

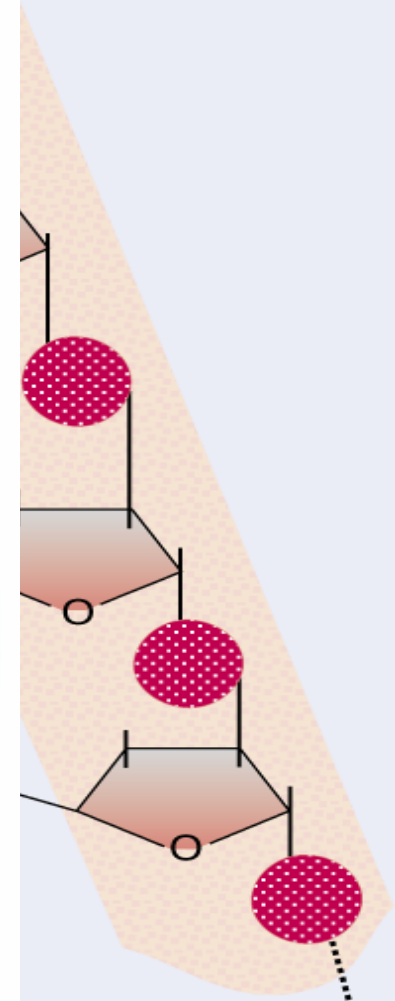
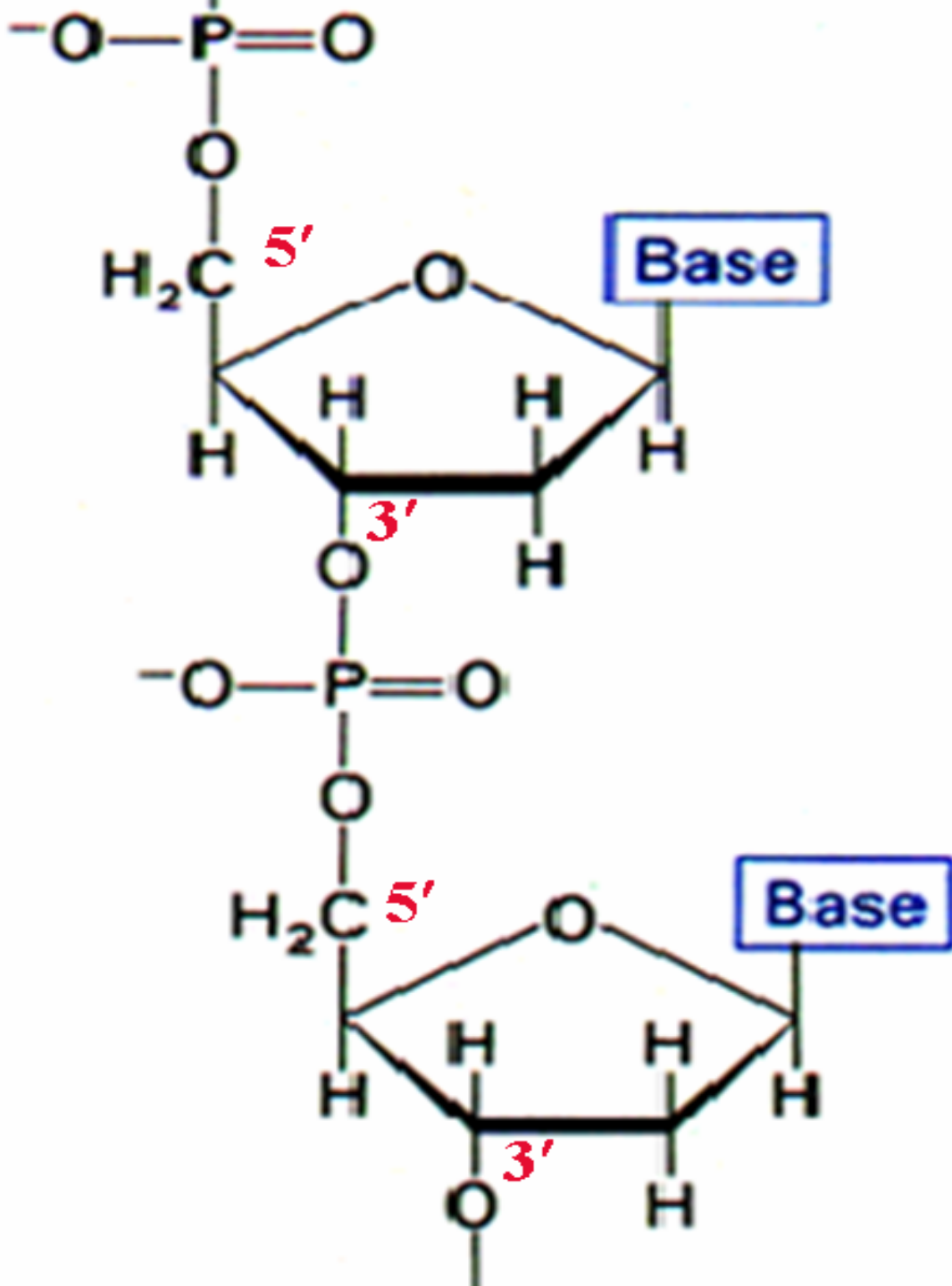
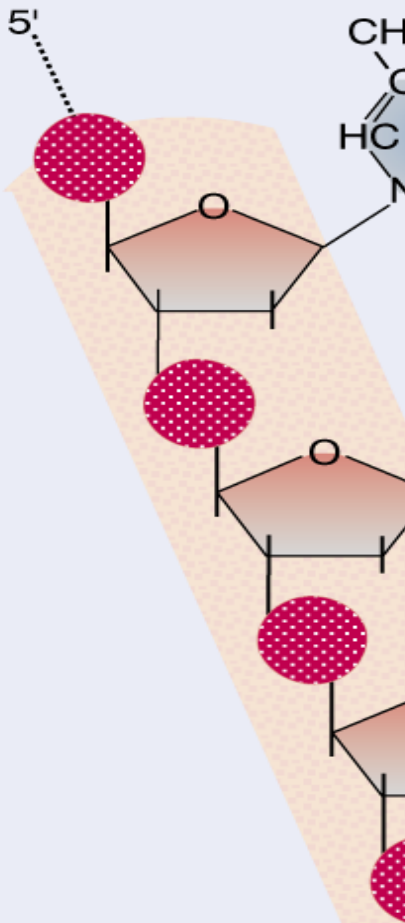
关于核酸的酶促降解及核苷酸代谢

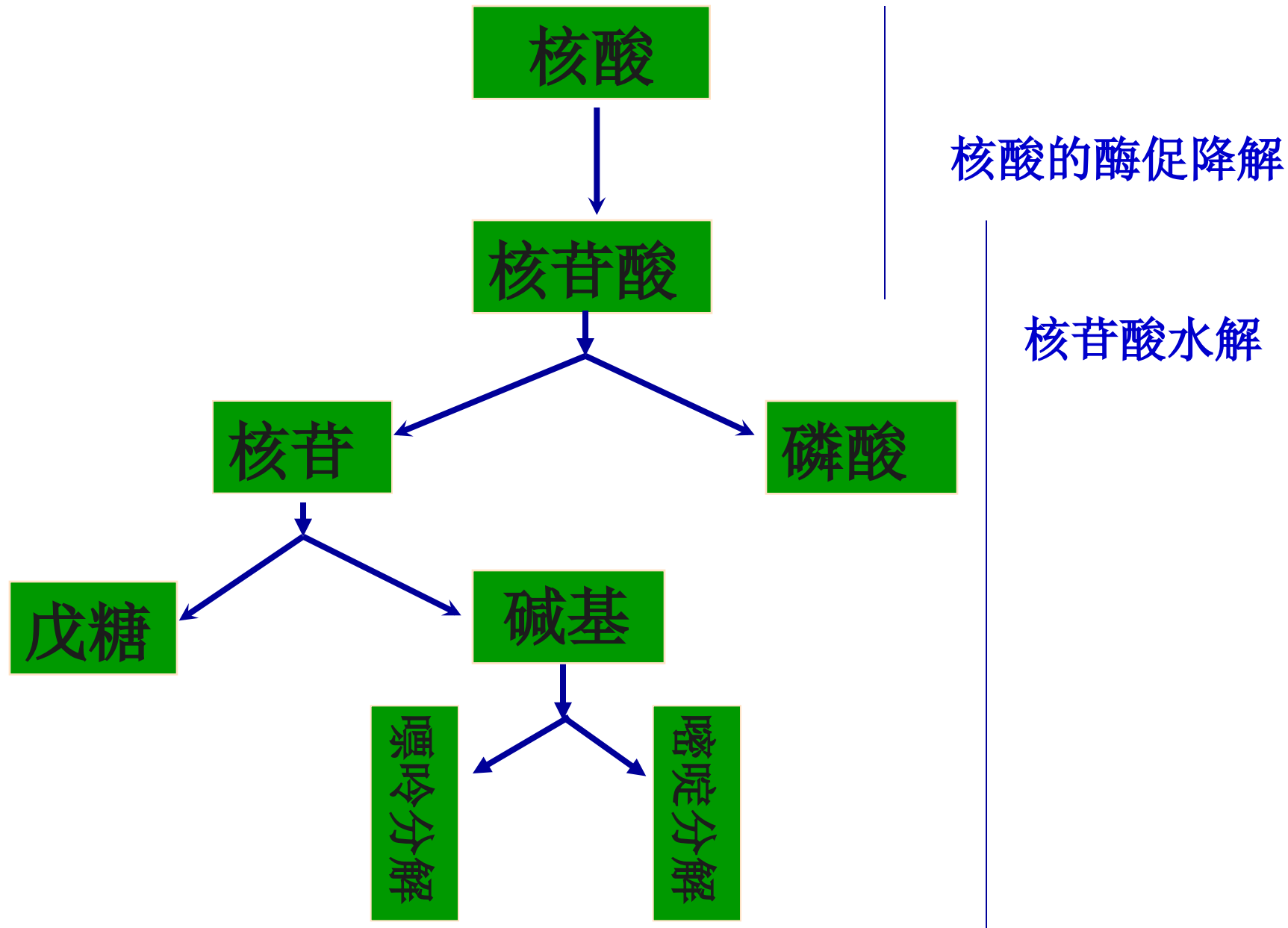
基本要求:

- (1) 掌握常见核酸酶、核苷酸的合成代谢
- (2) 理解核苷酸的合成的补救途径
- (3) 了解核苷酸的分解代谢

教学重点及难点:

- (1) 限制性内切酶
- (2) 核苷酸的合成代谢





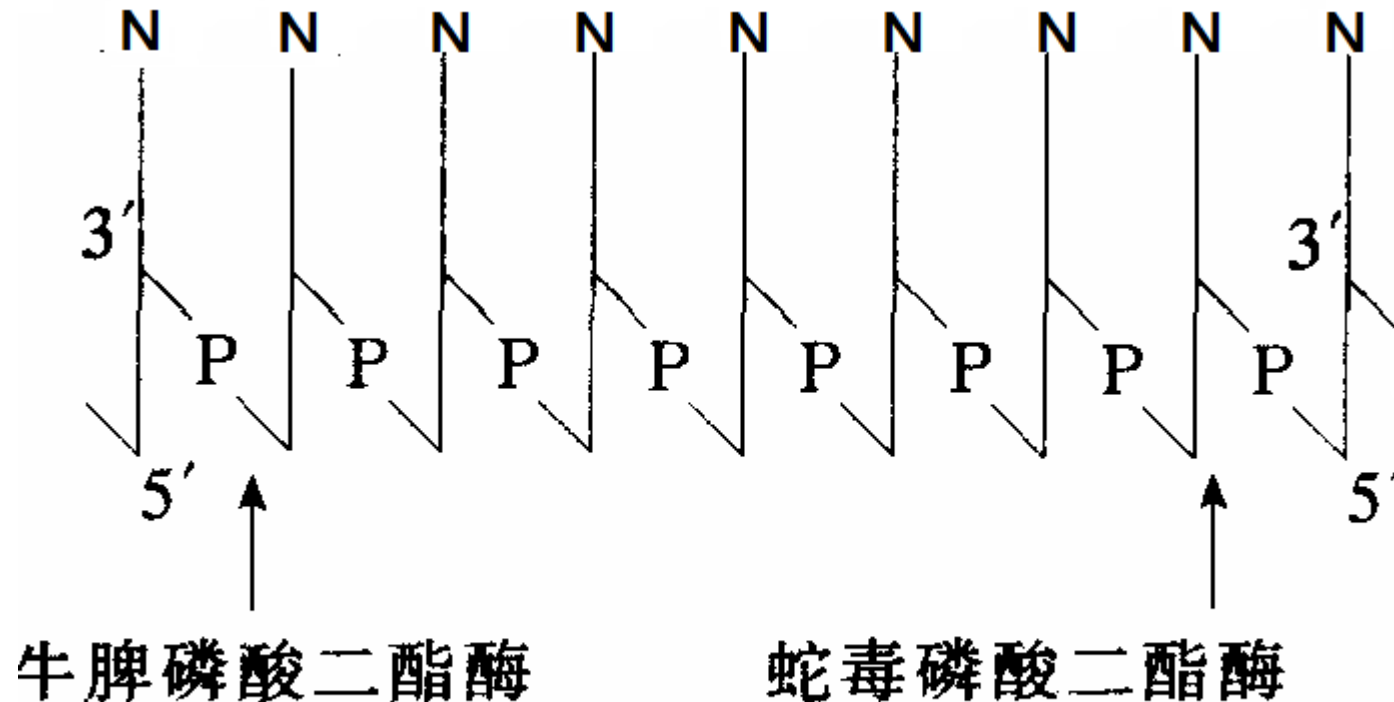
一、核酸的酶促降解

- v 生物体内存在多种降解核酸的酶类，统称为核酸酶(nuclease)，在核酸降解和周转中起着重要作用。水解连接核苷酸的**磷酸二酯键**。
- v 根据对底物作用位点的选择性不同分：
 - 核酸外切酶(exonuclease)
 - 核酸内切酶(endonuclease)
- v 根据底物的选择性不同分：
 - 脱氧核糖核酸酶(dexyribonuclease, DNase)
 - 核糖核酸酶(ribonuclease, RNase)
- v 限制性内切酶(restriction endonuclease)

1. 核酸外切酶

v 核酸外切酶作用于核酸链一端，逐个水解下核苷酸。

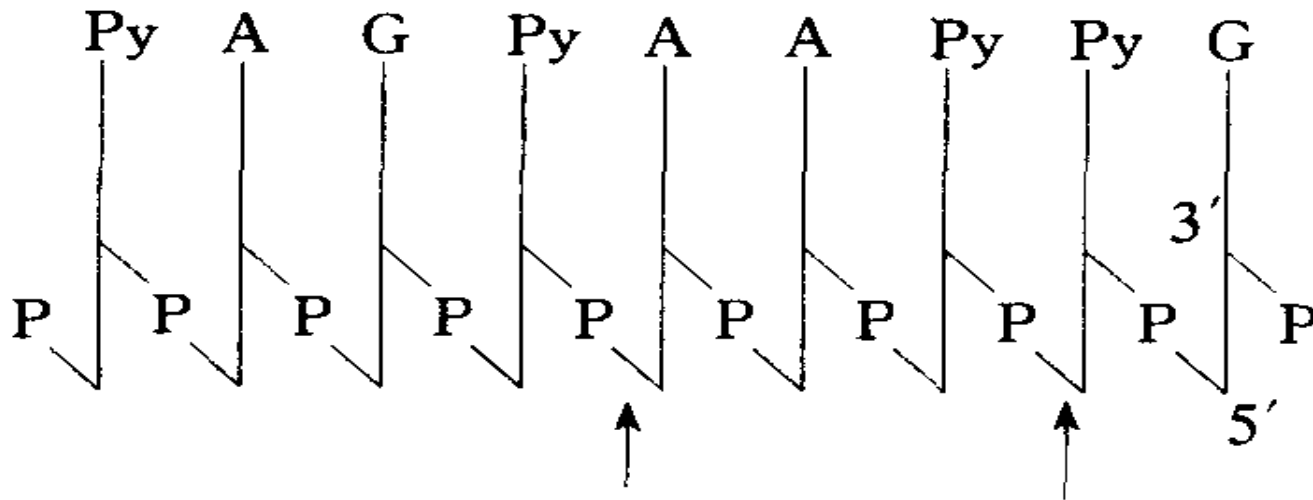
蛇毒磷酸二酯酶——游离3'-羟基端开始；
牛脾磷酸二酯酶——游离5'-羟基端开始



磷酸二酯酶对核酸的水解位置

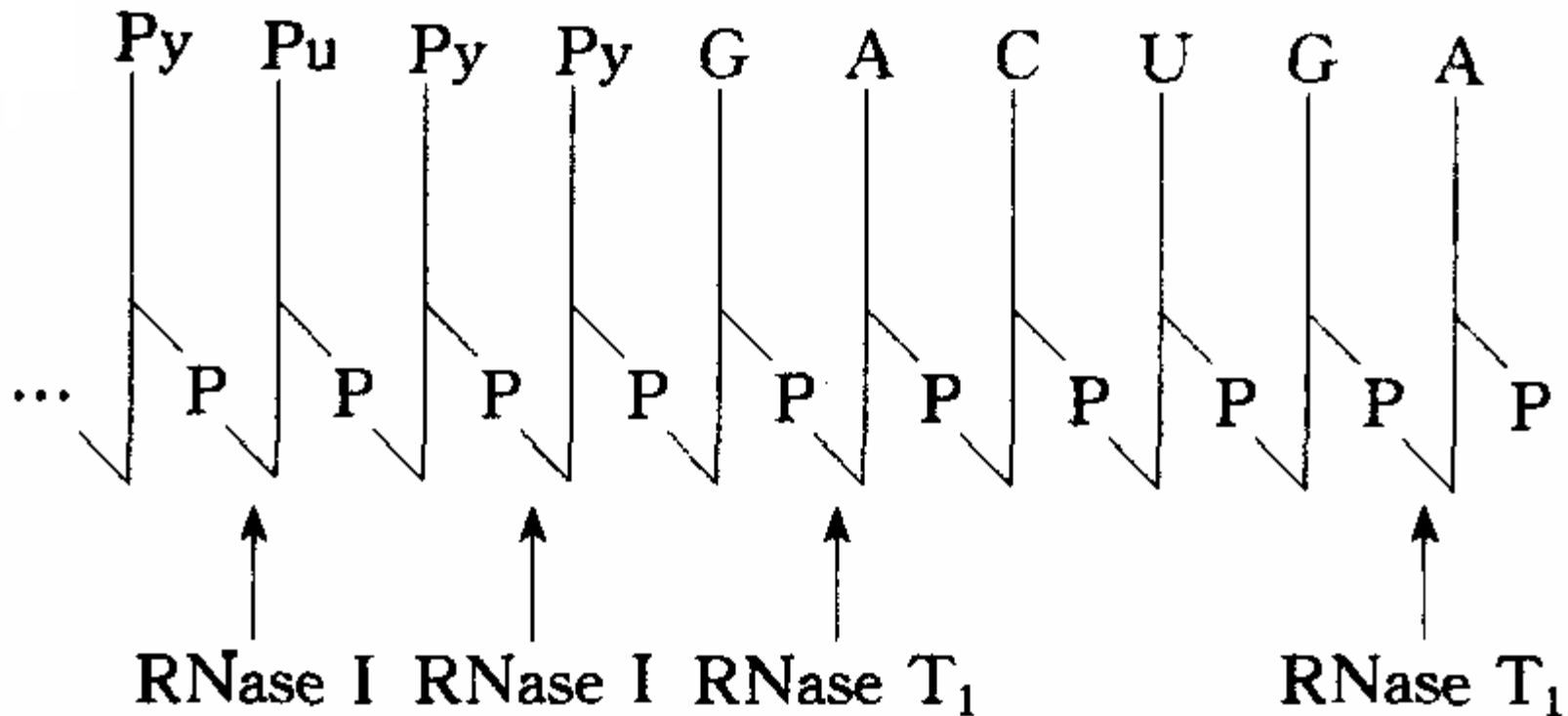
2. 核酸内切酶

- v 核酸内切酶水解核酸分子内部磷酸二酯键。
- v 牛胰核酸酶（牛胰RNase, RNase I），124aa组成。作用于嘧啶核苷酸磷酸二酯键，生成3'-嘧啶核苷酸或末端为3'-嘧啶核苷酸的寡核苷酸。牛胰核酸酶专一作用于RNA，对DNA及其它磷酸二酯化合物不作用或作用活性很低。



核酸酶促水解作用部位(牛胰 RNase)

v RNaseT1, 由105个aa组成。专一水解鸟苷酸二酯键, 产生 3'-GMP或以3'-GMP为末端的寡核苷酸。



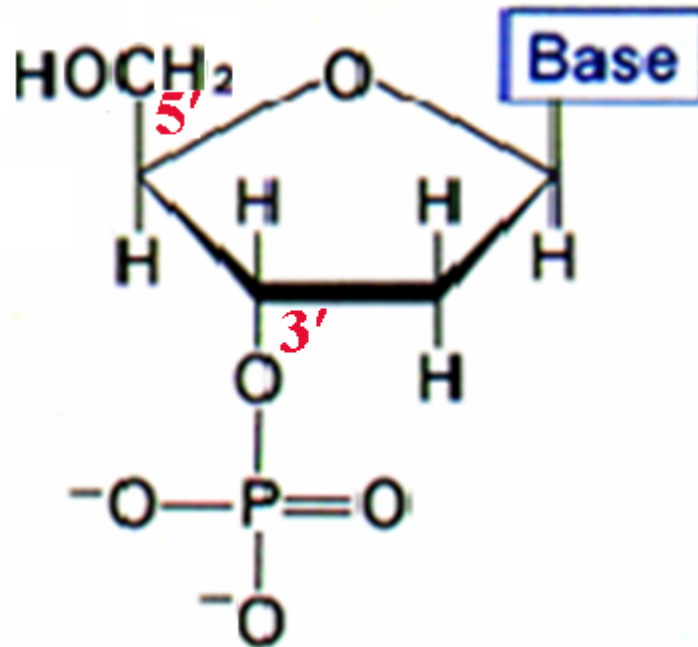
核糖核酸酶对 RNA 水解位置示意图

Pu 嘌呤碱

Py 嘧啶碱

3. 内切兼外切核酸酶

- v 核酸酶P1，核酸酶BAL既可内切，有可外切核酸。
- v 核酸酶P1还可作用于单核苷酸3'-磷酸单酯键。



4. 核糖核酸酶

- √ 只能水解RNA磷酸二酯键的酶称核糖核酸酶。
- √ 牛胰核糖核酸酶（RNase I）
- √ 核糖核酸酶T1（RNaseT1）

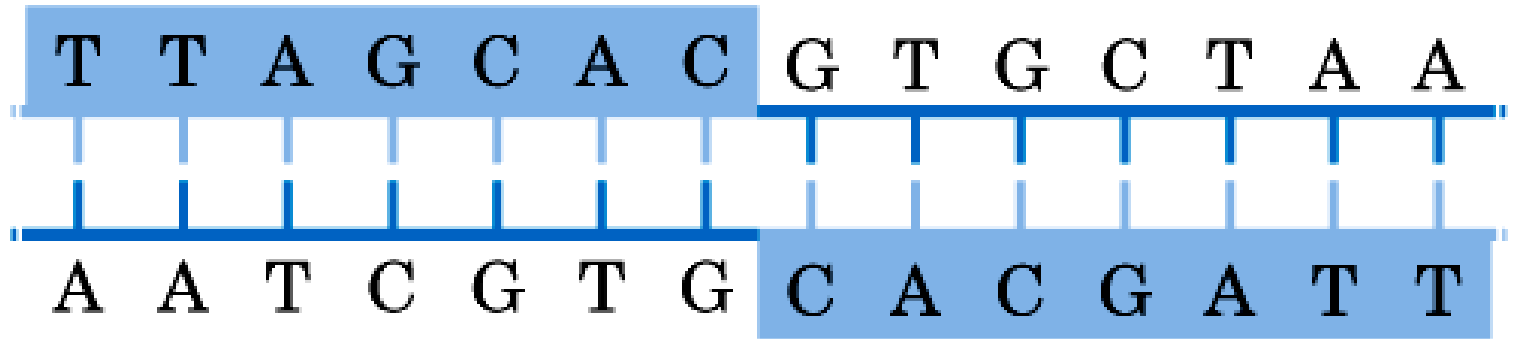
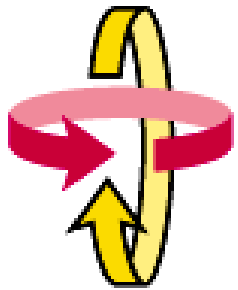
4. 脱氧核糖核酸酶

- ∨ 只能水解DNA磷酸二酯键的酶称核糖核酸酶。
- ∨ 牛胰脱氧核糖核酸酶（DNase I），外切产生5'-磷酸为末端的寡聚核苷酸。
- ∨ 牛脾脱氧核糖核酸酶（DNase II），内切产生3'-磷酸为末端的寡聚核苷酸。

5. 限制性内切酶

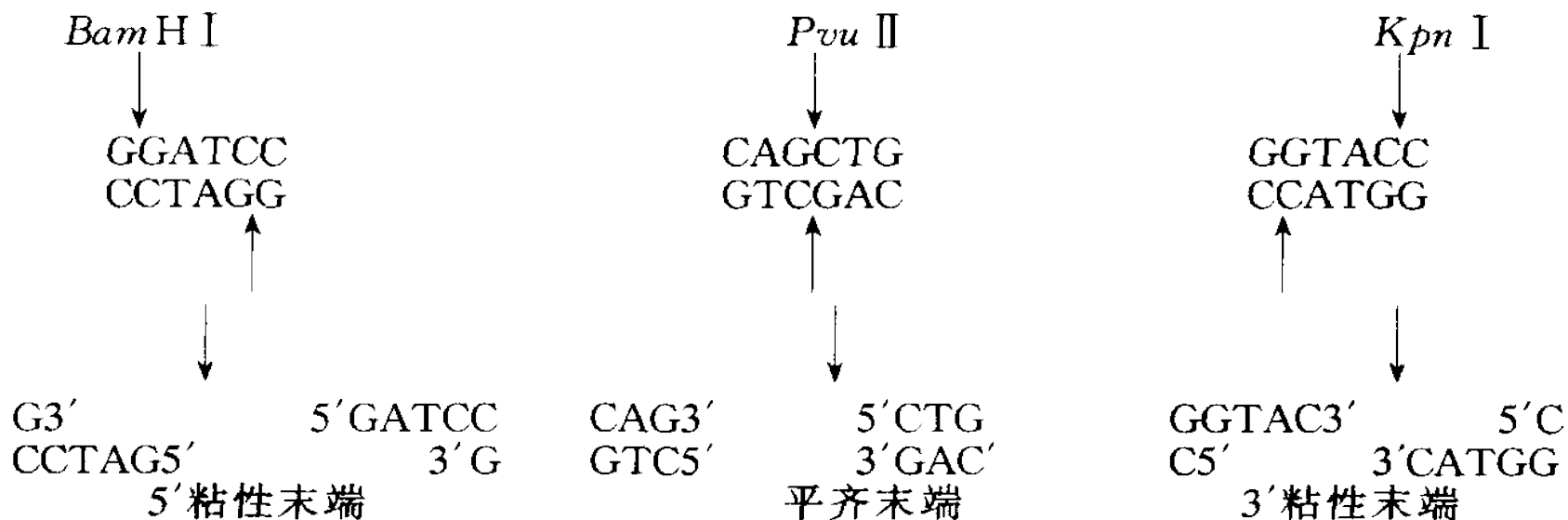
- ❖ 1979年，W. Arber, H. Smith和D. Nathans等发现某些细菌细胞内存在一类能识别一定序列并水解外源dsDNA的内切核酸酶。
- ❖ 限制性内切酶是具有高度专一性DNA内切酶，是DNA分子操作中必不可少的工具酶。
- ❖ 能识别双链DNA分子上特定的位点，将两条链切断，形成粘性末端或平齐末端的核酸内切酶，称为限制性内切酶(restriction endonuclease)或限制酶(restriction enzyme)。

Palindrome



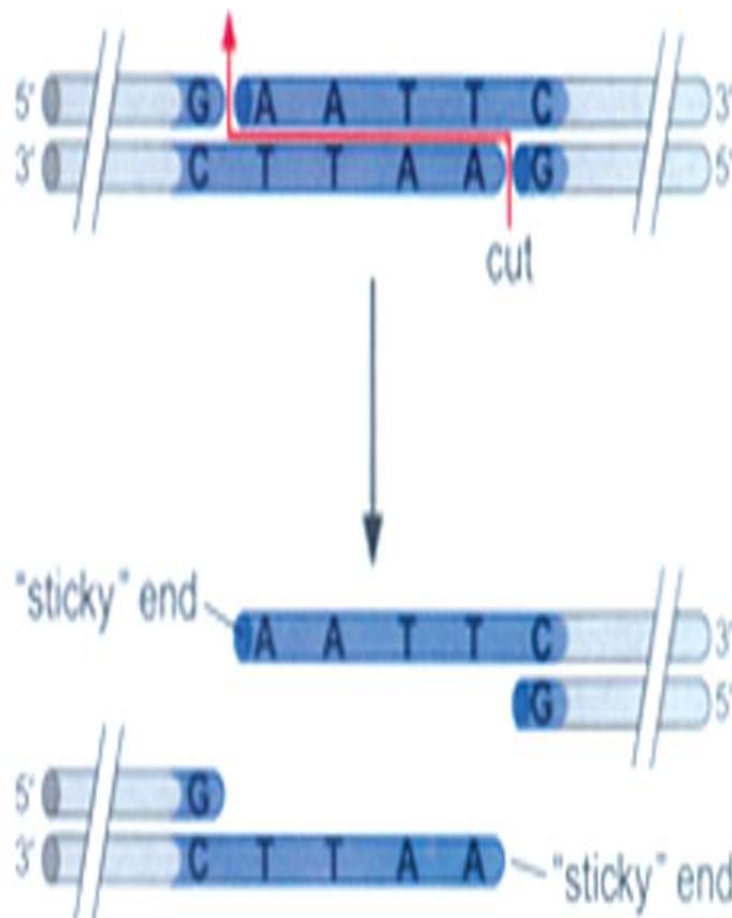
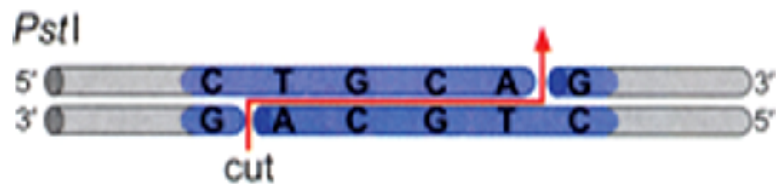
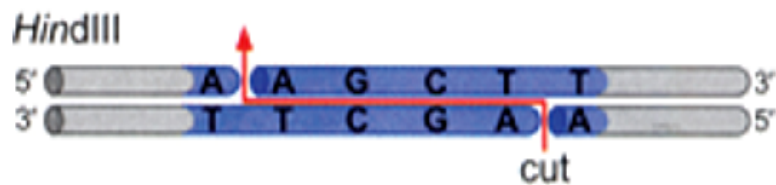
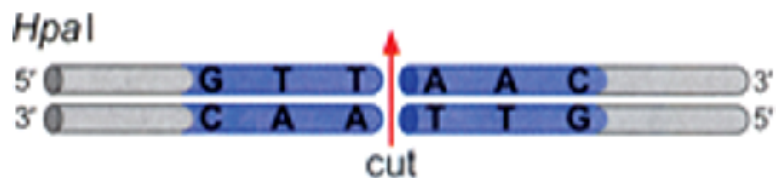
- v DNA 序列中，以某一中心区域为对称轴，其两侧的碱基对顺序正读和反读都相同。即对称轴一侧的片段旋转 180° 后，与另一侧片段对称重复。

- 粘性末端：指限制性内切酶的切割部位不在识别序列的中心轴，在断段产生一个短的单股突伸出来的不齐末端。
- 平齐末端：在识别序列对称处同时切开 DNA 分子两条链，产生的平齐末端结构。



三种不同类型限制性内切酶切割示意图

常用限制性内切酶如：EcoRI、HindIII、PstI等。





- v 修饰酶使该部位上碱基甲基化，从而使限制性内切酶对这种修饰过的DNA不再起作用。
- v 在细胞中，限制性内切酶可降解外源侵入的DNA，但不降解经修饰酶甲基化保护的自身DNA。

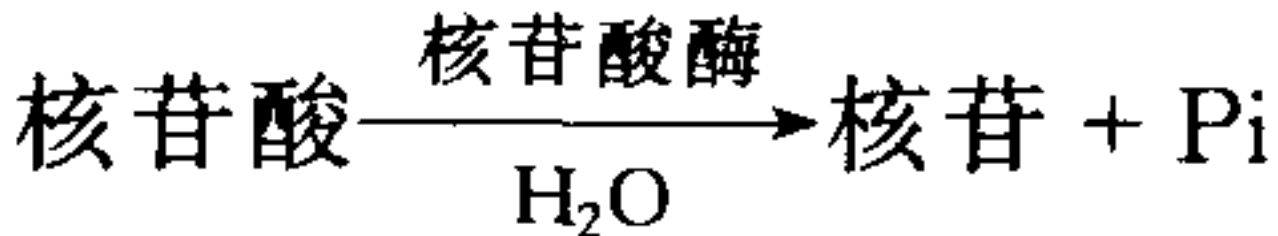
限制性内切酶命名（以EcoR I为例）

- ❖ 第1个大写E: 大肠杆菌属名 (*Escherichia*) 第1个字母;
- ❖ 第2, 3小写co: 种名 (*coli*) 的头两个字母;
- ❖ 第4个大写R: 所用大肠杆菌的菌株;
- ❖ 第5个罗马字: 从该细菌中分离出来这一类酶的编号。



二、核苷酸的分解代谢

1. 核苷酸的水解

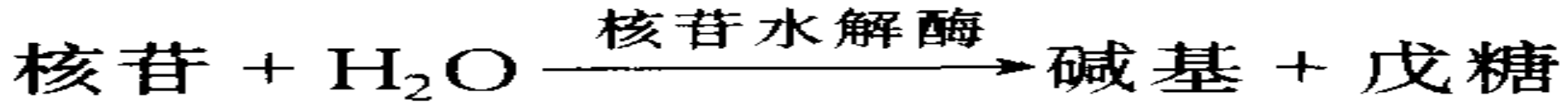


- √ 核苷酸经核苷酸酶 (nucleotidase) 或称磷酸单酯酶 (phosphomonoesterase) 催化, 水解为核苷及无机磷酸。
- √ 非特异性的核苷酸酶, 能作用于一切核苷酸。
- √ 特异性强的核苷酸酶只能水解3'-核苷酸或5'-核苷酸, 分别称为3'-核苷酸酶或5'-核苷酸酶。

2. 核苷的水解

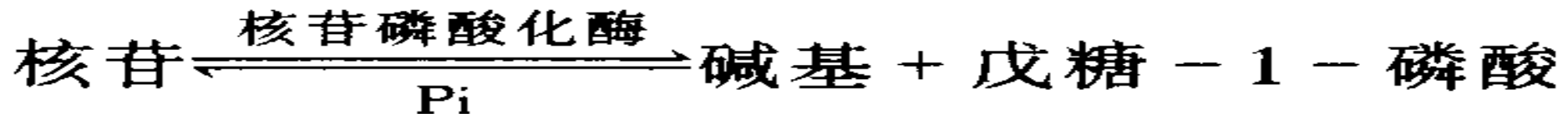
2.1 核苷酶

- √ 存在于植物、微生物中, 只作用于核糖核苷, 反应不可逆。

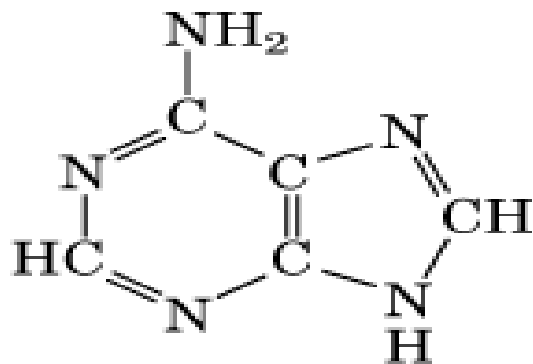


2.2 核苷磷酸化酶

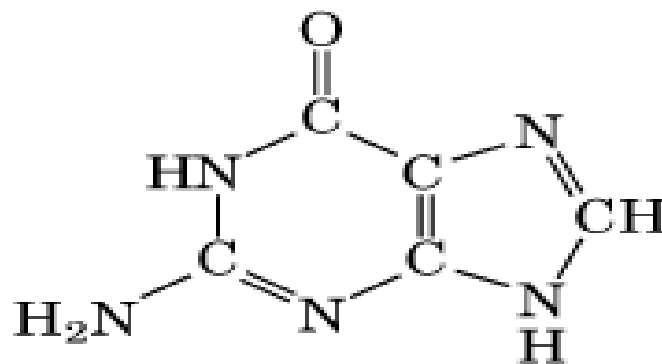
- √ 广泛存在于生命机体中, 催化反应可逆。



3. 嘌呤的降解

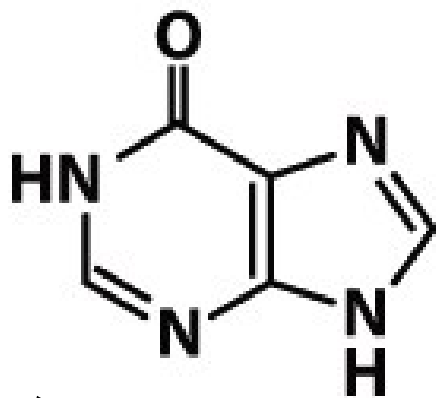


Adenine

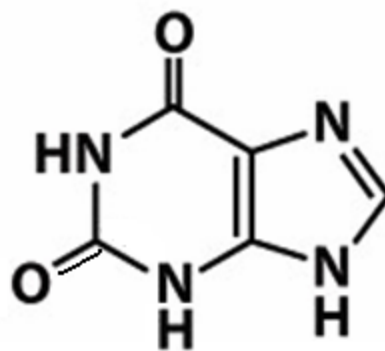


Guanine

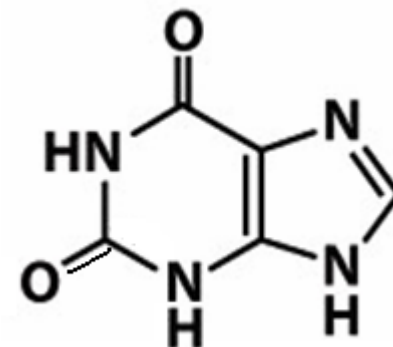
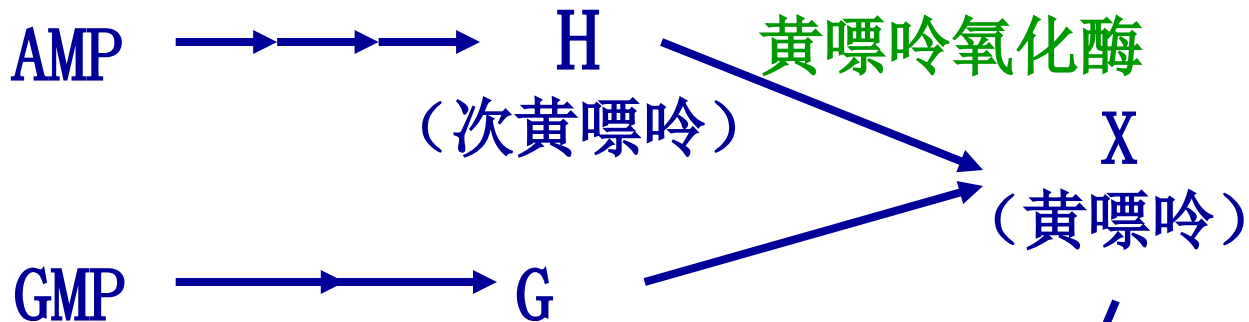
Purines



次黄嘌呤 Hypoxanthine
(keto form)



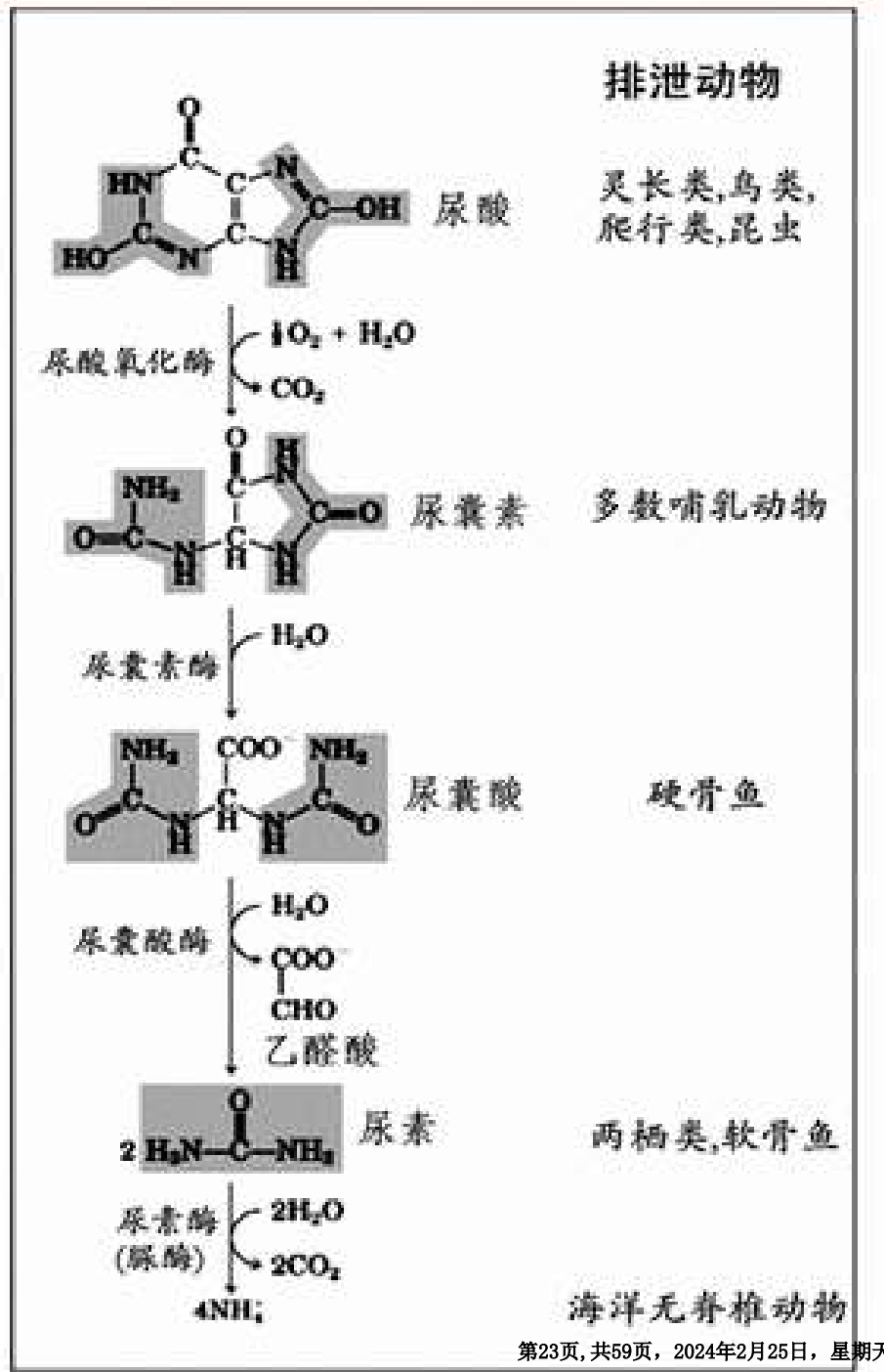
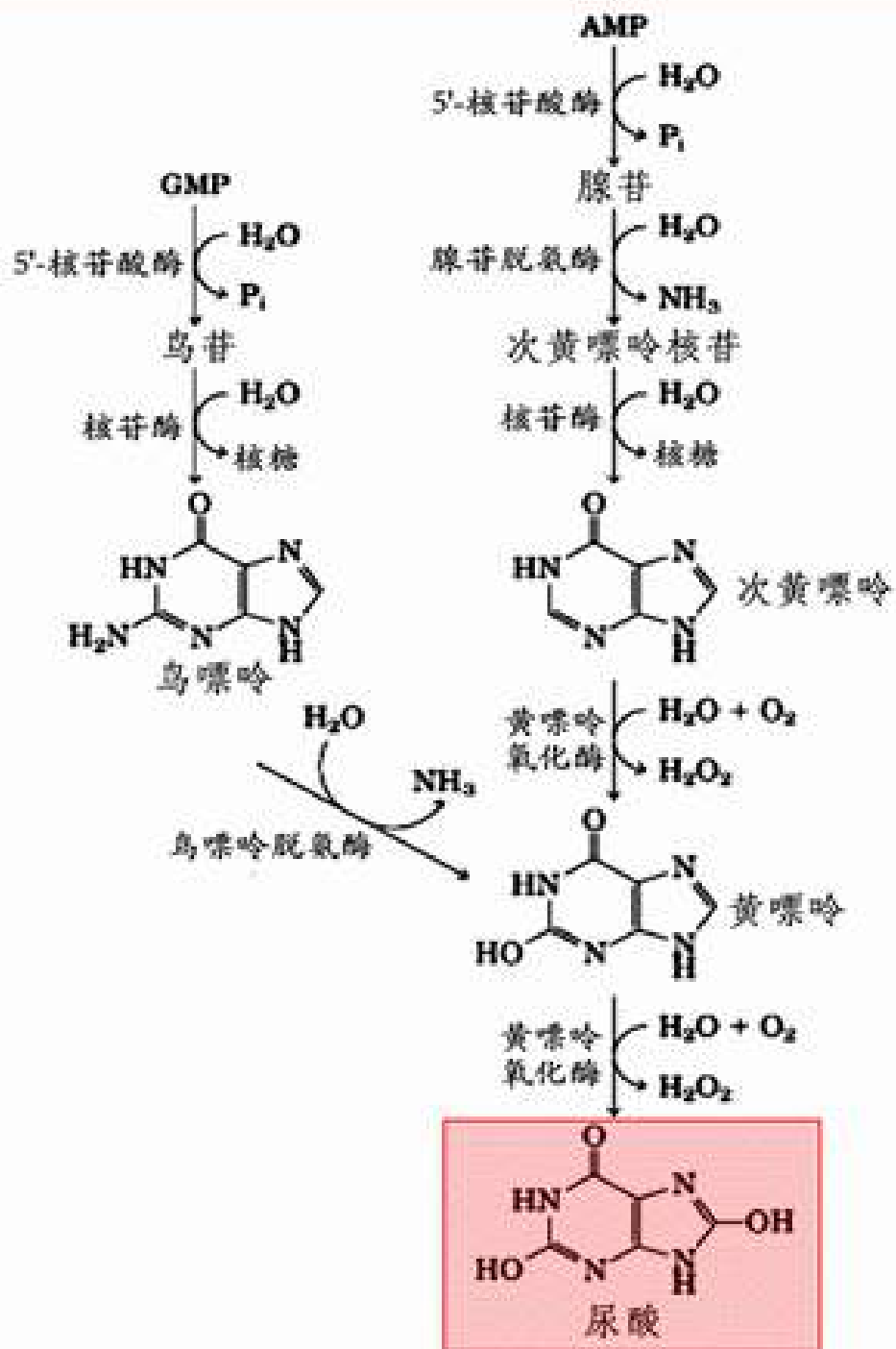
Xanthine
(keto form) 黄嘌呤



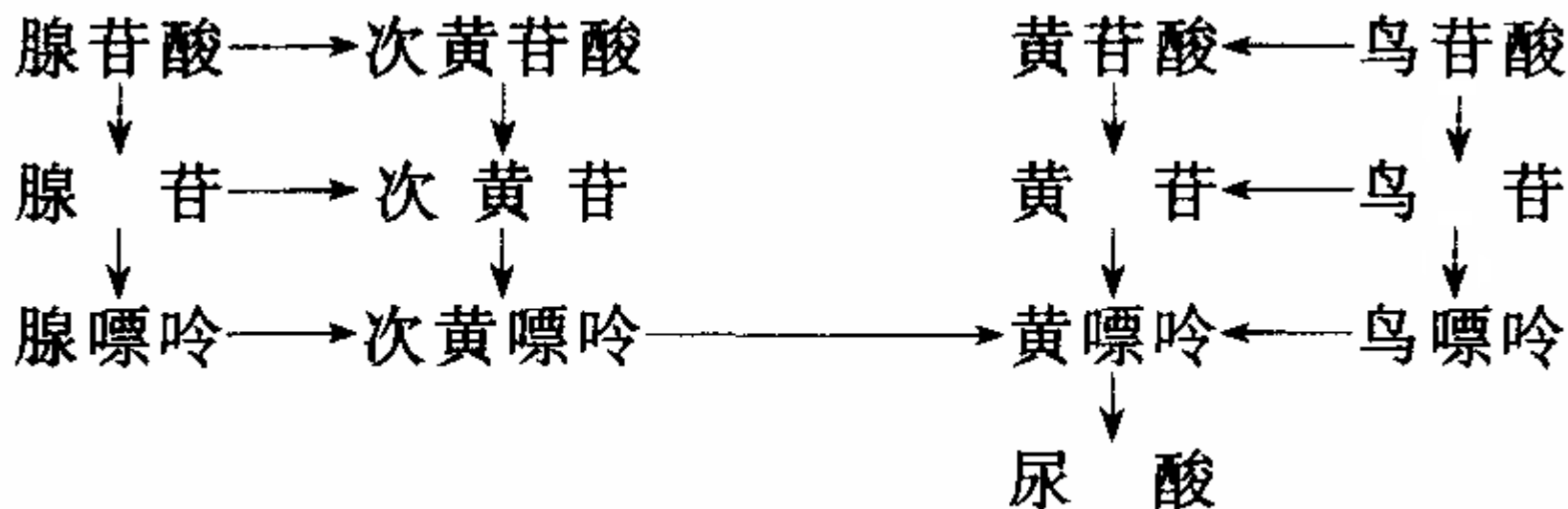
黄嘌呤
氧化酶



人类嘌呤碱的最终
代谢产物

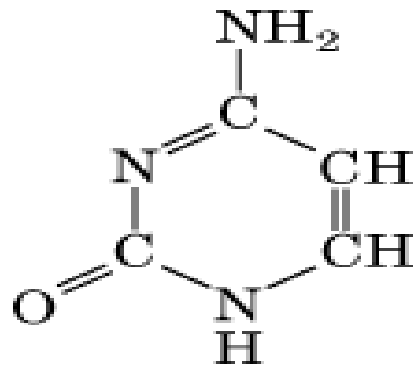


- v 在植物中，嘌呤分解主要是在衰老的叶子及储藏性的胚乳组织中。
- v 衰老的叶子中，嘌呤分解为尿囊酸后，运出储藏。

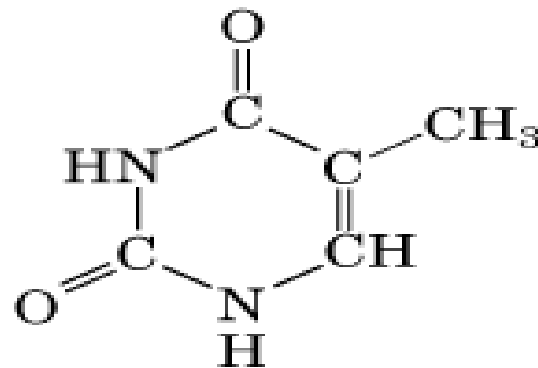


嘌呤类在核苷酸、核苷和碱基三个水平上的降解

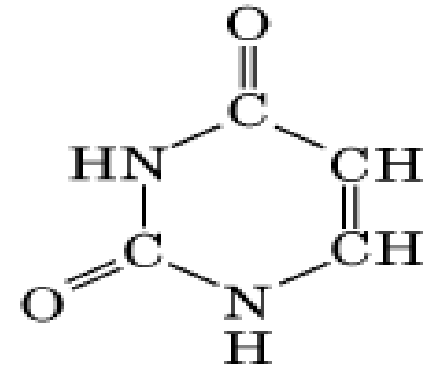
4. 嘧啶的降解



Cytosine



Thymine
(DNA)



Uracil
(RNA)

Pyrimidines

三、核苷酸的合成代谢

合成途径

从头合成 (de novo synthesis)

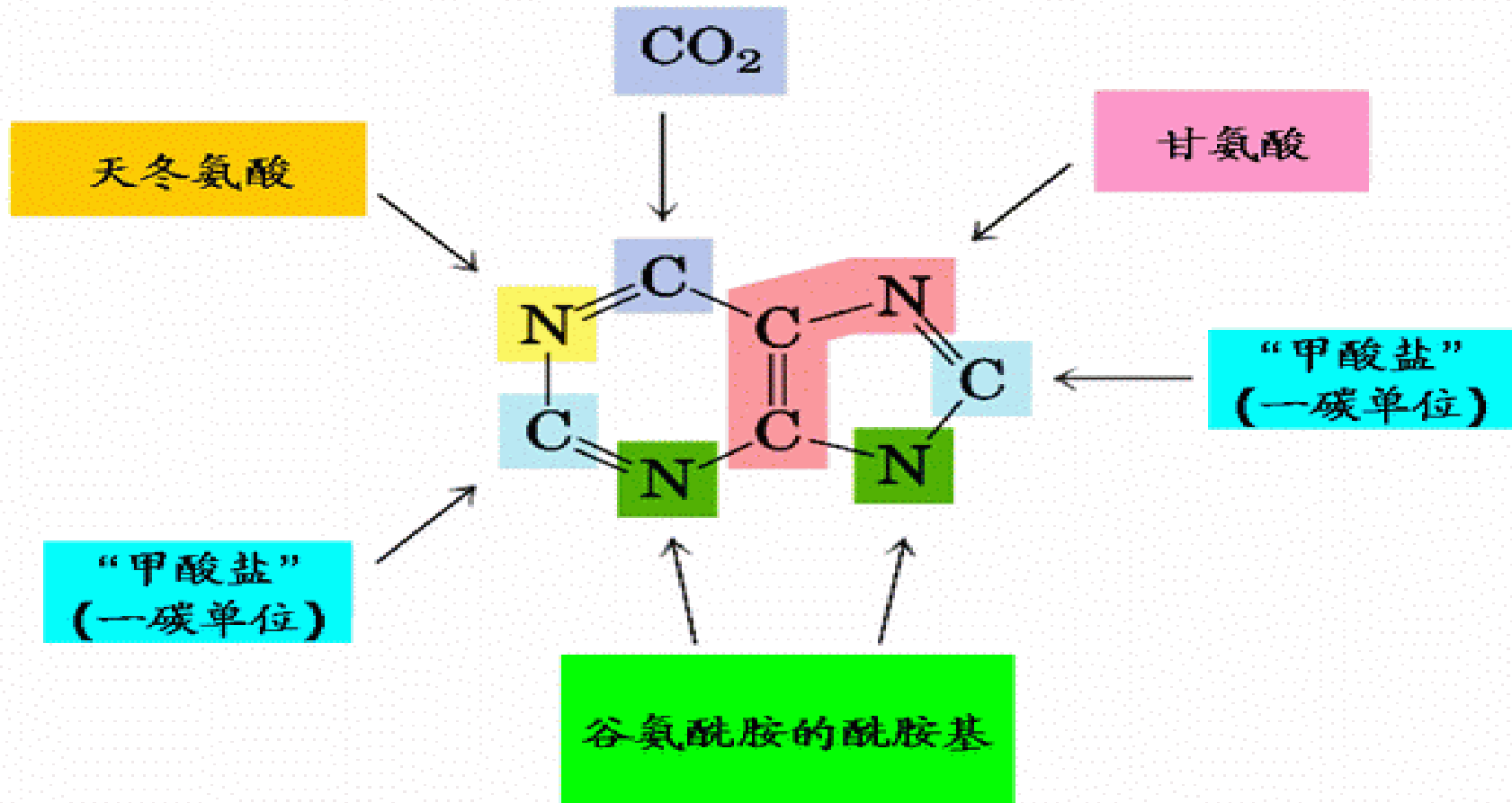
利用磷酸戊糖、氨基酸、一碳单位等简单的化合物合成核苷酸。

补救途径 (salvage pathway)

利用核酸降解或进食等从外界补充的含氮碱基或核苷合成新的核苷酸。

1. 核糖核苷酸的生物合成

1.1 嘌呤核苷酸从头合成



John Buchanan (1948)

放射性同位素示踪

第29页, 共59页, 2024年2月25日, 星期天

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/976135112220010121>