

五、生命体系的合成

在从分子水平认识生命体系的探索中，理论终归必须经过合成的最终检验。如果某些复杂的生物化学物质能够被合成，并能成功地参与生命过程，就可以确信我们是走在正确的道路上。应当强调指出，细胞中的合成太复杂了，远非我们现有的方法所能复制。生物化学家目前虽然正在分子水平上工作，迄今只有相对少数几个大分子已被确认。然而，尽管任务艰巨，近年来仍旧取得了显著的进展，而且从对这个领域的研究中，引起了很强烈的兴趣。

(一) DNA 的复制

一个有机体的几乎所有细胞在它们的核中都含有相同的染色体结构。不论细胞是正在挨饿还是有充裕的食物供应，这种结构都保持不变。每个有机体都以具有这同一种染色体结构的单细胞形式开始其生命过程；在有性繁殖中，这种结构的一半来自每个亲体，这些人们熟知的生物学事实，加上近来关于多核苷酸结构的发现，导致下述结论，即 DNA 结构在正常的细胞分裂时被忠实地复制下来（有丝分裂——两股），而在产生生殖细胞的细胞分裂时，则仅有一半被复制（减数分裂——仅一股）。

根据可检验的实验，如前沃森和克里克关于 DNA 复制的著名理论提出，DNA 结构的双螺旋解链后，每一半都将做为模板或样板，从细胞周围的分子再复制出另一半来（见图 16-2）。DNA 的复制发生于细胞核中。

(二) 蛋白质的生物合成

人体的蛋白质不断地被人体可利用的氨基酸所替换及重新合成。人体中的蛋白质和氨基酸可视为“氮库”中的组分。

应用同位素标记的氨基酸可以研究组成蛋白质的氨基酸的平均寿命，也就是人体置换组织中一个蛋白质所花费的时间。对于这种极其复杂的过程来说，置换是非常迅速的。把放射性氨基酸注入体内仅仅经过几分钟以后，就可以发现放射性蛋白质。虽然人体的蛋白质都在不断地被置换，但是置换的速度是不同的。肝与血浆中的蛋白质在 6 天内被置换一半。肌肉蛋白质的置换时长一些，大约为 180 天，而其他组织例如骨胶肱中蛋白质的置换时间则更长。

每个有机体都有它自己特殊种类的蛋白质，20 种氨基酸的可能

排列数为 2.43×10^{18} ，而合成一个机体所特有的蛋白质则是几分钟的事情。

我们已经知道细胞核中的 DNA 掌握着蛋白质合成的密码，但是在蛋白质进行生物合成时，基因究竟是通过什么途径来传递密码的？在 DNA 双螺旋结构建立不久，这就成为分子生物学家注意的问题。

克里克在 1957 年根据当时已知的密码是座落在 DNA 链上，蛋白质生物合成时 RNA 量增大，以及 RNA 在细胞核中形成再转入细胞质等事实，提出这样一个设想，在 DNA 和蛋白质之间，RNA 可能是中间体。1958 年，克里克又提出在作为模板的 RNA 同把氨基酸带到蛋白质肽链的合成之间还可能存在着一个“受体”。根据这些推论，克里克提出“中心法则”的概念，即 DNA 把信

息转给 RNA，RNA 通过中间的“受体”用信息指导氨基酸进行蛋白质合成，一般的情况下这一过程是不可逆的。克里克所设想的“受体”，很快就被一些年轻的生物化学家证实为一种较小的易溶解的转移核糖核酸（简称 tRNA），每一种氨基酸都有对应的 tRNA。

1961 年法国分子生物学家雅可布（F. Jacob，1920—）和莫诺（J. Monod，1910—1976）证明 DNA 同蛋白质之间的中间体是一种被称为信使 RNA 的多核苷链（简称 mRNA），由酶促作用及碱基配对原则，转录 DNA 所携带的遗传信息。为此，1965 年，莫诺和雅各布与也在研究细菌遗传学的 A·莱沃夫（Andre Lwoff，1902—）共同获得了诺贝尔生理学或医学奖。

60 年代中期还发现蛋白质的生物合成是在细胞质中大量存在的核糖体内完成的。三磷酸腺苷（ATP）的 P—O 键为氨基酸及其 tRNA 之间的反应提供能量。一个 ATP 分子首先活化一个氨基酸。然后，此活化络合物再与特定的 tRNA 反应，形成 tRNA—氨基酸络合物。然后 tRNA 自由地移动回来，并重复此过程。tRNA 在解聚以前只能用一次，最多也只能用几次。虽然这看起来是极大的浪费，但它使细胞按非常简单的指令来生产不同种类的氨基酸。当条件改变时，从细胞核中发出不同种类的 tRNA，并按此制出不同的蛋白质。细胞对变化的环境作出适当的反应。

随着遗传密码的破译，到 60 年代末，基本揭示了蛋白质生物合成的过程。原来在 tRNA 分子中含有相当于某一氨基酸的反密码子，由于碱基配对的关系，具有识别 mRNA 链上遗传密码的能力，使氨基酸能按照 mRNA 链上遗传密码排列的顺序去合成相应的蛋白质。DNA 把密码传递给 mRNA 的过程，称为“转录”。mRNA 密码对蛋白质合成的指导，称为“翻译”。这可用公式表示如下：



1970 年美国生物化学家特明（H.M. Temin，1934—）和巴尔蒂摩（D. Baltimore，1938—）在癌症研究工作中，各自独立地发现了逆转录酶，使 RNA 病毒能够逆转方向，产生 DNA 的抄本。这一发现不但打破了中心法则的不可逆性，也为病毒可以改变宿主细胞的遗传性提供了科学的根据，又一次轰动了分子生物学界。但是，这一发现并不能否定中心法则，而是对中心法则的补充。由于这个工作特明和巴尔蒂摩以及 R·杜尔贝科（Renato Dulbecco，1914—）共享 1975 年诺贝尔生理学或医学奖。

遗传密码和中心法则虽然解决了在 DNA 分子上排列的密码指导蛋白质合成的途径，但还缺乏“量”的概念。在细胞内蛋白质的合成不是无休止地进行的。任何一种酶的生成都和生理上的需要密切联系着，因此对 mRNA 转录 DNA 上密码的过程必然存在着调节控制作用。法国科学家雅可布和莫诺经过 15 年对大肠杆菌代谢控制的研究，于 1961 年提出了半乳糖操纵子学说，说明了基因的调节控制作用。他们从 1946 年开始研究大肠杆菌中 β -半乳糖苷酶的适应性问题。细菌中的 β -半乳糖苷酶能把培养基中的乳糖转变为半乳糖和葡萄糖。如果培养基中不含有乳糖，大肠杆菌中的 β -半乳糖苷酶也就消失。究竟是哪些因素控制了这种酶的产生？操纵子学说提出了在 DNA 大分子中，与半乳糖苷酶有关的基因组相互邻近组成了“操纵子”，在操纵子的一

端有一个调节器。当调节器开放时，mRNA 可以转录操纵子内所有的基因，并送进核糖体合成相应的蛋白质。当调节器关闭时，mRNA 的转录和相应的蛋白质的合成也就中止了。调节器的开或关又依赖于它是否同细菌中存在的阻遏蛋白起作用。阻遏蛋白是一个特殊调节基因的产物。当调节器同阻遏蛋白结合时，抑制 mRNA 转录操纵子内基因，也就关闭了调节器。所以结论是：任何基因的翻译速度，都取决于细胞内阻遏蛋白的浓度。当有诱导物（在大肠杆菌代谢乳糖过程中， β -半乳糖苷是诱导物）存在时，阻遏蛋白和诱导物结合，因而失去了与调节器相结合的作用。在这种情况下，调节器开放，转录翻译、蛋白质合成正常进行。到 70 年代，进一步证明：在原核细胞中，操纵子是基因调节控制的普遍方式。这方面的成就不仅有理论意义，而且立即被应用到发酵工业上。

关于真核细胞内基因的调节控制远比原核细胞复杂得多，这方面围绕着染色体的结构、细胞核同细胞质间的关系、胚胎发育与细胞分化等问题，正在展开大量的、在生物大分子水平上的研究。

（三）人工合成蛋白质

氨基酸的混合物能够在活细胞以外反应形成多肽。仅需要比较简单的催化剂，而且也不需要细胞质的复杂的酶环境，仅少数几种氨基酸的混合物就能得到大量不同的蛋白质结构。然而，合成特殊顺序的氨基酸仍然存在许多困难问题。

多肽合成是一项重要的有机合成，50 年代以来取得很大的进展。从合成技术上看，主要是把氨基酸按顺序连接起来。氨基酸有两个基团，一个二肽就有两种可能的排列。因此在连接时按照结构的需要，把氨基酸 (i) 的氨基和氨基酸 (ii) 的羧基保护起来，使它们不能形成肽键，只产生由 (i) 的羧基和 (ii) 的氨基相连形成的二肽。因此在合成多肽时，要分别用保护基团，保护氨基和羧基，这些保护基团必须具有一个重要的性质，那就是在一个特定的条件下，很容易除去，同时不会影响分子的其他部分，特别是已接好的肽键。此外，有许多氨基酸带有侧链，也需要保护。为了在一个氨基酸与一个合成的肽之间获得所要求的键，需要保护住所有不参与肽反应的官能团。当化学保护基团都在适当的位置时，加入特定的氨基酸并形成肽键。随后再除去保护基团。为了构成具有 20 个氨基酸单位的多肽，这一复杂过程必须重复 19 次。随着肽链的增长，实现此化学操作而不扰乱先前已形成的键越来越困难。这样，接一个 51 肽就需要几百个步骤。更困难的是，经过如此多的步骤，就算是每步产量都很高，最后的产物也非常少了。生物体合成蛋白质是有条不紊的、按照一定的顺序选择所需要的氨基酸进行合成，而且非常迅速，和现在实验室的手段无法相比。

尽管存在困难，按特定要求合成指定的蛋白质仍稳步地取得进展。1953 年，杜维尼奥 (Vincent du Vigneaud) 从 8 个氨基酸合成一个激素。为此，他于 1955 年荣获诺贝尔化学奖。此外，用类似的方法从单个氨基酸开始，并把它们加上以制造所需的蛋白质，已经合成出更长的分子。具有 39 个氨基酸单位的 β -促肾上腺皮质激素和具有 51 个氨基酸单位的胰岛素都是著名的激素合成的实例。1969 年，两个研究小组在活细胞外从单个氨基酸合成了第一个酶——核糖核酸酶。核糖核酸酶包含 124 个氨基酸单位。这两个小组一

个是由洛克菲勒大学的梅里菲尔德 (Robert B. Merrifield, 1921—) 和格特 (Bernd Gutte) 领导, 另一个是在默克夏普和杜姆实验室由登克瓦尔特 (Robert G. Den Kewalter) 和赫尔施曼 (Ralp F. Hirschmann) 领导。

梅里菲尔德所发明的固相多肽合成法是一次重要突破, 现已得到广泛的应用。在这个自动化的技术中, 一个不溶性的聚苯乙烯载体, 在合成中起着固定肽链的作用。第一个氨基酸被牢固地结合到一个聚苯乙烯小珠上, 然后其他氨基酸再依次一个一个地加上去。合成核酸酶需要 369 个化学反应, 并在为此目的而研究的仪器上进行 11931 步连续操作。这不仅单纯提供了一个新的方法, 而是一次思想上的突破。也不是说, 固相接肽已解决蛋白质的合成问题, 事实上解决合成问题还非常遥远, 还有许多较难克服的困难; 但是, 当我们面临一个困难问题时, 如何从各方面考虑寻找解决这个问题的途径, 固相接肽方法为我们提供了一个范例。由于这件工作, 梅里菲尔德荣获 1984 年诺贝尔化学奖。

1970 年, 由加利福尼亚大学的李卓浩 (Choah Hao Li, 1903—1987) 领导的小组应用梅里菲尔德的方法合成了人体生长激素 (HGH)。HGH 有 188 个氨基酸单位。其分子量大约为 21500。这种激素由脑垂体的前叶自然产生的。脑垂体是位于脑底部的豌豆大小的物体。在人体中 HGH 具有双重功能——控制乳汁生成, 并且在许多方面调节生长。在童年, HGH 分泌过多能引起巨人症; 过少则引起侏儒症。

这些合成的蛋白质在每个方面都与天然产物一样。它们表现出相同的功能, 并给出相同的分析结果。虽然现有的方法还有很大的局限, 但总有一天可期望复制出更大的分子。

(四) 合成核酸

合成核苷酸的进展曾遇到困难, 主要原因是难于选定合适的保护基团。尽管如此, 但仍取得进展。

1956 年美国生物化学家科恩伯格 (Arthur Kornberg, 1918—) 合成一个 DNA 型的多核苷酸。在研究辅酶的合成时, 他发现了一种酶, 它催化由三磷酸核苷生成多核苷酸。由他命名为 DNA 聚合酶的这种酶能用来在试管中合成短 DNA 分子, 只要给予的三磷酸盐底物和 DNA 模板, 便能使核苷酸按照所希望的多核苷酸的次序排列。为此, 科恩伯格被授予 1959 年诺贝尔生理学或医学奖, 与他一道分享诺贝尔奖的 S·奥乔亚 (Severo Ochoa, 1905—) 发现催化生成 RNA 的酶。

科恩伯格的合成产物没有生物活性。1965 年, 美国微生物学家施皮格尔曼 (Sol Spiegelman, 1914—) 合成了一个 RNA 病毒的多核苷酸部分。这一多核苷酸具有生物活性, 当引入活细胞时, 很快得到繁殖。1967 年, 古利安 (Mehran Goulian) 和科恩伯格合成了更复杂的 DNA 型的完全有传染力的病毒。

核酸的化学合成比蛋白质要困难。这方面的工作主要在美籍印度科学家柯拉那 (H. G. Khorana, 1922—) 领导的实验室中进行, 他们从 1958 年起开始了 DNA 合成的研究, 到 60 年代已用化学方法合成了 64 种可能的遗传密码, 并且测试了它们的活性, 对遗传密码辞典的问世起了作用。为了解决化学合成的困难, 他们创造了化学和酶促相结合的方法。1972 年他们成功地合成了

酵母丙氨酸 tRNA 基因 (含有 77 个核苷酸的 DNA 长链)。1976 年他们又成功地合成了第一个具有生物活性的基因——大肠杆菌酪氨酸 tRNA 前体基因 (126 个核苷酸), 加上前面的启动子 (59 个核苷酸) 和后面的终止子 (21 个核苷酸), 共有 206 个核苷酸的 DNA 长链。这方面的工作, 对研究基因的调节控制和对遗传工程, 都是必要的基础。RNA 的合成比 DNA 更困难。中国科学院上海生物化学研究所等单位, 经过 13 年的努力, 1981 年年底完成了酵母丙氨酸转移核糖核酸的人工合成。日本也有一个科学家小组进行这项合成。这是在 1965 年美国科学家霍利 (R. Hoily, 1922—) 等分析了这个 tRNA 所含的 76 个核苷酸序列的基础上, 利用化学合成和酶促合成相结合的方法合成的。这项研究, 标志着我国在人工合成生物大分子的研究方面继续居于世界先进行列。