

## 第二章 细胞的物质基础

### 第四节 核酸

孔宇 教授

西安交通大学生命科学与技术学院

2021年9月26日

## 主要内容-nucleic acids, NA



0.核酸的发现

7. 其他

1.核酸的来源、作用

2. 分类、组成、结构

3. 单核苷酸

4. 核酸的一级结构

5. 核酸的高级结构

6. 核酸的物化性质

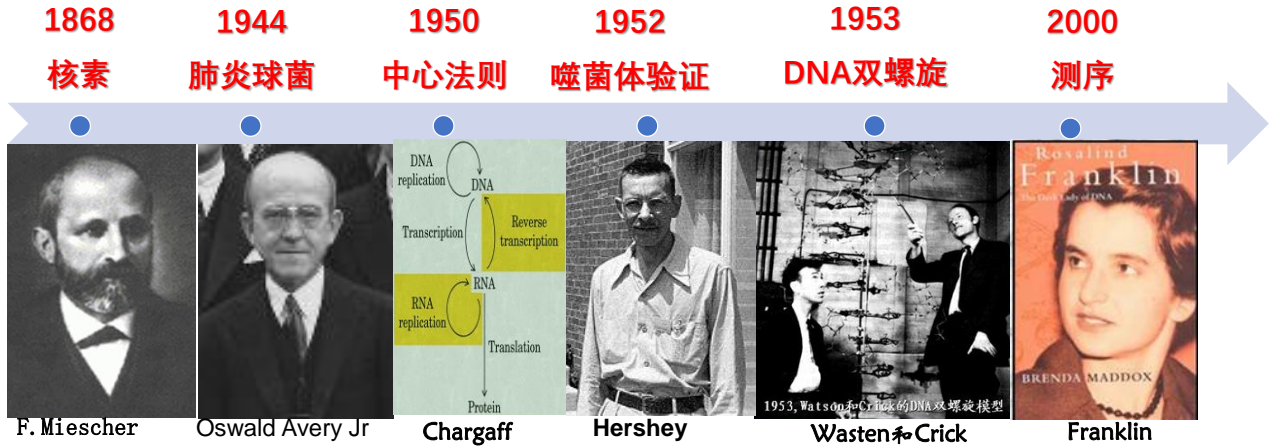
•含有**糖、碱基、磷酸**等结构单元的生物大分子；携带生物信息。



## 0.核酸的发现



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY



基因组、基因编辑...

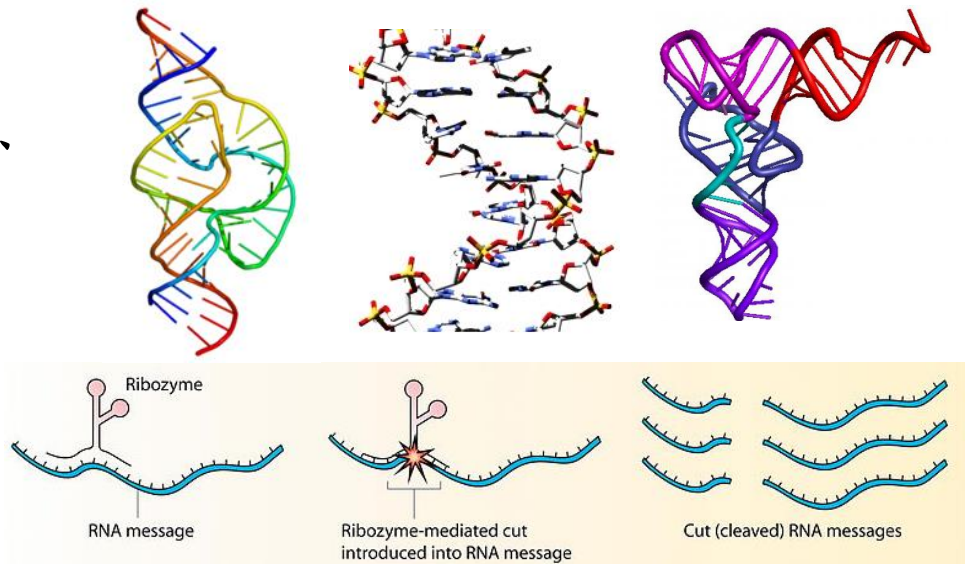


## 1. 核酸的来源、作用



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- 所有物种、来源广泛
- 遗传物质
- 酶：核酶  
Ribozyme





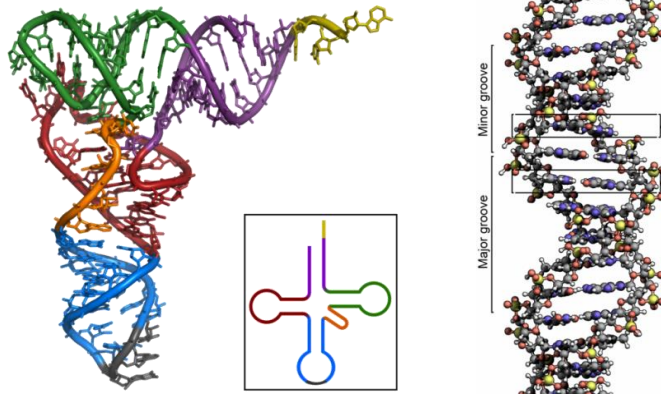
## 2. 分类、组成、结构



• 核酸分为两大类:

□ 脱氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic Acid, DNA)

□ 核糖核酸 (Ribonucleic Acid, RNA)

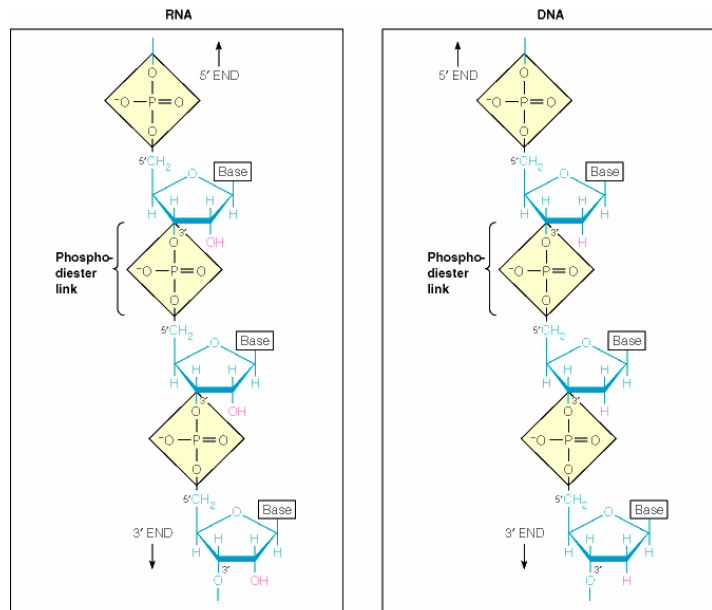


## 核酸的组成



- 核酸 = 多个单核苷酸单元组成
- 单核苷酸 = 碱基 + 核糖 + 磷酸
- **C、N、O、H、P**

核素 = 核酸 + 组蛋白



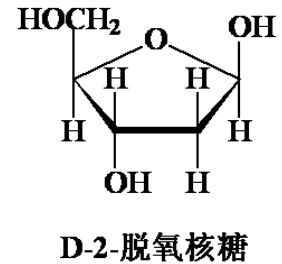
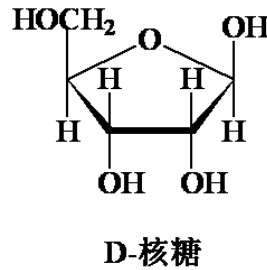
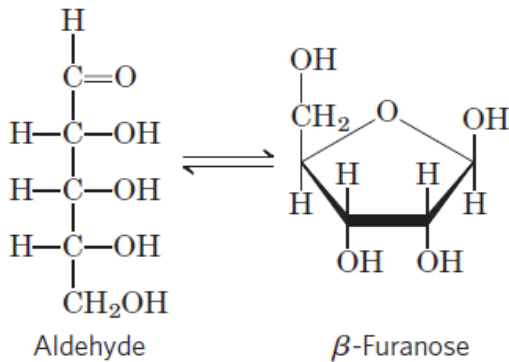


## (脱氧)核糖 (ribose)



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

### •戊糖有两种:



DNA:  $\beta$ -D-2-脱氧核糖

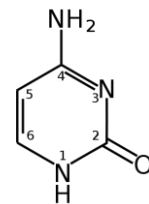
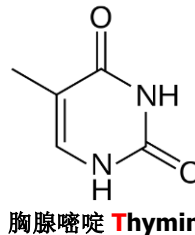
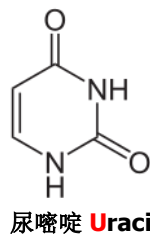
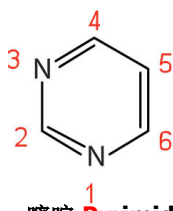
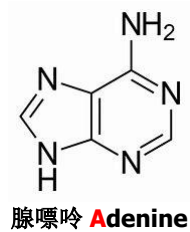
RNA:  $\beta$ -D-核糖



## 组成单核苷酸的碱基



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY



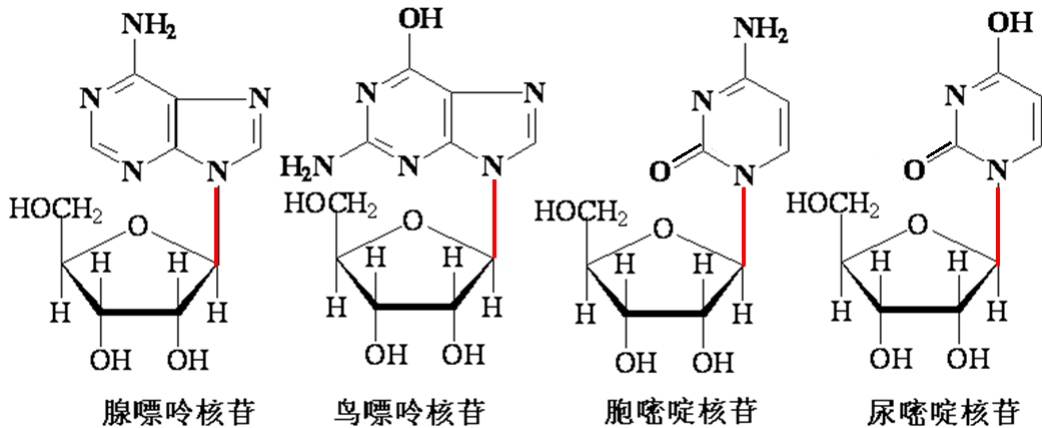


## 核苷-nucleoside



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- 糖与碱基之间的C-N键，称为C-N糖苷键

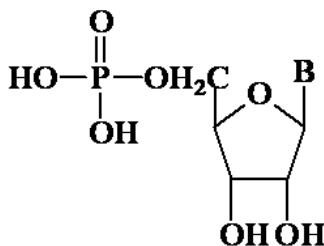


## 3.单核苷酸 (Nucleotide)

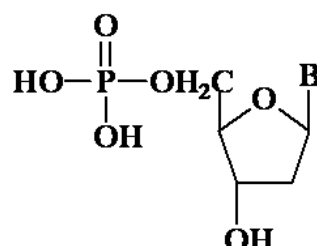


西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- 由碱基、（脱氧）核糖和磷酸组成



核糖核苷酸



脱氧核糖核苷酸

B=腺嘌呤，鸟嘌呤，胞嘧啶，尿嘧啶或胸腺密啶

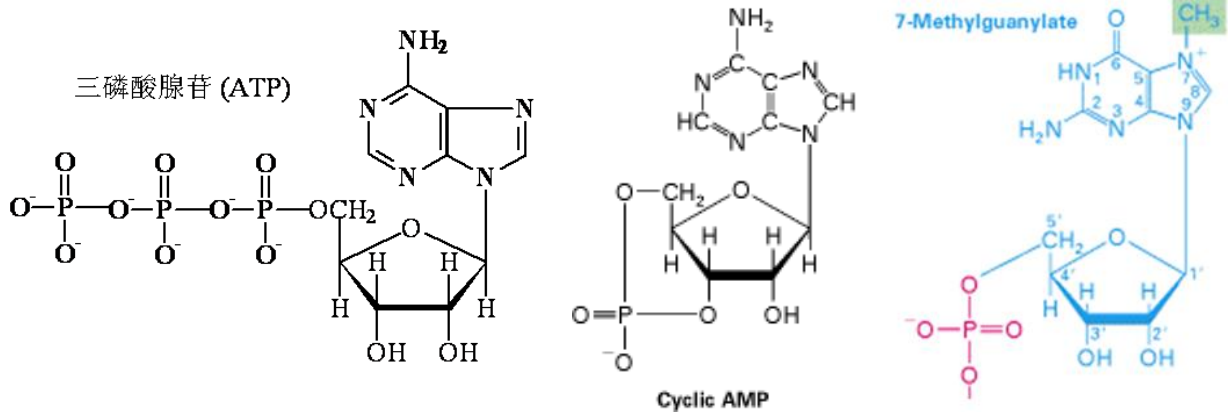


## 其他常见单核苷酸



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- ATP, adenosine triphosphate
- cAMP, cyclic Adenosine monophosphate
- 衍生化碱基...

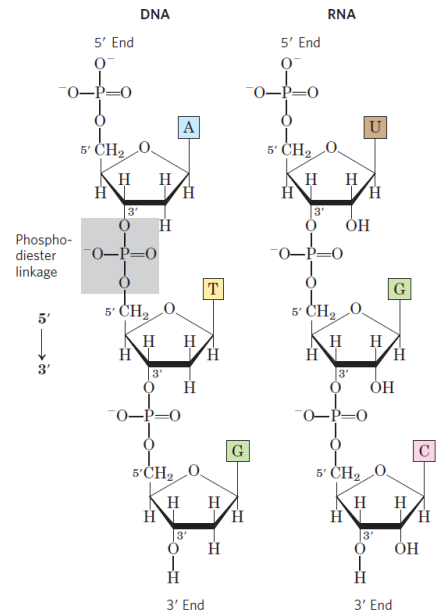
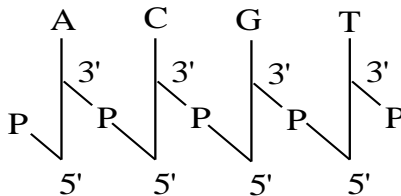


## 4 核酸一级结构的书写规则



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- 连接方式: 3'-OH 与 5'-磷酸酯键相连
- 书写规则: 5' → 3'
- ATGCCGTA-OH
- 5' pA<sub>p</sub>C<sub>p</sub>G<sub>p</sub>T<sub>3'</sub>
- 5'ACGT3'





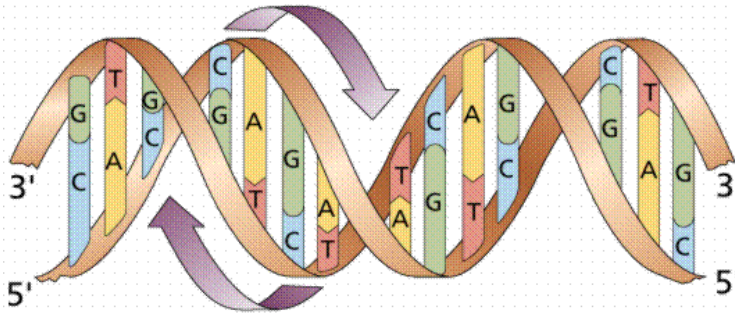
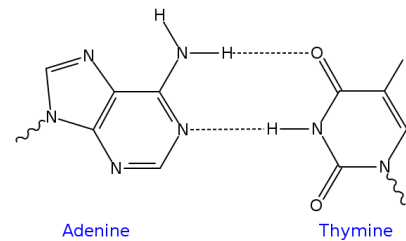
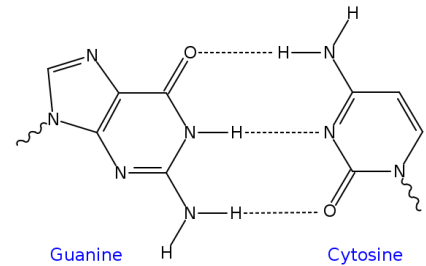


# DNA



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- DNA分子由两条DNA单链组成；
- 右手双螺旋，两条链**方向相反**。
- $A=T$ 、 $G \equiv C$ ，嘌呤碱基的总数与嘧啶碱基的总数相等

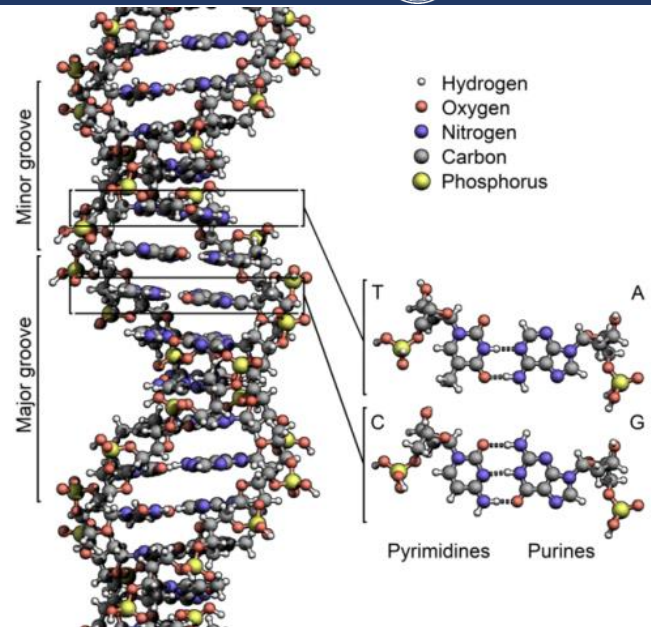


## DNA双螺旋结构的要点



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- 嘌呤和嘧啶**碱基**位于螺旋的**内侧**；
- **磷酸和脱氧核糖**基位于螺旋**外侧**。
- 碱基环平面与螺旋轴**垂直**，糖基环平面与碱基环平面成 $90^\circ$ 角。



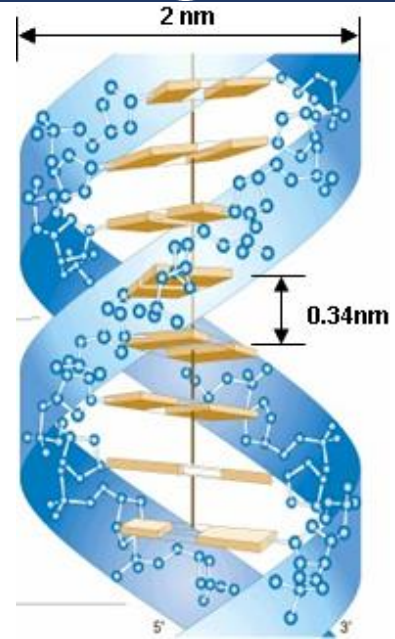


## DNA双螺旋结构-了解



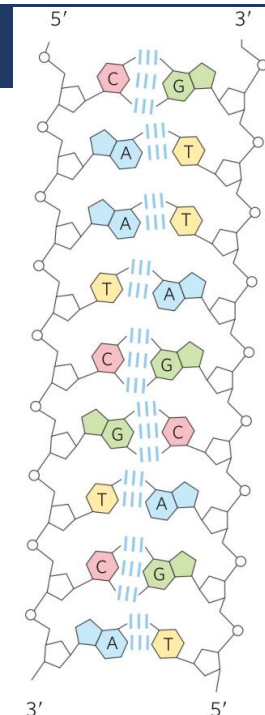
西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- 螺旋横截面的直径约为**2 nm**，每条链相邻两个碱基平面之间的距离为**0.34 nm**，每**10**个核苷酸形成一个螺旋，其螺矩（即螺旋旋转一圈）高度为**3.4 nm**。



## DNA双螺旋的稳定性

- 两条DNA链之间形成的**氢键**；
- **碱基堆积力**；
- 介质中的**阳离子**（如 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 和 $\text{Mg}^{2+}$ ）中和了磷酸基团的负电荷，降低了DNA链之间的排斥力、范德华引力等。
- → 改变介质条件和环境温度，将影响双螺旋的稳定性。

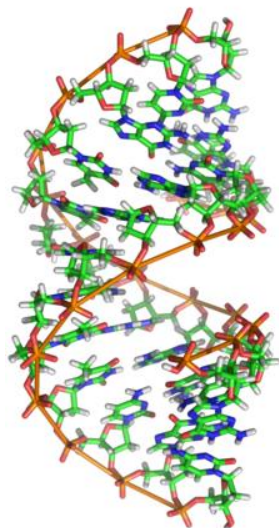


西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

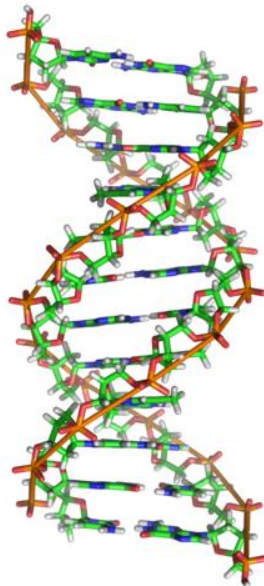




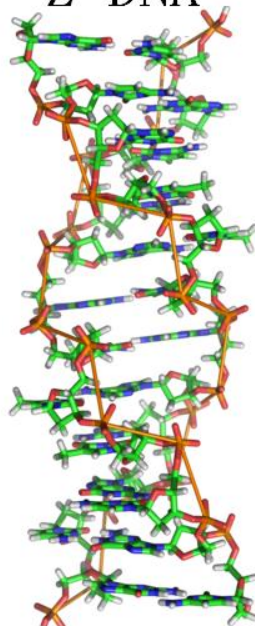
A-DNA



B-DNA



Z-DNA



左手螺旋



## A/B/Z DNA 差别-了解



	A	B	Z
外型	粗短	适中	细长
螺旋方向	右手	右手	左手
螺旋直径	2.55nm	2.37nm	1.84nm
碱基直升	0.23nm	0.34nm	0.38nm
碱基夹角	32.7°	34.6°	60.0°
每圈碱基数	11	10.4	12
轴心与碱基对关系	2.46nm	3.32nm	4.56nm
碱基倾角	19°	1°	9°
糖苷键构象	反式	反式	C、T反式，G顺式
大沟	很窄很深	很宽较深	平坦
小沟	很宽、浅	窄、深	较窄很深



# 思考



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

SURVEY AND SUMMARY: The non-Watson-Crick base pairs and their associated tertiary motifs

## • DNA中有没有其他成氢键的方式？（可弹幕）

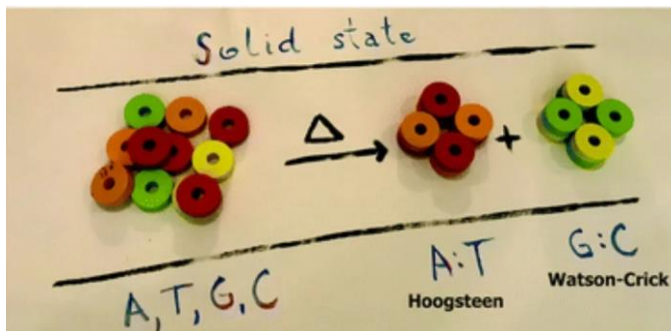
	A	T	G	C
A	?		?	?
T		?	?	?
G	?	?	?	
C	?	?		



# 生命起源相关-化学选择？



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY



DNA-specific selectivity in pairing of model nucleobases in the solid state, *Chemical Communications*, 2020

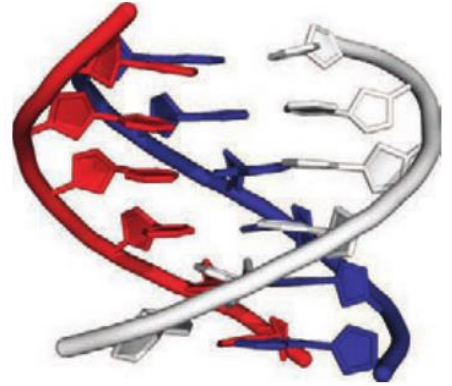
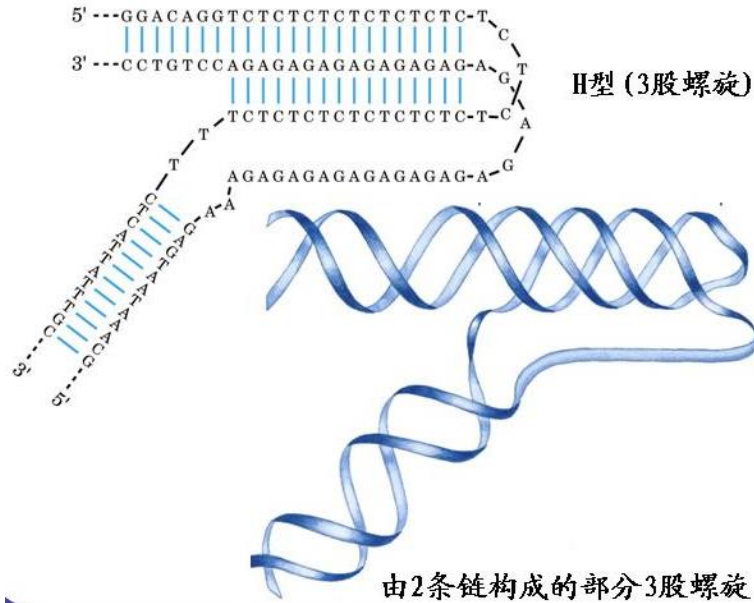
- ~100度时，A-T之间形成 Hoogsteen碱基对
- ~200度时，可观察到G-C之间形成 Watson-Crick碱基对
- 进一步加热直至融化，其他碱基对也不会形成：**碱基配对的热反应具有与DNA中相同的选择性。**



## 三螺旋结构-自学



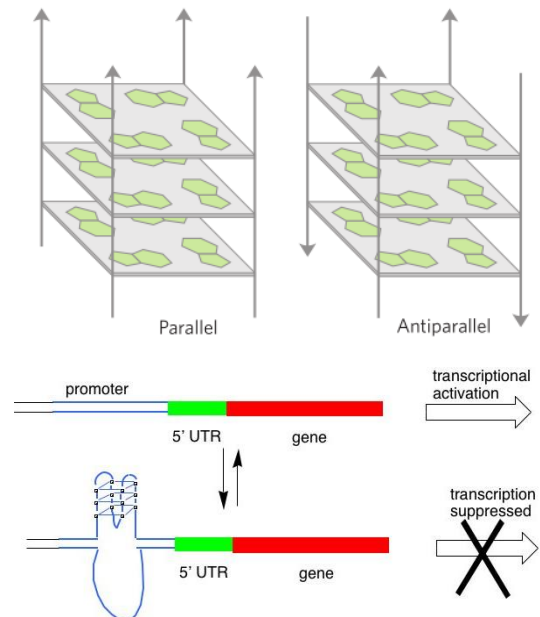
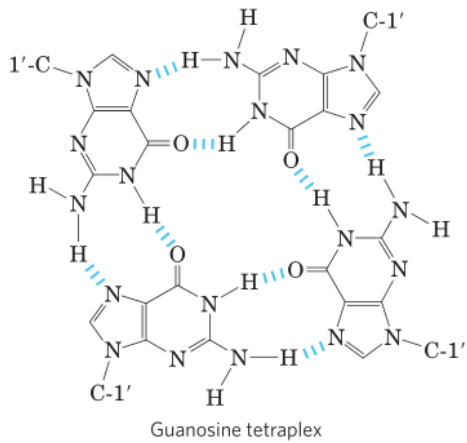
西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY



## 四股螺旋-自学



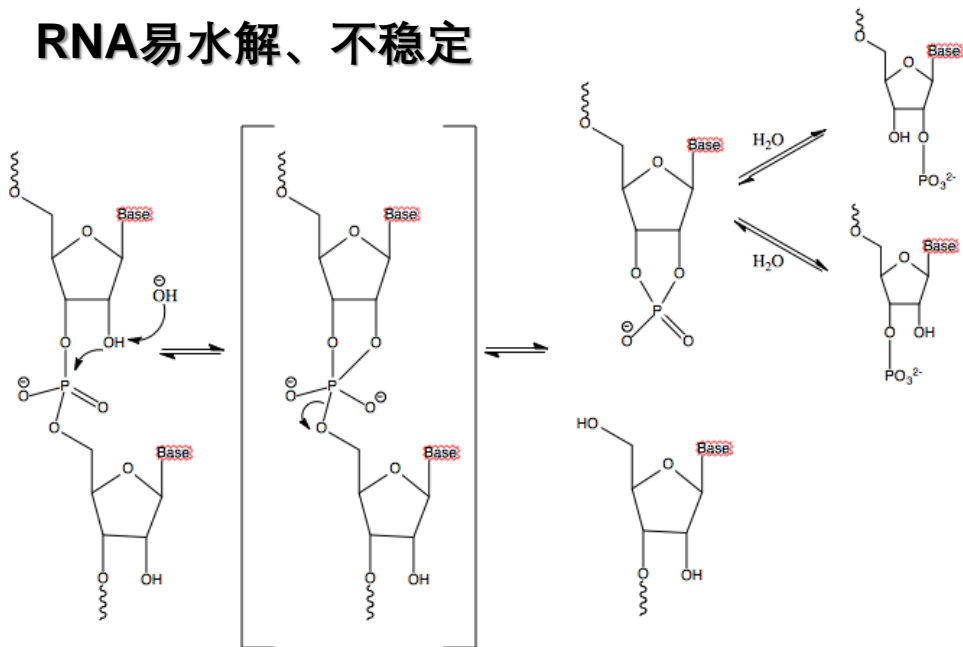
西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY







## RNA易水解、不稳定



## 12.6 核酸的性质



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- 含氮碱基的性质
- 两性
- 水解
- 变复性
- 杂交
- ...

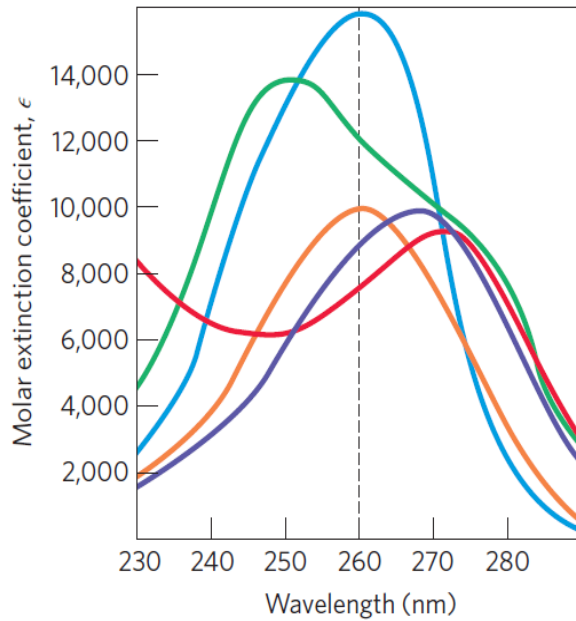




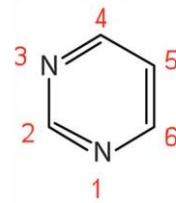
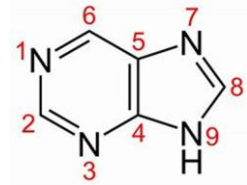
## 含氮碱基的性质



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY



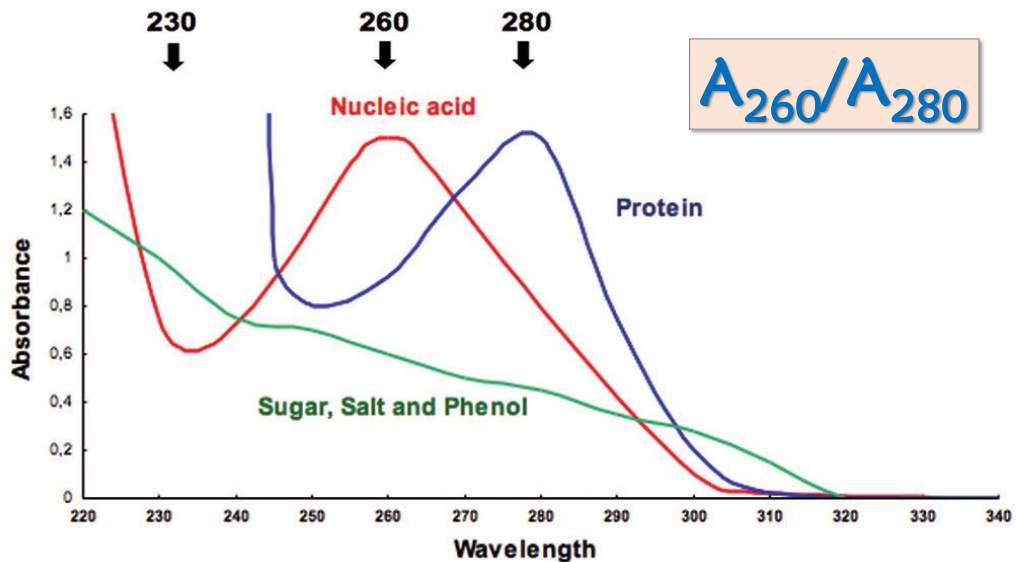
■ 含有共轭双键体系: 紫外区有吸收 ( $A_{Max} \sim 260 \text{ nm}$ )



## 核酸与其他生化基本物质吸光特性的区别



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY





## DNA纯度判断-Purity?



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- DNA纯品:  $OD_{260}/OD_{280} = 1.8$
- RNA纯品:  $OD_{260}/OD_{280} = 2.0$
- 蛋白质纯品:  $OD_{260}/OD_{280} = 0.5$
- DNA样品

- $A_{260}/A_{280} > 1.8$ ,



- $A_{260}/A_{280} < 1.8$ ,



## 核酸的变性、复性与杂交



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

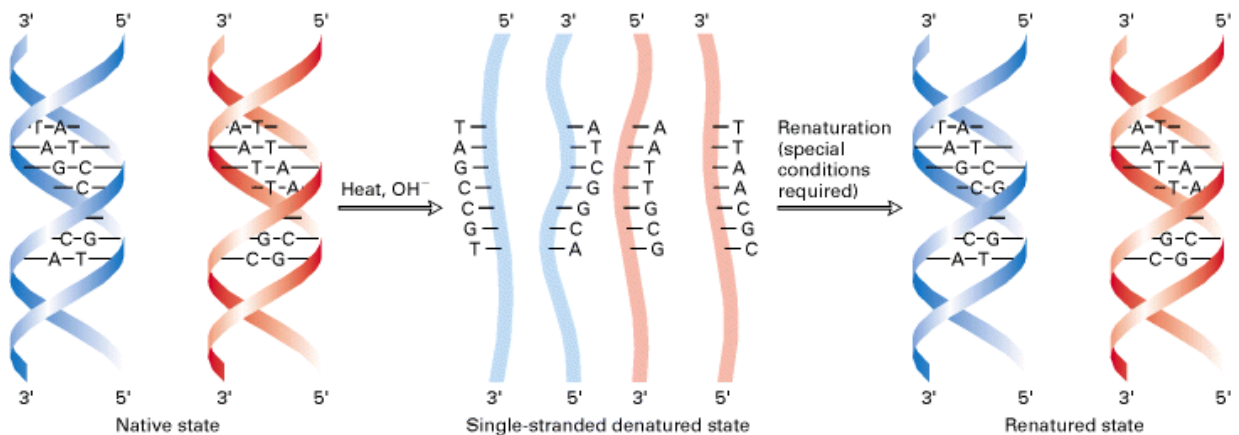
- 核酸的变性: 不涉及磷酸二酯键的断裂
- 指双螺旋区的多聚核苷酸链间的氢键断裂, 双链等变成单链结构的过程。
- 引起核酸变性的因素: 温度、酸碱度改变、甲醛和尿素等。
- 增色效应/减色效应: DNA: 25-40%; RNA: 1.1% (局部双螺旋);



# DNA变复性



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

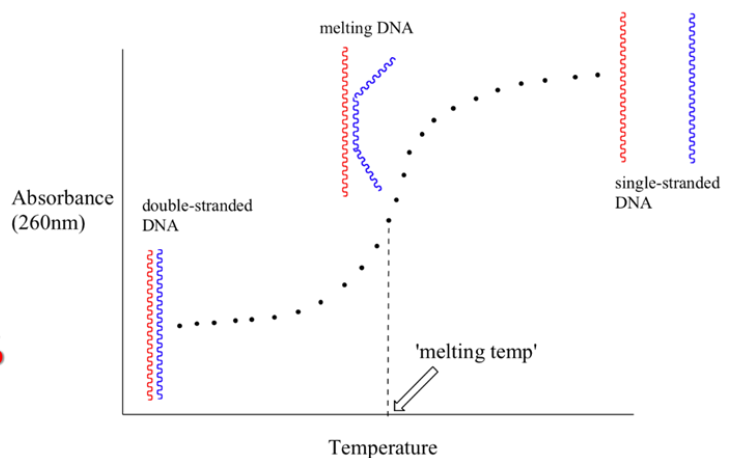


## DNA “熔点”



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- DNA的变性是“突变”性的，在很窄的温度区间内完成。 $A_{260}$ 达最大值一半时的温度称为**融点**，用 $T_m$ 表示。
- $T_m$ 值一般在70-85°C之间，与G和C的含量有关。
- **G和C的含量↑， $T_m$ 值↑**；可通过经验公式计算
- **$T_m = 69.3 + 0.41(G+C)\%$**
- **$T_m = 4(G+C) + 2(A+T)$**   
小于20bp的寡核苷酸

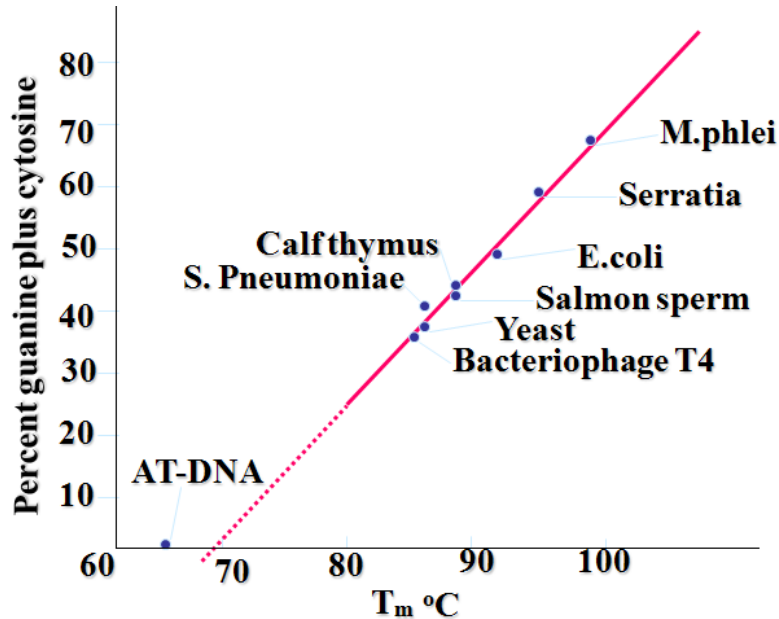




## 不同物种DNA的T<sub>m</sub>



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY



赤道区域的生物  
的DNA熔点  
高还是北极  
生物DNA熔  
点高?

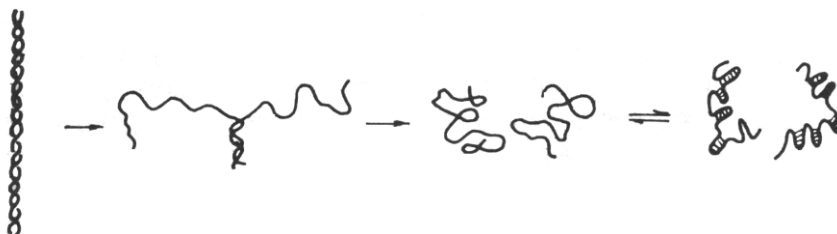


## 核酸的复性



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- 互补的变性DNA重新形成双螺旋结构称为**复性**。DNA复性的程度、速率与所处环境条件相关。
- 热变性的DNA**骤然**冷却至低温时，DNA不能复性。
- **缓慢**冷却时，可以复性。
- 分子量越大复性越难；浓度越大，复性越容易。亦与其的组成和结构有关。



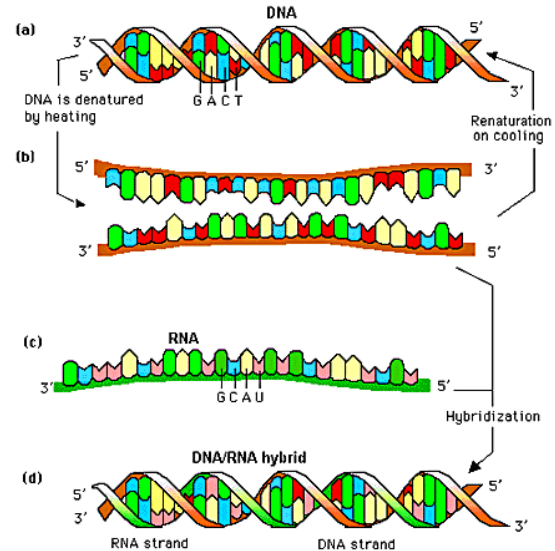


## 核酸的杂交



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- 变性的DNA单链，复性时也可以与在某些区域有互补序列的**异源**DNA单链/RNA形成双螺旋结构。
- 形成的新分子称为**杂交DNA分子**。



Nucleic Acid Hybridization

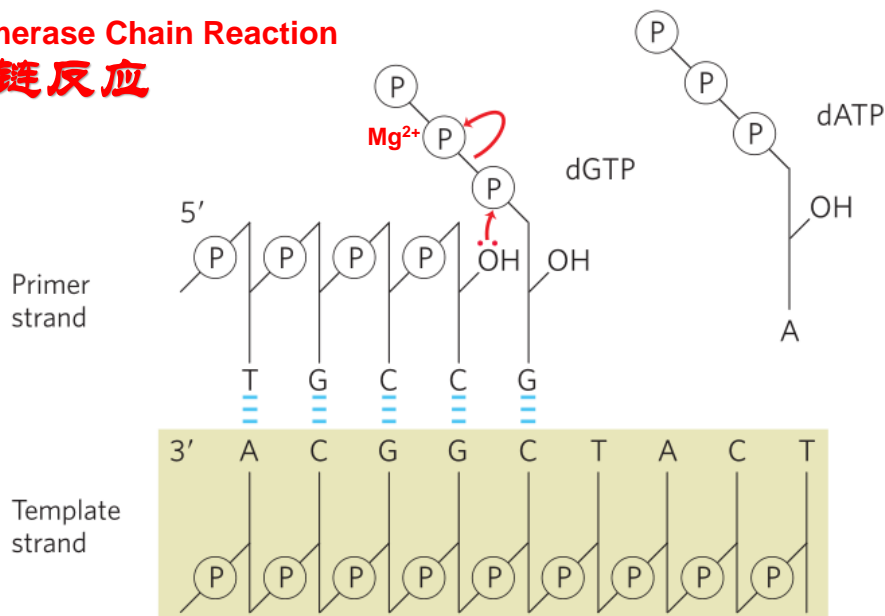


## PCR-DNA聚合酶



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

### PCR-Polymerase Chain Reaction 聚合酶链反应





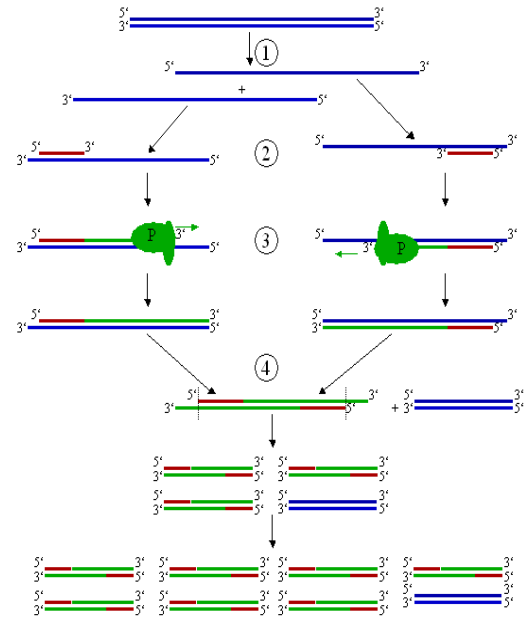


## PCR流程



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- (1) 96℃ **变性** → 双股DNA打开；
- (2) 约68℃ **退火** → **引物**与模板DNA配对结合；
- (3) 在72℃ DNA **延长** (P=聚合酶)；
- (4) 第一循环完成，两段双股DNA又可当作下一个循环模板，每次循环都使得扩增的DNA片段加倍。



## PCR-Polymerase Chain Reaction



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

### 聚合酶链反应

- PCR这项技术是由Kary Mullis发明，并因此在七年之后(1993年10月)获诺贝尔化学奖；
- 水生栖热菌 (*Thermus aquaticus*) 体内产生的DNA聚合酶：具有耐热性，不需要不断加入新的聚合酶；
- 1983年首次试验-1988年仪器



PCR之父  
1944.12-2019.08



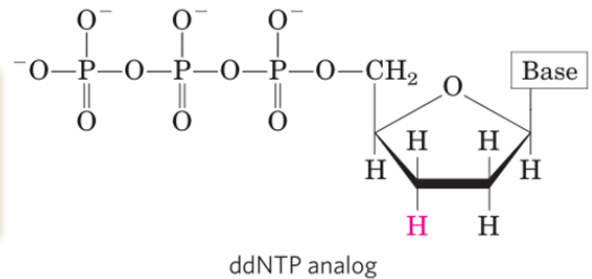
# DNA序列测定



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

在DNA复制系统中加入 $\text{ddNTP}$ ，即可形成一种全部具有相同5'-引物端和以某种 $\text{ddNTP}$ 残基为3'端结尾的一系列长短不一片段的混合物。经SDS-PAGE分离，将按其链长的不同得到分离，从而制得相应的放射性自显影图谱

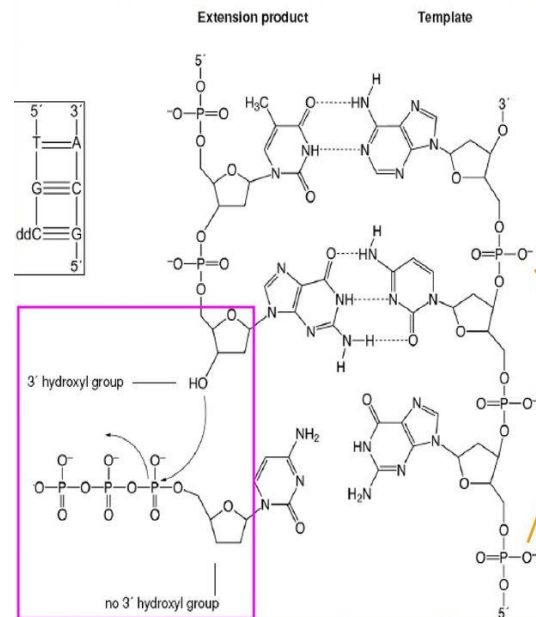
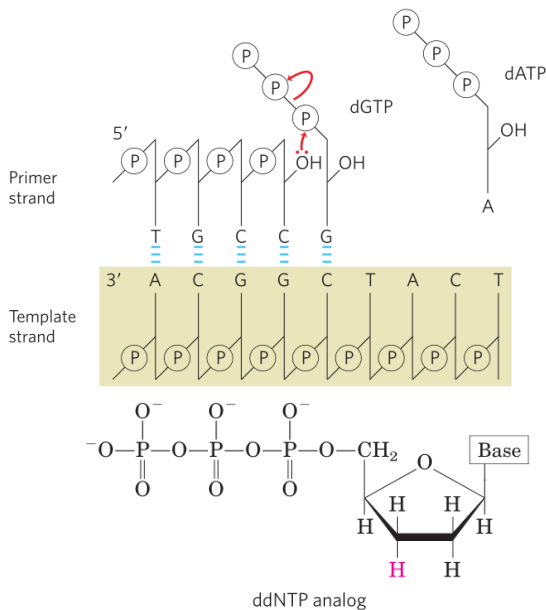
## Sanger双脱氧链终止法 -第二次诺贝尔



## 当DNA聚合酶遇到ddNTP



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY





## 4.8 其他



- 基因组 (2003) : 内含子 (70~80%, 功能? )、外显子 (20~30%, 其中 10~20% 编码蛋白质, 剩余? 调控? )
- 后基因组: 功能; 基因间隔, 全翻译
- 蛋白质组
- 测序...

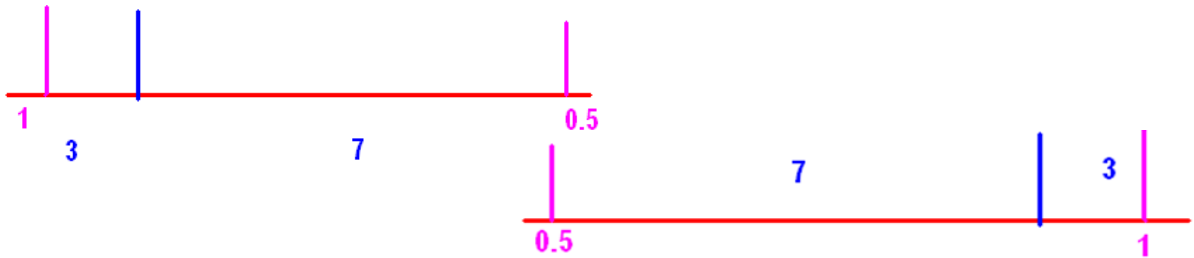


## 拓展- DNA测序总体原则



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- 自上而下→框架图
- 我国1%
- 例：酶A： 7kb, 3kb;
- 酶B： 8.5kb, 1.0kb, 0.5kb
- 酶A+B: 0.5kb, 1kb, 2.0kb, 6.5kb



## 总结-要点



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- 碱基的结构;
- 核酸的分类、特点;
- 核酸的性质 (变性/复性…、紫外吸收等) ;
- B-DNA双螺旋结构
- PCR
- 测序概要



## 思考与作业



西安交通大学  
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

- 作业：
  - 试述核酸与蛋白质的区别?
- 思考+拔高题：
  - 核酸分类和结构特点。
  - 真核/原核生物在核酸方面的区别。
  - DNA与RNA的区别?