

核酸

1 分子组成

1.1 绪论

元素组成：C、H、O、N、P

基本单位：核苷酸

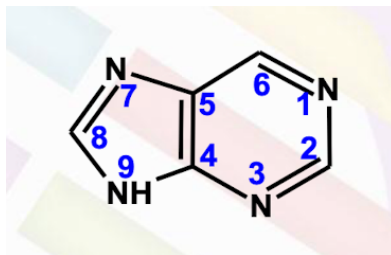


分子组成

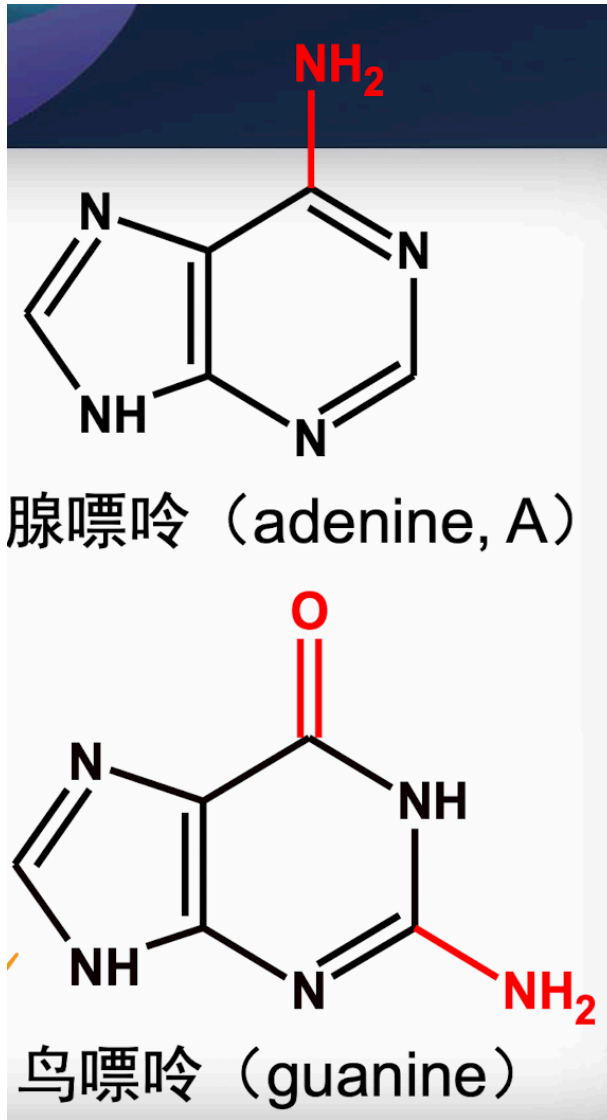
- 碱基 base
- 戊糖 ribose
- 磷酸 phosphate

1.2 碱基

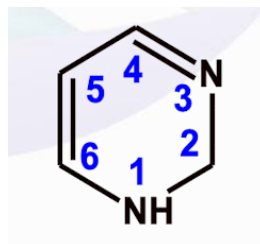
嘌呤



- 腺嘌呤 Adenine A
- 鸟嘌呤 Guanine G

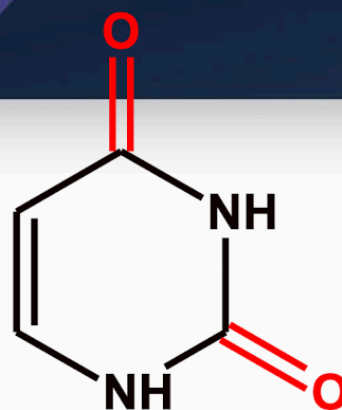
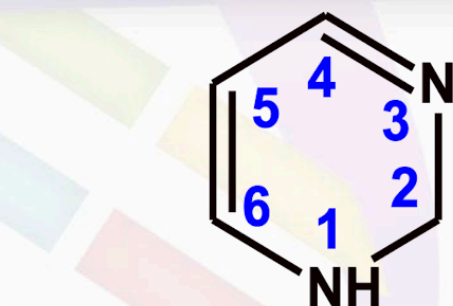


嘧啶

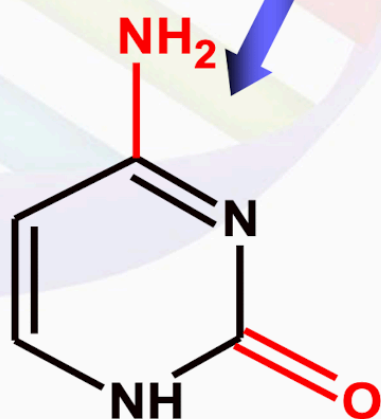


- 胞嘧啶 Cytosine C
- 胸腺嘧啶 Thymine T (DNA)
- 尿嘧啶 Uracil U (RNA)

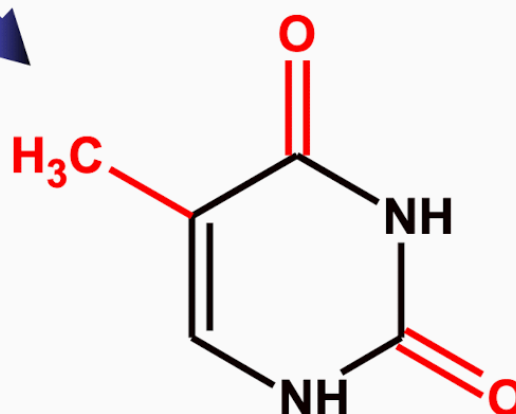
嘧啶 (pyrimidine)



尿嘧啶 (uracil, U)



胞嘧啶 (cytosine, C)



胸腺嘧啶 (thymine, T)

总体结构特征

- 含氮的杂环化合物
- 含共轭双键，260 nm 处有紫外吸收峰 (A_{260} 定量)
- 可发生酮 - 醇互变异构，在生理条件下，以酮式为主。

稀有碱基

- 黄嘌呤 xanthine X
- 次黄嘌呤 hypoxanthine I

tRNA 含有多种稀有碱基

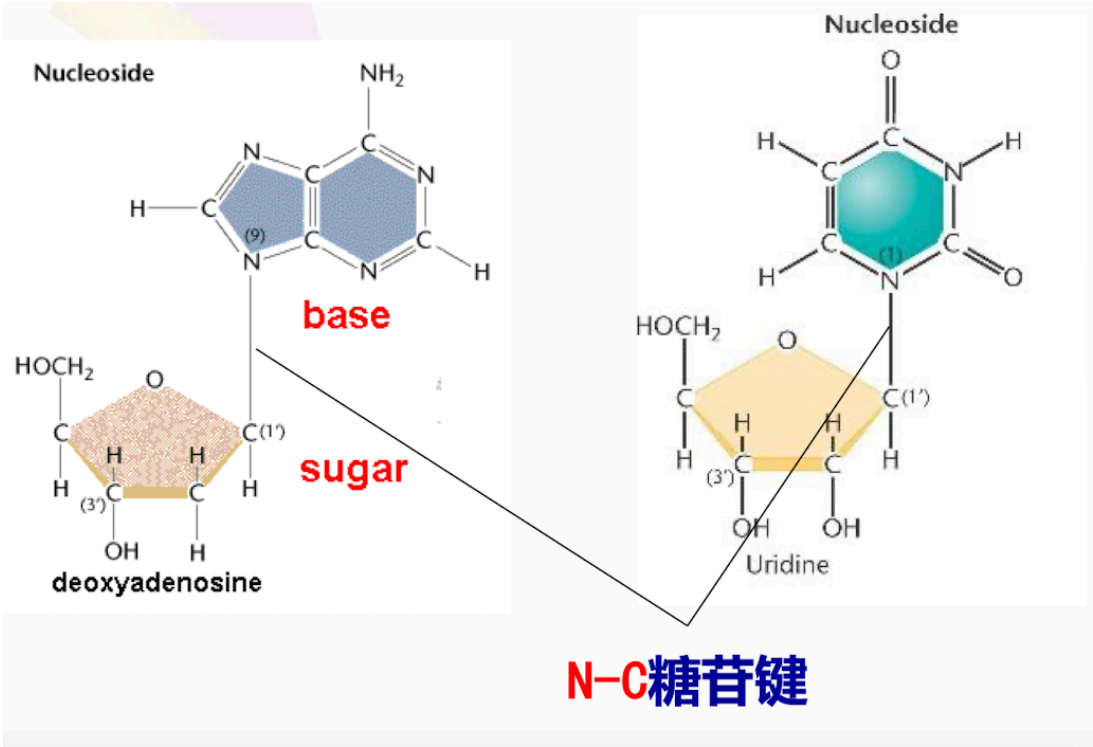
DNA/RNA 甲基化

1.3 戊糖

脱氧核糖，核糖

1.4 核苷

由碱基和戊糖通过 N-C 糖苷键缩合而成

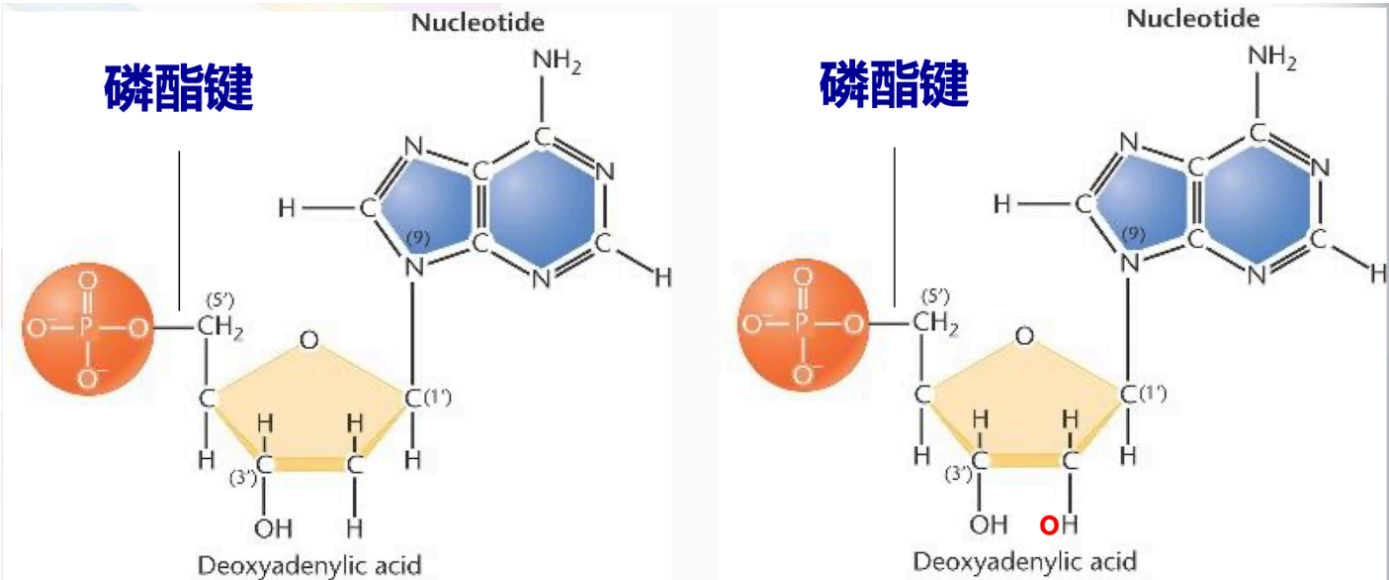


各种嘌呤 N9-C1' 核糖 (2 - 脱氧核糖)

各种嘧啶 N1-C1' 核糖 (2 - 脱氧核糖)

1.5 核苷酸

核苷中戊糖的羟基与磷酸以 磷酸键 相连



5'- 脱氧核糖核苷酸、5'- 核糖核苷酸

命名

核苷酸：Base+MP

脱氧核糖核苷酸：d+Base+MP

1.6 体内重要的游离核苷酸及其衍生物

1.6.1 多磷酸核苷酸

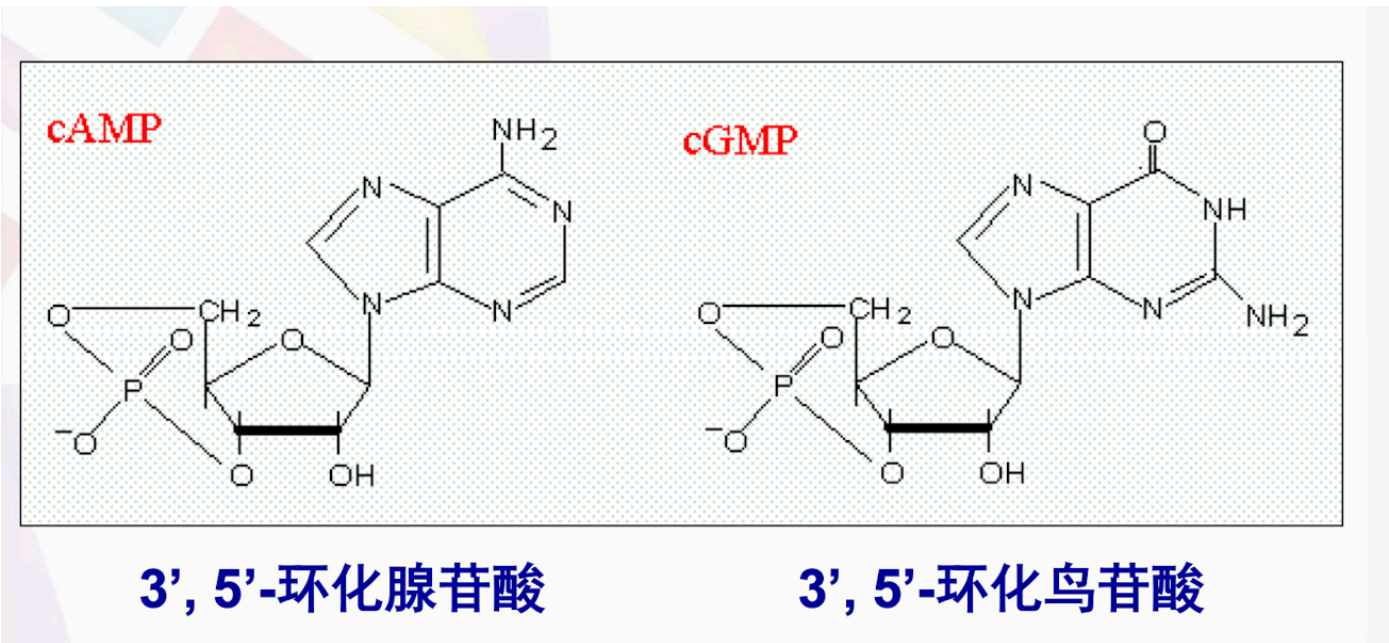
DP(Duplicate)、MP(Multiple)

功能

- 能量物质 ATP
- 代谢合成 UTP（糖原合成），GTP（蛋白质合成），CTP（磷脂合成）
- 合成核酸 NTP dNTP

1.6.2 环化核苷酸

cAMP，cGMP：细胞信号转导的第二信使。



1.6.3 核苷酸衍生物



参与生物氧化、物质代谢

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（nicotinamide adeninedinucleotide, NAD^{+} ），是生物氧化体系的重要成分，在传递质子或电子的过程中具有重要的作用。

2 分子结构

2.1 连接方式

核苷酸通过 3', 5'- 磷酸二酯键连接形成的大分子。

多聚核苷酸链具有方向性：具有 5' 末端和 3' 末端。

多核苷酸链的方向：5' 端 → 3' 端（由左至右）

2.2 核酸的一级结构

核苷酸的组成和排列顺序，也称为碱基序列。

单链 DNA 和 RNA 分子的大小常用核苷酸数目（nucleotide，**nt**）表示；

双链核酸分子的大小常用碱基对（base pair，**bp/kbp**）数目来表示。

小的核酸片段（<50bp）常被称为寡核苷酸（oligonucleotide）

2.3 DNA 的空间结构

2.3.1 DNA 二级结构 - 双螺旋结构模型

A 与 T 配对，G 与 C 配对。

1. 两条 DNA 单链 **反向平行**（一条链 5'→3'，另一条链 3'→5'），围绕中心轴呈**右手双螺旋**。亲水磷酸、戊糖为骨架，疏水碱基向内。
2. 互补双链的碱基以氢键相连， $A = T, G \equiv C$ ；每个碱基对处于同一平面，碱基平面垂直于中心轴。
3. 双螺旋横截面的直径约为 2nm，每 10.5 个碱基对形成一个螺旋，螺距为 3.54 nm。
4. 在双螺旋的表面形成 **大沟**(major groove) 和**小沟**(minor groove)，二者交替出现，是蛋白质 - DNA 相互作用的基础。

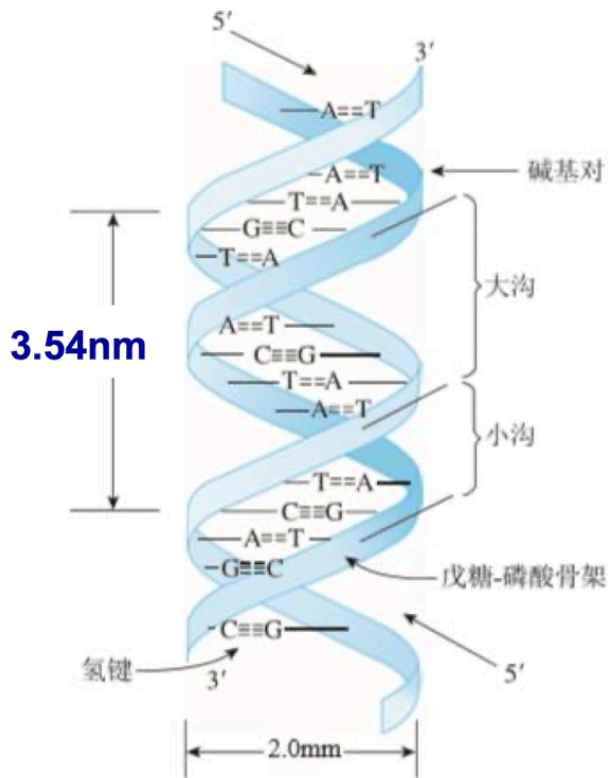


图 2-10 DNA 分子中的碱基配对及双螺旋结构模型

R 代表戊糖

5. 稳定双螺旋结构的作用力

- 氢键：维持 DNA 双链横向稳定性；
- 碱基堆积力：维持双链纵向稳定性。

DNA 双螺旋结构的多样性

A 型：湿度降低时出现

B 型：正常形态

Z 型：细菌和真核细胞 - 可能与基因表达调节有关

2.3.2 DNA 的三级结构：超螺旋 (supercoil)

DNA 在细胞内以双螺旋为结构基础进一步旋转折叠形成超螺旋结构，称为 **DNA 的三级结构**。

负超螺旋 (negative supercoil)：盘绕方向与 DNA 双螺旋方向相反

正超螺旋 (positive supercoil)：盘绕方向与 DNA 双螺旋方向相同

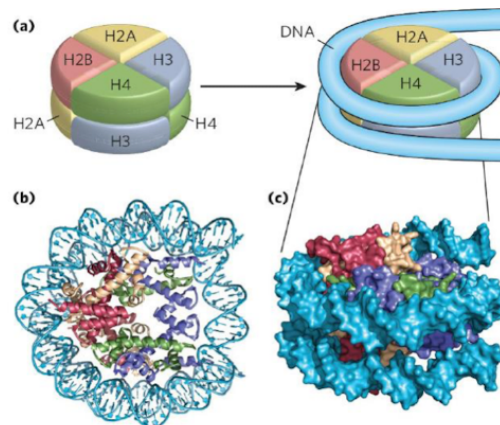
人类 46 条染色体的 DNA 总长可达 1.7m，实际总长只有 200nm。

2.3.2.1 核小体

核小体 是真核细胞染色体的基本结构单位。

核小体的组成：

- DNA：约 146bp
- 组蛋白：H1, H2A, H2B, H3, H4



真核生物 DNA 以核小体为单位形成高度有序致密结构。

2.4 RNA 的结构与功能

2.4.1 RNA 的特点

1. 碱基组成：A、G、C、U ($A = U / G \equiv C$)
2. RNA 中的戊糖是核糖而不是脱氧核糖
3. 稀有碱基较多

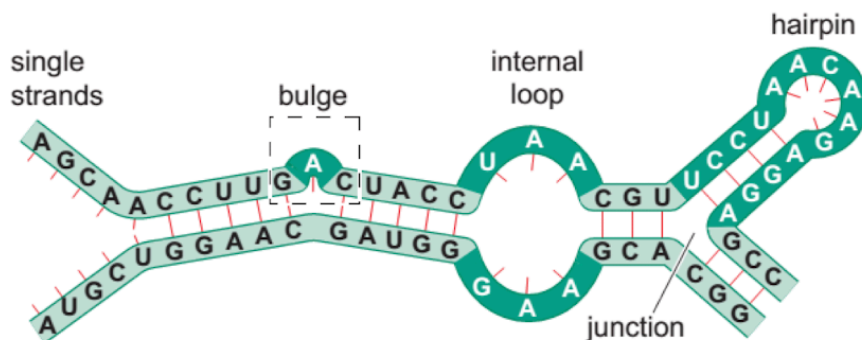
- 4. 多为单链结构，少数局部形成螺旋（发夹结构或茎环结构）
- 5. 稳定性较差，易水解

2.4.1.1 一级结构

核糖核苷酸的排列顺序。

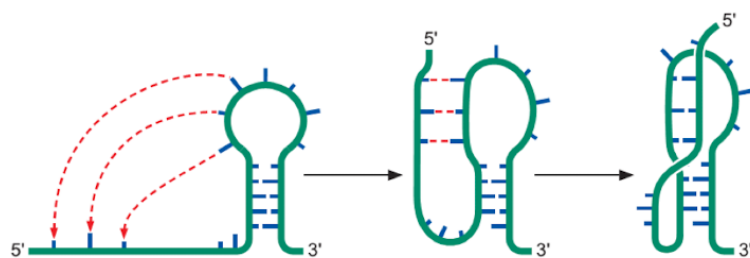
2.4.1.2 二级结构

茎环、发卡



2.4.1.3 三级结构

“假结”



2.4.2 RNA 的分类

编码 RNA: mRNA

非编码 RNA: 组成性非编码 RNA (tRNA, rRNA)

2.4.2.1 mRNA

信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 是细胞内合成蛋白质的模板。

生物体内 mRNA 的丰度最小、种类最多、大小也各不相同、寿命最短。合成完即降解

mRNA 的初级产物为不均一核 RNA (heterogeneous nuclear RNA, **hnRNA**, 也即 mRNA 前体), 含有内含子 (intron) 和外显子 (exon)。

hnRNA 经过剪切后成为成熟的 mRNA。

结构特点

5' 帽, 3' 尾 polyA

位于起始密码子和终止密码子之间的核苷酸序列称为开放阅读框（open reading frame, ORF），决定了多肽链的氨基酸序列。

在 mRNA 的开放读框的两侧，为非翻译序列（untranslated region, UTR），即 5'-UTR 和 3'-UTR。

5' 帽 - 5' 非翻译区 - 编码区 - 3' 非翻译区 - 3' 聚 A 尾

mRNA 的帽结构可以与帽结合蛋白（capbinding protein, CBP）结合。

帽子结构和多聚 A 尾的功能

- mRNA 核内向胞质的转位
- mRNA 的稳定性维系
- 翻译起始的调控

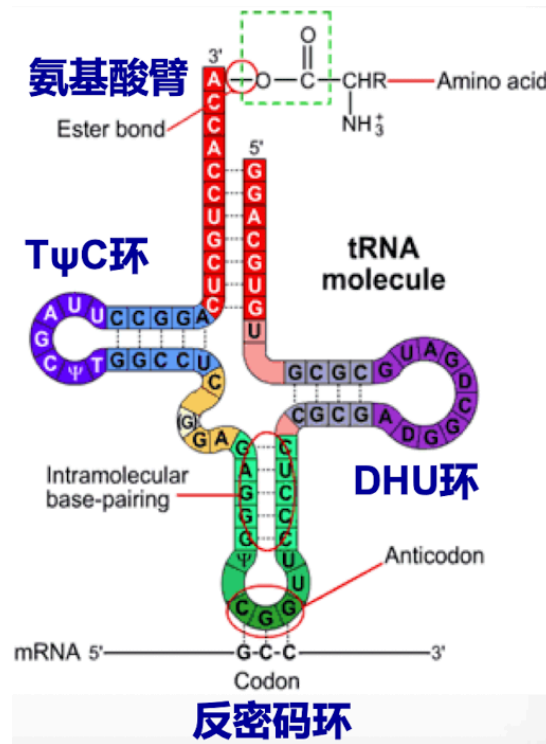
2.4.2.2 tRNA

转运 RNA (transfer RNA, tRNA) 在蛋白质合成过程中作为各种氨基酸的载体，将氨基酸转呈给 mRNA。

- 由 74~95 核苷酸组成
- 占细胞总 RNA 的 15%
- 具有很好的稳定性
- 含稀有碱基：10~20%，包括 DHU、假尿嘧啶、mG. mA;

二级结构 - 三叶草型

1. **氨基酸臂**：3' 末端有 CCA-OH 结构，用于连接氨基酸；
2. 二氢尿嘧啶环（DHU）：含有稀有碱基 DHU，识别氨酰 - tRNA 合成酶
3. **反密码环**：识别 mRNA 的三联体密码。次黄嘌呤（I）常出现于其 5' 端（第 1 位）
4. TΨC 环：含有稀有碱基假尿嘧啶（Ψ）识别核糖体
5. 可变环：由 3~18 个核苷酸组成，不同的 tRNA 此结构大小不等，是 tRNA 的分类标志。

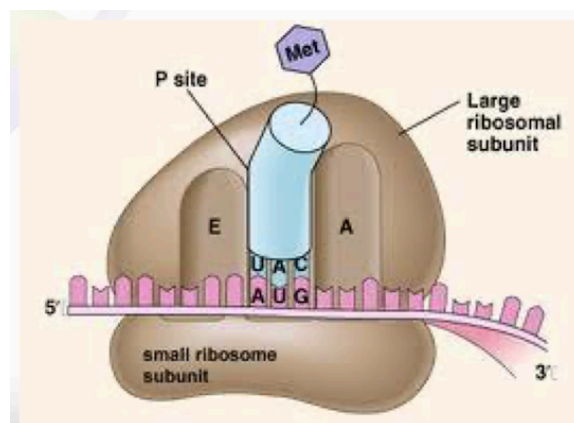


三级结构 - 倒 L 型

维持三级结构的力：碱基堆积力、氢键和碱基的非标准配对。

3 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%)。



RNA 与核糖体蛋白结合组成核糖体 (ribosome)，为蛋白质的合成提供场所。

		原核	真核
小亚基	rRNA	16 S	18 S
	蛋白质	21种	33种
	大小	30 S	40 S
大亚基	rRNA	5S, 23S	5S, 5.8S, 28S
	蛋白质	34种	49种
	大小	50 S	60 S
核糖体	大小	70 S	80 S

4 核酸的理化性质和应用

4.1 核酸的酸碱性质

核酸通常 **显酸性**，在中性或偏碱性条件下带负电荷

电泳：由负极向正极泳动

沉淀：盐溶液中金属离子中和负电荷

4.2 核酸的高分子性质

具有一定黏度 (DNA>RNA)

不同种类的核酸分子其分子量不同，形状不同

分离：电泳、凝胶过滤、超速离心

4.3 核酸分子具有强烈的紫外吸收

核酸在波长 **260nm**处有强烈的吸收，是由碱基的**共轭双键** 所决定的。这一特性常用作核酸的定性和定量分析。

DNA 或 RNA 的定量

$A_{260} = 1.0$ 相当于

- 50ug/ml 双链 DNA (dsDNA)
- 40pg/ml 单链 DNA (ssDNA or RNA)
- 20pg/ml 寡核苷酸

确定样品中核酸的纯度

- 纯 DNA: $A_{260}/A_{280} = 1.8$

- 纯 RNA: $A_{260}/A_{280} = 2.0$

4.4 DNA 的变性、复性与杂交

4.4.1 DNA 变性 (denaturation)

在某些理化因素作用下, DNA 分子互补碱基对之间氢键断裂, DNA 双螺旋打开, 变为单链。

变性因素: 加热、酸、碱、有机溶剂

理化性质改变: 黏度降低、沉降速度增加、增色效应 (A_{260} 增加)

DNA 的热变性: 加热引起的 DNA 变性

溶解温度 (melting temperature, T_m)

DNA 加热变性时, 在解链过程中, 260nm 吸光度的变化达到最大变化值的一半时所对应的温度称为 DNA 的解链温度或者溶解温度。

GC 含量越高 (对应氢键含量越高), 则 T_m 越高。 T_m 的高低能反映 DNA 变性的难易程度。

4.4.2 DNA 的复性 (退火, annealing)

变性 DNA 在 **适当条件** 下, 两条互补链重新恢复天然双螺旋结构的现象。

用途: PCR

核酸分子杂交 (hybridization): 在不同的 DNA 与 DNA 之间形成、DNA 和 RNA 分子间或者 RNA 与 RNA 分子间形成双链。