA的双螺旋结构失去一半时的温度称DNA的熔点, 或溶解温度。用 T_m 表示。

DNA的 T_m 值一般在70-85°C之间。 T_m 大小主要与GC含量和盐离子的浓度有关。

(二)复性(renaturation)

DNA的复性：变性的两条单链在适当条件下，重新缔合为双螺旋结构的过程。

减色效应：核酸复性后， A_{260} 的光吸收降低的现象。

退火：当热变性DNA的两条互补单链在缓慢冷却的条件下，重新缔合为双螺旋结构的复性。

DNA的变性与复性

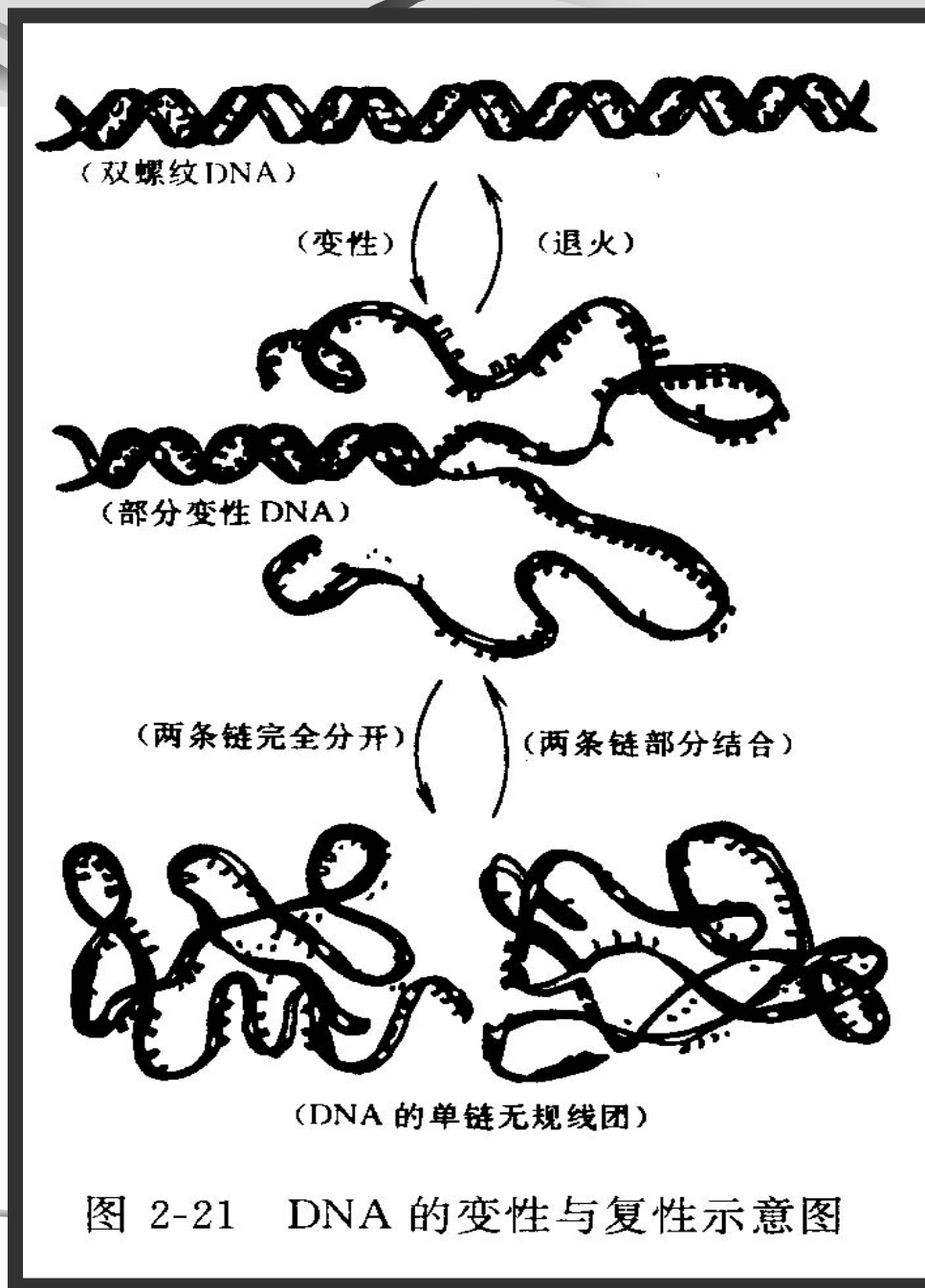


图 2-21 DNA 的变性与复性示意图



(三) 分子杂交

分子杂交：把不同的DNA链放在同一溶液中作变性处理，然后复性，不同DNA链的配对区域就可以形成局部的双链，这一过程称为分子杂交。

