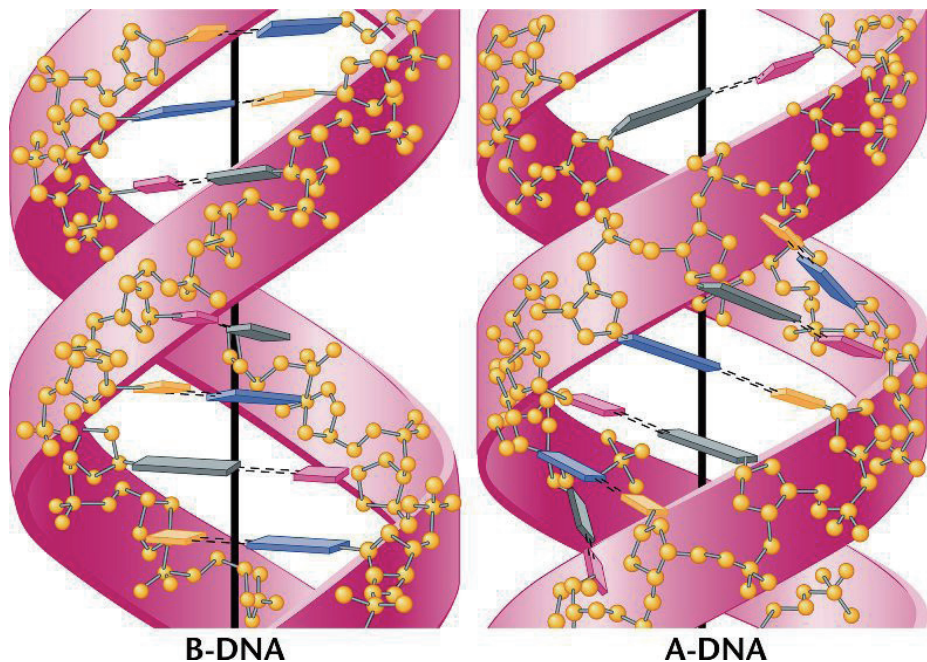


# DNA双螺旋结构的 多态性与 里奇的科学发现



撰文  
吴志强

1953年,詹姆斯·杜威·沃森 (James Dewey Watson) 和弗朗西斯·哈里·康普顿·克里克 (Francis Harry Compton Crick) 撰写的《核酸的分子结构——脱氧核糖核酸的一个结构模型》论文在《自然》杂志上刊载,引起了科学界的极大轰动。沃森和克里克的双螺旋模型的提出标志着现代分子生物学的诞生,从此生命科学研究也进入了一个崭新的时代。

在现行的人教版《高中生物·必修2·遗传与进化》一书中,讲述了这两位科学家构建DNA双螺旋结构模型的故事。其中有段描述是:“沃森和克里克尝试了很多种不同的双螺旋和三螺旋结构模型,在这些模型中,碱基位于螺旋的外部。但是,这些模型很快就被否定了。”这段描述以及后文的表达,会给很多中学生带来错误的认知——DNA的双螺旋结构仅仅只有一种。事实并非如此,DNA结构具有多样性。

## DNA分子多态性的概述

沃森和克里克在生理盐溶液中抽出DNA纤丝,在92%相对湿度下进行X-射线衍射,通过衍射图谱推设,在这一条件下得到的DNA取B构象,称为B-DNA。后来发现B-DNA是DNA在细胞内最常见也是最稳定的构象。实际上DNA的结构是动态的,在相对湿度为75%时测出的DNA分子是A构象。A-DNA,这一构象不仅出现于脱水DNA中,还出现在RNA分子的双螺旋区域和DNA-RNA杂交分子中,因此在DNA转录时,可能发生B到A型的转变。将相对湿度进一步降到66%,就出现C型DNA (C-DNA),这一构象仅在实验室中观察到,在生物体中还未发现。这些研究表明DNA分子结构在不同条件下可以有所不同,但它们均为右手

双螺旋，且螺旋的表面都有一大沟和一小沟。

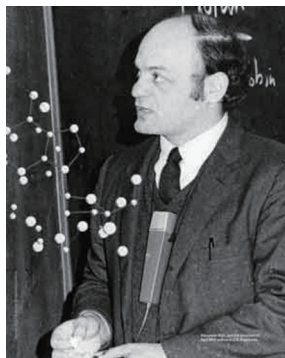
在沃森和克里克之后的一段时间内，生命科学领域取得了一系列辉煌的成就，诞生了大量的科学大师，许多工作都获得了诺贝尔奖，对今天的分子生物学研究产生了巨大的影响。但是，一些未获诺贝尔奖的研究成果同样推动了分子生物学的发展。经过二、三十年的研究，发现DNA不仅能形成右手双螺旋，也能形成左手双螺旋，甚至还能形成三股螺旋和四联体螺旋等多种形式。Z-DNA的发现就是其中一项重要的发现成果，取得这些重要成就的就是美国著名生物物理学家亚历山大·里奇（Alexander Rich）。

### 里奇与DNA结构的结缘历程

里奇于1924年11月15日出生在美国康涅狄格州的哈特福德。出生的第二年，他们全家搬至马萨诸塞州的斯普林菲尔德。里奇父母均未受过高等教育，但是他们知道知识对孩子命运改变的重要性，无论家庭经济多困难，无论是不是经济大萧条时期，他们都坚定地鼓励并支持里奇努力学习。也因为如此，里奇从小就对自然界尤其是宇宙和行星充满了极大的兴趣，高中时还曾讨论过相对论。1942年秋，里奇顺利进入哈佛大学开始接受高等教育。在这里，

里奇系统学习了物理、化学、数学和哲学等课程，熟悉了原子和分子等概念，最终选择生物化学作为专业。他的大学老师是著名的蛋白质化学家约翰·泰尔斯顿·埃索尔（John Tileston Edsall），里奇跟随他研究稀有氨基酸和二肽的拉曼光谱，这为里奇未来从事生物物理学研究奠定了重要的基础。在埃索尔的建议下，毕业后的里奇进入哈佛大学医学院接受医学教育，同时还继续在埃索尔实验室进行科学研究。这期间结识了英国著名晶体学家约翰·戴斯蒙德·贝纳尔（John Desmond Bernal）等多位著名科学家。从医学院毕业后，里奇继续申请博士后研究，最终被加州理工学院著名的理论化学和蛋白质化学家莱纳斯·鲍林（Linus Pauling）接收。因此，他在1949年底来到帕萨迪纳，成了鲍林的博士后。

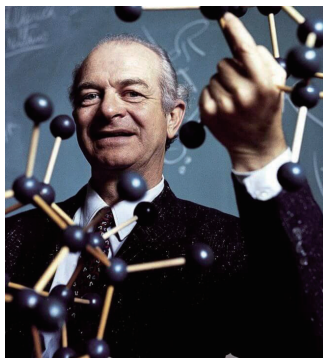
鲍林是20世纪最伟大的化学大师之一，在化学键理论方面取得过重大的成就。鲍林将研究领域拓展到生命科学领域，先后发现 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠等蛋白质二级结构，提出镰刀型细胞贫血症的概念，称得上是分子生物学早期的关键人物之一。考虑到里奇的医学背景，鲍林建议他进行血红蛋白相关的血液病研究。尽管里奇鉴定出库利氏贫血（也叫 $\beta$ -地中海贫血）含有异常高的胎儿血红蛋白，但胎儿血红蛋白并不存在分子结构上的变异。因此，他放弃了进一步



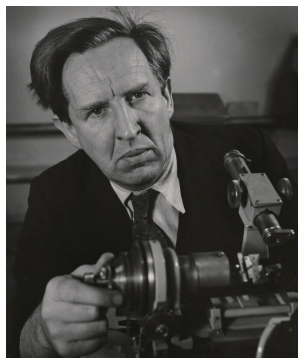
美国著名生物物理学家  
亚历山大·里奇



英国蛋白质化学家  
约翰·泰尔斯顿·埃索尔



美国蛋白质化学家莱纳斯·鲍林



英国晶体学家约翰·戴斯蒙德·贝纳尔



纽约大学医学院塞韦罗·奥乔亚

尔金斯 (Maurice Wilkins) 展示DNA衍射结果的学术会议。在进一步征求威尔金斯的DNA照片遭到拒绝后, 1952年底, 鲍林建议里奇独立进行DNA的结构研究。当时, 由于无法获得DNA晶体, 只能获得DNA纤维束, DNA的衍射图只能用X射线照射DNA纤维束而获得。鲍林的这个建议开启了里奇对核酸的终身研究。

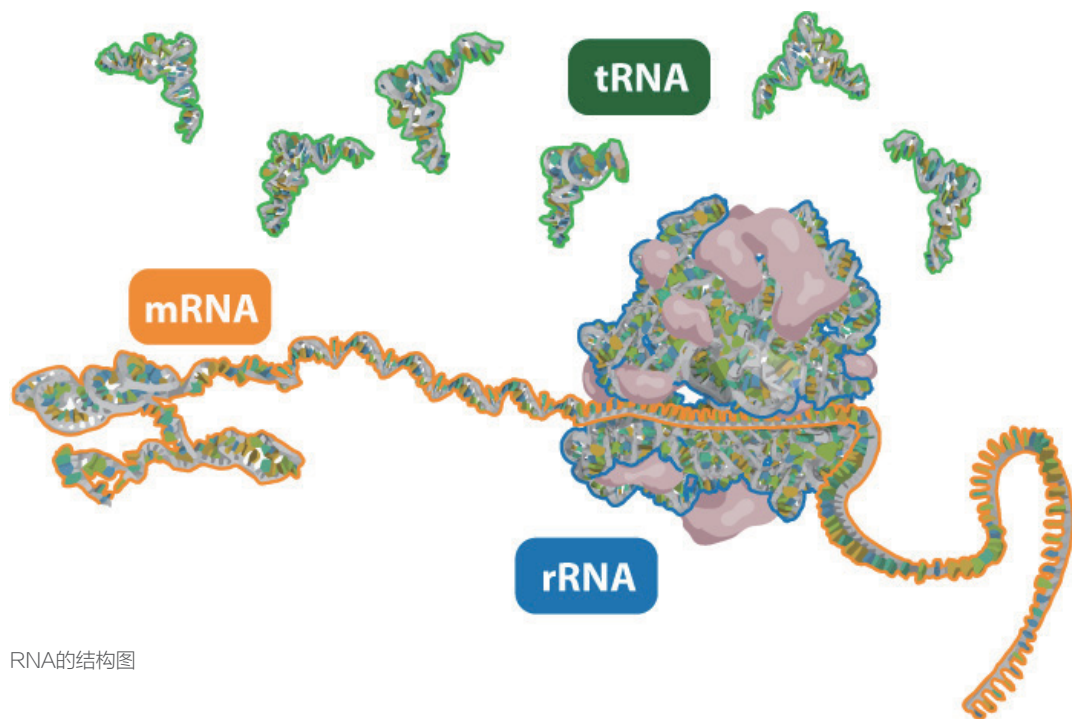
然而, 里奇的研究并不顺利。一方面他缺乏制备DNA纤维束的娴熟技术, 另一方面当时的加州理工学院也不拥有完善的X射线衍射仪。因此, 里奇只获得了一系列毫无规律的衍射数据, 对DNA结构的解析几乎没有任何帮助。就在里奇的实验陷入僵局之时, 鲍林获悉沃森和克里克已提出DNA双螺旋结构, 并于1953年4月23日在《自然》杂志上发表, 因此终止了DNA结构的进一步研究。

的研究。

当时, 鲍林还在进行DNA结构的研究, 并于1952年提出一个碱基在外的三螺旋DNA结构。然而论文发表不久, 鲍林就意识到这个模型是错误的。由于反战, 鲍林被取消去伦敦的护照, 从而错失了英国分子生物学家莫里斯·威

#### RNA双螺旋研究重燃里奇的研究热情

1953年9月, 在加州理工学院, 由鲍林主持召开一次有关DNA结构的学术会议。在这次会上, 里奇与克里克、沃森和威尔金斯等讨论了DNA结构的相关问题, 熟悉了结构研究的相关技术难题。考虑到DNA结构已经解析, 而另一



RNA的结构图

个遗传相关的重要分子RNA（部分病毒的遗传物质是RNA）结构尚不清晰，因此里奇决定接下来的工作重心是RNA，主要问题是RNA是否也可形成双螺旋。DNA和RNA均为核酸，在组成上非常相似，显然也应该具有类似的高级结构。但是，由于RNA的核糖为核糖，不是DNA的脱氧核糖，包括沃森和克里克在内的许多科学家都推测RNA可能与其他基团形成化学键，形成类似多糖一样的分支结构，而不像DNA那样是线性结构。

1954年，里奇与沃森合作利用X衍射技术研究RNA的结构，但是没能获得类似DNA那样有规则的衍射结果。为了弥补自己在结构研究方面的缺陷，里奇还在剑桥大学与克里克合作，以掌握相关的研究技巧。随后，里奇加入美国国立卫生研究院，建立生理化学部。后来，大卫·戴维斯（David Davies）加入这个实验室，共同研究RNA结构。尽管进行了一系列的技术改进和优化，但里奇对天然RNA进行的数百次X射线衍射实验都无法获得清晰一致的结果。衍射图像不仅分辨率低，而且不同实验得到的衍射图像差异巨大，这说明RNA的结构与DNA存在很大的不同，不如DNA那般有规则。

1955年，里奇的实验出现重大转机。纽约大学医学院塞韦罗·奥乔亚（Severo Ochoa）发现了多核苷酸磷酸酶，这种酶可在不依赖模板的前提下催化二核苷酸生成多聚核苷酸，奥乔亚因此荣获1959年诺贝尔生理学或医学奖。里奇看到相关文献后，立刻意识到该酶在RNA研究中的重要性。由于天然RNA过于复杂，在结构研究方面存在严重障碍，而人工合成的RNA就可以避免这一问题。里奇和戴维斯利用奥乔亚赠送的多核苷酸磷酸酶成功制备出多聚腺苷酸和多聚鸟苷酸两种人工RNA，随后对这两种人工RNA的X射线衍射分析发现，它们与天然RNA产生的基本衍射图像非常类似。由于两种人工合成的RNA均为线性分子，这也意味着天然RNA也不大可能具有分支结构。

1956年春，里奇和戴维斯进一步发现当混合polyA和polyU两种人工核酸后，溶液出现黏

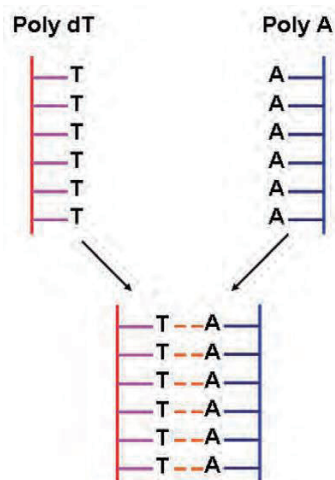
度快速升高和260纳米光密度明显下降的现象（两种人工RNA比例1:1时光密度值最低），这意味着有双链的形成。考虑到两种人工核酸自身均无法碱基配对，只有二者间通过A和U才可配对，这个实验说明两条RNA互补链也可以像DNA一样形成双螺旋，1957年又进一步发现了RNA三螺旋。尽管今天RNA双螺旋已成为生命科学的基本事实，但在当时却受到了部分科学家的质疑。生物化学家认为双螺旋形成需要酶的催化，当时已发现了DNA复制的DNA聚合酶，但尚未发现催化RNA复制的RNA聚合酶；高分子化学家认为包含上千个核苷酸的RNA将纠缠在一起从而无法自动形成双螺旋；理论生物学家则认为两个均带负电荷的单链不可能相互靠近。随着证据的增多，越来越多的科学家逐渐接受了RNA双螺旋结构。1964年科学家发现病毒感染的细胞中存在双链RNA，1973年双链RNA晶体制备成功，从而在结构上进一步证实RNA双螺旋的存在。RNA双螺旋结构的发现亦具有重要意义，极大地调动了里奇继续研究的动力，为研究RNA复制机制以及后来RNA干扰等现象奠定了坚实的基础。

### 从DNA和RNA双螺旋结构的研究转向到RNA和DNA核酸杂交的发现

1958年，克里克提出中心法则，描述了遗传信息从DNA到RNA最后到蛋白质的基本过



美籍印裔生物化学家哈尔·葛宾·科拉纳



左：美国微生物学家索尔·施皮格尔曼 右：里奇的DNA-RNA核酸杂交原理图

程。在DNA双螺旋和RNA双螺旋基础上，里奇对RNA和DNA之间是否亦能形成双螺旋产生了浓厚的兴趣，因为该问题涉及遗传信息从DNA到RNA的传递过程。当时科学界已经初步证实存在DNA依赖的RNA聚合酶，确信DNA可制造RNA，但DNA的转录机制尚不清晰，且DNA和RNA之间是否可直接作用尚未有实验直接证实。

里奇基于DNA聚合酶的催化活性得出推论，认为转录过程中DNA的一条链作为模板产生DNA-RNA杂交双链。更为惊人的是，里奇还进一步提出RNA是进化上更为古老的分子，并且与DNA一样也可以作为模板。后者的推论，在1970年发现的逆转录现象里得到证实。

当时多聚核苷酸的人工合成已非常成熟，里奇面临的重大难题是获得能与多聚核苷酸互补配对的多聚脱氧核苷酸。DNA聚合酶只能以天然DNA为模板进行复制，无法满足里奇的实验要求。著名美籍印裔生物化学家哈尔·葛宾·科拉纳(Har Gobind Khorana)利用化学方法合成出多聚脱氧胸苷酸，并赠送部分样品给里奇，这样就解决了里奇的难题。

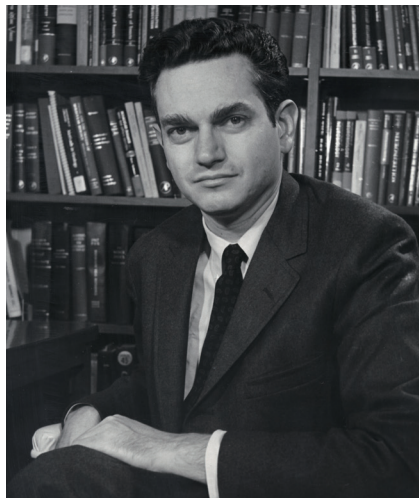
1960年，里奇首次将多聚脱氧胸苷酸与多聚腺苷酸混合，随后通过测定光吸收值变化和沉降率差异而确定溶液中出现双螺旋结构。1961年，科学家进一步利用多聚脱氧胸苷酸做模板，使用RNA聚合酶获得多聚腺苷酸。这

清晰地表明，DNA转录过程中RNA聚合酶以DNA单链为模板产生互补RNA。里奇的发现不仅有利于对转录过程的理解，而且还对逆转录过程、端粒形成和逆转座元等的工作原理有重要的帮助。

里奇的发现还促进了分子杂交技术的出现。1961年，科学家发现了DNA退火现象，即变性解链的互补DNA在稳定缓慢地降低后可重新形成双螺旋。美国微生物学家索尔·施皮格尔曼(Sol Spiegelman)等结合里奇的发现和DNA退火现象，证明T<sub>2</sub>噬菌体的DNA可与其编码的RNA形成杂交双螺旋，从而产生核酸杂交技术。经过进一步的完善，核酸杂交技术成了现代分子生物学研究的一项基础技术，如1975年发明的Southern杂交技术就是结合核酸杂交、限制性内切酶、凝胶电泳和DNA转移而产生的一门新技术。分子杂交的发明开启了检测细胞内基因的新时代，推动了相关领域的快速发展。今天广泛应用的荧光原位杂交、表达芯片和新一代测序技术等都是基于杂交原理。多聚脱氧胸苷酸还被广泛应用于真核生物mRNA的分离。

### 对蛋白质翻译过程的深入研究

1961年，法国生物学家弗朗索瓦·雅各布(Francois Jacob)和克里克等证明了模板

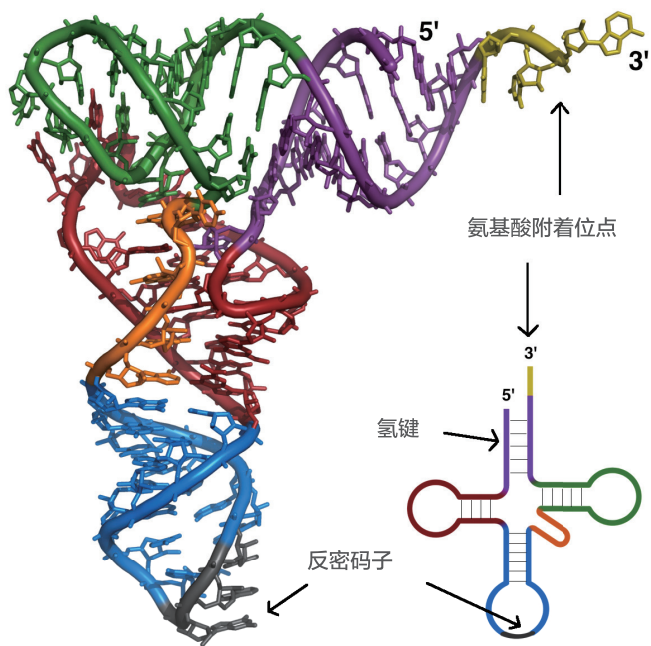


左：美国生物学家马歇尔·尼伦伯格 右：法国生物学家弗朗索瓦·雅各布（前）和雅克·莫诺（后）在实验室

mRNA的存在。至此，包括tRNA和rRNA在内的三种蛋白质翻译所需的RNA均被发现。同一年美国生物学家马歇尔·尼伦伯格（Marshall Nirenberg）破译了第一个遗传密码UUU为苯丙氨酸，从而掀起翻译机制研究的热潮。

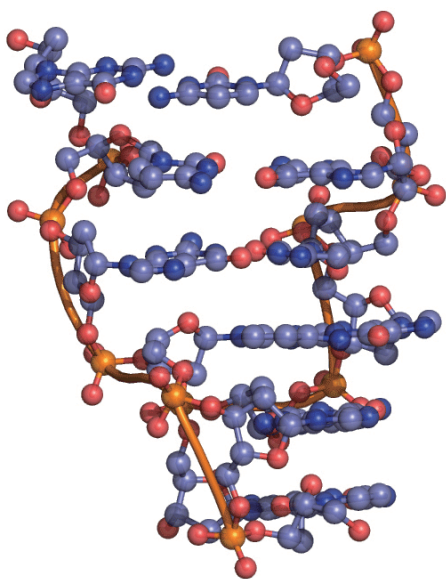
次年，里奇的学生观察到网织红细胞在合成血红蛋白过程中存在一条mRNA对应5个核糖体的现象。这一惊人发现不仅确定了多核糖体参与蛋白质翻译过程，而且直观地确定翻译过程中核糖体在mRNA上的移动机制。他们继续研究揭示了每个单一核糖体上存在两个tRNA结合位点，即A位点和P位点。A位点结合氨基酰-tRNA，而P位点结合肽酰-tRNA。里奇推测，两个位点协同参与了新生肽链的移动，将mRNA密码子从位点A移到位点P。这些推测后来都被研究证实，成为最终阐明蛋白质翻译机制的基础。

除对翻译场所核糖体的研究以外，里奇更多的研究放在tRNA方面。尽管当时tRNA纯化方法已得到很大改善，但在tRNA晶体结构研究方面长期没有突破。直到1968年才取得了第一次重大突破，里奇实验室获得了大肠杆菌苯丙氨酸-tRNA的单晶。但是，单晶的质量较差，无法获得理想的衍射图。尽管后来又进行了大量技术改进，最终仍无法达到目的。1970年，里奇研究小组找到了一种很好的方法，他们用精



tRNA为“L”型结构

胺获得了稳定的酵母丙氨酸tRNA高度有序的晶体，并利用重金属掺入法获取相关的三维结构信息，衍射水平几乎可以达到0.2纳米。1972年，里奇研究小组得到了分辨率为0.4纳米的晶体，从衍射图中甚至可以“看”到多聚核苷酸链的骨架，并能辨认分子骨架上的磷酸根。磷酸根看起来就像三维空间中一串缠绕的小珠，但从该衍射图中还不能分辨多聚核苷酸链中的碱



Z-DNA的空间结构

基。1973年，里奇小组确定tRNA为“L”型结构，纽约时报于1973年1月3日刊登了这项突破。1974年，里奇的结果作为《自然》杂志封面文章发表。与此同时，英国的艾伦·克卢格（Aaron Klug）小组也获得相同进展。2000年，英国剑桥大学的研究人员在冰箱内保存了15年的酵母丙氨酸tRNA晶体重新进行X射线衍射分析，分辨率达到0.2纳米，分析结果与20年前的分析结果惊人地一致。

tRNA结构的解析对蛋白质翻译机制的理解具有重要意义：首先接收臂（CCA）和反密码子空间距离的解析，对理解tRNA和氨基酰-tRNA合成酶的相互作用有重要帮助；其次反密码子与mRNA上密码子配对区域和肽键形成区之间的关联，也将有益于对翻译过程的理解。

### Z-DNA的发现

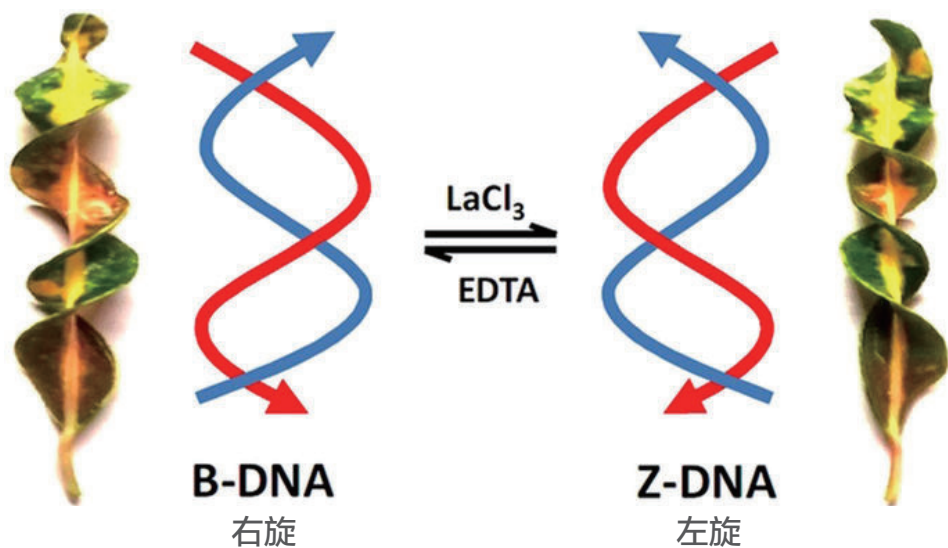
1979年，里奇与同事在研究人工合成的CGCGCG单晶时，发现该单晶呈向左的螺旋，且它的两条主链呈Z字形环绕分子，里奇就将这种独特的结构称为Z-DNA。后来发现在细胞DNA分子中也存在有Z-DNA结构。

随后的一系列研究证实了Z-DNA的真实性，并确立了B-DNA是生理状态下DNA的基本类型，而Z-DNA是一种高能状态，在整个基因组中含量较少，约0.3%。对于它们的具体功能在随后很长时间内未取得明显进展，因此许多科学家认为Z-DNA无非是一种无功能的构象变化，不值得研究。但以里奇为主的实验室仍对Z-DNA进行广泛深入的探索，发现B构象的DNA中存在Z-DNA构象是可能的。后来又利用Z-DNA抗体能结合Z-DNA的特性，为许多生物的DNA中存在Z-DNA提供了直接证据。Z-DNA的确存在于细胞中，并具有重要的功能，从而对DNA生物学作用有了全新理解。

现已证明Z-DNA诱导的遗传不稳定性和复制滑动有关，它参与基因调节——控制基因的启闭。因为Z-DNA的形成，使局部DNA双链处于不稳定状态，这就有利于DNA双链解开，而DNA解链是DNA复制和转录的必要环节。里奇小组利用Z-DNA抗体，证实在DNA调节基因转录的区域中存在Z-DNA（一个DNA短的片段），并发现这种短的片段既能增强基因的活性，亦能抑制附近基因的活化，这主要取决于环境的不同。在细胞分裂过程中，Z-DNA可能还参与基因的重组。又由于Z-DNA分子中大沟消失，小沟深而狭，含有更多的遗传信息，也可能通过蛋白的不同识别方式，来调节细胞的多种生命活动。

除上文提到的与转录的关系、遗传不稳定性、基因重组、自身免疫疾病等以外，Z-DNA的生物学功能还有很多，如阿尔兹海默症、血液系统疾病、肿瘤等。研究发现，阿尔兹海默症大海马区出现Z-DNA，A $\beta$ 多聚体（非单体）可能促进DNA的Z-B转变，同时使用A $\beta$ 聚合抑制剂姜黄素能阻滞DNA的Z-B转变。而Z-DNA的形成使A $\beta$ 聚合停留在低聚物阶段，阻滞了其纤维化。在肿瘤方面，致癌物常攻击DNA的鸟嘌呤残基，而对于Z-DNA构象的稳定，顺式鸟嘌呤起着重要作用。

2005年，里奇研究小组还获得Z-DNA和B-DNA结合时的空间结构，当Z-DNA形成时，



B-DNA和Z-DNA的相互转化

两端的B-Z相结合区域构成了其与B-DNA的接口。总之，目前对Z-DNA的作用尚有许多问题有待研究。

### 里奇的成就和对后人的启发

里奇利用生物物理学的工具先后发现并揭示了RNA双螺旋、DNA-RNA杂交、蛋白质翻译中的多核糖体、tRNA三级结构和Z-DNA结构，这些发现对生物化学和分子生物学的发展具有重要的推动作用。里奇的科研生涯主要是对生物大分子的结构研究，而结构是功能研究的基础，因此这些研究奠定了对核酸作为遗传基础分子功能的理解和认识。此外，里奇还参与了由莱德伯格领导的火星登陆计划中的生物学实验以寻找火星生命，尽管未获得重大进展，但推动了寻找外星生命这项事业的蓬勃发展。

1958年，里奇加入麻省理工学院，曾担任生物物理学讲座教授。1987年，里奇建立生物技术公司。里奇是美国科学院院士、美国艺术和科学学院院士、医学科学院院士和美国哲学学会会员，此外还是罗马教廷科学院、法国科学院外籍院士和苏联科学院院士。1995年，里奇获得

美国最高奖——国家科学奖章；2000年，获得富兰克林奖章；2001年，获得科学研究协会科学成就William Procter奖；2008年，获得韦尔奇化学奖。里奇发表了几百篇论文，1968年出版的专著《结构化学和分子生物学》，至今仍是很多科研工作者的必读之书。

回顾这段历史不难发现，著名科学家之所以能在学术上捧得桂冠和众多荣誉，其中一个重要因素是受许多名师的影响和启发，并采用最先进的实验方法和技术，领略科学研究的严谨与奥妙。科学上的重大突破同样需要团队精神和相互合作，里奇从揭示RNA双螺旋的存在到认识Z-DNA结构用了将近50年的时间，这项工作是由许多科学家共同努力的结果。上文提到的只是几位具有代表性的科学家，还有很多研究人员也都做出了不平凡的贡献，这会让我们认识到合作与交流的重要意义。

#### 作者简介

吴志强，安徽师范大学硕士研究生，芜湖市第十二中学生物学教师。

(责编 桑新华)