

少一部分在胃中释放)而只在肠中释放。

参 考 文 献

- [1] Zaborsky, O.: *Immobilized Enzymes*. Chemical Rubber Co. Cleveland, U.S.A. 1973.
- [2] Melrose, G. J. H.: *Rev. Pure Appl. Chem.*, **21**, 83, 1971.
- [3] Wiseman, A.: *Process Biochem.*, **8**(8), 14, 1973.
- [4] Vieth, W. R. et al.: *Chem. Technol.*, **4**(1), 47, 1974.
- [5] Allan, G. G.: 比利时专利, 706,509, 1967.
- [6] ————: 加拿大专利, 855,181, 863,310, 1970.
- [7] Broadhead, R. L.: 美国专利, 3179608, 1965.
- [8] Wilkins, R. M.: *The Design of Polymers for the Sustained Release of Selected Herbicides*, Univ. of Washington, U.S.A. 1969.

- [9] Allan, G. G. et al.: *Int. Pest Control*, **15**(3), 24, 1973.
- [10] Marson, F.: *J. Appl. Chem.*, **19**, 93, 1969.
- [11] Mischell, D. R. et al.: *Fertil. Steril.*, **21**, 99, 1970.
- [12] Pencap, M.: *Technical Bull.*, Pennwalt Corp., California, U.S.A. 1973.
- [13] Merrifield, R. B.: *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 2149, 1963.
- [14] Merrifield, R. M. et al.: *Anal. Chem.*, **38**, 1905, 1966.
- [15] D'Alelio, G. F.: 美国专利, 3395134, 3395197, 1968.
- [16] Chang, T. M. S.: *Science*, **146**, 524—5, 1964.
- [17] Boguslaski, R. C. et al.: *Biochimica et Biophysica Acta*, **250**, 266, 1971.

[本文于1980年1月14日收到]

Watson-Crick 模 型 的 修 饰

张 今 张德安 焦佐卿

(吉林大学化学系) (湖南制药厂)

一、引 言

26年前, Watson-Crick 提出了 DNA 的双螺旋结构模型。他们指出, DNA 通常是双股的,并以糖-磷酸酯骨架反平行走向。碱基是按着腺嘌呤与胸腺嘧啶、鸟嘌呤与胞嘧啶的方式配对。这是由大量实验支持的。鸟嘌呤与胞嘧啶以三个氢键牢固地配对,腺嘌呤与胸腺嘧啶配对则有所变动。现在似乎这种配对时的构象与 Watson-Crick 提出的有所不同。另外,关于 Watson-Crick 模型的其它特征,虽然是很可能的,但尚缺乏实验支持。例如结构的精确配位,包括碱基的倾斜,糖的精确折迭,各种碱基顺序的结构规律性问题等。

近年来,有些学者^[1-7]为了解释 DNA 复制和转录,以及 DNA 与蛋白质相互作用问题上存在的困难,分别提出了顺梯式构象, SBS 结构和 CPK 结构等不同于 Watson-Crick 的模型。下面,我们首先讨论这些模型,然后提出我们对 Watson-Crick 模型的修饰意见。

二、顺梯式构象

如引言中所述, Watson-Crick 的 DNA 结构模型是一个同向(左手)双螺旋,其中 A + T 和 G + C 是由氢键配对。碱基三连体作为遗传密码。双螺旋展开成单股需要能量。复制和转录必须是单股^[8]。由此, B. Cyriax 和 R. Gath 提出,单股不是直接源于双螺旋的展开,而是源于双股 DNA 的构象。即,在没有展开的情况下就能够形成单股。在这个构象中,糖-磷酸酯链处于顺式位置,碱基堆积成梯级式(图1)。故这个构象称为顺梯式构象(Cis-Ladder Conformation)。但这不应视为是 DNA 的一种新构象,而应看作位于双螺旋和单链间的一种构象,这意味着在没有任何拉力产生的情况下,双螺旋能够转化为顺梯式构象,反之亦然。

然而,当 B-DNA 双螺旋变为顺梯式时,平面碱基对水平距离由 3.4 埃变为 5.5 埃。同样, A-DNA 双螺旋变为顺梯式,碱基对在水平外倾斜 20°。在这个构象中,在没有展开的情况

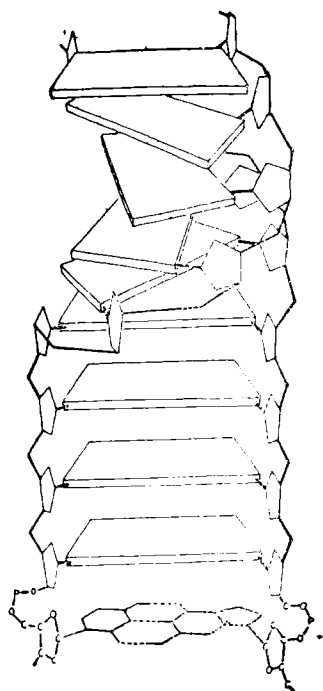


图 1 顺梯式构象

底部的核苷酸是顺梯式构象；上部的核苷酸对是双螺旋。对这个模型检验表明，在没有任何拉力产生的情况下，由一种构象变为另一种构象是可能的。

下，在氢键断裂之后，股的分离是可能的。分离之后，碱基在空间上是处于复制、转录，复性及杂交链形成的最适位置。

DNA 的双螺旋结构是一个很紧密的构象。相反，顺梯式构象是更易弯曲的。在没有任何拉力产生的情况下，它可以转化为螺旋形式，顺梯式倾斜形式，折叠形式和盘旋形式。因此，在顺梯式构象中形成超盘旋的结构是更易理解的。

三、SBS 结 构

G. A. Rodley 等^[1]根据 Watson-Crick 碱基配对和反平行股模型，创立了 SBS(Side-by-Side) 结构(图 2)。他们指出，DNA 的两条链是并排地扭曲，而不是双螺旋相互缠绕。它是由右手卷曲的五个碱基对顺序继之有左手卷曲的五个碱基对顺序组成的。糖-磷酸酯骨架无大的相互缠绕。这个模型仍保持 Watson-Crick 模

型的碱基堆积和重复距离。

SBS 结构与 Watson-Crick 模型的主要区别：(1) 一半重复单位的方向不同；(2) 糖-磷酸酯骨架弯曲。

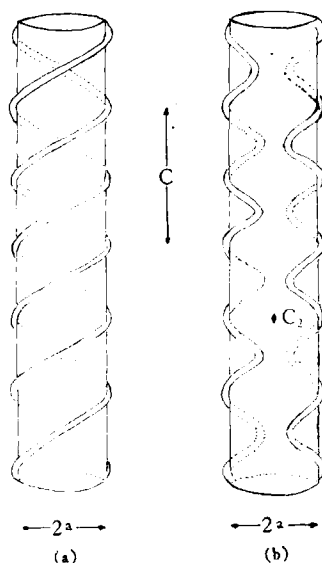


图 2 (a) 基本的 Watson-Crick 模型；
(b) 基本的 SBS 结构

c = 重复单位的轴长； a = 磷酸酯股的残基；
 c_2 = 二重轴(垂直于纸)。

在 SBS 结构中，引用了两类骨架弯曲，即 P 和 q。P 弯曲包括由邻近交叉-邻近交叉(gauche-gauche, gg) 核苷酸构象(即用于构成右螺旋部分)到反式邻近交叉(trans-gauche, tg) 构象(即构成左螺旋部分)变化。q 是一个附加的核苷酸构象，对于 gg→tg 变化是需要的。

图 3 的 P 和 q 弯曲按 $\begin{smallmatrix} p & q \\ q & p \end{smallmatrix}$ 方式。

对 SBS 结构模型尚可能有各种修改。因为它不易确定各种键长、键角，氢键和范德华接触。

SBS 模型明显不如右手双螺旋稳定。因为在该模型中存在着左手螺旋部分和骨架弯曲。尽管如此，SBS 结构尚有稳定因子：

(1) 蛋白质分子同 DNA 分子相互作用，至少能稳定有限部分的 SBS 排列。

(2) 碱基对堆积的稳定效应，对于 SBS 区域的稳定性可能是重要的。

(3) SBS 结构中的碱基对只在窄小范围内摆动,没有 360° 旋转,这可以使碱基对精确地定位。

G. A. Rodley 等计算表明, SBS 结构与所观察的 B-DNA 纤维状 X 线模型相应。它可以解释复制时 DNA 两条链的分离。至少在有的条件下多核苷酸存在着这种结构。

四、CPK 结 构

V. Sasisekharan 等详细研究了 Watson-Crick 模型,考虑了多核苷酸骨架的构型和糖部位折迭,在 SBS 结构的基础上,创立了 DNA 的选择结构空间填充 (Corey-Pauling-Koltum) 模型,简称 CPK 模型(图 3)。

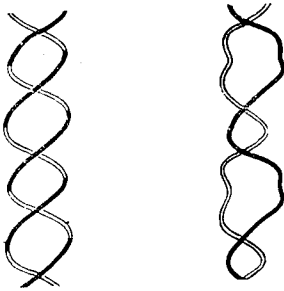


图 3 CPK 模型(右)和 Watson-Crick 双螺旋模型(左)(简图)

CPK 模型不是双螺旋的,而是由并排地多核苷酸股配对组成的,并靠 Watson-Crick 碱基对维系。其中每股都有交替的右和左手螺旋片段,该片段的长度约为五个碱基对。交替片段上的糖残基沿股的相反方向指向。

CPK 模型与 SBS 结构的主要区别是: 前者的糖残基完全不是按相同方向,后者的糖残基是按相同方向指向(图 4)。

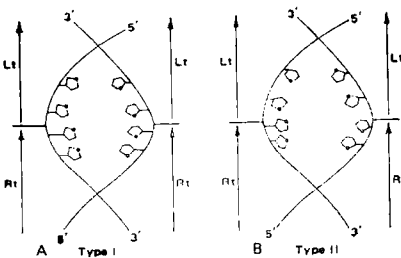


图 4 CPK 结构与 SBS 结构中糖残基指向的比较

CPK 结构与 Watson-Crick 模型的主要区别是:

在每股上的片段交替的右和左手排列的一个重要结果,是互补股不再紧密地互相缠绕,此外,它们有三个限定两个连续片段相对定向的自由度。

第一个自由度包含具有同一螺旋轴的连续片段之间的有限缠绕。若以 θ 表示 10 个碱基对产生的缠绕角(图 5A),那么 θ 是 $0 \leq \theta \leq 30^\circ - 40^\circ$ 。

第二个自由度包含两个连续片段的轴横向位移 d ,这个位移保持碱基对以 3.4 埃分离之。

第三个自由度是关于连续片段的轴相对倾斜角(图 5B)。这个相对倾斜允许碱基对以 3.4 埃变为 4.5 埃分离之。

CPK 结构的理论意义有以下六点:

(1) 对 DNA 卷曲的解释 SV 40 的 DNA (约 5000 碱基对,全长 $1.6 \mu\text{m}$)。它的电子显微图表明结构中可能圆周长 $0.3 - 1.6 \mu\text{m}$ 的突环。

为了用 CPK 结构解释 SV 40 的 DNA,我们假定片段的轴是平行的(即 $\alpha = 0^\circ$)(参见图 5C)。令 AB 表示五个碱基对的拉伸($AB = 5 \times 3.4 \text{ 埃} = 17 \text{ 埃}$),旋转角 $\omega(d/AB)$ 。 $d = 0^\circ - 1 \text{ 埃}$,那么 $\omega = 0^\circ - 3.3^\circ$ 。对于同一方向的连续片段,靠已定的相对位移 d 和旋转角 ω ,可以产生一个共价闭合的环状复体。为了得到一个这样的环,需要 N 个碱基对,这里 ($\omega \times$

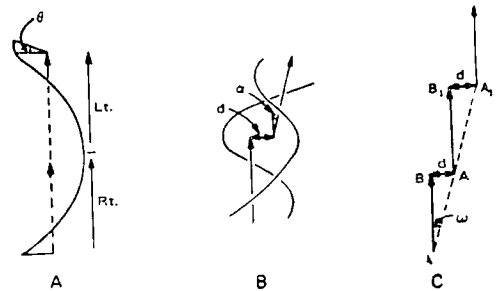


图 5 用于限定两个连续片段相对定向的自由度

(A) 10 个碱基对产生的缠绕角 θ ; (B) 横向位移 d 和两个连续片段轴间的倾斜角 α 。(c) 通过只改变 $d(\alpha = 0)$ 形成环状 DNA。 ω 表示在两个连续片段之间投影的旋转角。

$N/5) \approx 360^\circ$ 或 $N = 1800/\omega$ 。SV 40 DNA 的 $0.3 \mu\text{m}$ 突环可能相应于 $\omega = 1.65^\circ$ ($d = 0.5$ 埃), $N \approx 1000$ 碱基对。 $1.6 \mu\text{m}$ 突环, 相当于 $\omega = 0.33^\circ$ ($d = 0.1$ 埃), $N = 1800/\omega \approx 5000$ 碱基对。当 $\alpha \approx 0$ 时, 五个碱基拉伸长度小于 17 埃, 故 SV 40 的 DNA 全长 (5000 碱基对) 约 $1.6 \mu\text{m}$ 。

自由度 α 和 θ 的引进, 通过扩展 α , α 和 θ , 可使 SV 40 DNA 的环状复体产生超盘旋。

(2) 对嵌插试剂作用的解释 用 CPK 结构可以解释嵌插试剂 (例如菲啉溴红, Ethidium Bromide) 对超盘旋 DNA 的作用。

根据 Eth Br 染料插入核酸的原理是非啉溴红的菲啉环插入核酸的碱基对之间, 形成一种镶嵌结构。Eth Br 可在 DNA 的弯曲区域上插入, 进而改变 d , α 和 θ 等自由度而释放超盘旋。EthBr 也可插入螺旋片段之中, 进而改变较小的螺旋而解除超盘旋。

(3) 对 DNA 复制的解释 CPK 结构的主要优点是: 能的消耗根据具体情况而变化, 并排除了一股相对另一股旋转。在没有展开运动的情况下, 简单地以氢键断裂而使股分离 (图 6)。这样实现股的自动分离, 继之以母体股为模板复制子代股。

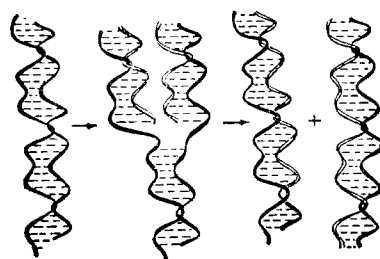


图 6 DNA 复制的半保留模型
在没有展开运动的情况下, 简单地以氢键断裂实现股的分离。

(4) 对染色质结构的解释 真核生物的染色质具有周期性结构, 即核小体和间隔交替出现。显然, DNA 分子可以压缩。

弯曲的双螺旋 DNA 曲率半径是 30 埃—50 埃。对于这个问题, Crick 和 Klug 认为弯曲是以双螺旋 DNA 连续拉伸之间“扭接”完成

的。在“扭接”处毗连的碱基对完全不堆积, 并以大于 7—8 埃的距离分离之。

CPK 结构则给这个问题以合乎自然规律的解释。因为在 CPK 结构中, 引进两个自由度 α 和 θ , 在间隔上允许核苷酸链折迭成微量的超盘旋。事实上, 这是很易创立的一种模型, 其中直径 20 埃的 DNA 双链围绕直径 60 埃的蛋白质核心紧密地环绕, 一转含 100 碱基对, 螺距为 100 埃。

(5) 对环状及线性 DNA 光学活性的解释 环状及线性 DNA 的光学活性是很小的。CPK 结构则为 DNA 分子低光学活性提供一个有力的解释。因为相反方向的片段有一种高度的抵消力量。

(6) 对病毒 DNA 的电子显微图的解释 在高分辨的病毒 DNA 的电子显微图上有大小不同的突环。双螺旋模型可粗略地预示同样的突环。而 CPK 结构则可预示各种大小的突环。这说明 CPK 结构模型更符合高分辨的病毒 DNA 的电子显微图形。

五、Crick 等人的意见

Crick 等认为新的结构模型是粗糙的, 并且与许多确凿无疑的事实相矛盾。

(1) tRNA^{Phe} 的结构无庸置疑地表明, 螺旋是右手的^[9-11]。

(2) 新的结构模型不是严格地并排 (Side-by-Side)。事实上, 右手螺旋不是精确地等于左手螺旋, 而且两条链仍有盘绕。虽然较之经典的双螺旋更缓慢 (1 转约 100 碱基对而不是 10 碱基对), 但复制时仍有展开的问题。

(3) 新模型的构筑者的动机是为了解决解释 DNA 复制、转录, 以及 DNA 与蛋白质相互作用问题上存在的困难。但是, 由于松弛酶、旋转酶和螺旋酶的发现, 这些困难就不象 26 年前那样了。

(4) 以超盘旋 DNA 分子的凝胶电泳行为表明, 分子的二级结构是双螺旋的。

Crick 等人的结论: 新的结构模型是不对的, 但出发点是好的。Watson-Crick 模型的细

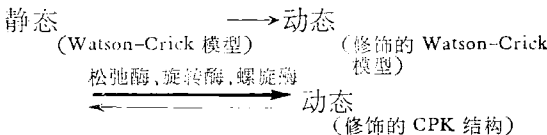
节需要修饰。

六、我们对 Watson-Crick 模型的修饰意见

由上,我们可把顺梯式构象, SBS 结构和 CPK 结构统称为 SBS 结构(犹如弯曲的拉链; Watson-Crick 模型犹如麻花)。SBS 结构与 Watson-Crick 模型有许多共同之处。SBS 结构保留 Watson-Crick 结构的反平行,互补的碱基对链及 B-DNA 的 10 个碱基对轴向重复。磷酸基程度不同地位于半径约 9 埃的圆柱形表面,碱基对沿分子的长轴以 3.4 埃堆积。计算的衍射图与 DNA 纤维状衍射相似。这两种模型的主要区别:(1)模型的手向不同;(2)两股的缠绕程度不同。这说明 SBS 结构是 Watson-Crick 模型的引伸或重大修饰,修饰的结果也确实具有一定的理论意义。

我们不同意 Crick 等人以松弛酶,旋转酶和螺旋酶等的发现,以及 SBS 结构并不严格地并排(Side-by-Side)而作为否定 SBS 结构的理由。因为既使在 SBS 结构中两股有程度不同的缠绕,恰恰说明上述酶类存在的必要性,而不能给上述酶类提出新任务。但 Crick 等人 tRNA^{Phe} 的结构及凝胶电泳实验等事实反驳 SBS 结构是有道理的。

综上所述,我们可以得出这样的结论: Watson-Crick 模型的手向是对的;它的主要特征是经得住实验检验的,但它的细节是需要修饰的。同时,我们认为 CPK 结构具有一定的理论价值,但也需要修饰。若将 Watson-Crick 模型与 CPK 结构均经顺梯式构象修饰,这两个模型之间是互变的。即:

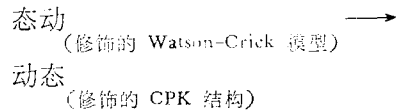


两个模型的顺梯式构象修饰,这意味着在结构中,糖-磷酸酯链处于顺式位置,碱基堆积成梯级式,正如 B. Cyriax 和 R. Gath 指出的(图 1)。

若两种模型修饰后是互变的,那么手向必

须相同。也就是说 CPK 结构是右手的。事实也是如此。因为 V. Sasisekharan 等人在完全考虑到多核苷酸骨架的构象和糖部位折叠的基础上,讨论了 Watson-Crick 模型。结论是右和左手螺旋很可能是相同的,并且 X 线衍射资料与两类螺旋是相符的,甚至两者之间难以辨别。在这个前提下,导致 V. Sasisekharan 等人提出 CPK 结构。在 CPK 结构中局部的左手或右手向很可能是核苷酸的构象造成的。DNA 的碱基不是随机分布的,这是 DNA 遗传信息的基础。但是核苷酸的构象是随机的。即在某种情况下采取 gg 构象(用于构成右手螺旋部分);而在另一种情况下采取 tg 构象(用于构成左手螺旋部分)。

关于螺旋与“并排”的问题。CPK 结构中并不排除两股间的缠绕,而是糖-磷酸酯骨架无大的相互缠绕。也就是说,在两个模型中,只是缠绕程度不同而已。当只改变 $d(\alpha = 0)$ 时,则形成环状 DNA (图 5c)。通过扩展 d, α 和 θ ,可使 DNA 环状复体产生超盘旋。当螺旋变成“并排”,碱基在空间上处于复制、转录,复性及杂交链形成的最适位置。即



Arnett 等指出, DNA 必须变为 A 型才能

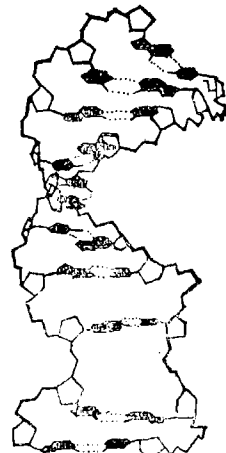


图 7 DNA 的动态结构假定模式图

上部是顺梯式构象修饰的 Watson-Crick 双螺旋结构;下部是顺梯式构象修饰的 CPK 结构。他们可以互变。

转录 (RNA-DNA 杂种是 A 型)。A-DNA 与 B-DNA 的主要区别是呋喃糖环及碱基对的构象。A-DNA 的呋喃糖环的构象是 C_3' -endo, B-DNA 则是 C_3' -exo, A-DNA 的碱基对偏离轴约 5 埃, 并且轴与碱基平面所夹的角约 70° 。B-DNA 的碱基对垂直于轴, 并且轴穿过碱基对的中心。这些说明两种模型经顺梯式构象修饰是有一定道理的。

因此, 我们的初步结论是: Watson-Crick 模型和 CPK 结构均经顺梯式构象修饰后是互变的。这个动态模型对于 DNA 的复制、转录, 复性及杂交链形成, 前熔及“呼吸” (Breathe) 等现象, 给予合理的解释。但是, 这个动态模型的细节, 例如键长、键角、氢键, 范德华接触, 结构的精确配位及各种碱基顺序的结构规律性问题, 尚需作大量的工作。

我们的 DNA 的动态结构假定模式图示于图 7。

参 考 文 献

- [1] Rodley, G. A. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. A.* **73**, 2959—2963, 1976.
- [2] Sasisekharan, V. et al.: *Curr. Sci.* **45**, 779—783, 1976.
- [3] ———: *Nature (London)*, **275**, 159—162, 1978.
- [4] ———: *Curr. Sci.*, **46**, 763—764, 1977.
- [5] ———: *Proc. Nat. Acad., U. S. A.* **75**, 4092—4096, 1978.
- [6] Cyriax, B. and G  th, R.: *Naturwissenschaften*, **65**, 106—108, 1978.
- [7] Pohl, W. F. et al.: *J. Math. Biol.*, **6**, 383—402, 1978.
- [8] Meselson, M. and Stahl, F. W.: *Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. A.* **44**, 671—682, 1958.
- [9] Kim, S. H. et al.: *Science*, **179**, 285—288, 1973.
- [10] Suddath, F. L. et al.: *Nature (London)*, **248**, 20—24, 1974.
- [11] Robertus, J. D. et al.: *ibid.*, **250**, 546—551, 1974.
- [12] Crick, F. H. C. et al.: *J. Mol. Biol.*, **129**, 449—461, 1979.
- [13] Arnott, S. et al.: *Nature*, **220**, 561, 1968.

[本文于 1979 年 9 月 20 日收到]

流 感 病 毒 基 因 组 及 其 转 录

尹明标 龚新昌 董永坤

(中国医学科学院病毒研究所)

甲型流感病毒的特点是其表面抗原经常发生变化。1931 年首先从猪分离出流感病毒; 接着也从人体分离出; 以后每隔 10—15 年就出现新的亚型, 在人群中广泛流行。流行期间, 病毒经常发生变异, 这给疫苗研究带来很大困难。甲型流感病毒的不同毒株之间, 重组率非常高。灭活病毒经两次或多次感染之后, 可以恢复感染性。流感病毒这些独特的遗传现象, 使人们对其基因组及其产物的组分与分子结构研究, 产生浓厚的兴趣。

流感病毒基因组的片段形式

自从发现流感病毒含有单链 RNA 后, 许多实验揭示了流感病毒基因组结构的特殊性。

早期遗传学实验发现了很高的重组率, 从而提出在流感病毒中存在若干有联系的、独立的基因。后来, 利用标记拯救实验, 获得高达 50% 的遗传重组率。经分析, 每个病毒颗粒约含有 6 个遗传单位。利用温度敏感变异株进行重组实验表明, 流感病毒有 8 个重组互补组^[1]。不同温度敏感变异株多次重组, 可以产生野毒株。将流感病毒用乙撑亚胺处理, 灭活不同蛋白质的合成能力, 也证实只要 RNA 复制与转录不受损害, 流感病毒的不同基因就可以独立地发挥作用。

用密度梯度离心鉴定流感病毒 RNA, 支持了基因组以片段形式存在的观点。聚丙烯酰胺凝胶电泳技术的引入, 给流感病毒基因组的研究