

第二章

核酸的结构与功能

Structure and Function of Nucleic Acid

核 酸(nucleic acid)

是以核苷酸为基本组成单位的生物大分子，携带和传递遗传信息。

核酸的分类及分布

脱氧核糖核酸

(deoxyribonucleic acid, DNA)

存在于细胞核和线粒体内。

携带遗传信息，决定细胞和个体的遗传型(genotype)。

核糖核酸

(ribonucleic acid, RNA)

存在于细胞核、细胞质和线粒体。

参与遗传信息的复制与表达。
某些病毒RNA也可作为遗传信息的载体。

第一节

核酸的分子组成

Molecular Component of Nucleic Acid

一、核酸的基本组成单位是核苷酸

元素组成

主要元素组成： C、H、O、N、P (9%~11%)

与蛋白质比较，核酸一般不含S，而P的含量较为稳定，占9%~11%。

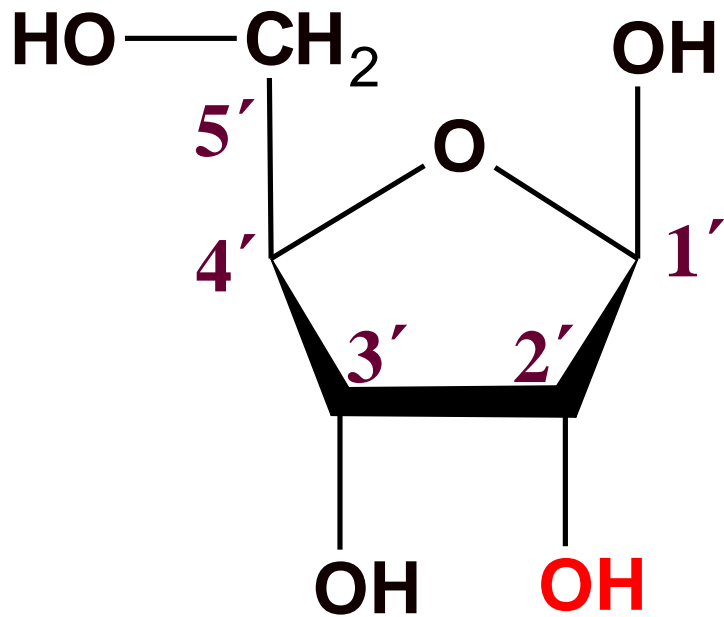
分子组成

碱基 (base): 嘌呤碱, 嘧啶碱

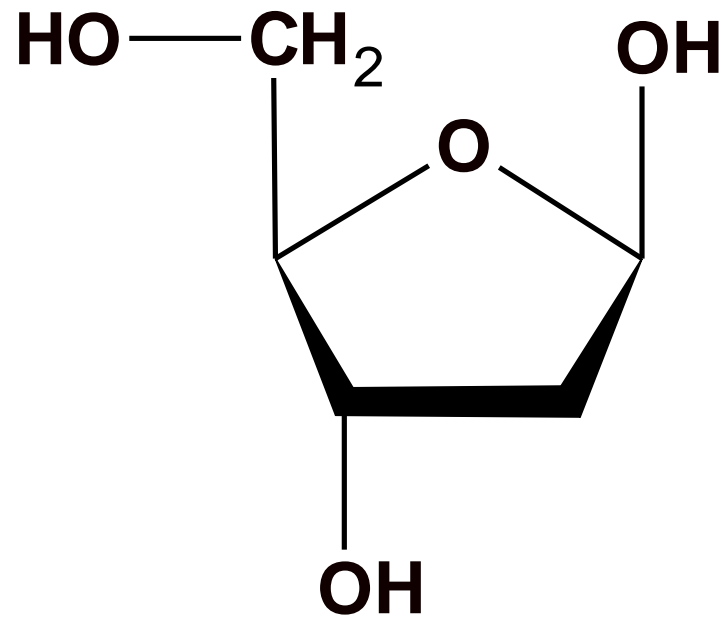
戊糖 (ribose): 核糖, 脱氧核糖

磷酸 (phosphate)

戊糖



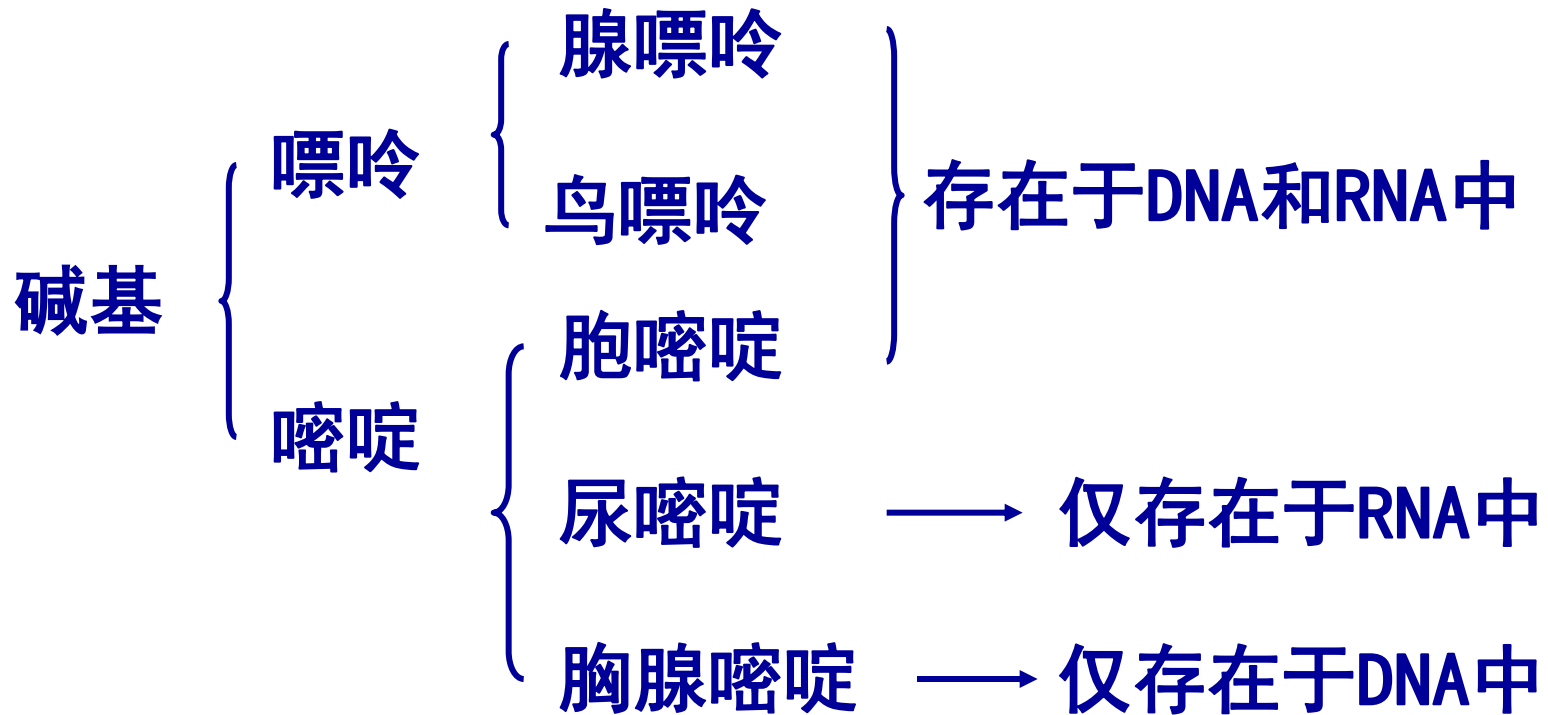
核糖 (ribose)
(构成RNA)



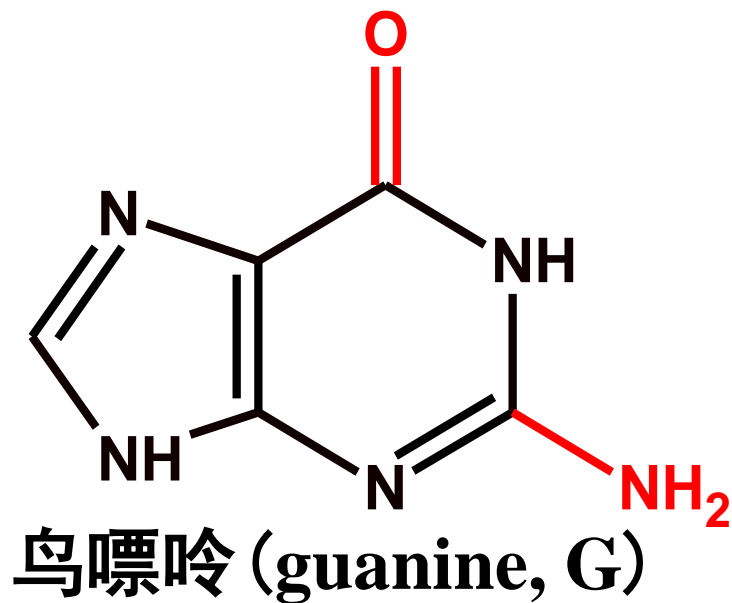
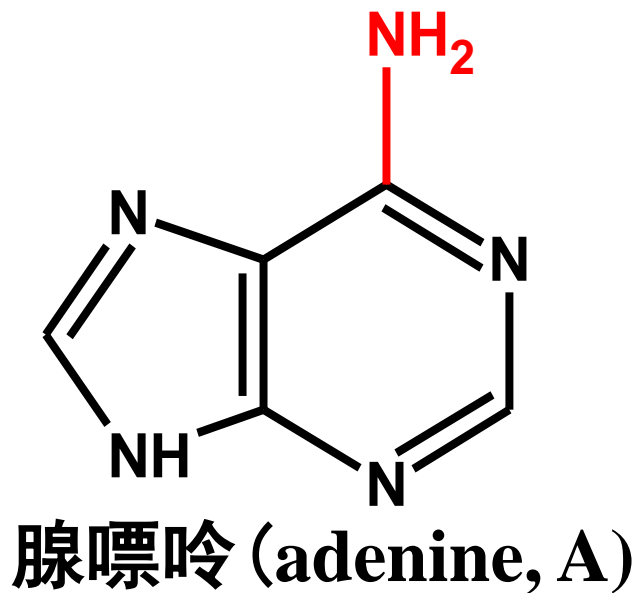
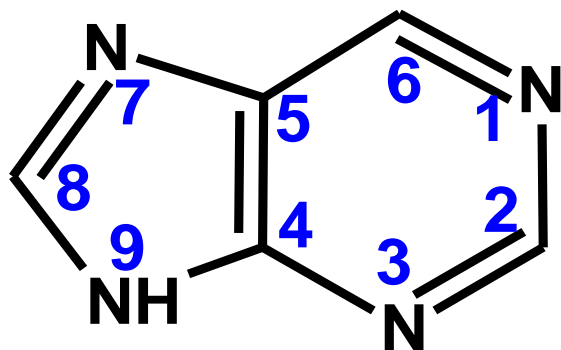
脱氧核糖 (deoxyribose)
(构成DNA)

碱基

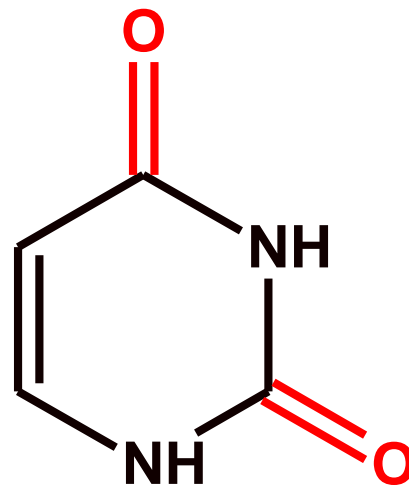
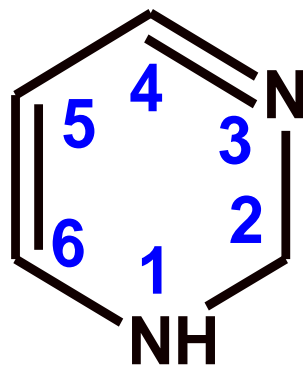
碱基 (base) 是含氮的杂环化合物。



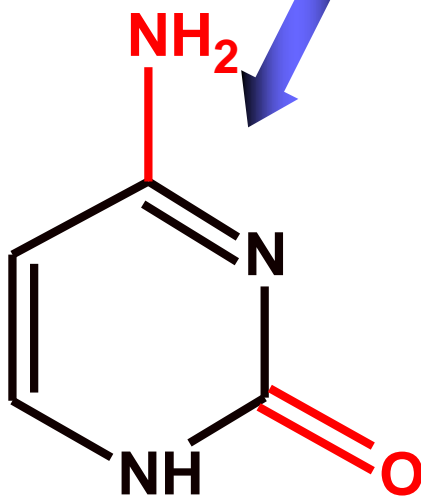
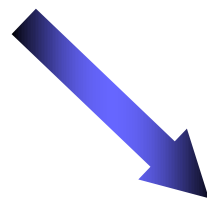
嘌呤 (purine, Pu)



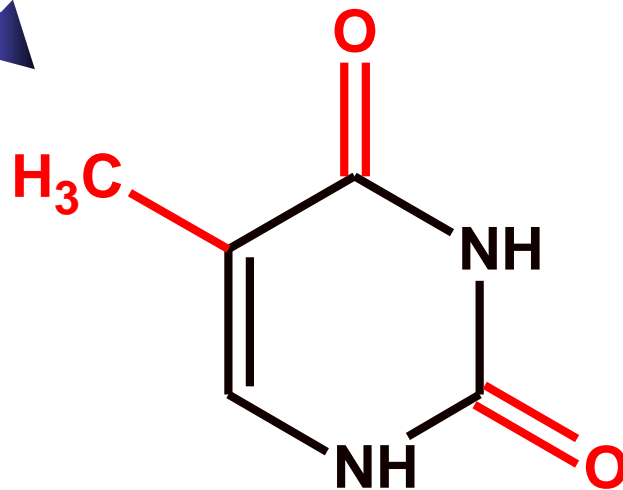
嘧啶 (pyrimidine, Py)



尿嘧啶 (uracil, U)



胞嘧啶 (cytosine, C)



胸腺嘧啶 (thymine, T)

DNA 与RNA的异同

核酸

碱基

戊糖

DNA

A、G、C、T

脱氧核糖

RNA

A、G、C、U

核糖

核苷酸

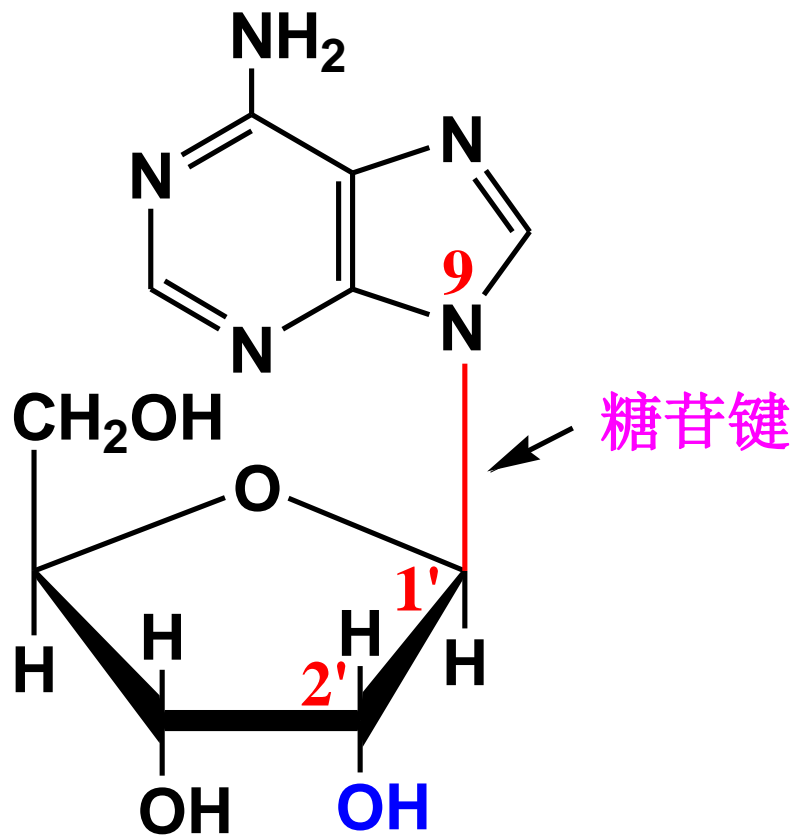
1. 核苷 (ribonucleoside) 的形成

碱基和核糖（脱氧核糖）通过**糖苷键**连接形成核苷（脱氧核苷）。

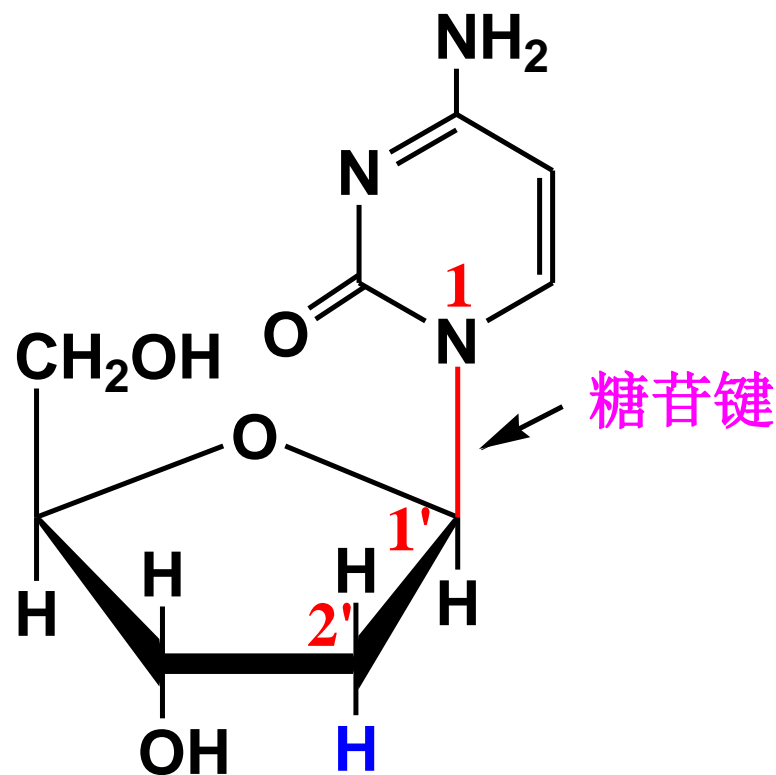
核苷： AR, GR, UR, CR

脱氧核苷： dAR, dGR, dTR, dCR

嘌呤N-9或嘧啶N-1与核糖(或脱氧核糖)C-1'
通过 β -N-糖苷键相连形成核苷(或脱氧核苷)。



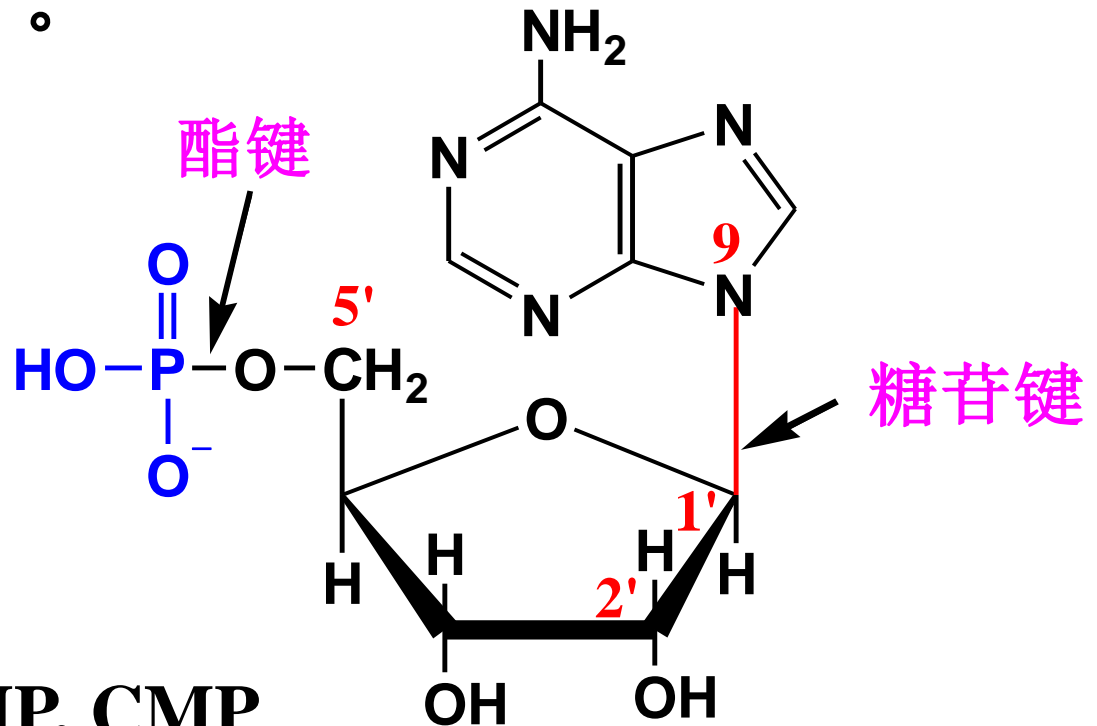
腺嘌呤核苷



胞嘧啶脱氧核苷

2.核苷酸(ribonucleotide)

核苷（脱氧核苷）和磷酸以**酯键**连接形成**核苷酸**（脱氧核苷酸）。



核苷酸：

AMP, GMP, UMP, CMP

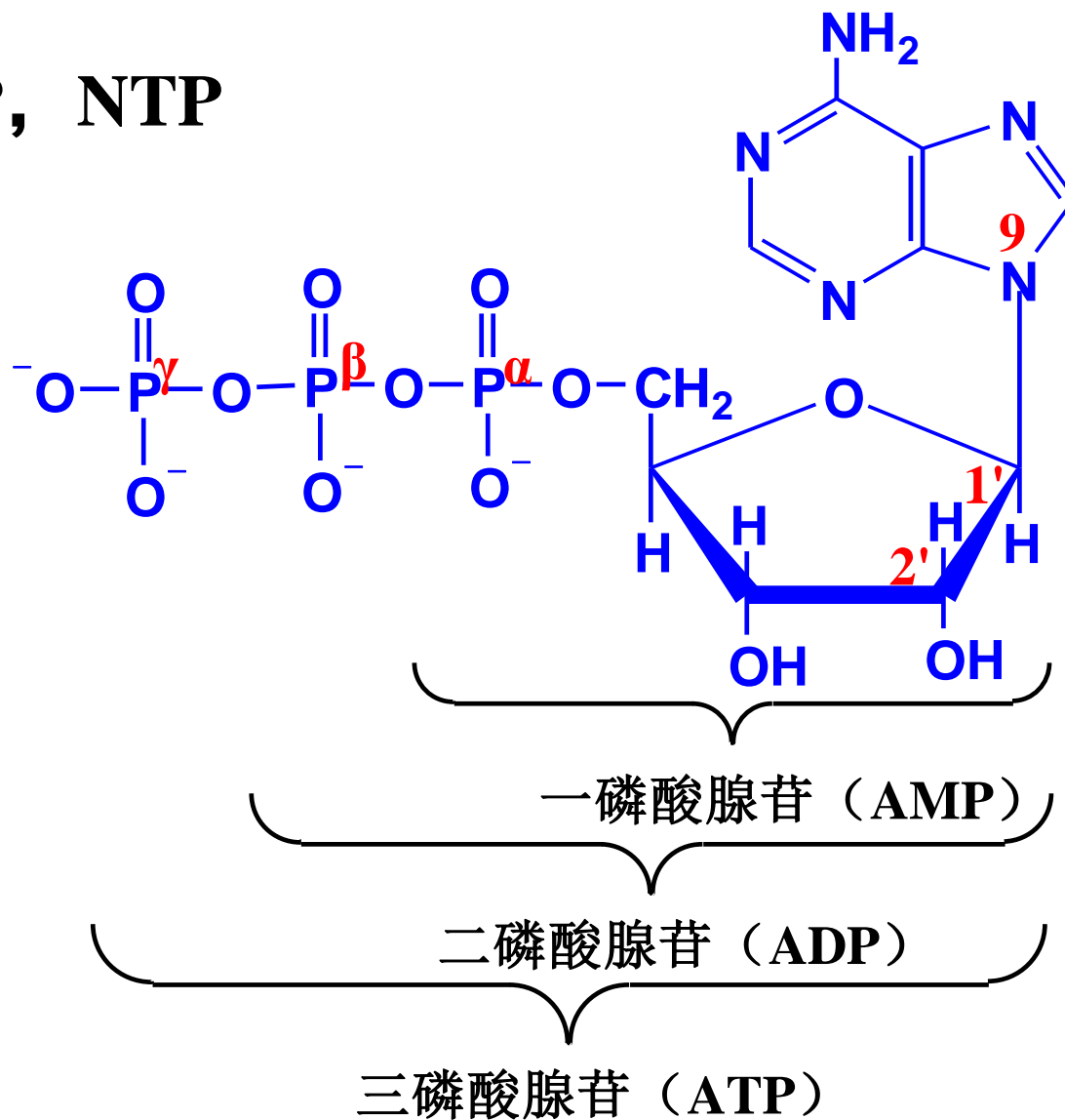
脱氧核苷酸：

dAMP, dGMP, dTMP, dCMP

腺苷酸

多磷酸核苷酸

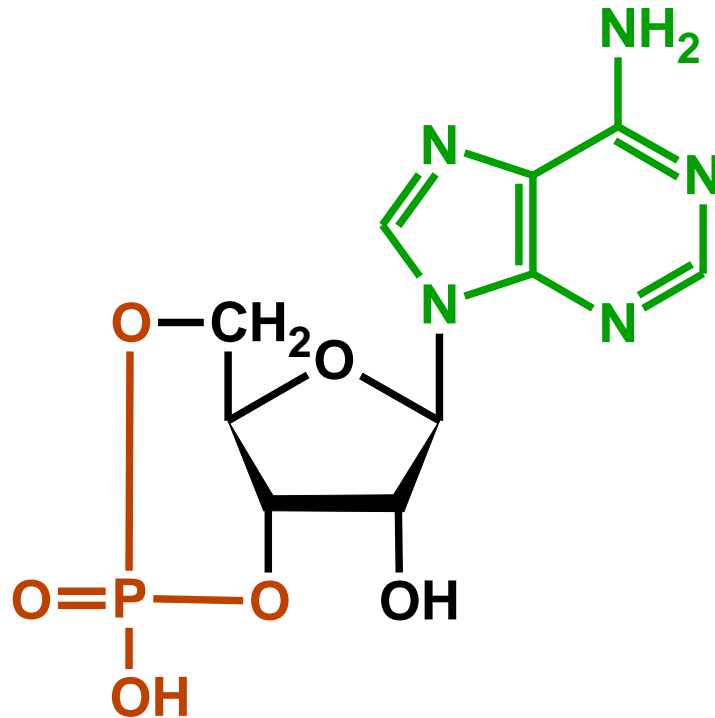
NMP, NDP, NTP



核苷酸衍生物

环化核苷酸：cAMP、cGMP，是细胞信号转导中的第二信使。

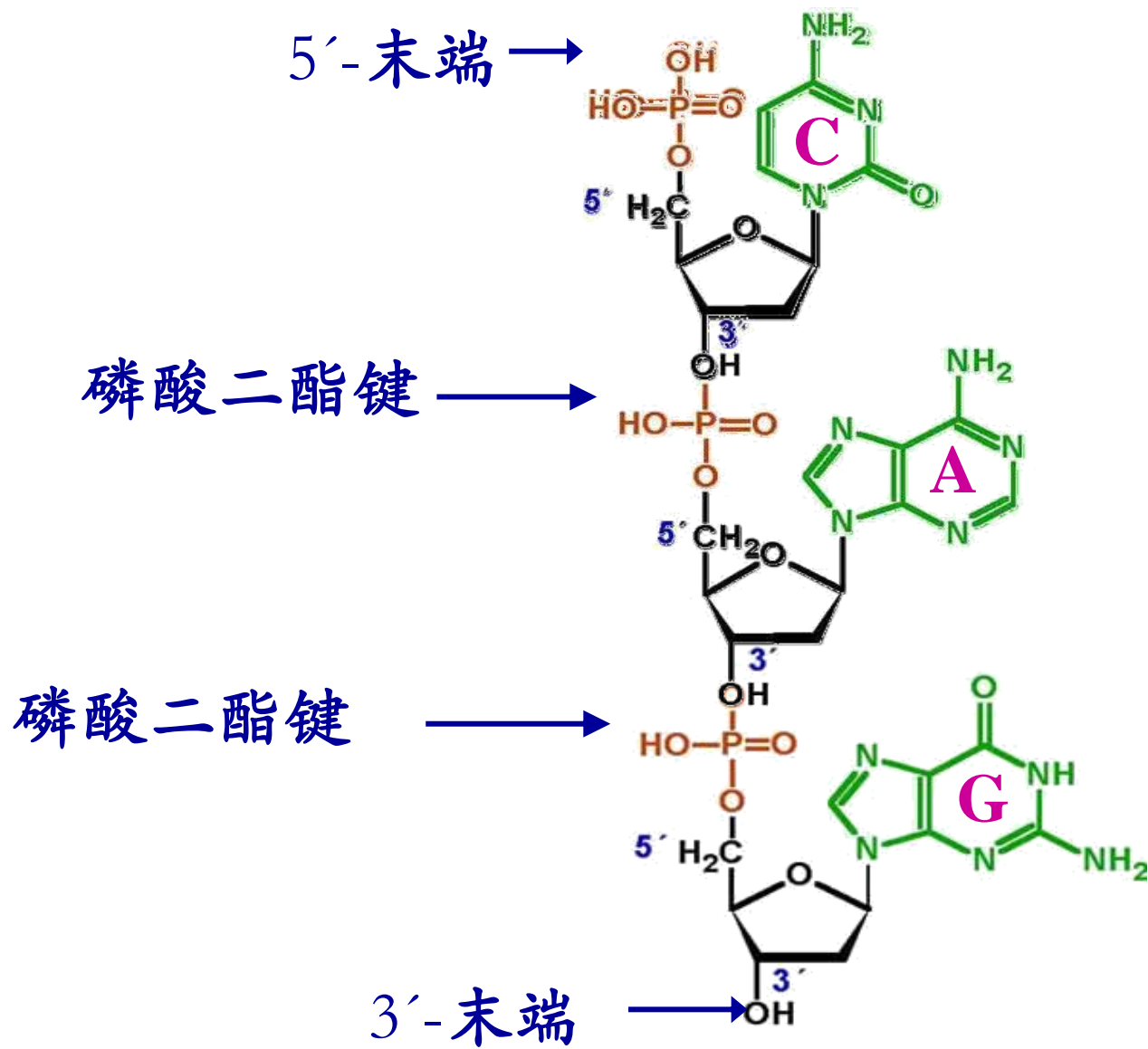
cAMP



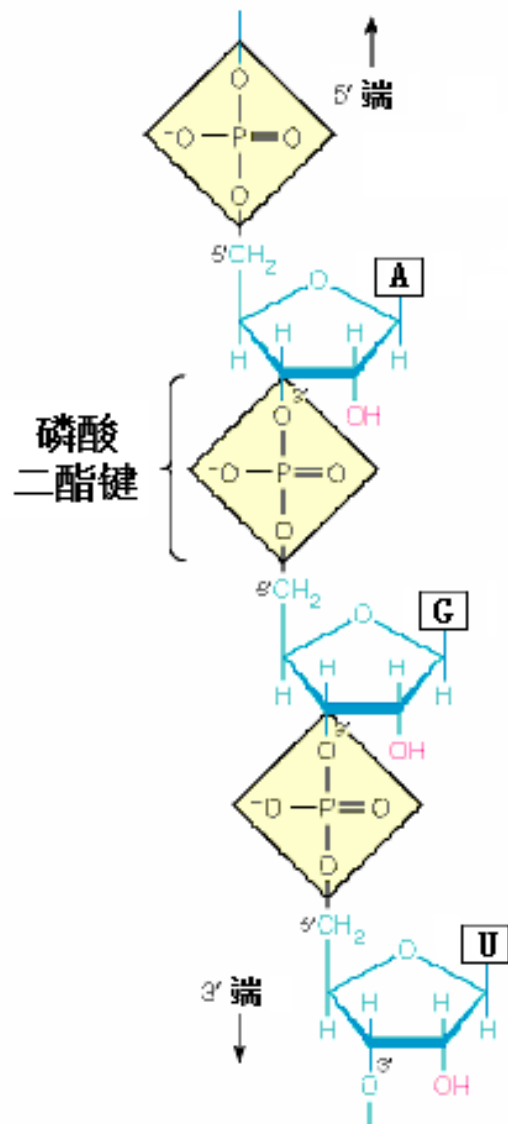
二、核苷酸通过3', 5'-磷酸二酯键 连接成核酸大分子

一个脱氧核苷酸(或核苷酸) 3'位的羟基与另一个核苷酸5'位的 α -磷酸基团缩合形成磷酸二酯键(phosphodiester bond)。

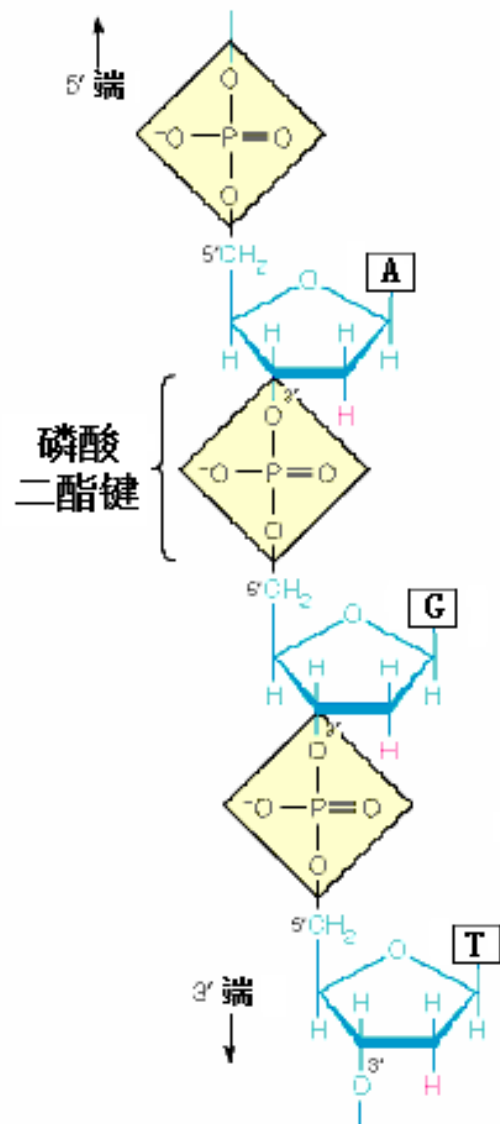
多个脱氧核苷酸通过磷酸二酯键构成了具有方向性的线性分子, 称为多聚脱氧核苷酸(polydeoxynucleotide), 即DNA链; 多聚核苷酸, 即RNA链。



RNA



DNA



第二节

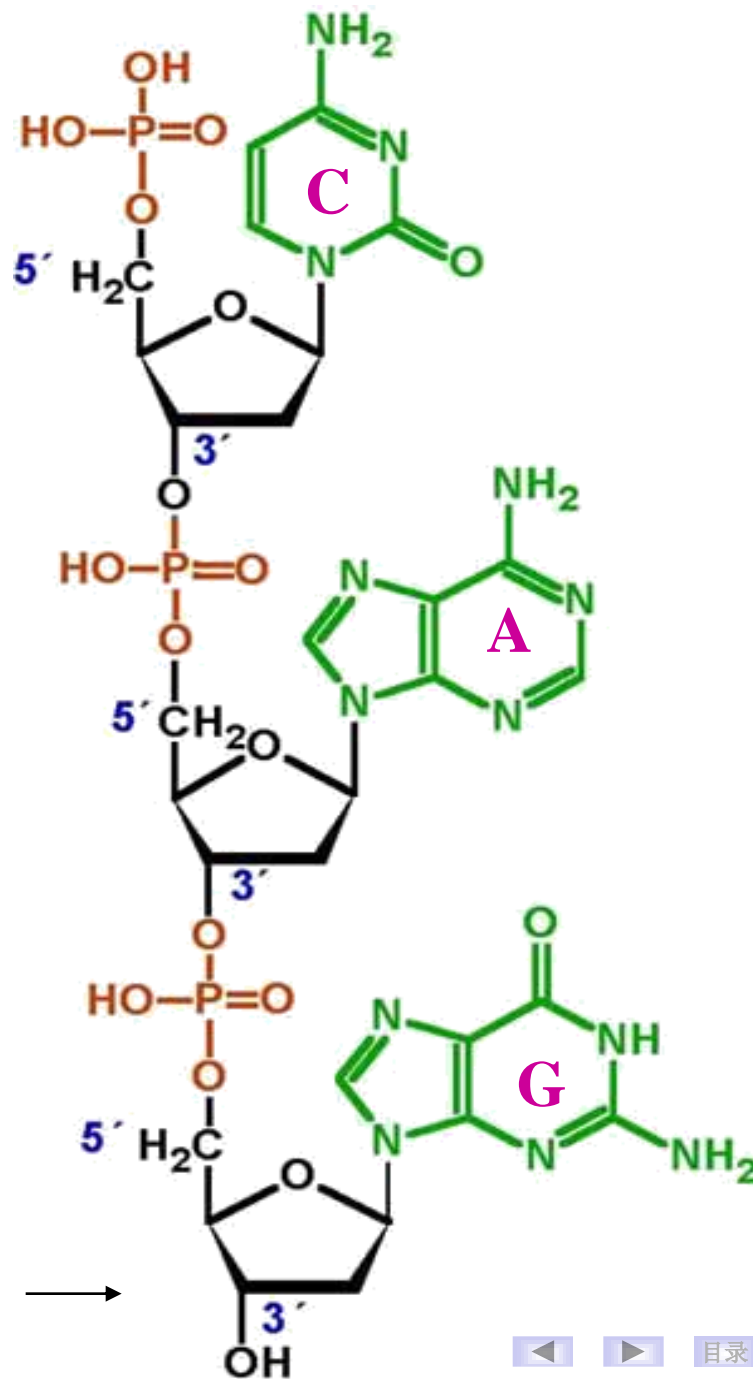
核酸的分子结构

Molecular Structure of Nucleic Acid

一、核酸的一级结构是核苷酸的排列顺序

由于核苷酸间的差异主要是碱基不同，所以也称为**碱基序列**。

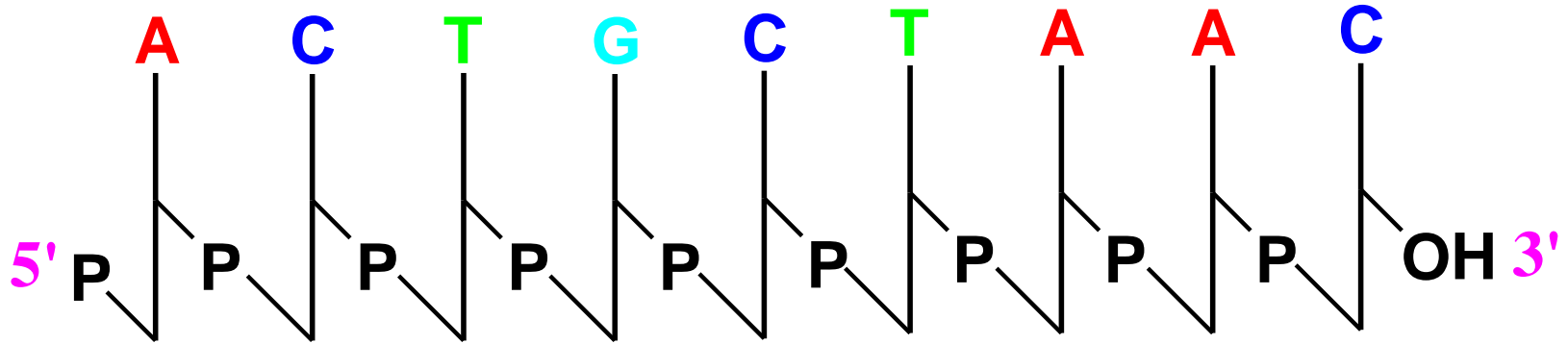
5' 端



3' 端



书写方法



↓

5' pApCpTpGpCpTpApApC-OH 3'

↓

5' ACTGCTAAC 3'

二、DNA的空间结构与功能

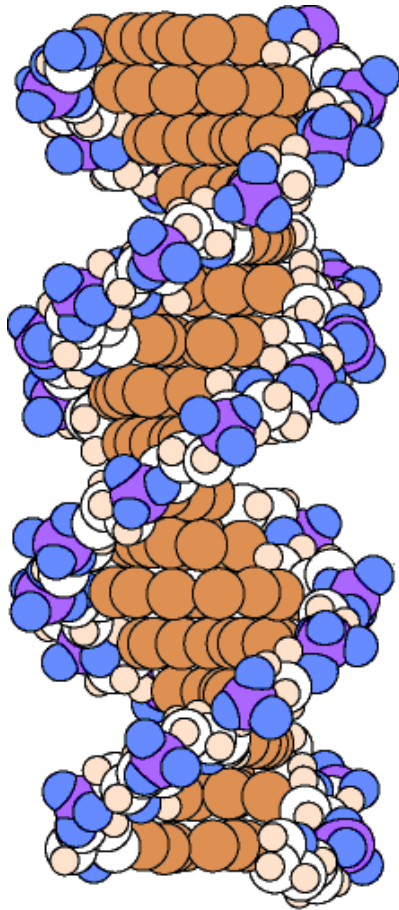
DNA的空间结构 (spatial structure)

所有原子在三维空间的相对位置关系, 构成DNA的空间结构。

DNA的空间结构又分为二级结构 (secondary structure) 和高级结构。

DNA的二级结构

——双螺旋结构



James Watson



Francis Crick

（一）DNA双螺旋结构的研究基础

Chargaff 规则：

1. 不同生物种属的DNA的碱基组成不同
2. 同一个体的不同器官或组织的DNA碱基组成相同。
3. $[A] = [T]$, $[G] = [C]$

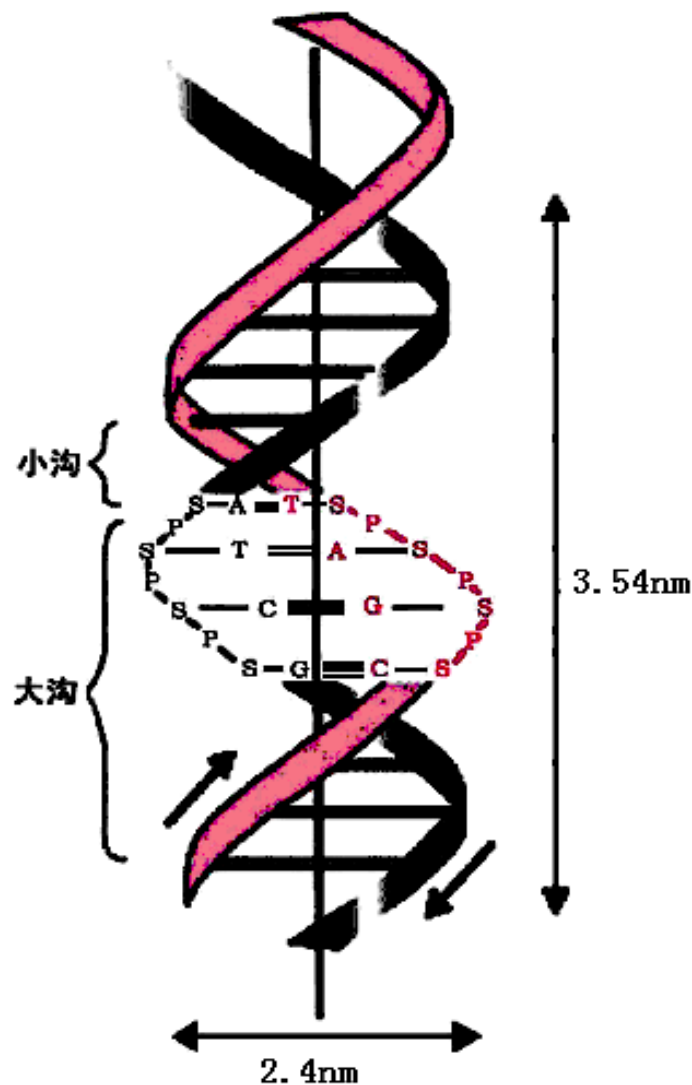
碱基的理化数据分析：

A-T、G-C以氢键配对较合理

DNA纤维的X射线衍射图谱分析

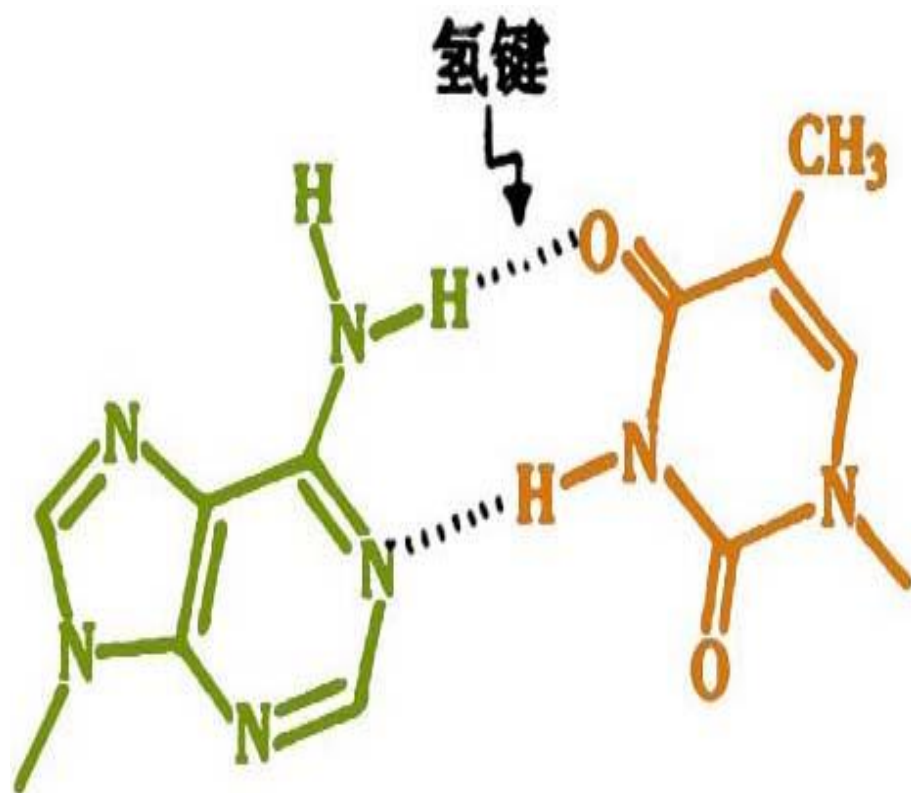
(二) DNA双螺旋结构要点

1. 两条链反向平行，围绕同一中心轴构成**右手双螺旋** (double helix)。螺旋直径**2.4nm**，表面有**大沟**和**小沟**。
2. 磷酸-脱氧核糖骨架位于螺旋**外侧**，碱基垂直于螺旋轴而伸入**内侧**。每圈螺旋含**10.5个碱基对** (bp)，**螺距为3.54nm**。



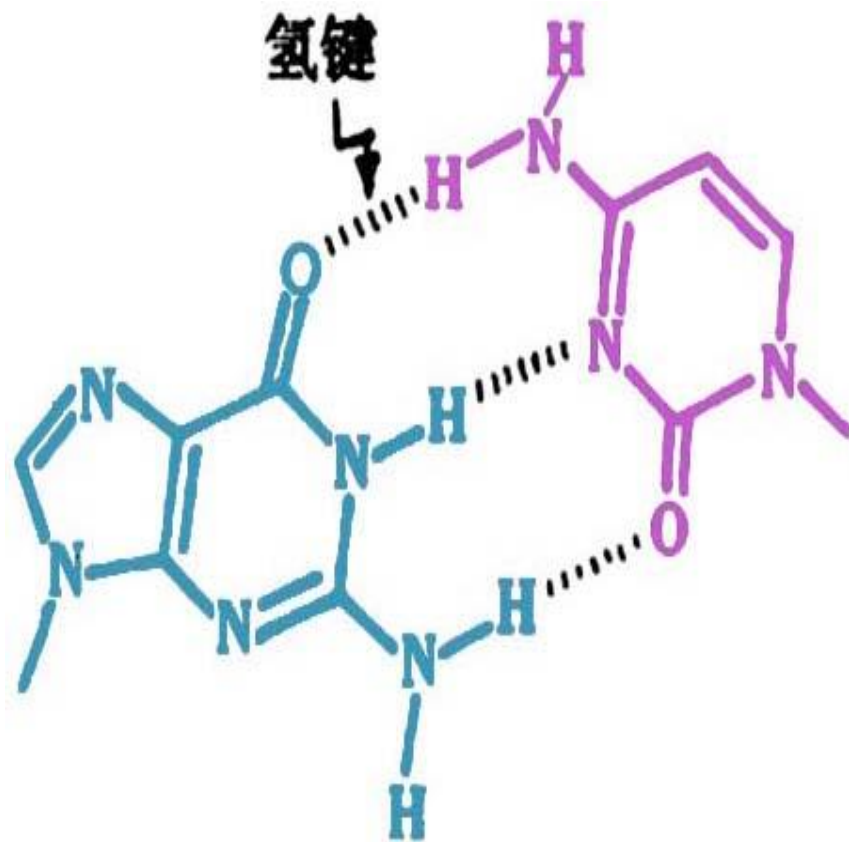
A

T



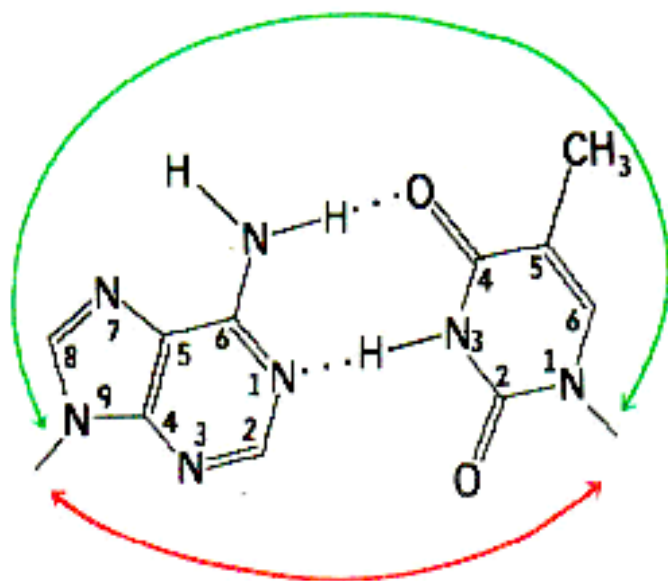
C

G



大沟与小沟

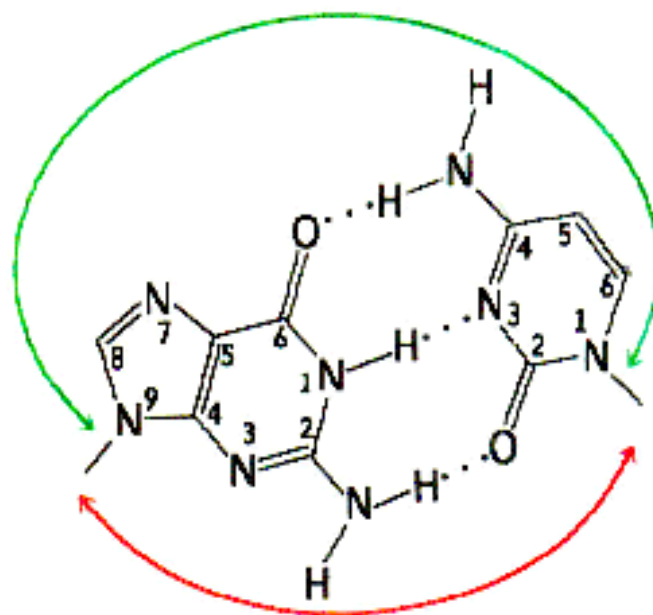
大沟



小沟

Adenine : Thymine

大沟

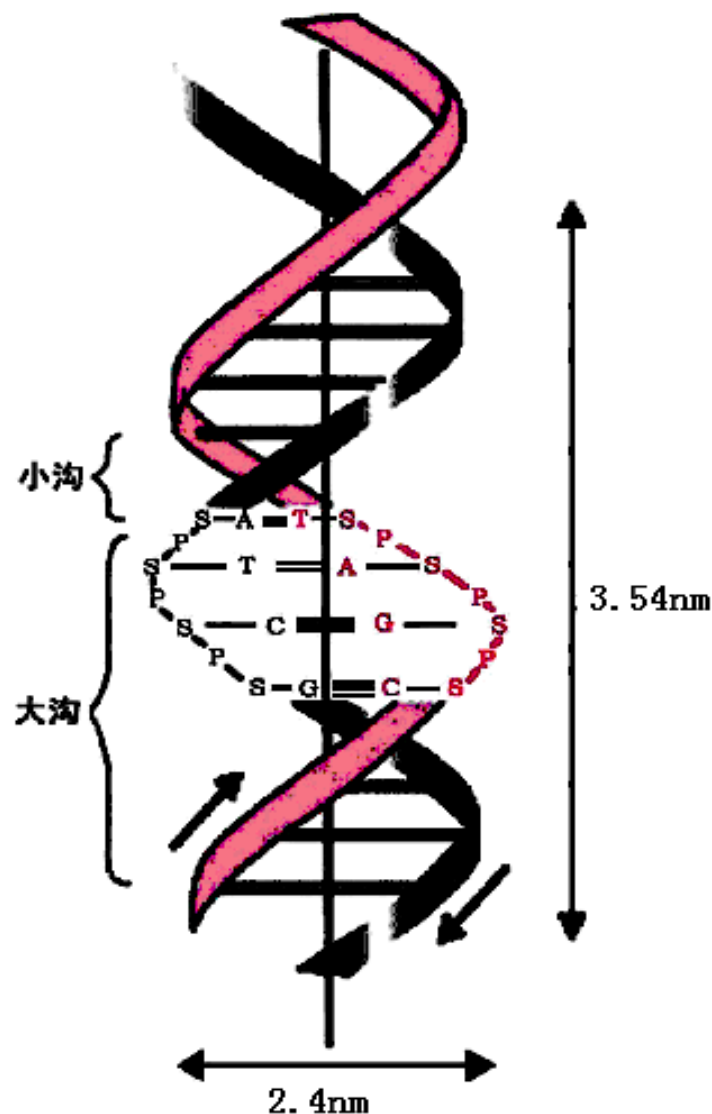


小沟

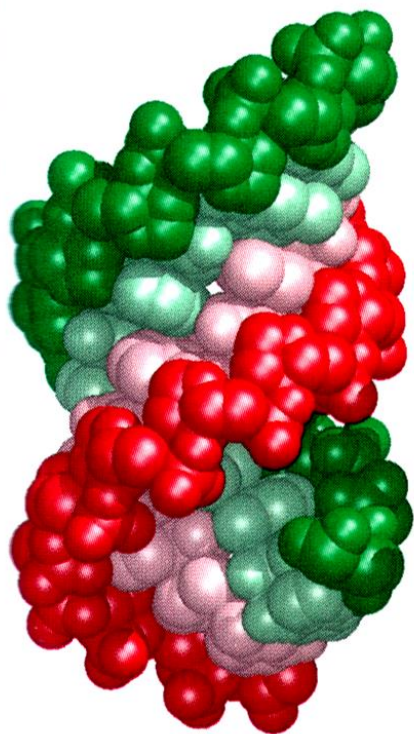
Guanine : Cytosine

3. 两条链通过碱基间的氢键相连，A对T含有两个氢键，C对G含有三个氢键，这种配对的规律，称为**碱基互补规则**。

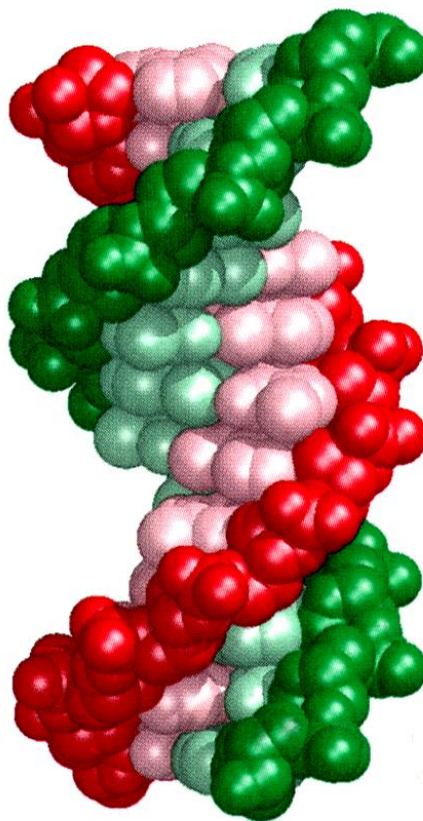
4. 维持双螺旋稳定的因素：横向为**氢键**，纵向为**碱基间的堆积力**。



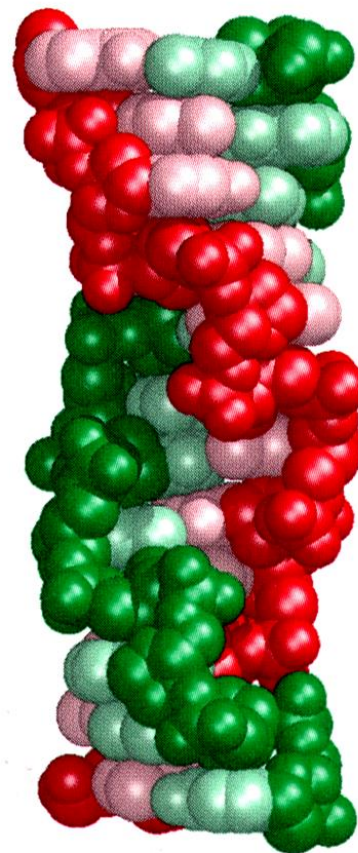
(三) DNA双螺旋结构的多样性



A-DNA



B-DNA



Z-DNA

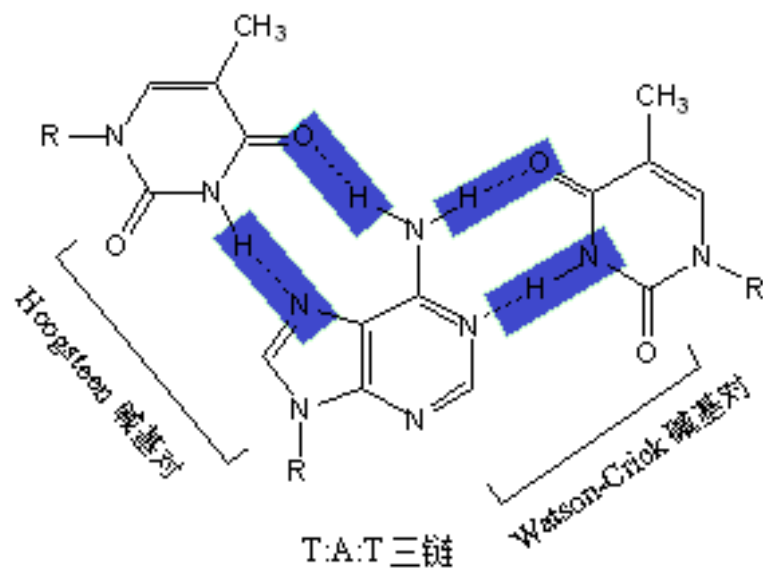
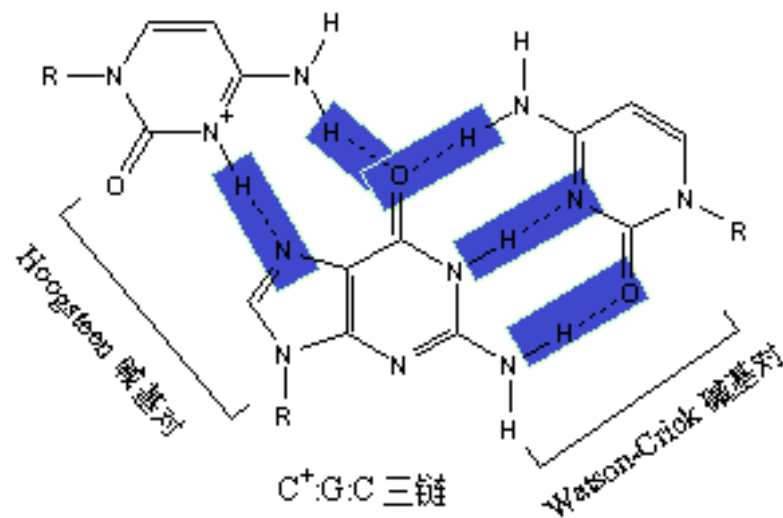
(四) DNA的多链螺旋结构

胞嘧啶的N-3原子被质子化，可与鸟嘌呤的N-7原子形成氢键；同时，胞嘧啶的N-4的氢原子也可与鸟嘌呤的O-6形成氢键。另一个T与A/T碱基对之间，可形成额外的2个氢键，由此形成了C+GC、T+AT的三链结构(triplex)。

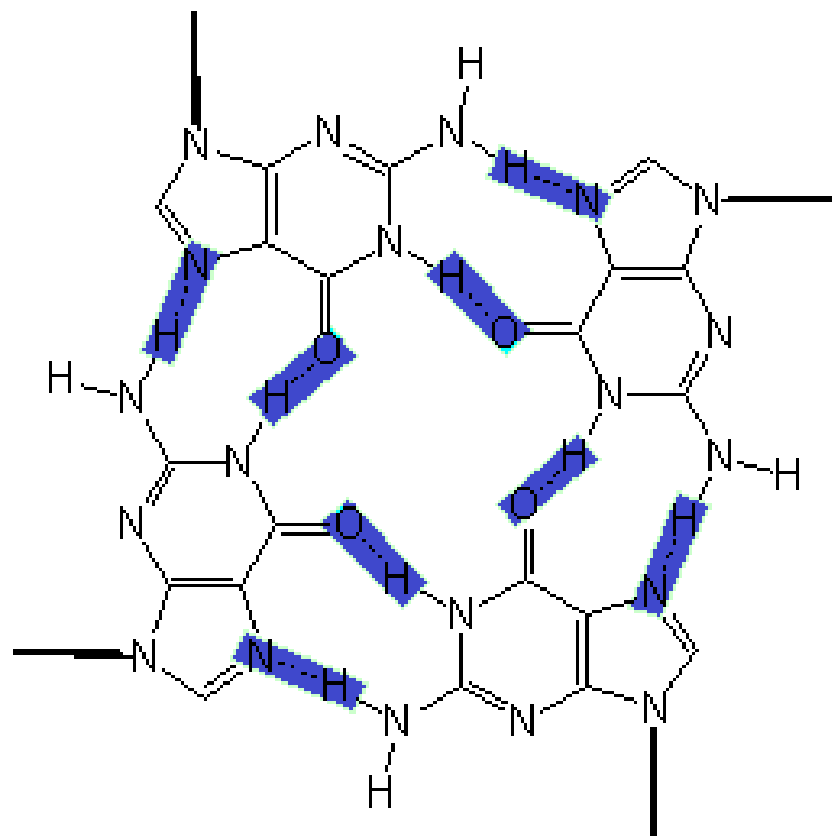
三链结构



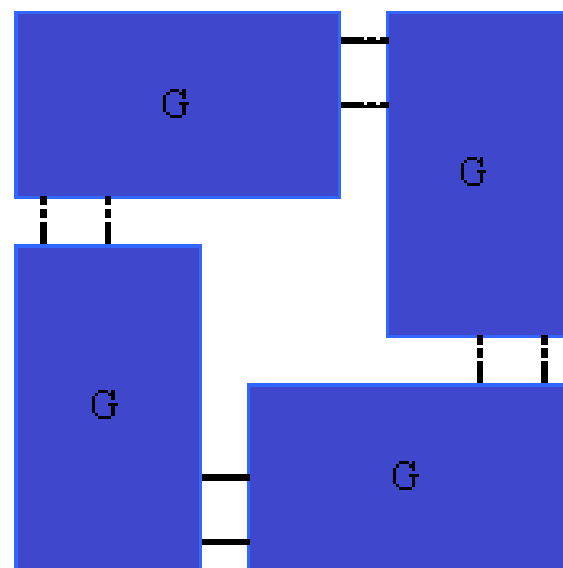
第三链



四链结构



G-四链体



超螺旋结构是DNA的高级结构

超螺旋结构 (superhelix 或supercoil)

DNA双螺旋链再盘绕即形成超螺旋结构。

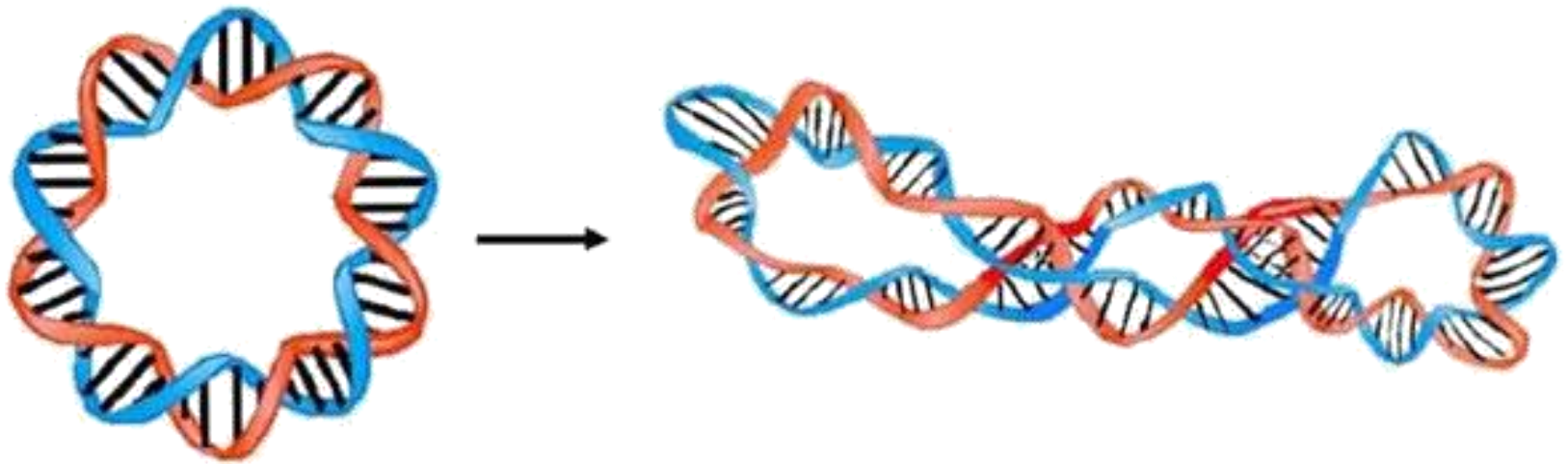
正超螺旋 (positive supercoil)

盘绕方向与DNA双螺旋方向相同。

负超螺旋 (negative supercoil)

盘绕方向与DNA双螺旋方向相反。

（一）原核生物DNA的环状超螺旋结构



原核生物DNA多为环状，以负超螺旋的形式存在，平均每200个碱基就有一个超螺旋形成。

(二) DNA在真核生物细胞核内组装成高度有序和致密的结构

核小体的组成

真核生物染色体由DNA和蛋白质构成，其基本单位是核小体(nucleosome)。

核小体的组成

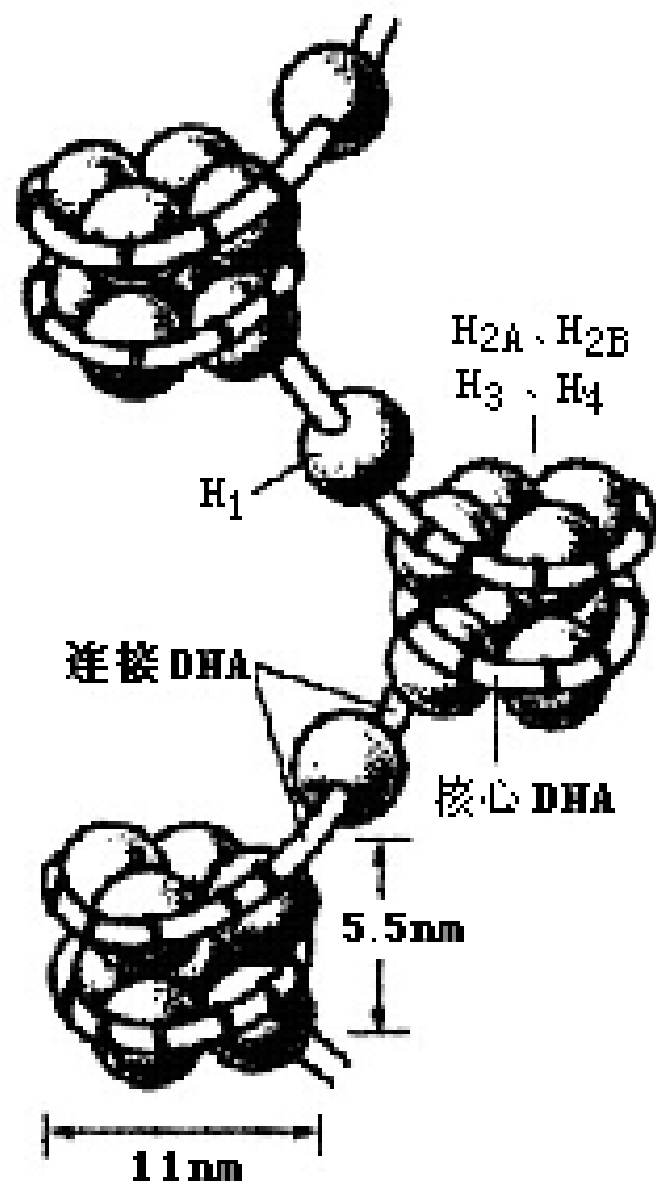
DNA: 约200bp

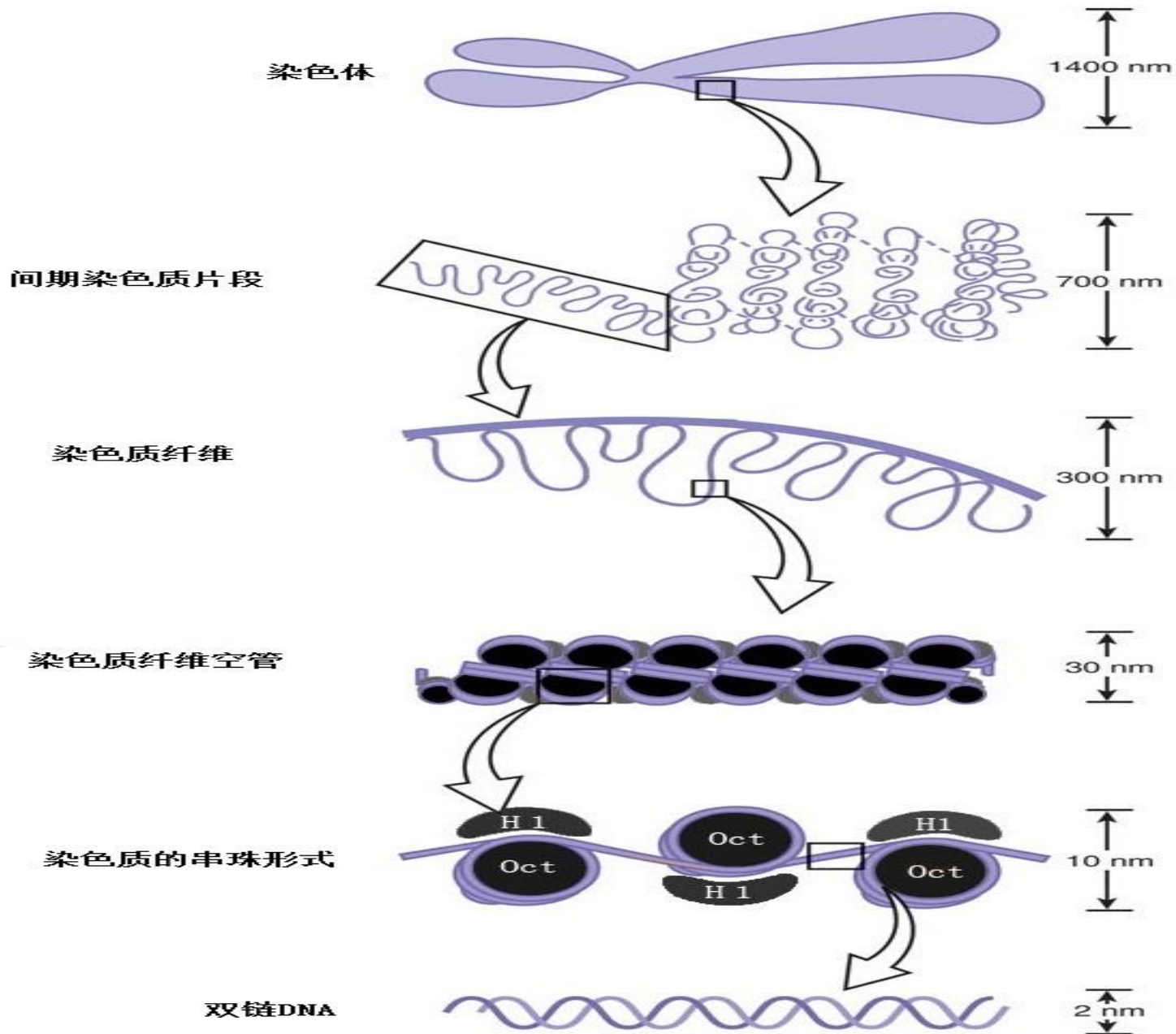
组蛋白 H1

H2A, H2B

H3

H4



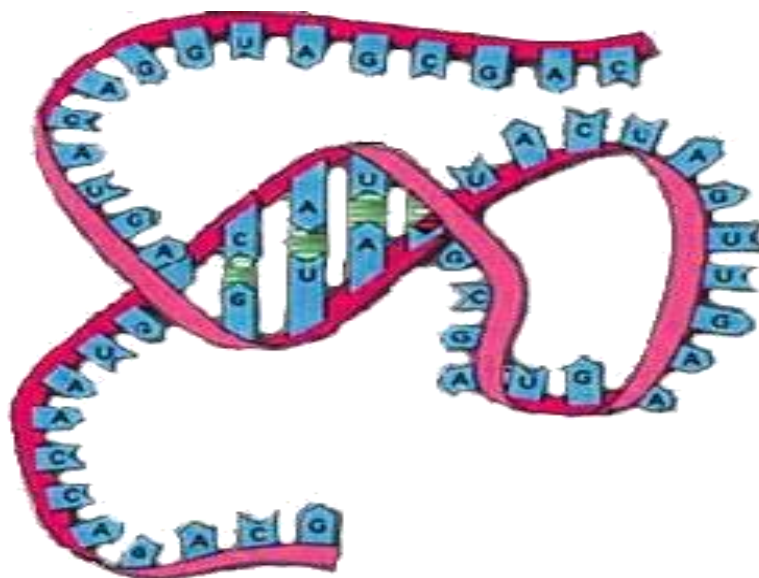


三、DNA是承载遗传信息的物质基础

DNA的基本功能是以**基因**的形式荷载遗传信息，并作为基因复制和转录的模板。它是生命**遗传的物质基础**，也是个体生命活动的信息基础。

基因从结构上定义，是指DNA分子中的特定区段，其中的核苷酸排列顺序决定了基因的功能。

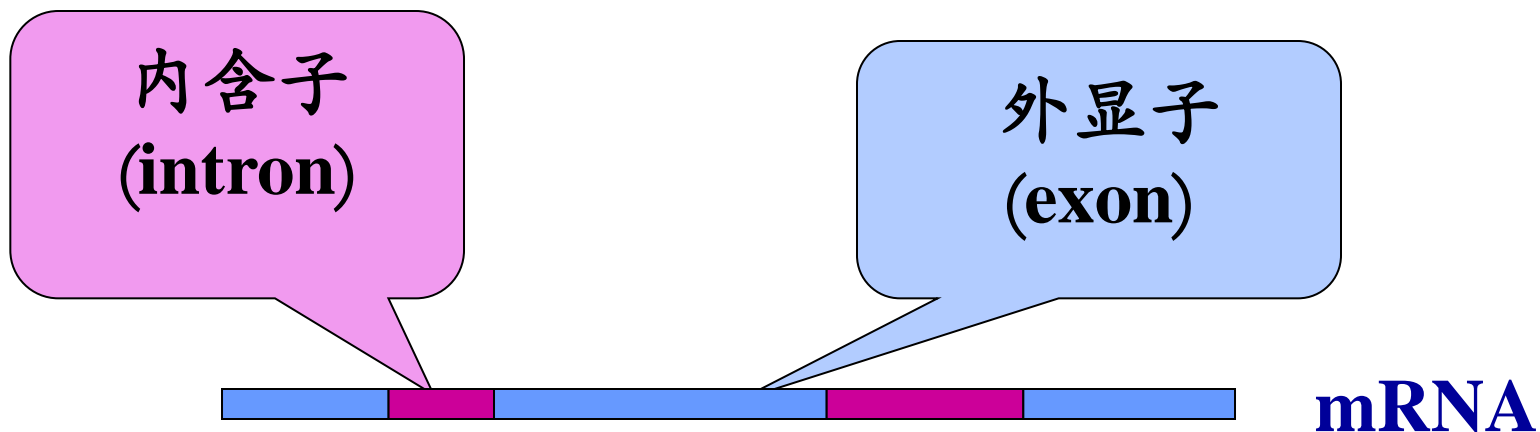
四、RNA的结构与功能



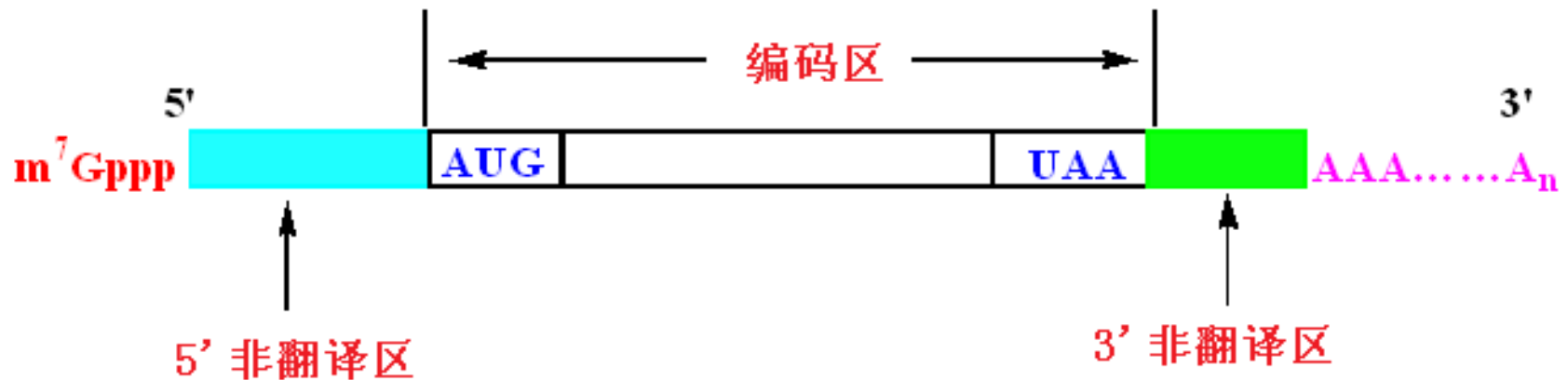
(一) mRNA是蛋白质合成的直接模板

1. 信使RNA(messenger RNA, mRNA) 是合成蛋白质的直接模板。
2. 核不均一RNA(hnRNA) 含有内含子(intron) 和外显子(exon)。
3. 外显子是氨基酸的编码序列，而内含子是非编码序列。
4. hnRNA经过剪切后成为成熟的mRNA。

mRNA成熟过程

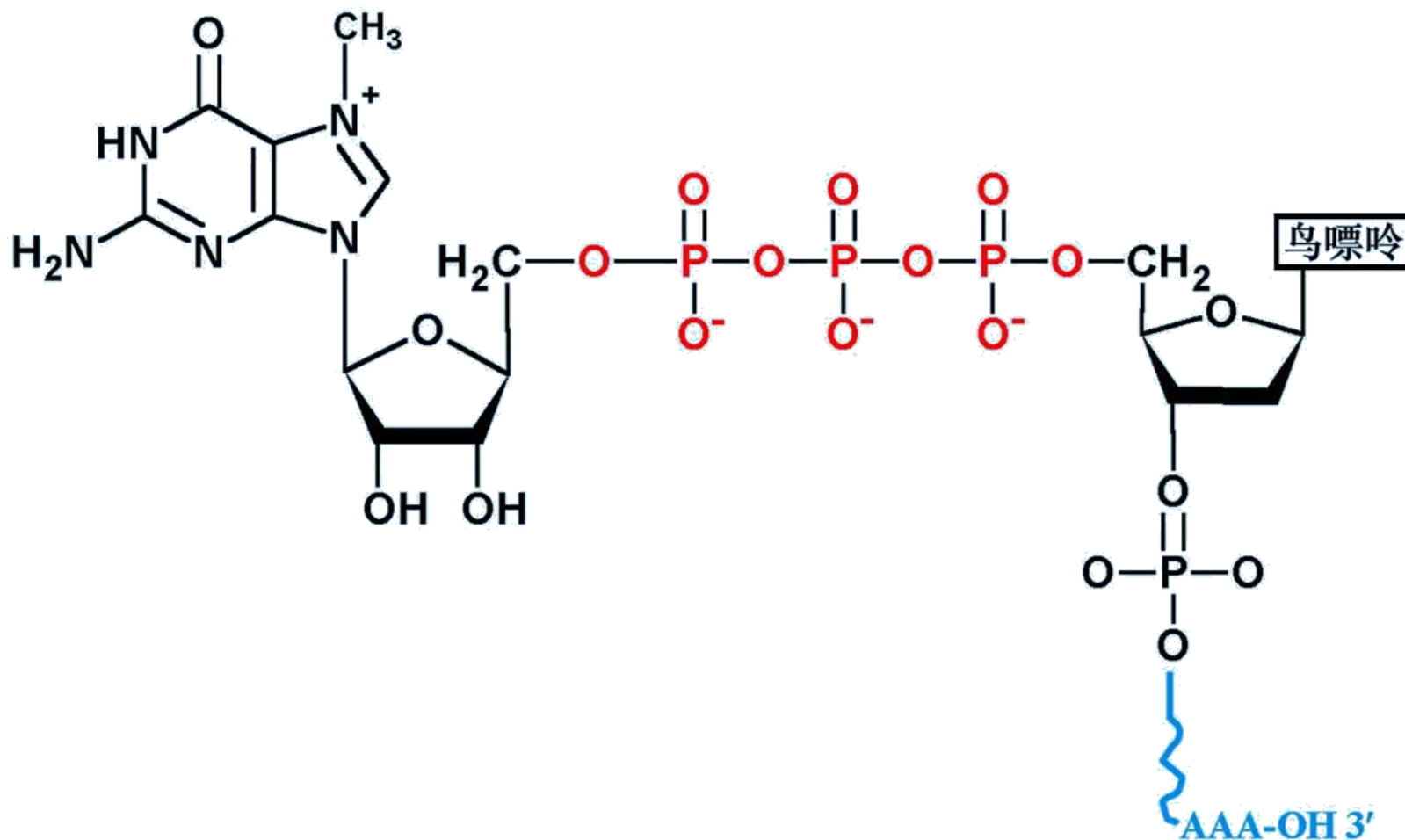


成熟的真核生物mRNA的结构特点



1. 5'-末端甲基化鸟苷酸的帽子(cap)结构m⁷GpppNm-
2. 3'-末端的多聚腺苷酸(polyA) 结构，称为多聚A尾。
3. 成熟的mRNA由氨基酸编码区和非编码区构成。

帽子结构



帽子结构和多聚A尾的功能

mRNA核内向胞质的转位

维系mRNA的稳定性

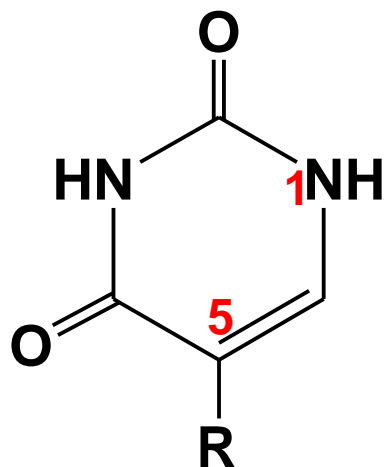
参与翻译起始的调控

(二) tRNA是蛋白质合成时氨基酸的转运工具

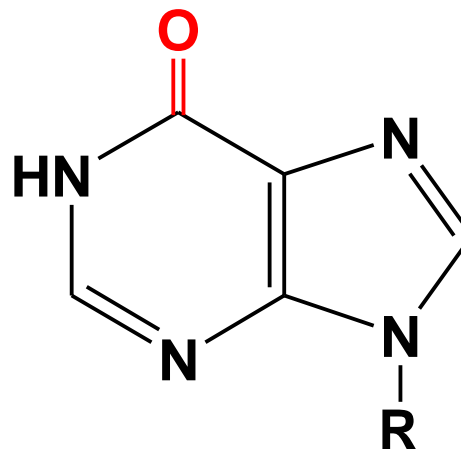
tRNA的一级结构特点

- 含稀有碱基较多
- 3' 末端为 — CCA-OH
- 5' 末端大多数为G
- 由70~90个核苷酸组成

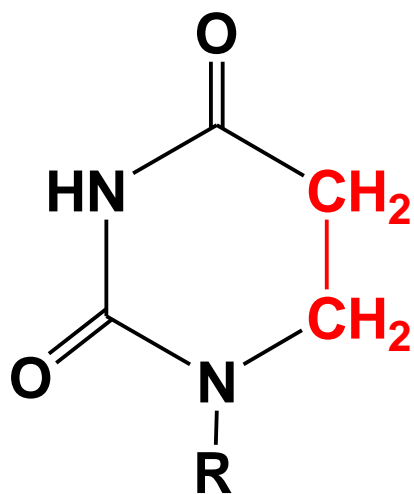
稀有碱基



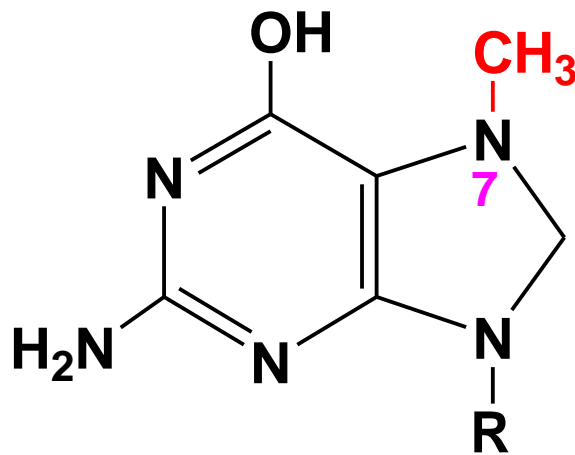
ψ



I



DHU

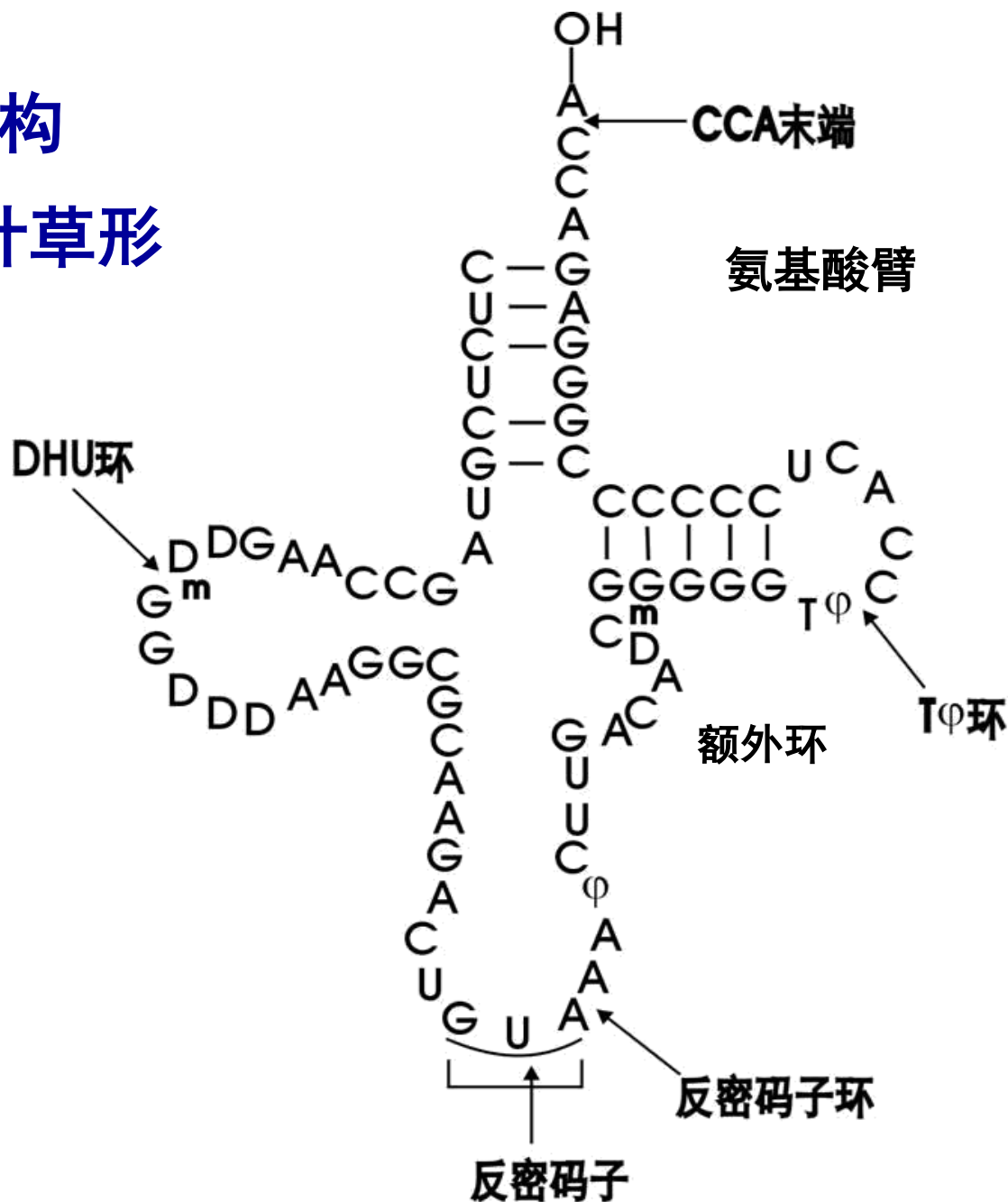


mG

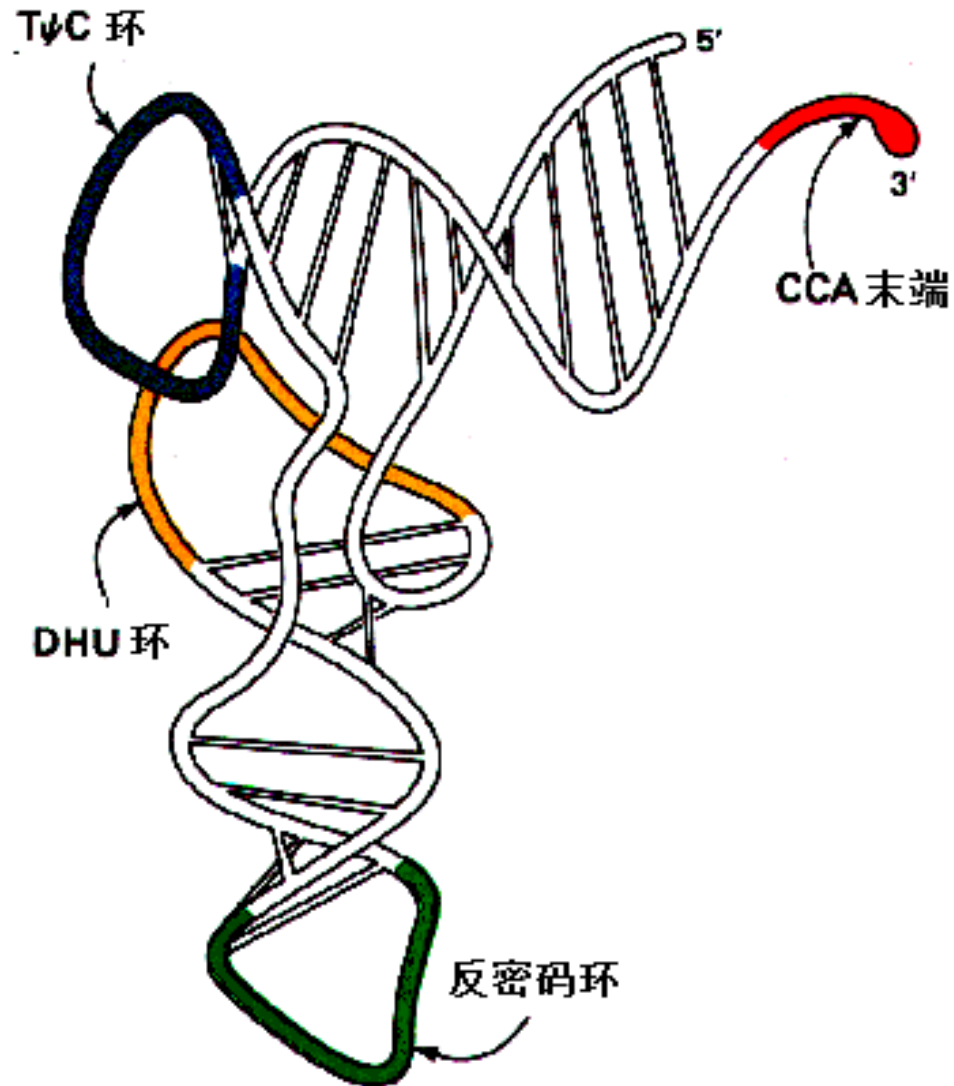
tRNA的二级结构

——三叶草形

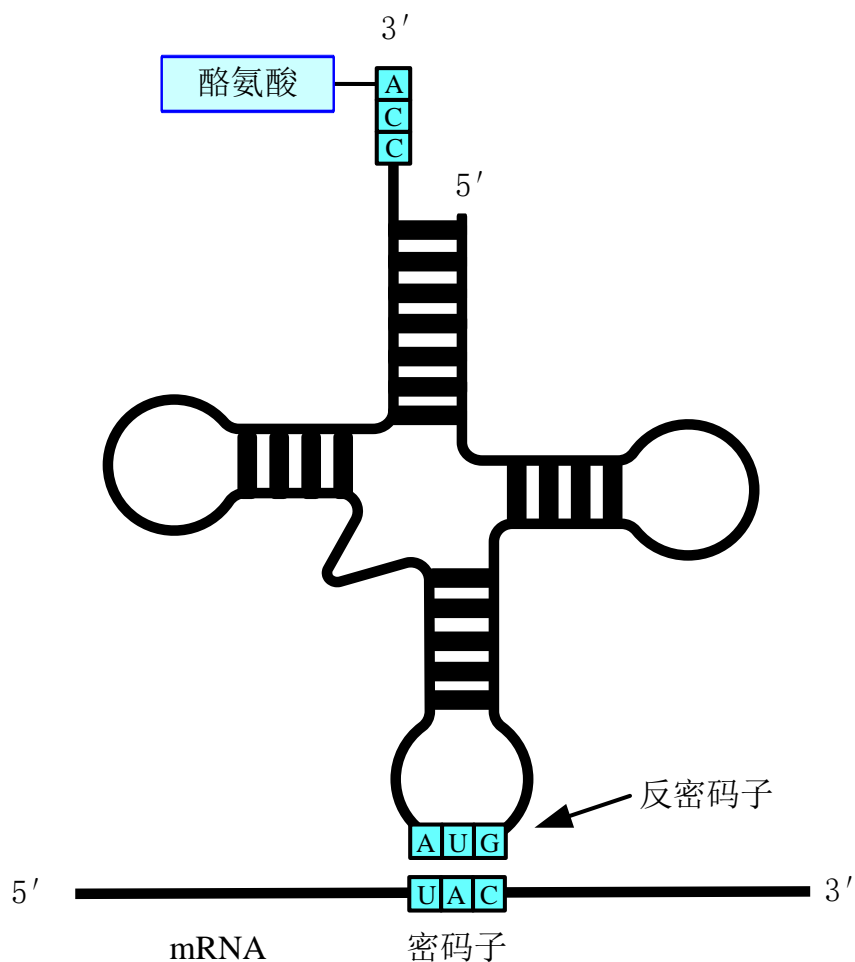
- 氨基酸臂
- DHU环
- 反密码子环
- T ψ C环
- 额外环



tRNA的三级结构——倒L型



tRNA的反密码子识别mRNA的密码子



tRNA的反密码子环上有一个由三个核苷酸构成的反密码子(anticodon)。

tRNA上的反密码子依照碱基互补的原则识别mRNA上的密码子。

(三) rRNA与蛋白质构成的核糖体 是蛋白质合成的场所

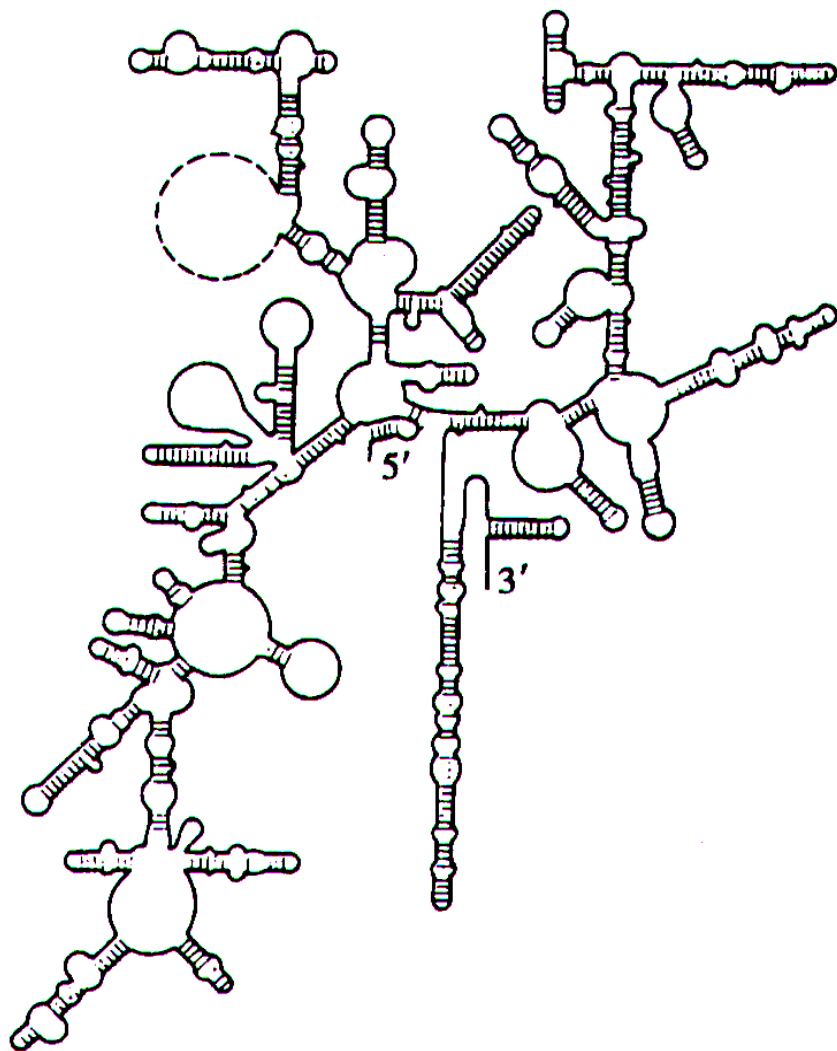
核糖体RNA(ribosomal RNA, rRNA)是细胞
内含量最多的RNA(>80%)。

rRNA 与 核 糖 体 蛋 白 结 合 组 成 核 糖 体
(ribosome)，作为蛋白质生物合成的场所。

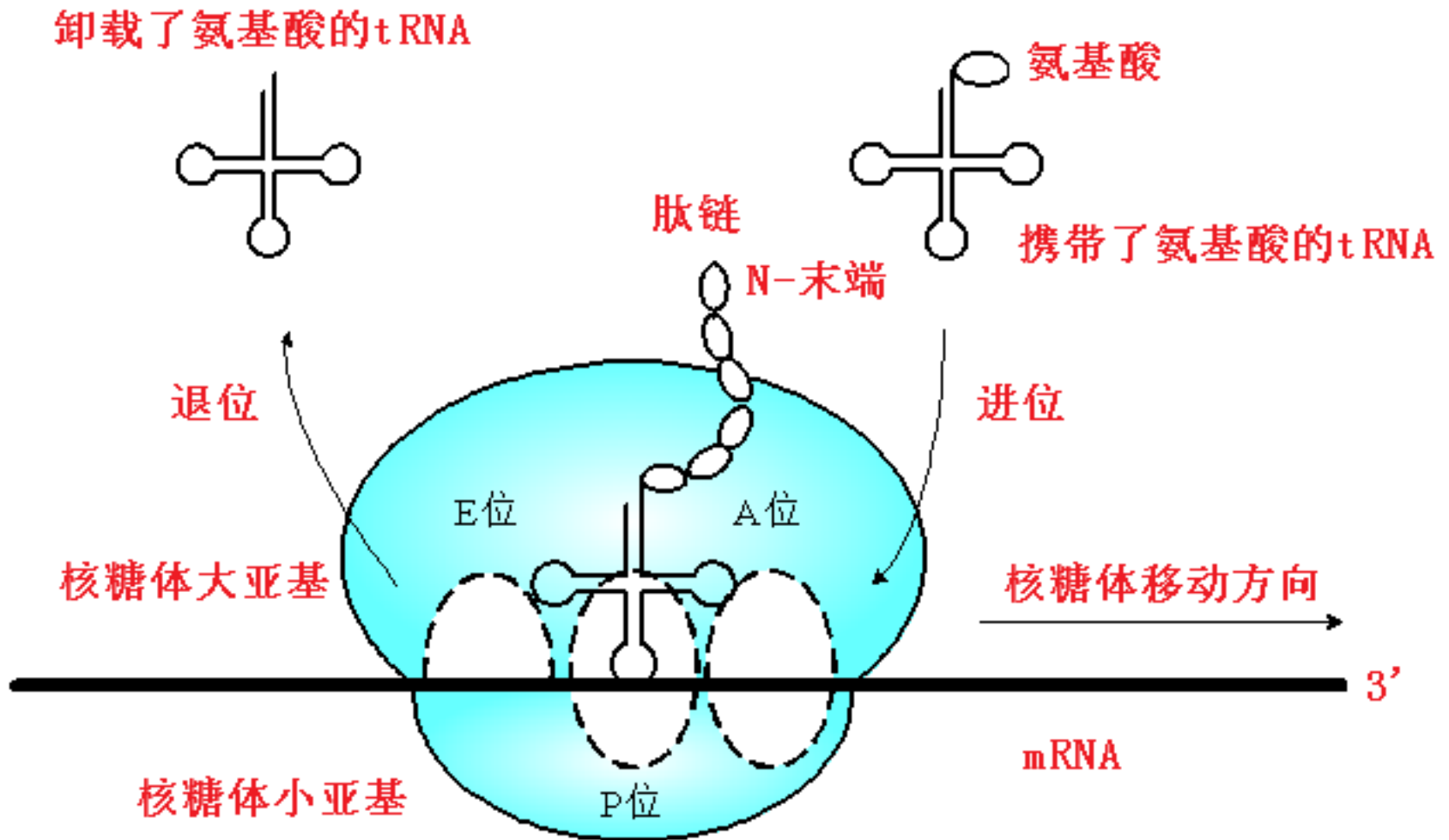
核糖体的组成

	原核生物	真核生物
小亚基	30S	40S
rRNA	16S	18S
蛋白质	21种	33种
大亚基	50S	60S
rRNA	23S 5S	28S 5.8S 5S
蛋白质	34种	50种
核糖体	70S	80S

18S rRNA的二级结构



蛋白质合成时形成的复合体



(四) 细胞内存在多种功能各异的非编码RNA

长链非编码RNA(lncRNA): 大于200个核苷酸

短链（小）非编码RNA(sncRNA)： 小于200个核苷酸。

lncRNA功能： 转录及表观遗传水平调控基因表达，参与细胞分化、器官形成、胚胎发育、物质代谢等重要生命活动及某些疾病的发生和发展过程。

snmRNAs的种类

- 核内小RNA
- 核仁小RNA
- 胞质小RNA
- 催化性小RNA
- 小片段干扰 RNA
- 微小RNA

snmRNAs的功能:

参与hnRNA和rRNA的转录后加工和转运
以及基因表达过程的调控等。

miRNA与siRNA的比较

特点	miRNA	siRNA
前体	内源性发卡环结构的转录产物	内源或外源双链RNA诱导产生
结构	22nt左右单链分子	22nt左右双链分子
加工酶	Dicer或类似Dicer的酶复合体	Dicer
功能	抑制翻译	降解mRNA
作用位点	mRNA的3'-UTR	mRNA的任何部位
靶mRNA结合	不需完全互补	需完全互补
生物学效应	调控分化发育过程	抑制转座子活性和病毒感染

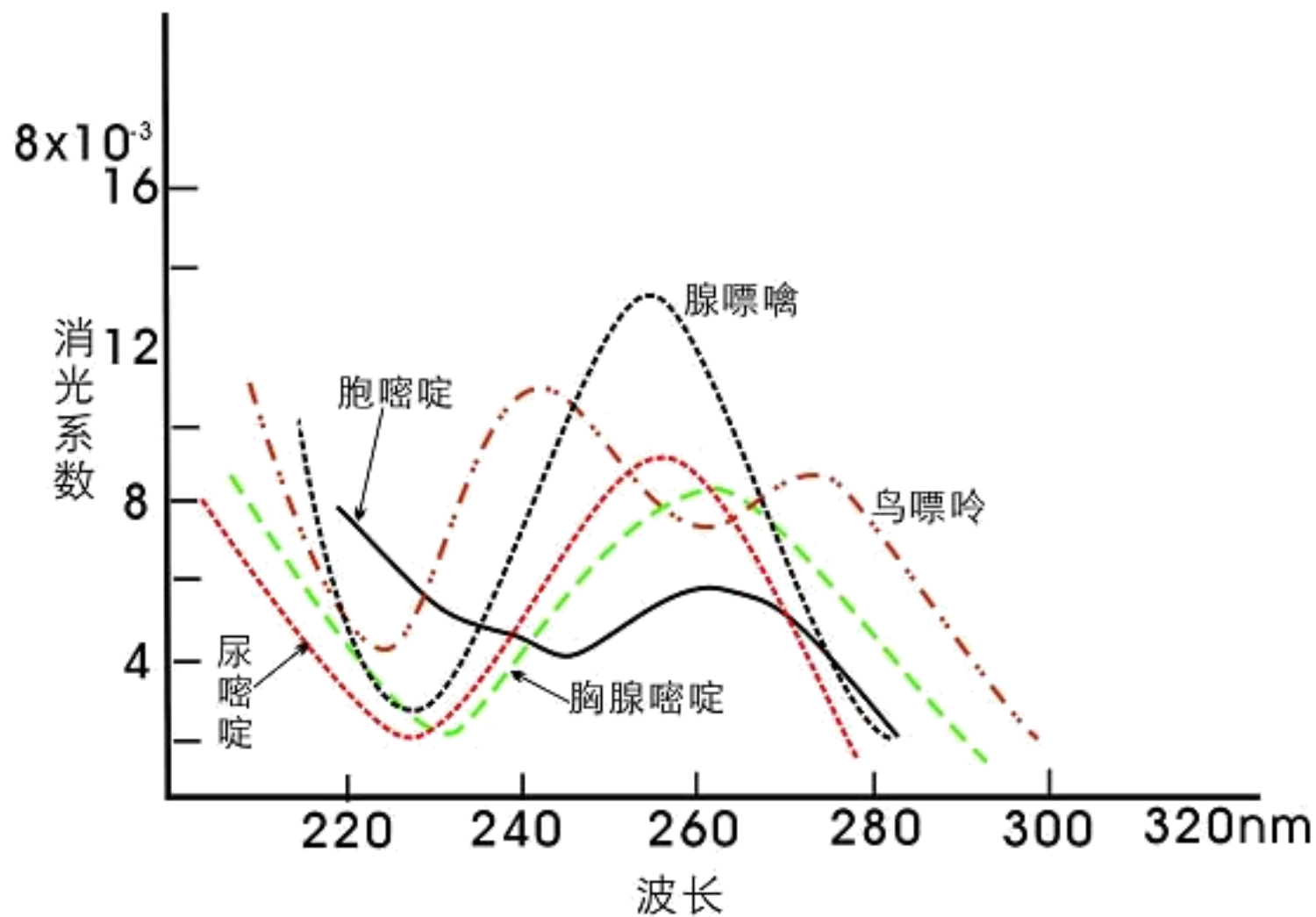
第三节

核酸的理化性质

The Physical and Chemical Characteristics of Nucleic Acid

一、核酸的一般理化性质

- 核酸为多元酸，具有较强的酸性
- DNA是线性高分子，黏度极大
- 在260nm波长有最大吸收峰，是由碱基的共轭双键决定的。这一特性常用作核酸的定性、定量分析。



各种碱基的紫外吸收光谱 (pH 7.0)

紫外吸收的应用

1. DNA或RNA的定量

$OD_{260}=1.0$ 相当于

50 $\mu\text{g/ml}$ 双链DNA

40 $\mu\text{g/ml}$ 单链DNA（或RNA）

20 $\mu\text{g/ml}$ 寡核苷酸

2. 判断核酸样品的纯度

DNA纯品: $OD_{260}/OD_{280} = 1.8$

RNA纯品: $OD_{260}/OD_{280} = 2.0$

二、DNA的变性(denaturation)

定义：在某些理化因素作用下，DNA双链解开成两条单链的过程。

实质：氢键的断裂，一级结构无改变

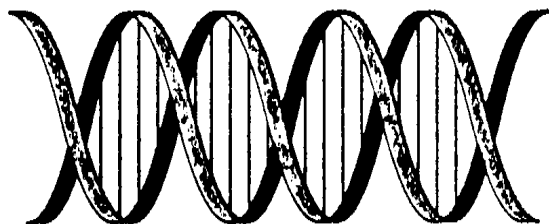
方法：过量酸，碱，加热，变性试剂如尿素、酰胺以及某些有机溶剂如乙醇、丙酮等。

变性后其他理化性质变化：

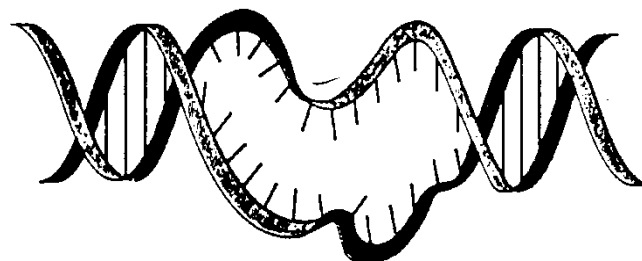
OD_{260} 增高

黏度下降

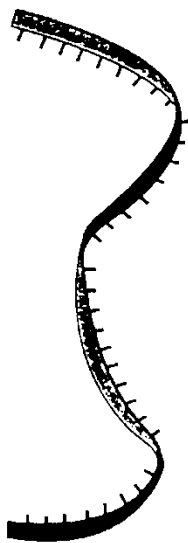
DNA的变性



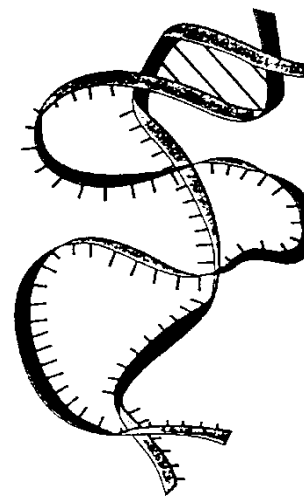
双链DNA



部分解链

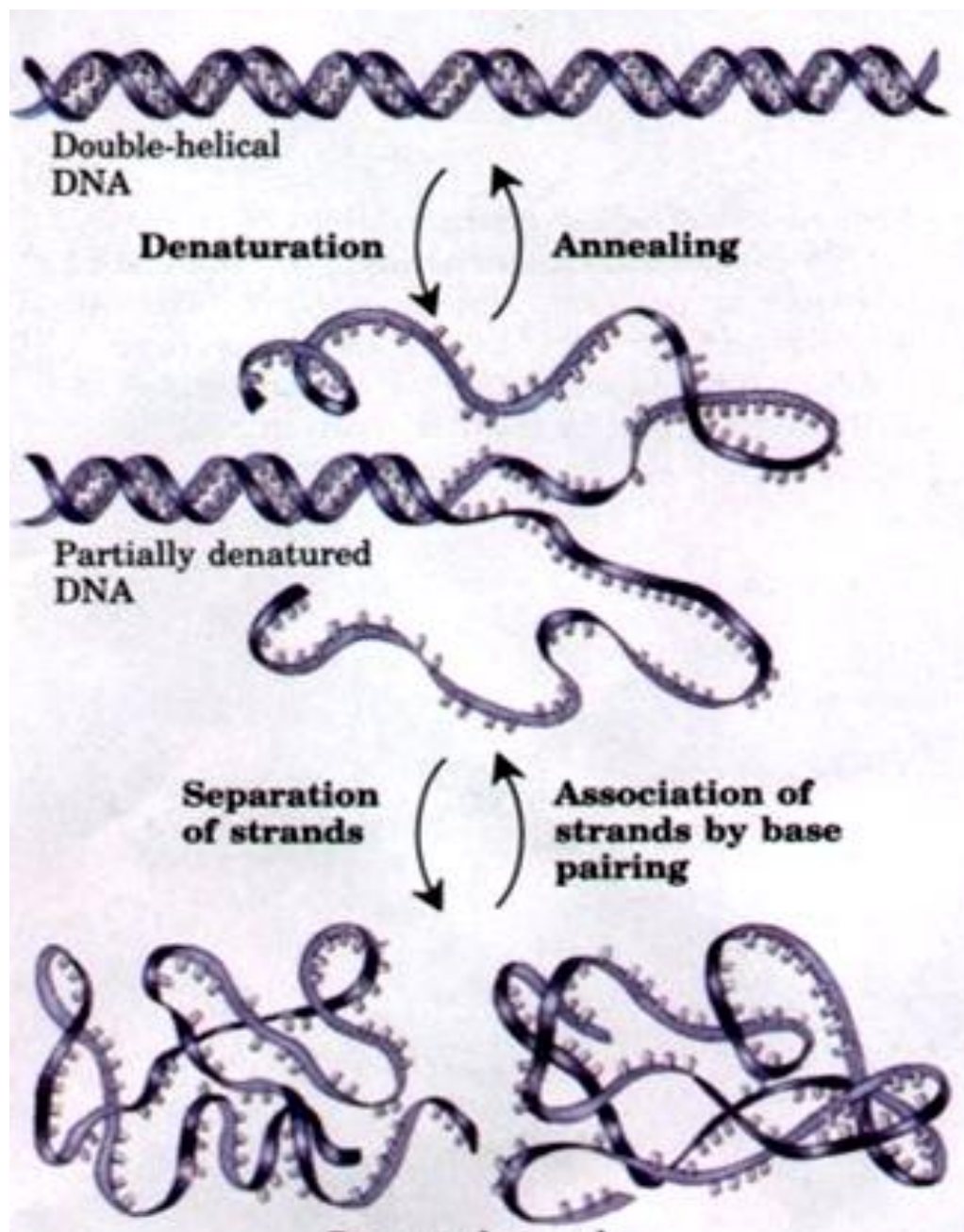


单链DNA

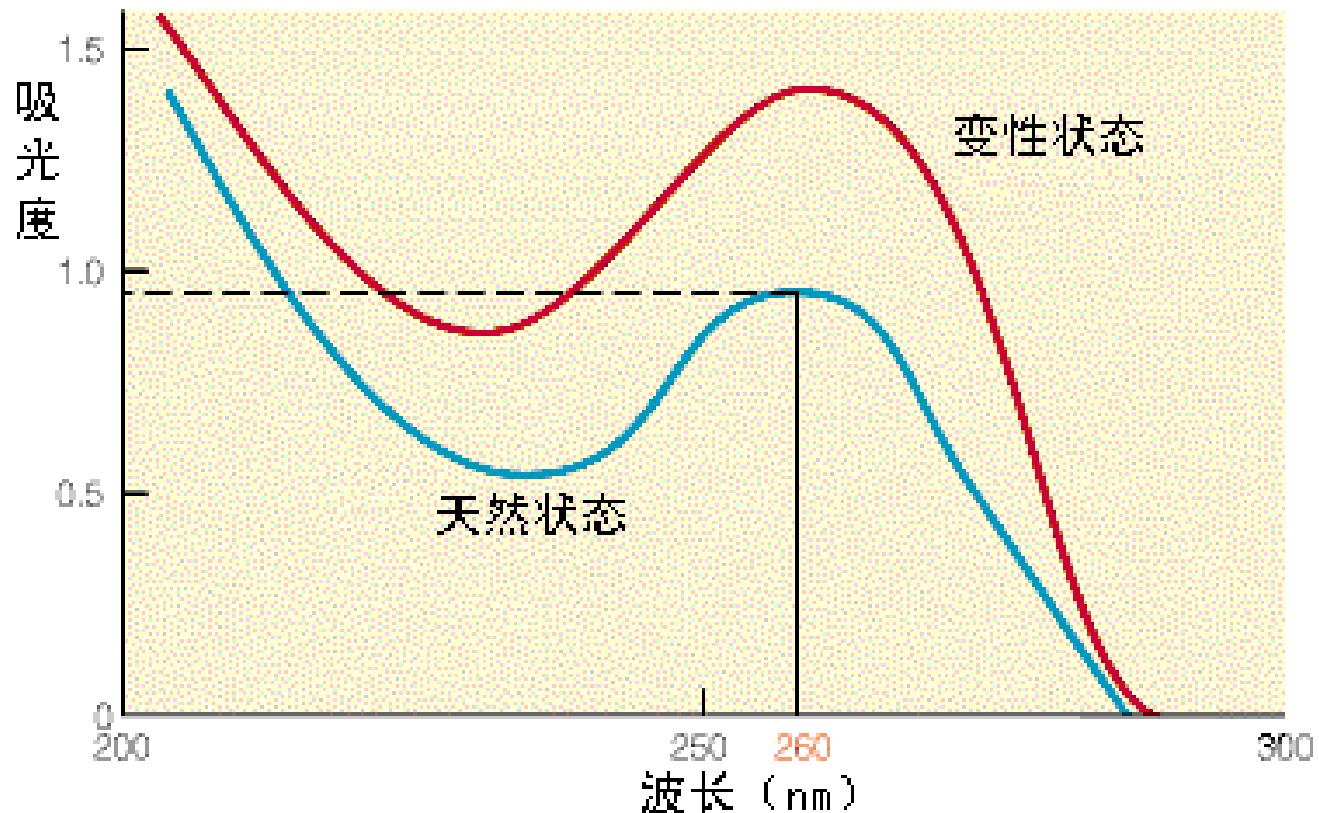


大部解链

DNA变性的本质是双链间氢键的断裂

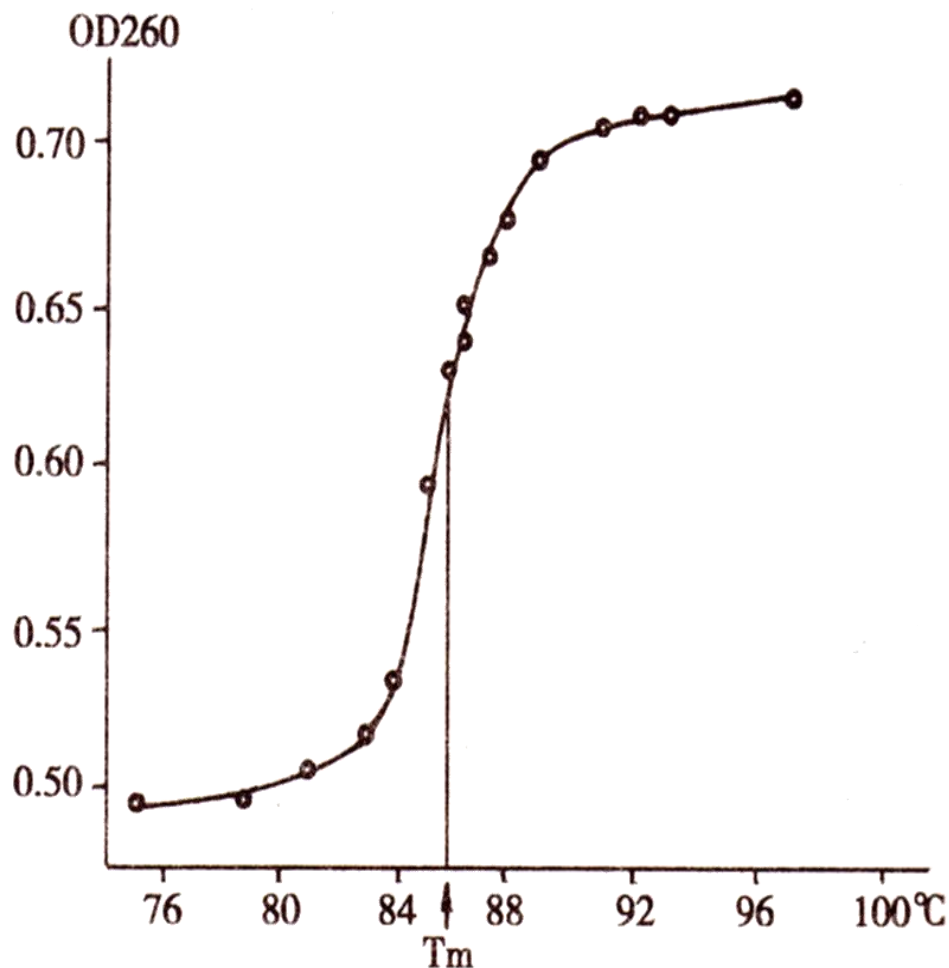


增色效应： DNA变性时其溶液 OD_{260} 增高的现象。



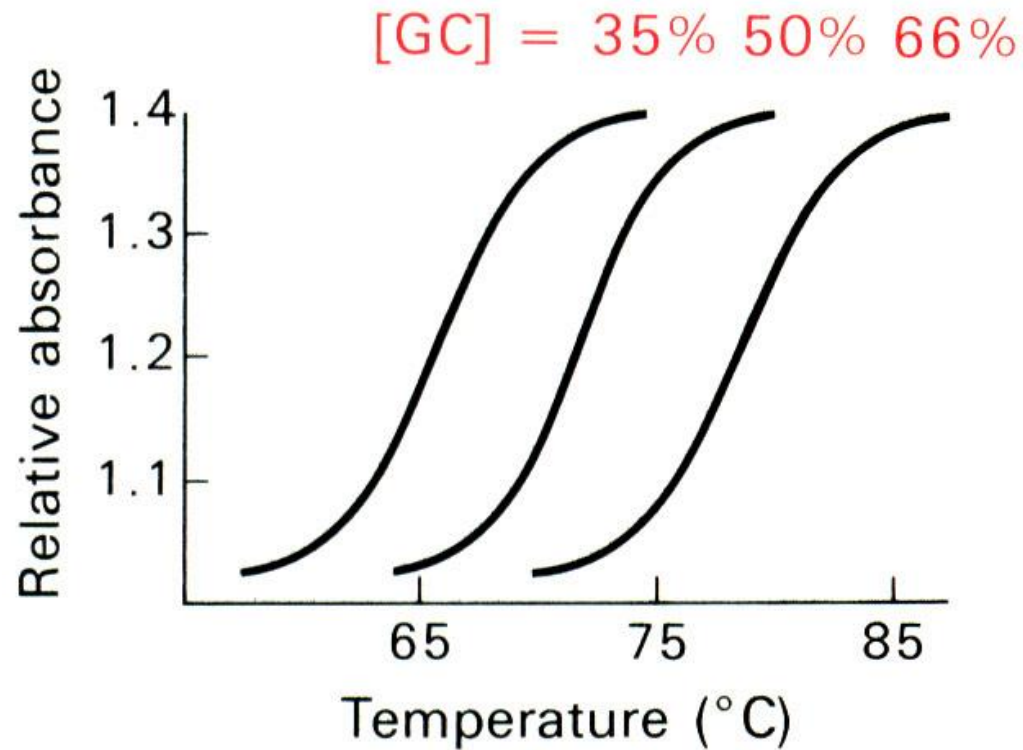
DNA的紫外吸收光谱

DNA的解链曲线



T_m ：紫外光吸收值达到最大值的50%时的温度称为DNA的解链温度，又称融解温度 (melting temperature, T_m)。其大小与G+C含量成正比。

解链曲线的变化



G+C 含量越高，解链温度就越高。

三、DNA的复性与分子杂交

DNA复性(renaturation)的定义

在适当条件下，变性DNA的两条互补链可恢复天然的双螺旋构象，这一现象称为**复性**。

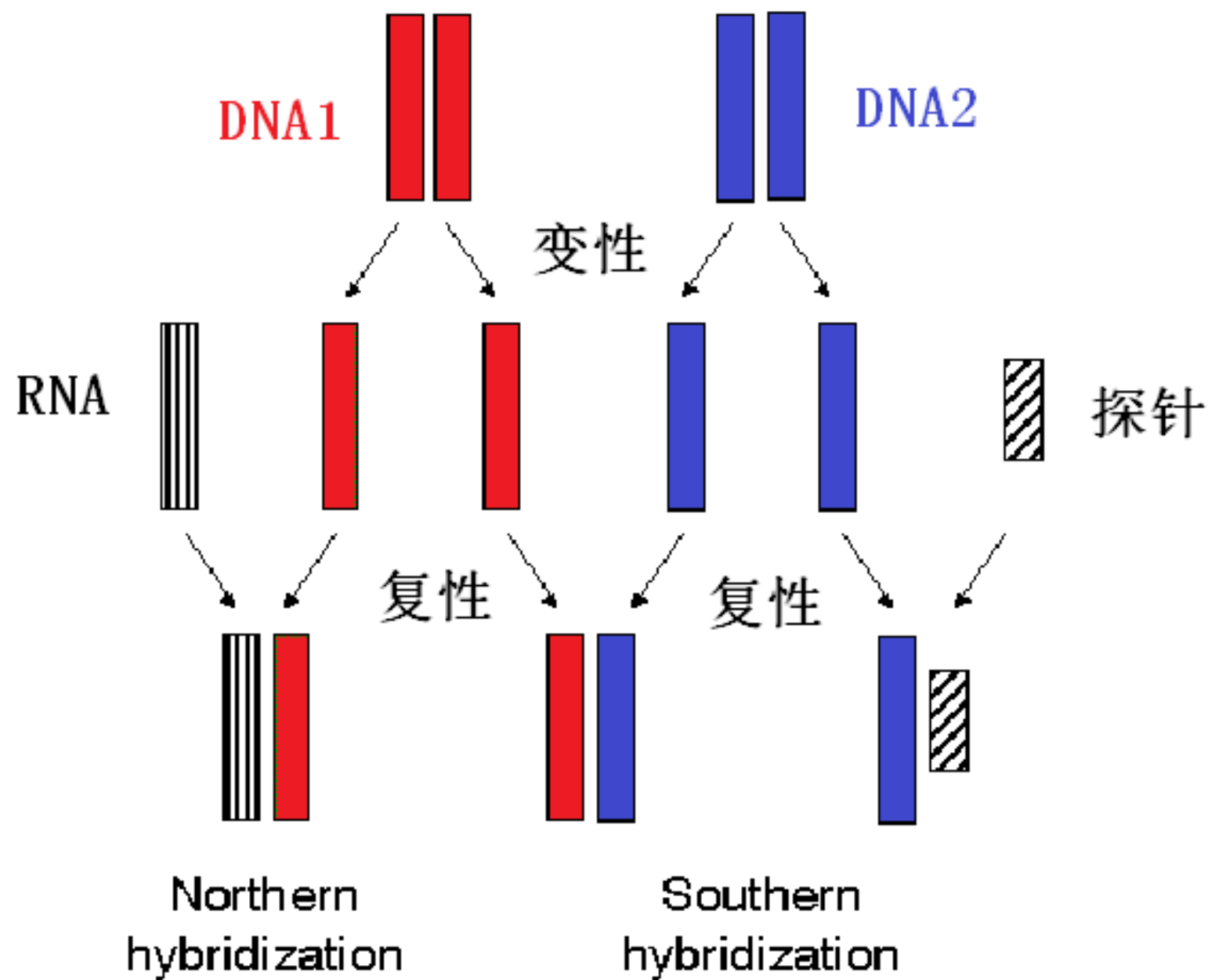
热变性的DNA经缓慢冷却后即可复性，这一过程称为**退火(annealing)**。

减色效应

DNA复性时，其溶液**OD₂₆₀**降低。

核酸分子杂交 (hybridization)

- 不同种类的DNA单链分子或RNA分子放在同一溶液中，只要两种单链分子之间存在着一定程度的碱基配对关系，在适宜的条件可以在不同的分子间形成**杂化双链 (heteroduplex)**。
- 这种杂化双链可以在不同的DNA与DNA之间形成，也可以在DNA和RNA分子间或者RNA与RNA分子间形成。这种现象称为核酸分子杂交。



核酸分子杂交的应用

- 研究DNA分子中某一种基因的位置
- 确定两种核酸分子间的序列相似性
- 检测某些专一序列在待检样品中存在与否
- 是基因芯片技术的基础

第 四 节

核 酸 酶

Nuclease

●核酸酶是指所有可以水解核酸的酶

➤依据底物不同分类

- DNA酶(deoxyribonuclease, DNase)
- RNA酶 (ribonuclease, RNase)

➤依据催化部位不同分类

· 核酸内切酶：

限制性核酸内切酶

非特异性核酸内切酶

· 核酸外切酶：

5' → 3' 或 3' → 5' 核酸外切酶。

复习题

1. DNA的双螺旋结构有何特点？
2. 何谓nucleosome？其核心结构是如何组成的？
3. RNA主要有哪几种？请说出mRNA、tRNA的结构特点。
4. 何谓hyperchromic effect、 T_m 值、annealing 和核酸hybridization？