

5S RNA 的 结 构

李楠茜 赵 昂 魏西平

(中国科学院生物物理研究所)

1963 年 Rosset 和 Monier^[1] 从大肠杆菌核糖体的大亚基上分离出一种低分子量的核糖核酸 (RNA)。Schleich 与 Goldstein^[2] 指出它是酚抽提大肠杆菌完整细胞时, 从 1MNaCl 可溶部分的 RNA 中分离出的一个组分。它不仅可从原核生物的核糖体大亚基中分出, 也可在真核生物的核糖体大亚基中分离出来; 沉降系数值为 5, 称为 5SRNA。

已经证明 5SRNA 既不是 tRNA 的前身, 也不是核糖体核糖核酸 (rRNA) 的断裂产物, 而是一种稳定的、独立的小分子 RNA, 链长为 120 个左右的核苷酸, 在分子中不含有甲基化碱基的核苷酸。但在几种来源于酵母的 5SRNA 分子内, 有少量的假尿嘧啶。无论在原核生物或真核生物中, 5SRNA 均与蛋白质牢固地结合在核糖体的大亚基上。

5SRNA 的制备, 现主要用凝胶过滤或聚丙烯酰胺凝胶电泳等方法。

60 年代中期, 由于 RNA 序列分析的迅速发展, 获得了 5SRNA 的完整化学结构。1967 年 Brownlee 与 Sanger^[3] 首先测定出大肠杆菌 5SRNA 的核苷酸序列。同年 Forger 与 Weissman^[4] 确定了 KB 细胞 5SRNA 的一级结构。至 70 年代已完成了 42 个 5SRNA 的化学结构分析。80 年代初仅在一年半内就测定出 20 种 5SRNA 的核苷酸序列。

生物化学家们对于 5SRNA 的来源及 5SRNA 的前体, 进行了研究。

真核生物的 5SRNA 是一次转录, 因为 HeLa 细胞的 5SRNA 其 5'-末端主要是 ppG- 或是 pppG-, 它不可能是由一个 5'-末端多出一段核苷酸链的前体产生的, 说明 5SRNA 基因是不连续形式。Brown^[5] 在蟾蜍卵母细胞内注入带

有红血球 5SRNA 基因的 5SRNA 时, 这个细胞就高度忠实地按照注入的基因转录, 得到一完整长度的 5SRNA。但是, 3'-末端附带有小一段核苷酸序列的可能也是存在的。譬如, 果蝇的 5SRNA 及 HeLa 细胞的 5SRNA, 其 3'-末端分别有十几个或几个核苷酸在 5SRNA 的链外, 人们就把带有这个小片段的 5SRNA 叫做 5SRNA 的前体。

自 60 年代发现了 5SRNA 以来, 所研究的 5SRNA 大多是从细胞质内核糖体大亚基上分离提取出来的。在不同的原核生物的 5SRNA 核苷酸序列结构中, 有很多位置上的核苷酸是相同的, 也就是在一定区域内的核苷酸排列完全一致。真核生物与原核生物的 5SRNA, 只有部分相同。例如, 原核生物的大肠杆菌与真核生物人的 KB 细胞 5SRNA 的核苷酸序列, 只有 35 个位置上的核苷酸是相同的, 不到三分之一。而真核生物的鼠网织红细胞和人的 KB 细胞 5SRNA 的核苷酸序列结构却很相似。这反映了种属的差异性。根据 5SRNA 的核苷酸序列结构分析, 比较, 推算出原核生物和真核生物分化的时间是在距今约十八亿年以前。原核生物和真核生物的 5SRNA, 在核苷酸序列结构上, 有相当的保守性。越来越多的生物学家对探讨 5SRNA 结构与功能的问题发生了兴趣。1981 年 Krol 等^[6] 从鸡的脑与肝, HeLa 细胞及大鼠肝的细胞核内分出了两类 5SRNA, 一类 5SRNA 与同来源材料细胞质内核糖上的 5SRNA 结构相同, 另一类的核 5SRNA 则有修饰了的核苷酸, 鸡脑与鸡肝的核 5SRNA 属此类, 其可能的二级结构是二个发卡形的螺旋区被一条十七核苷酸的链接在一起, 在 3'-端还有一紧密的构型。

植物的叶绿体 5SRNA 与核糖体 5SRNA 的

核苷酸序列有较大的差异。菠菜中仅有 33 个位置具有相同的核苷酸,蚕豆是 33 个,矮豆为 38 个,而浮萍则有 40 个。可见,在同一植物的不同亚细胞部位得到的 5SRNA 其核苷酸序列相同之处只占全序列的三分之一。而菠菜核糖体与人 KB 细胞的 5SRNA 序列中,有 81 处相同。这又一次反映出种属的差异性与功能的差异性。

真核生物的核糖体大亚基中除 5SRNA 外,1973 年还发现了另一种小分子 RNA,即 5.8S RNA^[7]。

真核生物的 5SRNA 功能究竟是什么? 5SRNA 的二级结构与功能又有什么关系,Weidner 等^[8]曾提出大肠杆菌 5SRNA 的二种构型的变化,在蛋白质合成中起着“开关”的作用的观点,这是否确凿? 5SRNA 又是以怎样的结构结合在核糖体上? 这些都是颇饶兴趣的问题。

1976 年 Erdmann^[9] 系统地介绍了 5SRNA 与 5.8SRNA 的结构与功能。从 1979 年起,又每年将已发表的序列分析的 5SRNA 的材料收集,分原核与真核生物来源系统地列表介绍。

本文是将我们已收集到的有关 5SRNA 结构与系统发育树的内容,分别介绍如下:

一、5SRNA 的一级结构

5SRNA 化学结构的分析方法,最初是从体内经 ³²P- 标记的 5SRNA 提取,分离、纯化后,用特异的核糖核酸酶降解,双向高压电泳层析方法(即指纹图谱法)测定出核苷酸序列。稍后,有的研究者采取酶的特异降解后高压液相色谱法测定序列。七十年代后期,用特异的核糖核酸酶降解后的聚丙烯酰胺凝胶电泳的直读法定一级结构。并且先从体内提取获得纯 5SRNA,再进行 5'- 末端或 3'- 末端的 ³²P- 标记。在 1979 年 Peattie 建立了化学法修饰不同碱基的序列直读法后,使结构分析的步伐大大加快了。近期,有的实验室将特异酶降解与化学修饰的序列直读法结合起来测定化学结构。

5SRNA 的一级结构,除 Erdmann^[10] 所收集的原核细胞 5SRNA 17 种,叶绿体 5SRNA 4 种

及真核生物的 29 个 5SRNA 全核苷酸序列外,近来还有新的 5SRNA 的全序列在不断发表。

二、5SRNA 的二级结构

5SRNA 一级结构分析方面的进展,为二级结构的测定打下了一定的基础。但是,由于采用的研究方法不同,即使是同一种 5SRNA,也会得出不同的二级结构模型^[9]。就其研究的方法来说,大致可以分为以下几类:

1. 物理方法

(1) 分析离心和 X 光散射

这两种方法可以判断分子的大小和形状。例如大肠杆菌 5SRNA 经分析离心测得的沉降系数值为 4.4—4.8S,鉴于其 S 值比 tRNA 更取决于浓度,可以推测 5SRNA 比 tRNA 具有更大的不对称性。小角度 X 光散射的研究证实了这种推测,它测得了 $3.61 \pm 0.1\text{nm}$ 的旋转半径^[11]。

(2) 光学方法

常用的光学方法有紫外 (UV) 吸收、旋光、色散 (ORD)、圆二色 (CD)、红外吸收光谱^[12] 等。这些方法可以测定 A·U 和 G·C 碱基对的数量,以此来推算 5SRNA 分子内所含碱基配对数的上限和下限。通过 ORD 结合 UV 的测定表明大肠杆菌 5SRNA 分子内有 40—49 个碱基对。UV、ORD、CD 和红外吸收光谱的分析指出,在大肠杆菌 5SRNA 分子的二级结构中含有 28 ± 4 的 G·C 和 13 ± 4 的 A·U 碱基对。

(3) 核磁共振 (NMR) 波谱分析

高分辨率的 NMR 波谱分析,可以测定 RNA 分子中碱基对的总数,类型和位置,其结果与 X 光的 tRNA 结晶学研究一致。酵母 5SRNA 的 NMR 波谱分析发现在 35℃ 和无镁离子的情况下,有 21 ± 2 个碱基对;加入 Mg^{++} 之后可增至 24 ± 2 个碱基对;如再在 60℃ 加热 5 分钟,则可增加到 28 ± 3 个碱基对。大肠杆菌 5SRNA 分子内有 28 ± 2 个碱基对,其中 24 个为 G·U 对,4 个为 A·U 对。

2. 酶解法

由于核糖核酸酶对 RNA 分子单链区有优先作用的特性,因此通过多种核糖核酸酶的水

解就能了解分子单链区的范围。在用 RNase T₁ 有限水解大肠杆菌 5SRNA 时,发现首先在 G₄₁ 断开,其次在 G₁₃, G₅₆, G₆₉ 位置。RNase IV 首先作用于 G₄₄; 羊肾核酸酶在 34 和 50 位核苷酸处发生水解,说明在 G₄₁ 位附近是这个分子的单链区(图 1)。真核生物 5SRNA 分子的 40 位核苷酸附近也是单链区。但是 90 位核苷酸附近还有一个敏感区,它象 40 位附近一样可被迅速地水解。酵母 5SRNA 最先被水解的位置在 37, 41, 91 位, 其次在 11, 54, 73, 103 位

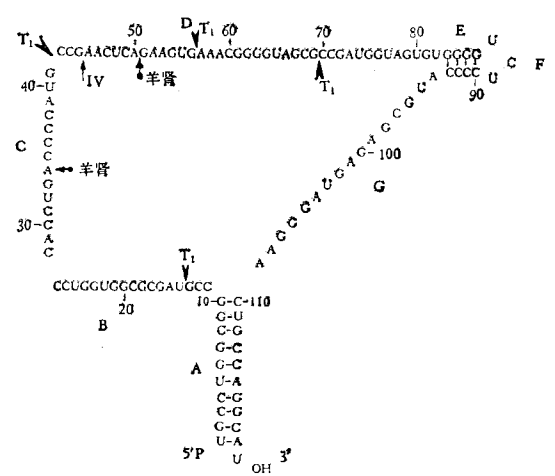


图 1 大肠杆菌 (E. Coli) 5SRNA 核酸酶水解切点

△ RNase T₁ 水解位置
↑ RNase IV 水解位置
↔ 羊肾核酸酶水解位置

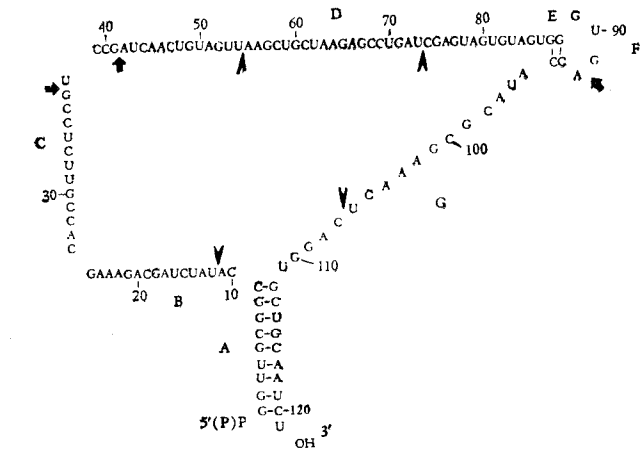


图 2 酵母 5SRNA 酶水解切点

↑ 首先水解位置 △ 其次水解位置

(图 2)。

3. 化学修饰法

是测定 RNA 的二级结构的一种有用的方法。理想的试剂应具有以下的特点: (1) 对四种普通的碱基之一具有专一性, (2) 优先与单链上的核苷酸反应, (3) 能够将同位素掺入修饰的 RNA, (4) 不改变它的结构。然而事实上不可能获得具备上述所有特点的试剂。所以有的试剂虽具碱基专一性, 并能判别被修饰碱基所在区域或被修饰碱基的数量, 但不能确定其确切位置, 而需要其他方法的配合。

4. 寡核苷酸结合的方法

这种方法对于发现核酸中的单链区是十分灵敏的, 它取决于寡核苷酸和测定分子中互补序列之间碱基对的形成。最初这种方法用于 tRNA 二级结构的研究。Lewis 等 (1977) 用这种方法测定了大肠杆菌 5SRNA 的单链区。

通过上述四种方法所得到的结果, 一方面表明原核生物和真核生物 5SRNA 的二级结构虽有差异, 但总体上是类似的; 另一方面也可以看到由于采用的研究方法不同, 即使是对同一种分子的分析也会得出不尽相同的结果。下面就近几年来一些学者提出的部分 5SRNA 二级结构模型作一简单的介绍:

1. Fox 和 Woese 模型

在原核生物中, 一种生物的 5SRNA 可以与另一种生物的核糖体 50S 大亚基重组而具活性。这说明原核生物 5SRNA 的系统发育上很多区域具有等同的功能, 说明 5SRNA 分子功能上有意义的特征的系统发育的保守性十分相似。根据 5SRNA 一级结构比较分析确定功能上有意义的二级结构方法的原则——功能上相当的分子应该具有同样的二级结构, 并结合其他一些原则 Fox 等^[14]提出了一种原核生物 5SRNA 的二级结构的模型(图 3)。这个模型与大多数物理、化学方法测得的结果相符, 特别与核磁共振分析存在有 28 个碱基对的结果一致。但与寡核苷酸结合研究的结果有部

分不符。

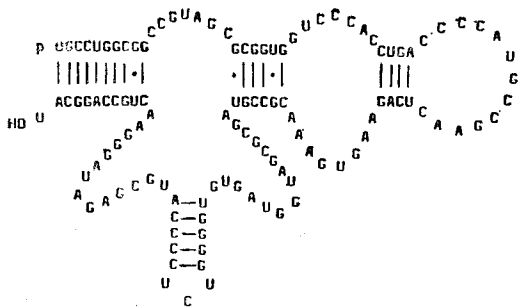


图3 大肠杆菌 5S rRNA 二级结构模型 (Fox 和 Woese)

2. Y 型结构模型

Österberg 等在 1976 年^[11]用小角度 X 光散射法研究大肠杆菌 5S rRNA 的二级结构, 提出一个 Y 型的模型 (图 4)。它与化学修饰法和 Lewis 等的寡核苷酸结合法的研究结果^[13]比较一致。在变性的 5S rRNA 分子中, 发现相对于 71—102 位的螺旋区部分解开, 这种部分解开的结构则十分类似于 Fox 和 Woese 的模型。

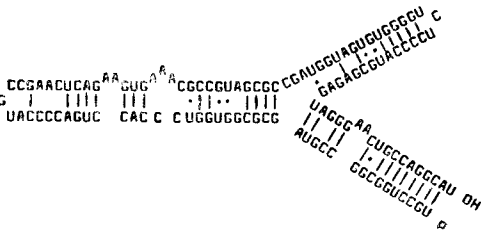


图4 大肠杆菌 5S rRNA 的 Y 型二级结构模型

3. “叉骨”模型

Studnicka 等根据螺旋能量过滤算法 (helical energy filtering calculation) 提出了一种原核生物 5S rRNA 的二级结构模型^[15], 称为“叉骨”模型 (图 5)。它包括一个茎区和二个臂区; 第一臂中螺旋区的总长度全是 15 个碱基对, 所以又称恒定臂。

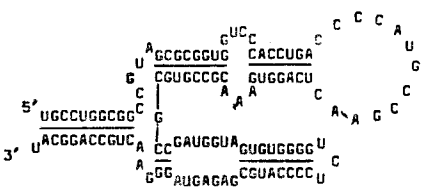


图5 大肠杆菌 5S rRNA “叉骨型”二级结构模型

上述种种 5S rRNA 的二级结构模型, 只有 5'

和 3' 端碱基彼此配对这一点是共同的。因此有人认为, 既然 5S rRNA 只是在核糖体上表现其功能, 那么在分离的条件下研究其结构就势必会遇到天然的困难。

三、5S rRNA 系统发育树

近十年来进化论、分类学以及分子生物学互相渗透, 发展了一门新兴的边缘科学——分子分类学。其主要特点是利用生物大分子的分子结构特征, 研究生物进化。从此, 生物进化开始进入分子水平的研究。

动物、植物、酵母、兰绿藻等多种生物 5S rRNA 一级结构的确定, 使分类学家有可能依

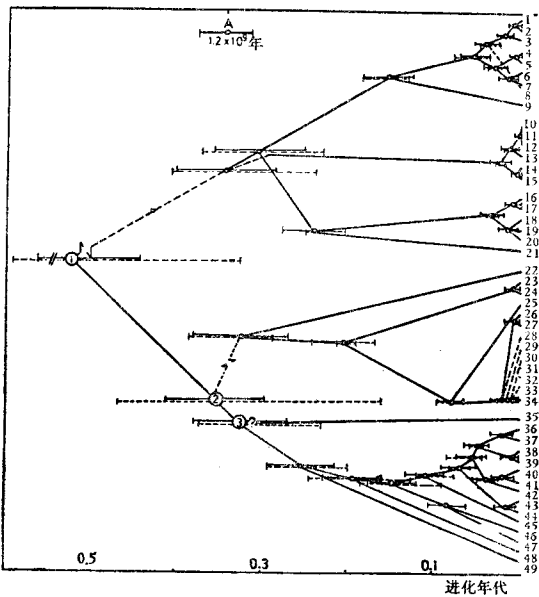


图6 5S rRNA 系统发育树

- 1. 人 KB 细胞 2. 蜥蜴 3. 鸡 4. 爪蟾 (体细胞) 5. 爪蟾 (体细胞) 6. 爪蟾 (卵巢) 7. 蟾 (卵巢) 8. 鳟鱼 9. 果蝇 10. 啤酒酵母 11. 卡氏酵母 12. 乳酸克鲁维 13. 拟酵母 14. 膜醴毕赤酵母 15. 膜醴毕赤酵母 16. 黑麦 17. 蕃茄 18. 向日葵 19. 短豆 20. 蚕豆 21. 氯藻 22. 巢状平藻 23. 荧光假单胞菌 24. 荧光假单胞菌 25. 发光杆菌 26. *Y. Pestis* 27. 粘性沙雷氏菌 28. 产气的欧文氏菌 29. 奇异变形杆菌 30. 需氧产气微生物 31. 大肠杆菌 C₂, KB 32. 大肠杆菌 C₁, A₁ KC 33. 鼠伤寒沙门氏菌 34. 大肠杆菌 A₂, KA, KD 35. 水生嗜热菌 36. 巨大芽胞杆菌-1 37. 巨大芽胞杆菌-2, 38. 巴氏芽胞杆菌-1 39. 巴氏芽胞杆菌-2 40. 枯草芽胞杆菌 41. 地衣状芽胞杆菌-1 42. 地衣状芽胞杆菌-2 43. 强固芽胞杆菌-1 44. 强固芽胞杆菌-2 45. 硬脂嗜热芽胞杆菌 46. 短芽胞杆菌 47. 粪链球菌 48. 短杆菌 49. 巴氏梭菌

据不同物种的 5SRNA 一级结构特征,制作系统发育树。日本广岛大学 Hiroshi Hori 和 Syozo Osawa 等^[16,17]人,系统研究并制作了 5SRNA 的系统发育树。构建系统发育树的基础是比较生物间 5SRNA 分子的核苷酸排列顺序的差异(代表进化),以及共同的核苷酸排列顺序(代表保守),并将其表达为数学的语言,利用一定的数学公式,借助于计算机加工处理,最后将结果以发育树的形式表达出来。系统发育树形象地、系统地反映了原核生物的进化,真核生物的起源以及各种不同生物彼此之间的亲缘关系(图 6)。树干的最基部,代表一切生物总的起始点。树干的第一个分叉点,表示在十八亿年前原核生物和真核生物开始分化;随着时间的推移,生物不断进化,代表原核生物和真核生物的二枝基本树干,再不断分枝分叉,如从真核生物枝最早分化出来一个分枝,代表了真菌类,随后分出的又一枝代表了植物,再后就是动物。同样,原核生物的进化,在原核生物枝上表达得十分清楚。

传统的分类学主要依赖于胚胎学,形态学,解剖学等等的研究方法,大多以物种的形态来确定生物的进化程度;而分子生物学家则从分子水平上,用分子的一级结构特征来确定物种的进化程度。这是一种由表及里,由现象到本质的研究方法,是一种定量的,更为准确可靠的

手段;而且可以使一些经典方法完全不可彼此比较的物种之间(如酵母,松树,鱼类)进行比较,对于在形态结构上非常简单的微生物,也只有用这种方法才能得出可靠的结果。

5SRNA 作为一个基本而又独立的核酸单位,分布极广、分子小,材料的纯化和其序列的研究,又比其它核酸分子容易得多。因此将 5SRNA 用于上述目的的研究具有其独特优点。

参 考 文 献

- [1] Rosset, R. et al.: *B. B. A.*, 68, 653, 1963.
- [2] Schleich, T. et al.: *J. Mol. Biol.*, 15, 136, 1966.
- [3] Brownlee, G. G. et al.: *Nature*, 215, 735, 1967.
- [4] Forget, B. G. et al.: *Science*, 158, 1695, 1967.
- [5] Brown, D. D. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 74, 2064, 1977.
- [6] Krol, A. et al.: *Nucleic Acids Res.*, 9, 2699, 1981.
- [7] Rubin, G. M.: *J. B. C.*, 248, 3860, 1973.
- [8] Weidner, H. et al.: *Nature* 266, 193, 1977.
- [9] Erdmann, V. A.: *Progr. Nucleic Acids Res. Mol. Biol.*, 18, 45, 1976.
- [10] Erdmann, V. A.: *Nucleic Acids Res.*, 9, 125, 1981.
- [11] Österberg, R. et al.: *Eur. J. Biochem.*, 68, 481, 1976.
- [12] Appel, B. et al.: *Nucleic Acids Res.*, 7, 1043, 1979.
- [13] Lewis, J. B. et al.: *Biochemistry*, 16, 5016, 1977.
- [14] Fox, G. E. et al.: *Nature*, 256, 505, 1975.
- [15] Studnicka, G. M. et al.: *Nucleic Acids Res.*, 9, 1885, 1981.
- [16] Hori, H. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 381, 1979.
- [17] Hori, H.: *J. Mol. Evol.*, 7, 75, 1975.

[本文于1982年1月25日收到]

人体体表对称信息的研究

严智强

(中国科学院生物物理研究所)

人体体表的某些信息量左右对称,即处于平衡状态。这一事实早在两千多年前就为我国古代学者所注意。近年来,这一现象的研究在国内外开始受到重视。人体体表感觉功能对称性的研究,在 1977 年于东京召开的第五届与 1979 年在巴黎召开的第六届国际针灸大会上均有报道。由于近年来采用了多种生物物理、

物理化学及生理学方法进行客观化、定量化的测量手段,因而对这一现象的规律及其在了解生命本质中的意义的认识不断深入,并逐步在临床诊断、疗效观察等方面得到了应用。

感觉功能的对称与平衡

人体体表两侧相应部位,对外界相同的物