

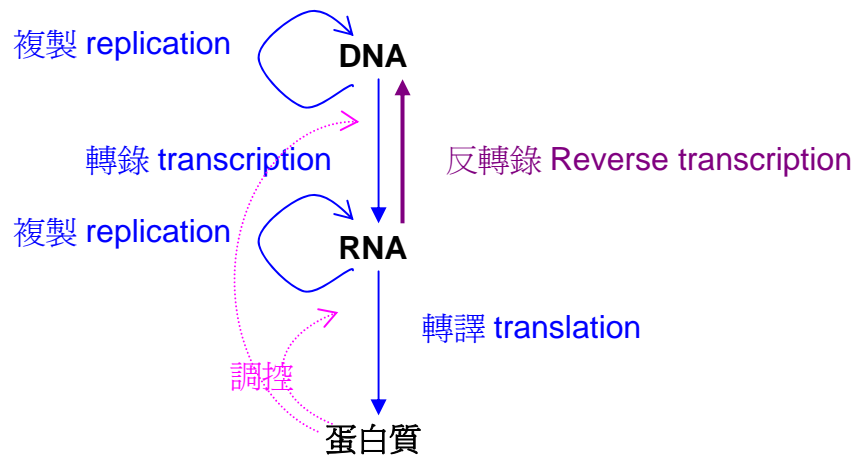
第一章：核酸與核干酸

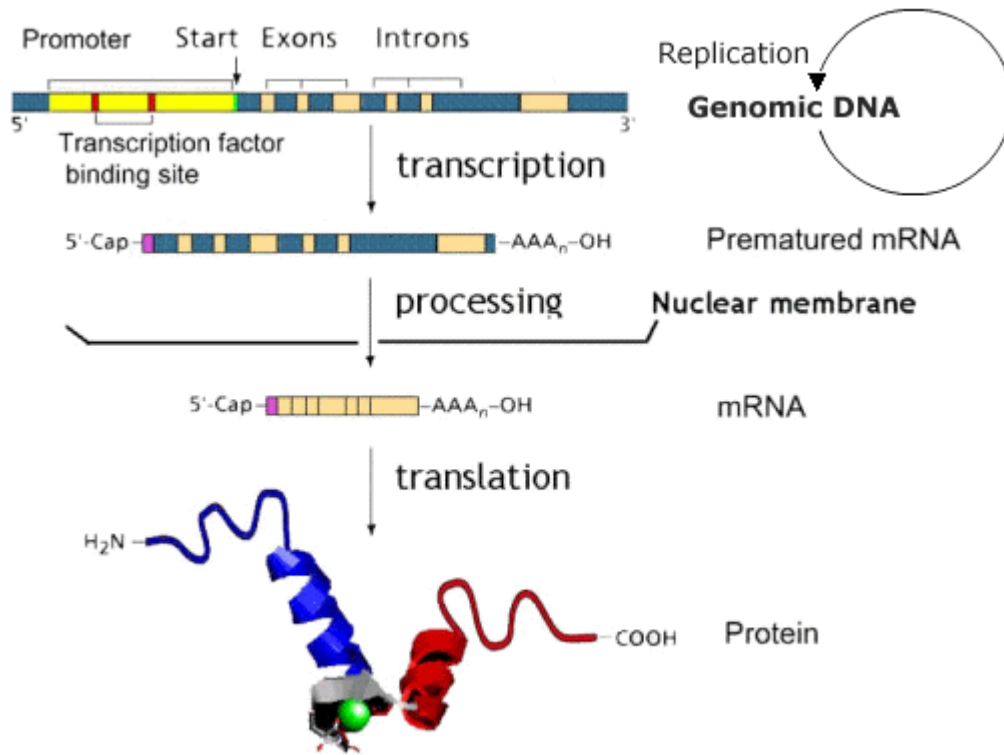
前言：

核酸(nucleic acid)是以核苷酸為單體所聚合而成的巨分子，包括去氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)及核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)，是生命的遺傳物質，控制整個生命的過程，是全能(totipotent)的分子，其主要的功能為遺傳訊息的貯存、傳遞與表現。

生命是複合有機分子的組合與表現，包括 DNA、RNA、蛋白質、醣類、脂質等相互調控與表現。其中，核酸的表現物質為蛋白質，而蛋白質除了執行特殊的功能之外，又可調節核酸的表達，環環相扣；由醣類代謝提供生命所需能量；由脂質代謝組成細胞膜，維持細胞正常的形態並使神經傳導正常。其核心物質正是核酸，生命的奧祕，幾乎盡藏於此。由生命的中心教條(central dogma, 圖 1)所構成的劇本正每分每秒在每個生物體內上演著。

中心教條：





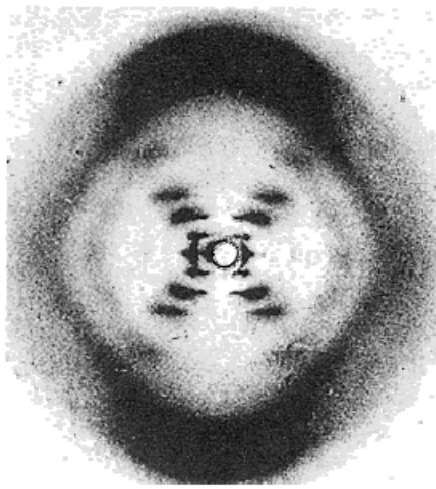
[圖 1]

這個章節會大致介紹一下一般常見細胞中核苷酸與核酸的基本性質，而較為詳細的過程或原理會在稍後的章節提到。

這張則是簡短的分子生物發現史：(Gene VIII) (表 1)

1865 年	基因是微粒極小的遺傳因子
1871 年	發現核酸
1903 年	染色體是一代傳一代的
1910 年	基因是位在染色體上
1913 年	Chromosomes are linear arrays of genes
1927 年	突變是基因上的物理改變現象
1931 年	聯會(crossing over)會使得基因產生重組
1944 年	DNA 是遺傳物質
1945 年	蛋白質的基因密碼(A gene codes for protein)
1951 年	第一個蛋白質被定序出來
1953 年	DNA 是雙股螺旋的結構
1958 年	DNA 複製是半保留制的
1961 年	基因密碼是三個為一單位
1977 年	真核生物的基因被打斷(Eukaryotic genes are interrupted)
1977 年	DNA 是可以被定序的
1995 年	細菌基因被定序出來(Bacterial genomes sequenced)
2001 年	人類基因被定序出來(Human genome sequenced)

1953年在英國雜誌 Nature 上刊載了一篇由 J. D. Watson 及 F. H. C. Crick 發表「核酸的分子結構：去氧核糖核酸的結構」的文章，此篇文章提供研究者一個很好的方向，開頭就清楚的顯示出「我們所發現的新奇特徵將引起生物界的重視。」而文章最後敘述著「無法不引起我們注意的是，在我們假設的特異配對當中，緊接地暗示出遺傳物質可能的複製機制。」因為一些之前的研究報告，更加確信了這篇文章的真實性。像 1952 年 Rosalind Franklin 利用 X 光結晶顯影表現出 DNA 分子的立體結構。Watson(1976 年)對那張 X 光照片描述說：「這張具有關鍵性的照片，關係到解譯 DNA 分子結構之謎。在實驗上，可以確定 DNA 可能為螺旋狀 (helical)。可以由照片中間交叉的形狀來猜測判斷。在照片上下較黑的區域則說明了，就立體空間上而言，二個嘍呤或嘓啶鹼基之間彼此重疊且與螺旋軸垂直，且二鹼基之間的距離為 3.4 Å」。



[圖 2]

而早在 1871 年 Miescher 在膿細胞及鮭魚精子細胞的核中分離出核質(nuclein，其實更正確的說法為核酸)，這是最早有記錄發現核酸的報告。

補充資料：這是 1953 年 Watson 及 Crick 發表在 Nature 上的文章。

equipment, and to Dr. G. E. R. Deacon and the captain and officers of R.R.S. *Discovery II* for their part in making the observations.

¹ Young, F. B., Gerrard, H., and Jevons, W., *Phil. Mag.*, **40**, 149 (1920).

² Longuet-Higgins, M. S., *Mon. Not. Roy. Astro. Soc., Geophys. Supp.*, **3**, 255 (1949).

³ Von Arx, W. S., *Woods Hole Papers in Phys. Oceanog. Meteor.*, **11** (3) (1950).

⁴ Ekman, V. W., *Arkiv. Mat. Astron. Fysik. (Stockholm)*, **2** (11) (1905).

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey¹. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons: (1) We believe that the material which gives the X-ray diagrams is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

Another three-chain structure has also been suggested by Fraser (in the press). In his model the phosphates are on the outside and the bases on the inside, linked together by hydrogen bonds. This structure as described is rather ill-defined, and for this reason we shall not comment on it.

We wish to put forward a radically different structure for the salt of deoxyribose nucleic acid. This structure has two helical chains each coiled round the same axis (see diagram). We have made the usual chemical assumptions, namely, that each chain consists of phosphate diester groups joining β -D-deoxyribofuranose residues with 3',5' linkages. The two chains (but not their bases) are related by a dyad perpendicular to the fibre axis. Both chains follow right-handed helices, but owing to the dyad the sequences of the atoms in the two chains run in opposite directions. Each chain loosely resembles Furberg's² model No. 1; that is, the bases are on the inside of the helix and the phosphates on the outside. The configuration of the sugar and the atoms near it is close to Furberg's 'standard configuration', the sugar being roughly perpendicular to the attached base. There



This figure is purely diagrammatic. The two ribbons symbolize the two phosphate-sugar chains, and the horizontal rods the pairs of bases holding the chains together. The vertical line marks the fibre axis.

is a residue on each chain every 3.4 Å. in the z-direction. We have assumed an angle of 36° between adjacent residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distance of a phosphorus atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, cations have easy access to them.

The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact.

The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so that the two lie side by side with identical z-co-ordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 1; purine position 6 to pyrimidine position 6.

If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric forms (that is, with the keto rather than the enol configurations) it is found that only specific pairs of bases can bond together. These pairs are: adenine (purine) with thymine (pyrimidine), and guanine (purine) with cytosine (pyrimidine).

In other words, if an adenine forms one member of a pair, on either chain, then on these assumptions the other member must be thymine; similarly for guanine and cytosine. The sequence of bases on a single chain does not appear to be restricted in any way. However, if only specific pairs of bases can be formed, it follows that if the sequence of bases on one chain is given, then the sequence on the other chain is automatically determined.

It has been found experimentally^{3,4} that the ratio of the amounts of adenine to thymine, and the ratio of guanine to cytosine, are always very close to unity for deoxyribose nucleic acid.

It is probably impossible to build this structure with a ribose sugar in place of the deoxyribose, as the extra oxygen atom would make too close a van der Waals contact.

The previously published X-ray data^{5,6} on deoxyribose nucleic acid are insufficient for a rigorous test of our structure. So far as we can tell, it is roughly compatible with the experimental data, but it must be regarded as unproved until it has been checked against more exact results. Some of these are given in the following communications. We were not aware of the details of the results presented there when we devised our structure, which rests mainly though not entirely on published experimental data and stereochemical arguments.

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of co-ordinates for the atoms, will be published elsewhere.

We are much indebted to Dr. Jerry Donohue for constant advice and criticism, especially on interatomic distances. We have also been stimulated by a knowledge of the general nature of the unpublished experimental results and ideas of Dr. M. H. F. Wilkins, Dr. R. E. Franklin and their co-workers at

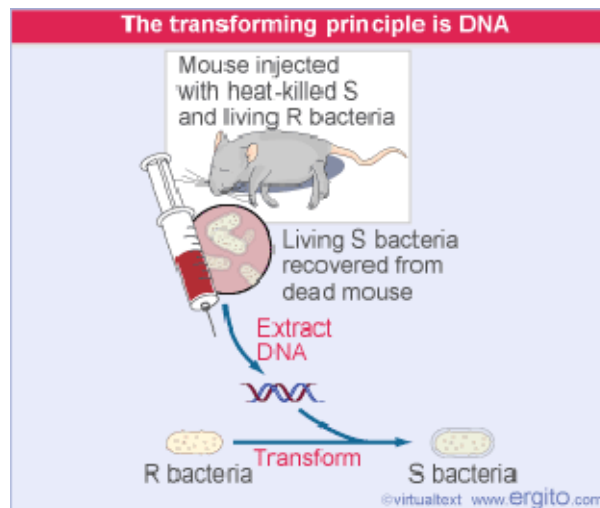
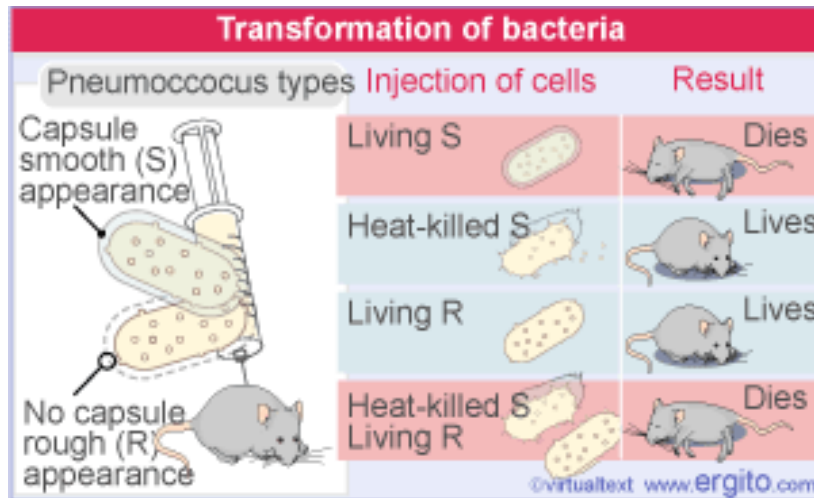
DNA 為遺傳物質：（雖然也有一些病毒是例外，TMV 就是一個傳統的例子，它是以 RNA 為遺傳物質）

轉型(Transformation)與轉型定律(Transforming Principle)：

在 1928 年時在 Frederick Griffith 對肺炎雙球菌的轉型實驗當中才證明了 DNA 確實為遺傳物質。肺炎雙球菌可根據其細菌外上面的多醣類成分，分為幾種類型，由羅馬數字表示之。包圍細菌外層的多醣類稱為「莢」(capsule)。此菌對宿主是否有致死能力，決定於莢的存在與否。我們將有莢的菌視為有毒性的(pathogenic)，以 S 表示之，通常這類的菌在培養基上的菌落有平滑、有黏性的外觀；相反的沒有莢的菌則為無毒性(non-pathogenic)，以 R 表示之，無毒性菌落為乾燥、粗糙的外觀。

實驗設計：肺炎雙球菌感染小老鼠實驗

由下圖可以清楚的看出事先加熱殺死的 S 型菌+活的 R 型菌混合注射到老鼠體內，會使得老鼠死亡，這就代表著活著的 R 型菌已經轉型變成 S 型菌了。(圖 3)



(圖 3 From Gene VIII Fig.1-3、1-4)

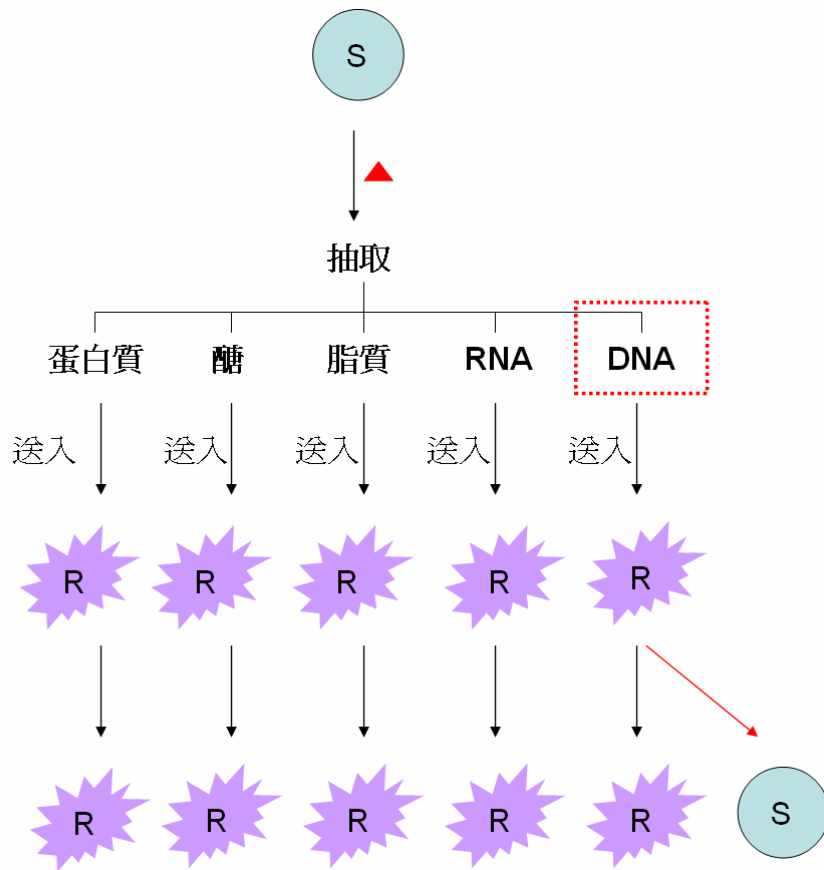
而 Griffith 的結論是：以熱殺死的 S 型細菌能使活的 R 型細菌發生轉型作用 (transformation)。即活的 R 型菌轉變成 S 型菌。

體外實驗的證據(In Vitro Evidence)：Avery-McCarty 實驗(圖 4)



到了 1944 年，O. Avery、C. M. MacLeod、M. McCarty 等人同樣利用肺炎雙球菌不同菌株之培養基內轉型或者分離各別成分，進行培養基內轉型，證明 DNA 是遺傳物質。同一時期大部分學者都以蛋白質為研究方向。

(圖三元及第-六-3) ←缺掃描一張圖

流程圖：



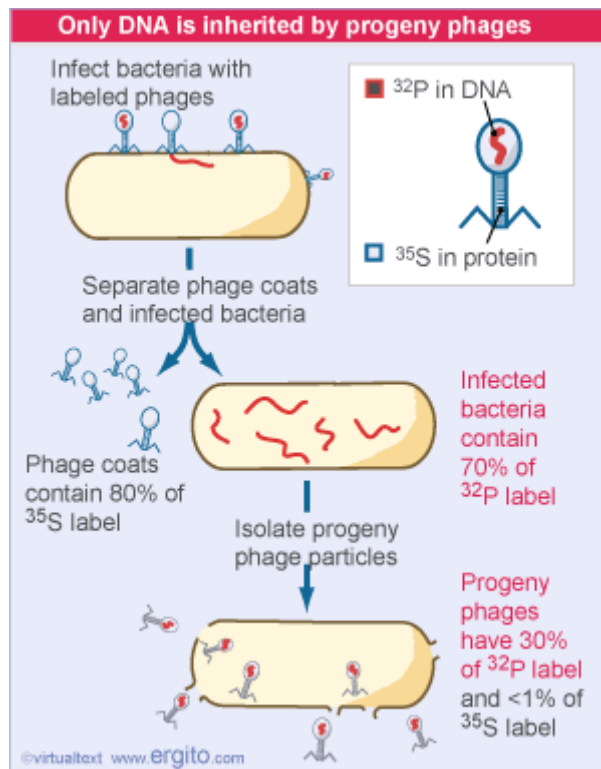
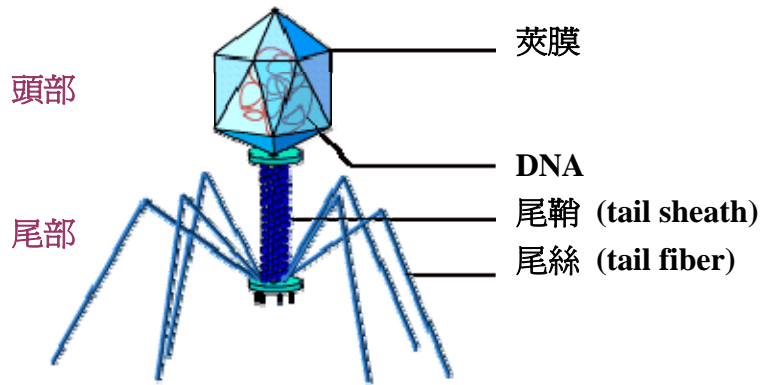
[圖 4]

  只有 DNA 可以使 R 型菌轉型成爲 S 型菌，所以 DNA 爲遺傳物質

Hershey-Chase 實驗：(這是證明 DNA 是遺傳物質最重要的證據)

1952 年，Alfred Hershey 及 Martha Chase 利用放射性同位元素 ^{32}P 和 ^{35}S 分別標定噬菌體 DNA 及蛋白質(甲硫胺酸，methionine 及半胱胺酸，cysteine)，感染無放射性同位元素之細菌，之後觀察其子代，含有放射性同位元素的部份爲 ^{32}P ，因此證明 DNA 爲遺傳物質。(圖 5.B)

噬菌體(bacteriophage，圖 5.A)是由蛋白質及 DNA 兩種巨分子所建構而成。跟所有已知的病毒一樣，它必須寄宿在活的細菌中才能生存。這噬菌體是一種病毒，它的結構簡單得出奇。它有一個六角形的頭，頭部中心含有 DNA，頭部後面拖著一條尾巴，尾巴稍上又有六根尾絲。當噬菌體感染細菌時，先用六根尾絲牢牢地粘附在細菌壁上。這時它的尾部放出一種酶，把細菌的細胞壁溶解開一個洞，然後就可鑽入。噬菌體與其他生物的細胞染色體的基因有一樣的物理、化學屬性，但是它又極簡單，就是一層蛋白質外殼包了一組基因。而且它繁殖得很快，侵入大腸桿菌內後，只要 20 分鐘就可繁殖數百個後代。



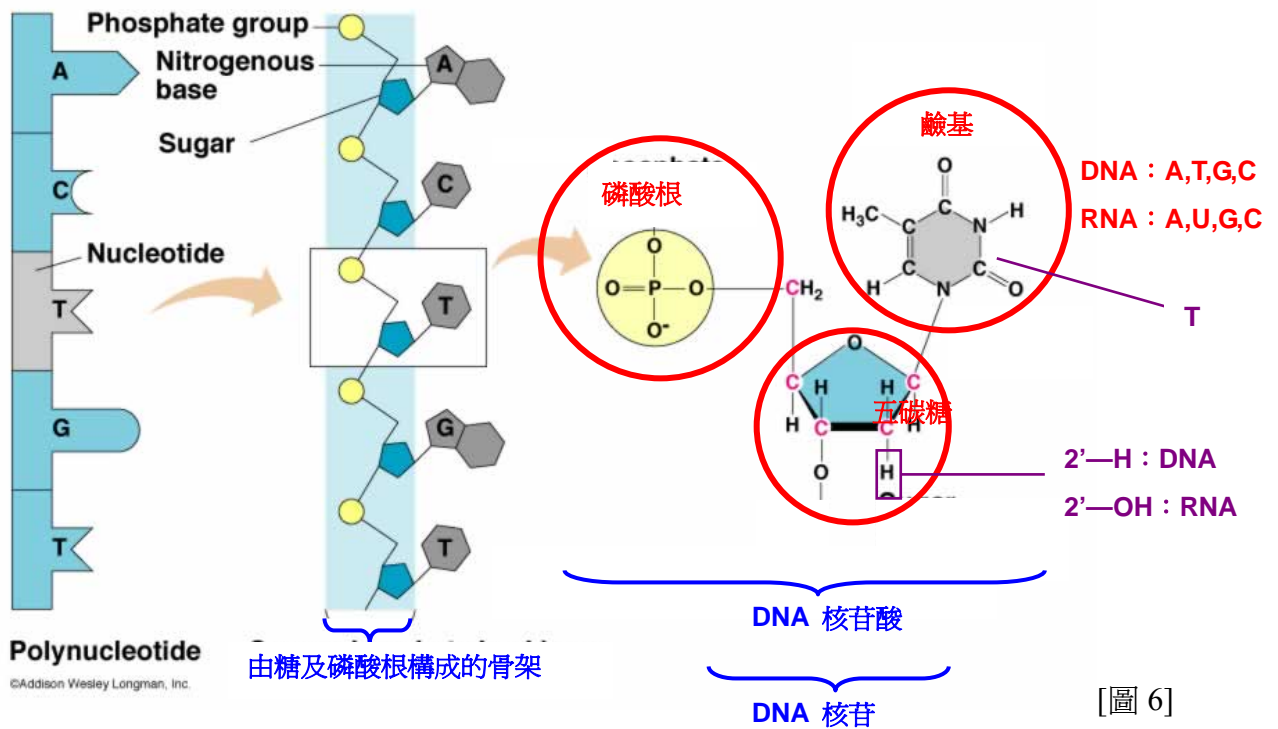
(圖5 From Gene VIII Fig.1-6)

核苷酸分子構造：

核苷酸(nucleotide)的組成：磷酸-^{5'}五碳糖^{1'}-鹼基(圖 6)

核苷酸是由磷酸根(Pi) + 五碳糖(sugar) + 鹼基(base)三大部份所組成的。其中磷酸根使得 DNA 有酸及帶負電的特性。而磷酸根、五碳糖、鹼基每個部份又有不同的組合；例如五碳糖的部份，就有核糖(ribose)及去氧核糖(deoxyribose)兩種選擇(圖 7.A)，而這兩種選擇分別造就了 RNA(ribonucleic acid)與 DNA(deoxyribonucleic acid)，也使得兩個分子在結構與性質上有所差異。舉個例子來說，通常我們一般所稱的 ATP 是指 RNA 分子，若要描述 DNA 則會以”dATP”來表示。另外，鹼基大致上分為兩大類：嘌呤(purine)(A、G)、嘧啶(pyrimidine) (T、U、C)(圖 7.B)，這裡以縮寫來表示，而縮寫分別代表的全名要牢記在心，最好也能用筆練習畫一下各個鹼基的化學結構式，之後有提到這些鹼基的地方會直接以其縮寫來表示(表 2)。另外，DNA 上的糖為 2'-去氧五碳核糖(圖)，”prime”是用來與氮鹼基上的碳原子區別(圖上的碳原子沒有 prime)。

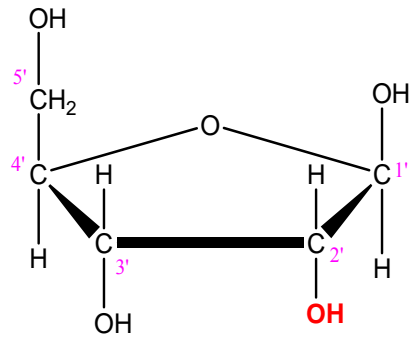
核苷(nucleoside)的組成：五碳糖^{1'}-鹼基



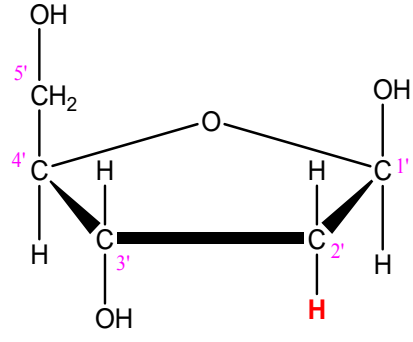
[圖 6]

[表 2]

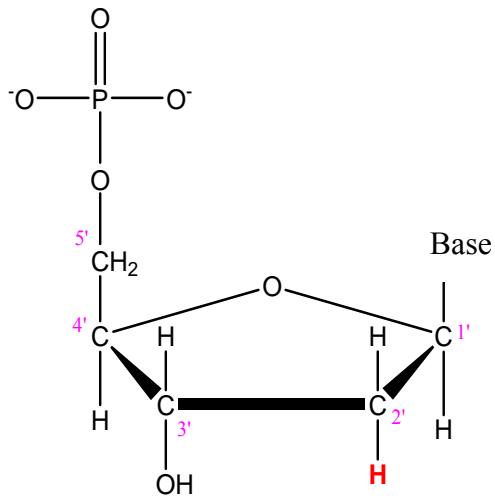
	鹼基				
	Purines 嘌呤		Pyrimidines 嘧啶		
	腺嘌呤 (A)	鳥糞嘌呤 (G)	胞嘧啶 (C)	胸腺嘧啶 (T)	尿嘧啶 (U)
核苷 (DNA)	Deoxyadenosine 去氧腺苷	Deoxyguanosine 去氧鳥苷	Deoxycytidine 去氧胞苷	Deoxythymidine 去氧胸苷	-
核苷酸 (DNA)	Deoxyadenylate (deoxyadenosine 5'-monophosphate) 去氧腺苷酸 (去氧腺苷 5'-單 磷酸)	Deoxyguanylate (deoxyguanosine 5'-monophosphate) 去氧鳥苷酸 (去氧鳥苷 5'-單 磷酸)	Deoxycytidylate (deoxycytidine 5'-monophosphate) 去氧胞苷酸 (去氧胞苷 5'-單 磷酸)	Deoxythymidylate (deoxythymidine 5'-monophosphate) 去氧胸苷酸 (去氧胸苷 5'-單 磷酸)	-
縮寫	A, dA, dAMP	G, dG, dGMP	C, dC, dCMP	T, dT, dTMP	-
核苷 (RNA)	Adenosine 腺苷	Guanosine 鳥苷	Cytidine 胞苷	-	Uridine 尿苷
核苷酸 (RNA)	Adenylate (adenosine 5'-monophosphate) 腺苷酸 (腺苷 5'-單磷酸)	Guanylate (guanosine 5'-monophosphate) 鳥苷酸 (鳥苷 5'-單磷酸)	Cytidylate (cytidine 5'-monophosphate) 胞苷酸 (胞苷 5'-單磷酸)	-	Uridylate (uridine 5'-monophosphate) 尿苷酸 (尿苷 5'-單磷酸)
縮寫	A, AMP	G, GMP	C, CMP		U, UMP



(A)核糖 (ribose)

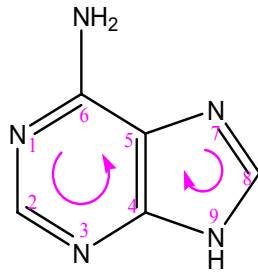


(B)去氧核糖(deoxyribose)

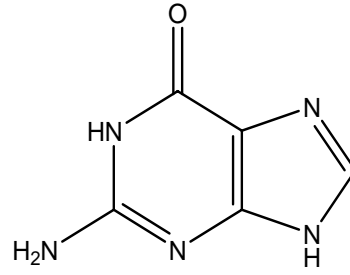


(C)去氧核糖磷酸(deoxyribose-phosphate)

嘌呤(purines)

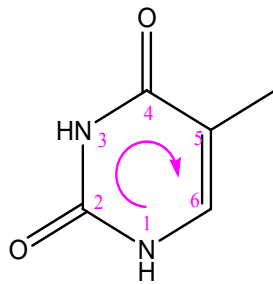


腺嘌呤(adenine)

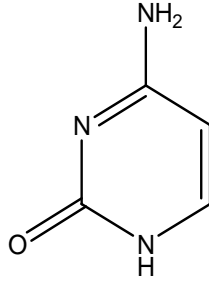


鳥糞嘌呤(guanine)

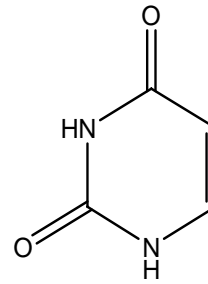
嘧啶(pyrimidines)



胸腺嘧啶(thymine)



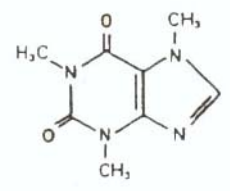
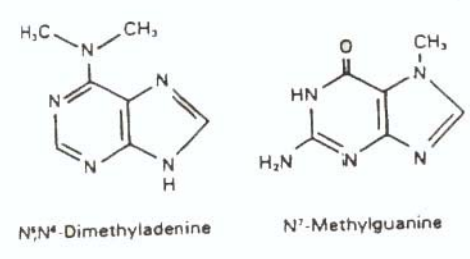
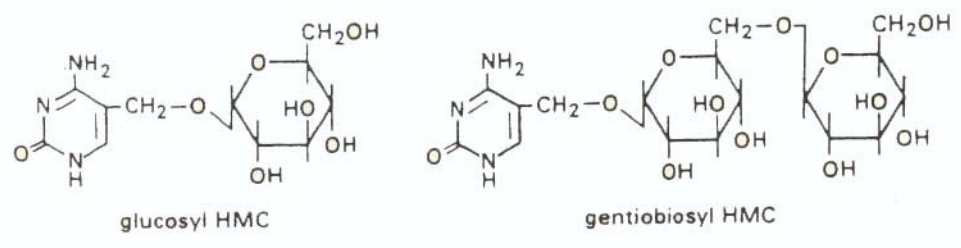
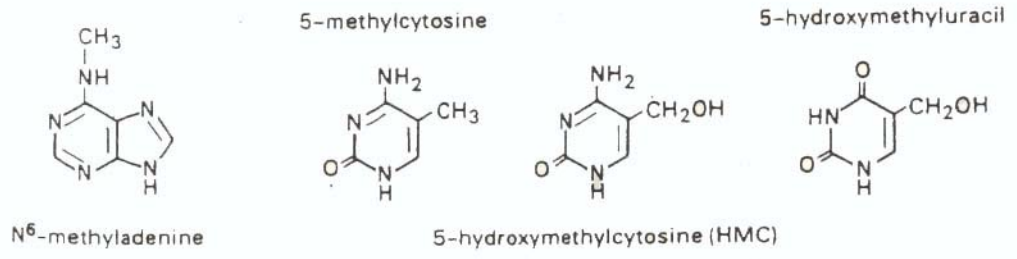
胞嘧啶(cytosine)



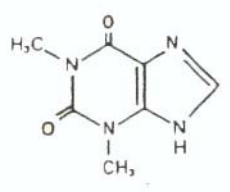
尿嘧啶(uracil)
(僅存在RNA中)

[圖7]

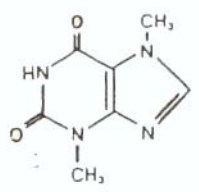
除了一般常見的 A、T、G、C 這四種鹼基，還有一些修飾過的鹼基(大多在 tRNA 中發現)、不常見的嘌呤及嘧啶、甲基化的嘌呤，這裡也順帶一提可以當做參考，不一定要把結構記住，這裡的重點只是說明，除了 A、T、G、C 外，還有其他鹼基的存在，只是一般比較不常見。(圖8)



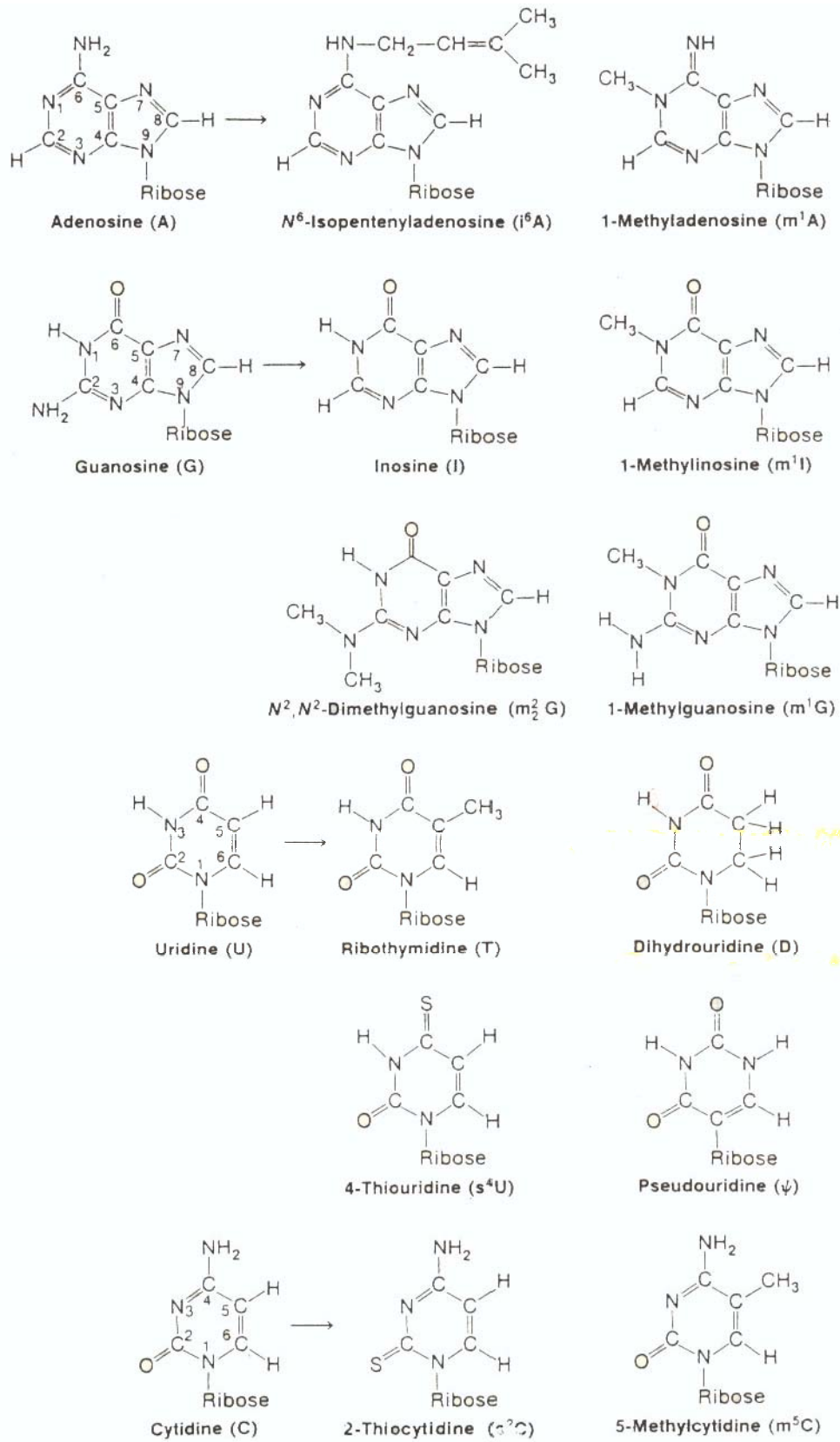
Caffeine
(1,3,7-trimethyl-xanthine)
咖啡因



Theophylline
(1,3-dimethyl-xanthine)
茶碱



Theobromine
(3,7-dimethyl-xanthine)
可可碱



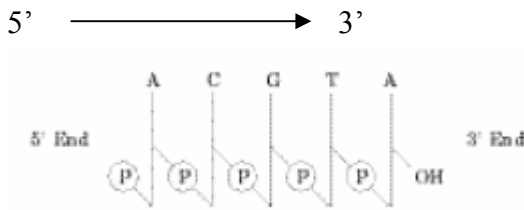
[8]

核酸：(核苷酸為單體聚合而成的大分子)

- 核苷酸以磷酸雙酯鍵(phosphodiester bond, 圖 10)連結而成一大聚合物(長鏈分子)

核苷酸分子之間，前一個核苷酸的 3'-OH 端，與下一個核苷酸的 5'-磷酸反應，以磷酸雙酯鍵結合，如此一直接下去，就成為核酸的長鏈。但最後有一個磷酸及一個-OH 是不被修飾(就定義言，5'端(5' end)是指在五碳糖上 5'的位置缺少核苷酸；3'端(3' end)是指在五碳糖上 3'的位置缺少核苷酸)，因此核酸的長鏈具有方向性，可以寫成 5'-P→3'-OH。它的表示法一般有以下幾種：(圖 9)

這邊有一個規定：「通常單股核酸分子的表示法，左邊代表 5'端，而右邊則為 3'端。(5'→3')」，所以當我們看到一段鹼基序列，倘若沒有標上哪邊是 5'，哪邊是 3'，就要直覺的在心中把左邊自動補上 5'，右邊則為 3'。



[圖 9] (改圖的顏色，配合下面的敘述，把 p 改成紫色)

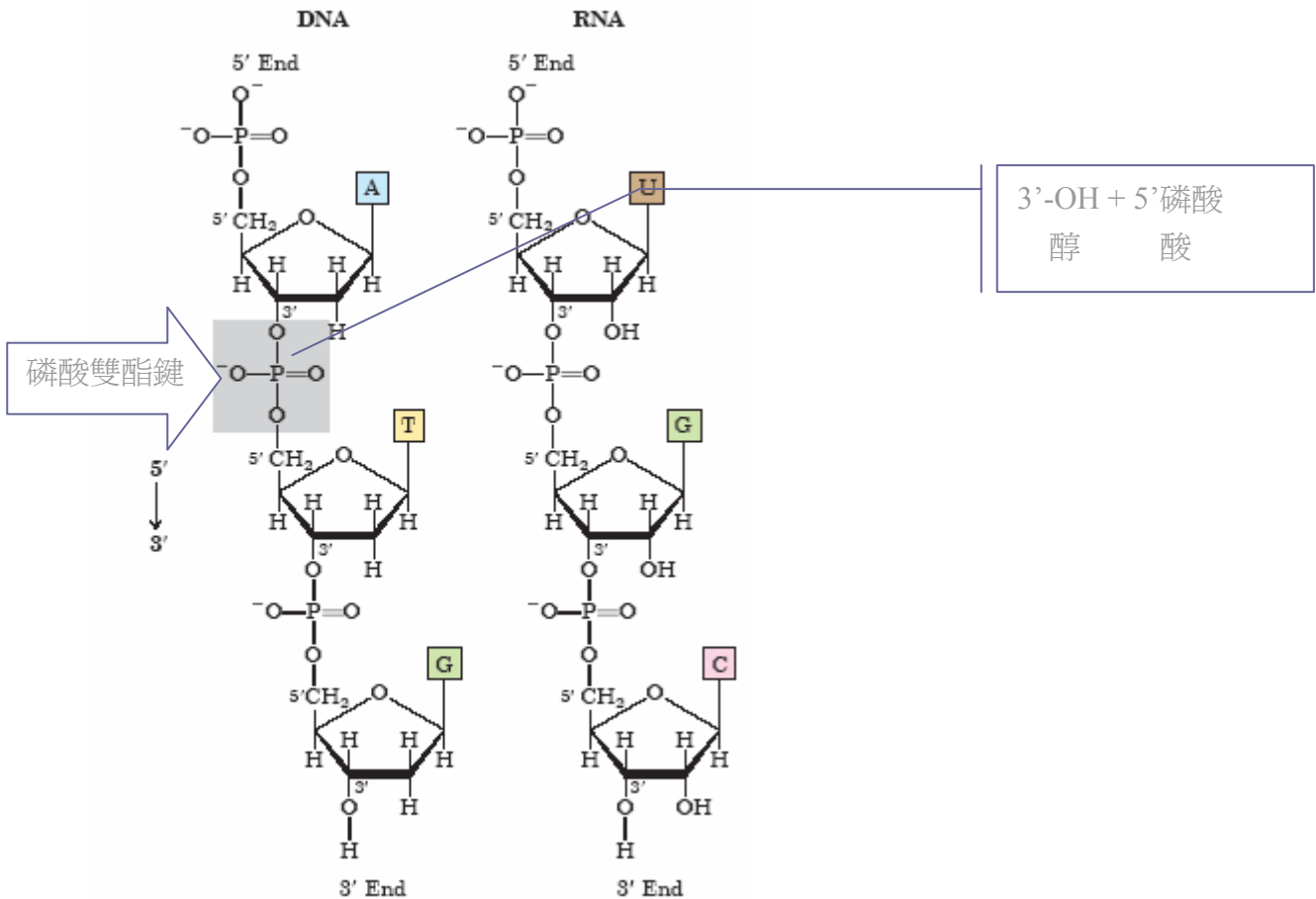
== pA-C-G-T-A_{OH}

== pACGTA

== pApCpGpTpA

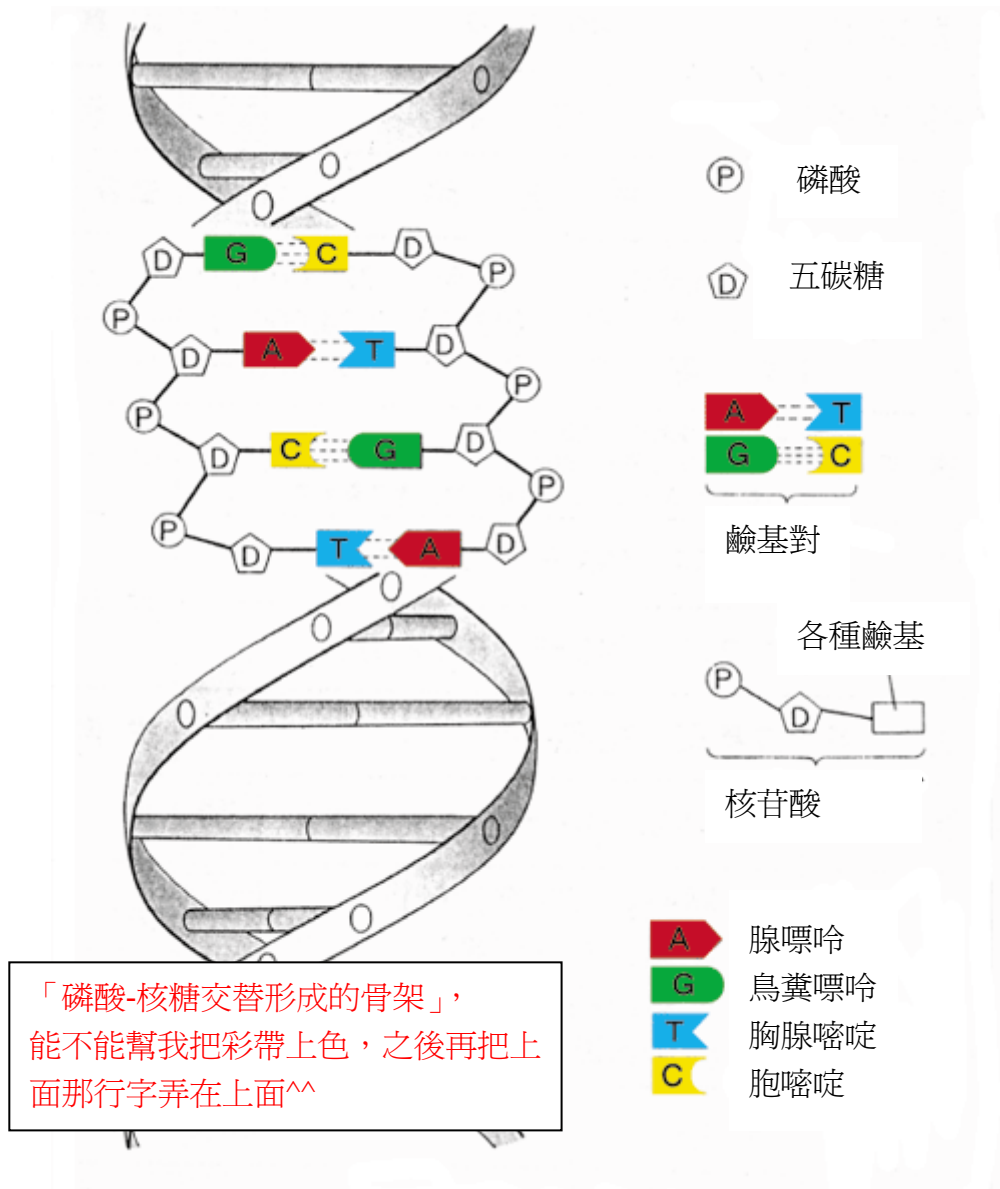
== ACGTA

另外，也提一下，DNA 分子在合成時的方向也是由 5'端到 3'端的。記住喔！一個單獨的核苷酸其 5'端是磷酸根；而 3'端則是羥基(-OH)。而一條開放的 DNA 大分子，是由核苷酸分子間彼此以磷酸雙酯鍵連接而成，一個接一個構成一長鏈巨分子。這邊所提到的方向性非常重要，之後 DNA 及蛋白質合成與其有重要的關連，所以方向性的觀念一定要建立起來。而兩條 DNA 核酸配對在一起時，其 5'-3'方向剛好相反(antiparallel)；這兩股 DNA 互相捲繞成為有名的雙螺旋(double helix)構造。



(圖 10 From Lehinger 4E Fig.8-7)

如同上面那張圖(圖 10)所示，磷酸雙酯鍵上的磷並非直接接在五碳糖的碳原子上，其中有氧原子介於磷及碳之間形成酯類(即 3'-OH + 5'磷酸)。因為形成二個酯類，分別與二個相鄰核苷酸連接，因此稱之為磷酸雙酯鍵。雙股 DNA 是指二條由磷酸雙酯鍵聚合而成的聚合鏈(或稱為股)。而這二股間是以氫鍵來穩定分子結構(A=T、G≡C)，使得這二股能彼此靠近。雙股 DNA 能穩定存在還需要其他因素：二核苷酸分子間以「磷酸雙酯鍵」連結；還有之前提到二股以「氫鍵」的力量來拉近二股的距離；另外，鹼基分子是疏水性分子，所以鹼基會在內以 A=T 及 G≡C 配對，而磷酸骨架露在外側，所以兩股 DNA 分子會相互扭曲形成雙螺旋，這種疏水性堆疊(hydrophobic stacking，意即非極性的核苷酸會自行排列，以避免與水分子的接觸)也會使得分子結構穩定；還有核苷酸分子間的凡得瓦爾力也會幫助其結構的穩定性。

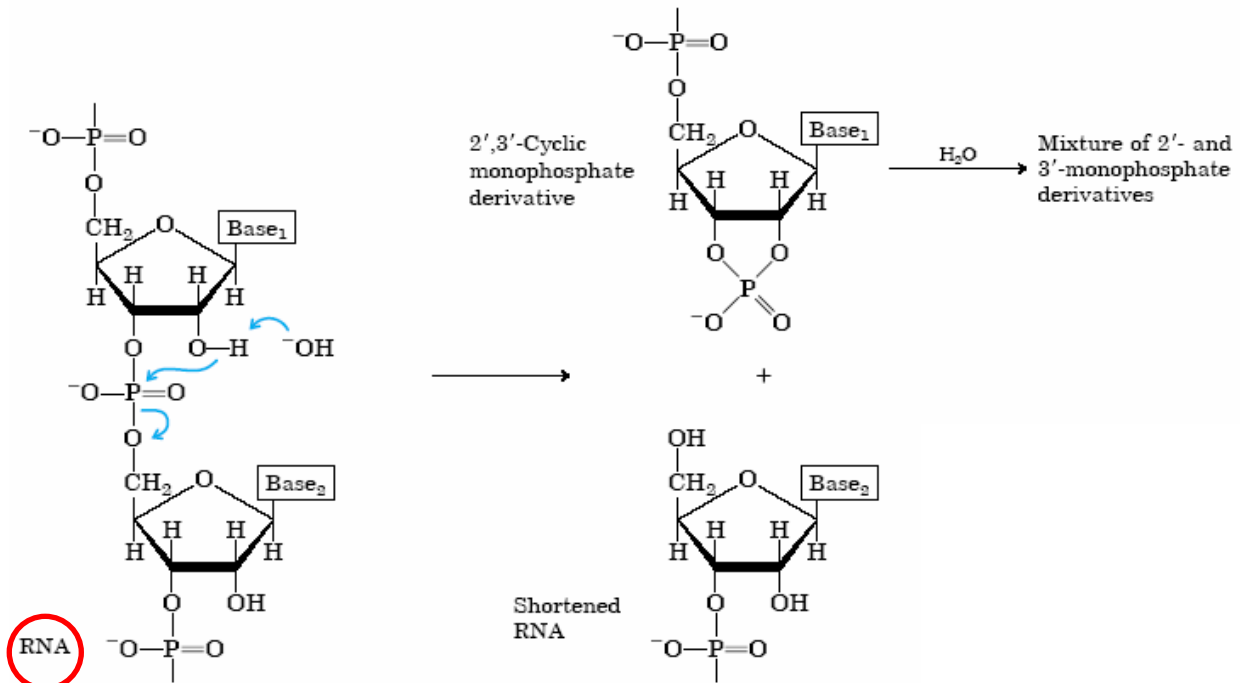


(圖 11 From

http://www.tamagawa.ac.jp/GAKUBU/NOUGAKU/agronomy/biology/matsuka/web_study/biology_m01/03dna/image/dna.gif)

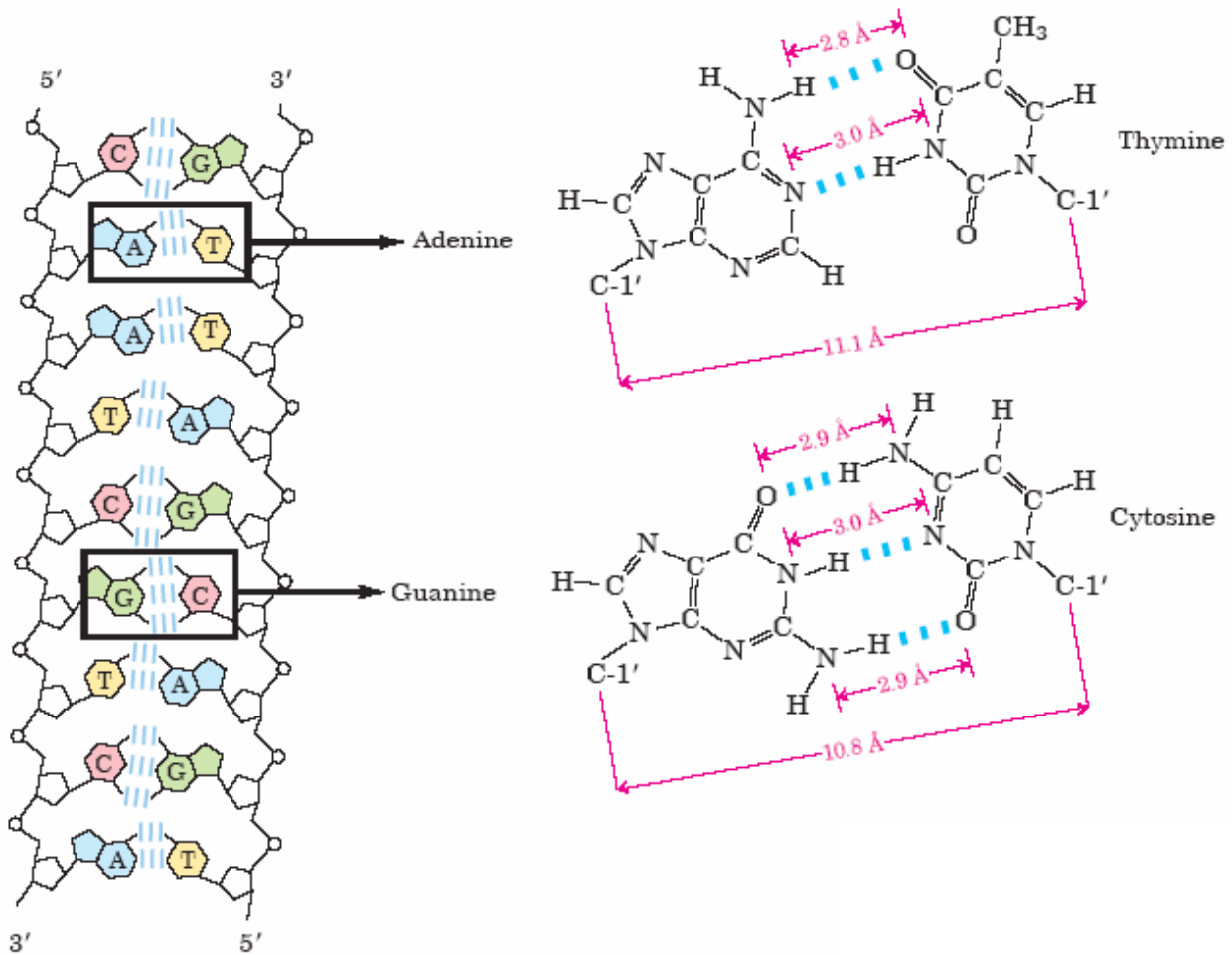
由於上述穩定 DNA 分子的因素，所以會構成這樣雙股螺旋的結構，上圖(圖 11)是以彩帶圖來代表 DNA 的結構。如同蛋白質的 N-C-C-N-C-C-N-C 骨架(backbone)，核酸長鏈也有分子骨架，它是以磷酸-核糖輪流出現的 P-R-P-R-P-R 骨架，而這個骨架是厭水性，其中若五碳糖為核糖，則所接起來的為核糖核酸(RNA)；若為去氧核糖，則為去氧核糖核酸(DNA)。一般而言 DNA 為雙股長鏈分子；RNA 大多為單股。DNA 分子中，A 的數目必等於 T；而 G 的數目等於 C，但是 A+T 的含量並不一定等於 G+C 的含量，這稱為查氏法則(Chargaff's rule)，這裡要注意一下，通常 RNA 為單股長鏈分子，所以它並不遵守查氏法則。

另外，也提一下爲什麼一般 RNA 較 DNA 不穩定的原因，一般在鹼性環境下，RNA 的 2'-OH 被鹼抓去一個氫原子而裸露出電子，容易去攻擊磷酸雙酯鍵，使得磷酸雙酯鍵斷裂，導致 RNA 巨分子逐漸變短而喪失其功能；而 DNA 並不會經由鹼的作用而產生相同的反應，其原因是 DNA 的 2'-位置上沒有游離的-OH(DNA 的五碳糖是去氧核糖)，以致無法形成 2',3'-環形磷酸鹽的中間產物，所以不能和鹼發生反應。詳細的過程，可參考下面這張圖。(圖 12)



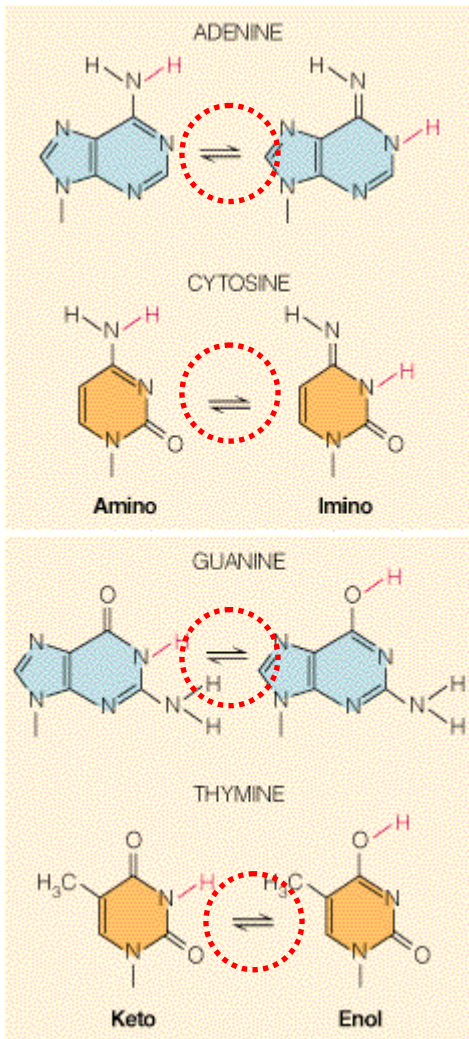
(圖 12 From Lehinger 4E Fig.8-8)

鹼基配對：



(圖 13 From Lehinger 4E Fig.8-11)圖中藍色的虛線就是氫鍵，所以也可以知道一般我們用「A=T」、「G≡C」表示A和T之間存在二個氫鍵；G和C之間則有三個氫鍵。對一個雙股螺旋DNA長鏈而言，有可能存在成千上萬的核苷酸對，因此就有約2~3倍核苷酸數目的氫鍵將二股拉在一起。另外，也留意一下，二股DNA分子是反向平行的(antiparallel)。

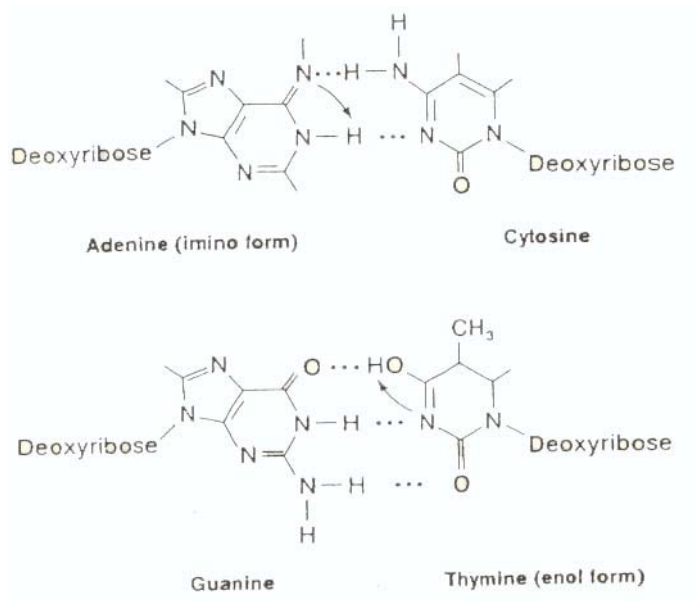
先提一下，這裡所謂的鹼基配對是指A、T(G與C)間會以氫鍵彼此吸引靠近，至於為什麼是A與T、G與C配對呢？因為A=T、G≡C是比較穩定的配對，所以自然界中的生物都依循著這個規則，但由於adenine的鹼基上-NH₂基團有可能經由自發性轉變為=NH時，會使得A=T配對轉變為A=C配對，這個現象稱為互變現象(amino-imino tautomerism)；而guanine的鹼基上-CO基團經自發性轉變為-C-OH時，使得G≡C配對轉變為G≡T配對，這個現象亦稱為互變現象(keto-enol tautomerism，見補充)。如下圖所示：(圖 14、15)



麻煩妳幫我把中間的線重畫，應該不一樣長才對，趨向於往左(即往左的單箭號要比較長)

(圖 14 From *Biochemistry Mathews 3E Fig4-4*)

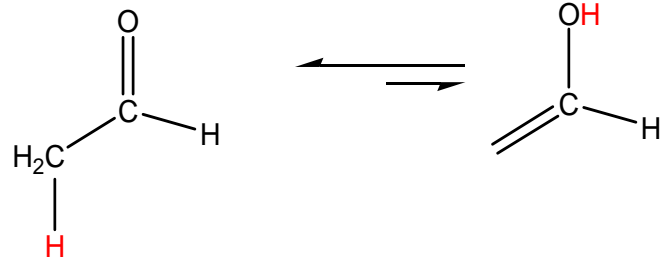
A、C 通常是 amino form，很少的情形是 imino 的構形；
G、T 通常是 keto form，很少的情形是 enol 的構形。



[圖 15]

補充：

互變現象：某些有機化合物的結構以兩種異構物(只差在兩個官能基)互相迅速變換而處於動態平衡的現象，要注意看清楚，這並不是共振現象。舉個例子來說：酮類與烯醇的互變現象



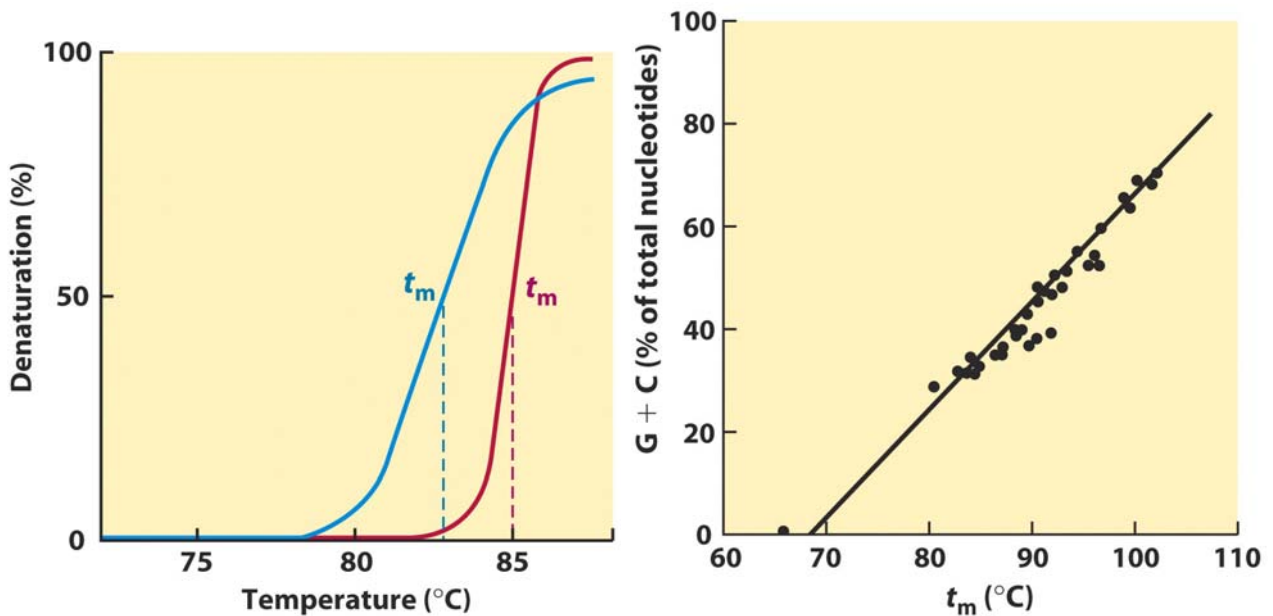
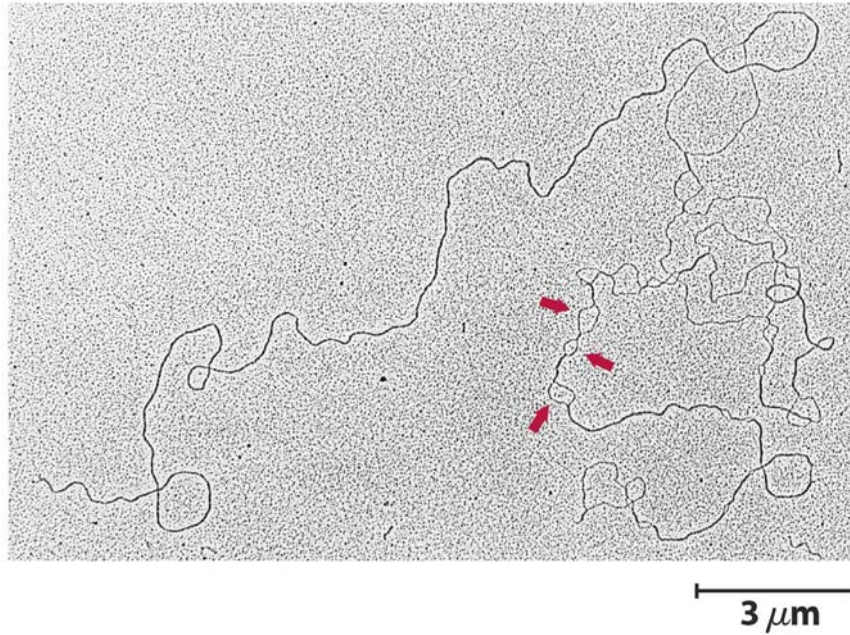
(keto form)

(enol form) 烯醇

[圖 16]

一般而言，這個動態的平衡會趨向於 keto form 這邊(即往左)，因為 C=O 的鍵能較大，但也是有例外的情況。

接下來談談核酸的化學性質，在室溫(25°C) pH 7.0 時，純化的DNA溶液具有相當高的黏稠度。此時如果改變其酸鹼值或高於 80°C 以上的高溫時，它的黏稠度會下降的非常明顯，這樣的結果顯示DNA的物理特性發生了改變。就如同球狀蛋白質在極端的pH值或高溫下會變性一樣。DNA或RNA在此種環境下會變性，雙股螺旋會解開(melting)。而當DNA分子本身被變性解開一半時，所需之的溫度，我們就定義為 T_m 值(變性溫度，denature temperature或融點，melting point，圖 20B)。它的算法是： $T_m = 69.3 + 0.41(G + C)\%$ ；所以很顯然的GC含量越高， T_m 值越高，這是因為G≡C之間有三個氫鍵，相較於A=T不易打斷。當鹼基和鹼基之間的氫鍵遇高溫時會被打斷，鹼基堆疊的作用力也會被破壞，因此DNA的雙股螺旋結構會被解開而使兩股全部或部份的分離(partial denature)，但是DNA分子的共價結構則是完全沒有受到破壞。在控制變性的情況下，DNA中A=T較多區域會形成泡泡(bubbles，圖 20A)的樣式，所以一般DNA複製與轉錄時，需要兩股打開，而這兩股打開的起始點，通常其A=T含量會較多。DNA的復性(renature)是一個單一的快速反應步驟。當兩股的DNA變性時，若還有十幾個或以上的鹼基結合在一起，則當溫度和pH值回復到一般生物存活的範圍內，兩股解開的DNA會自動地恢復成爲雙股螺旋的結構。然而若是兩股DNA完全的分離，則DNA若要恢復性質就必需要經過兩個步驟。第一個步驟是較慢的，兩股DNA需隨機的先找到和自己互補的一小片段，待此小片段形成短的雙股螺旋才能進行第二個步驟；第二個步驟的反應速率較快，剩下未配對的鹼基會連續地形成配對，就如同拉鏈一樣，最後兩股鹼基會結合成雙股螺旋。雙股的RNA或RNA-DNA也是可以變性的，但是雙股的RNA比雙股的DNA來得穩定，因此在中性的pH下，要打開雙股RNA的溫度會比要打開同等序列的DNA高上 20°C，而DNA-RNA的穩定度則介於雙股RNA與雙股DNA之間。

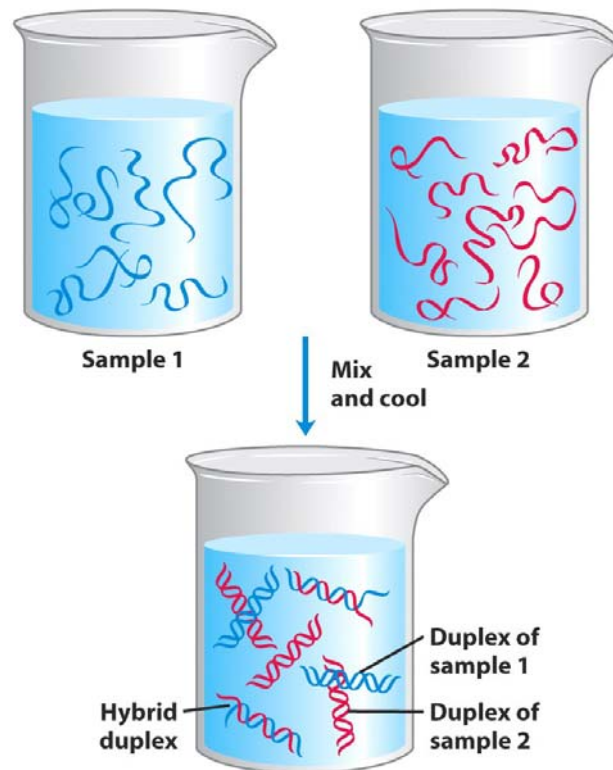


(圖 20 From Lehinger 4E Fig.8-30.31)

兩股鹼基緊密的作用會使核酸對 UV 的吸收值下降，因此若有相同濃度的自由核苷酸溶液，其對 UV 的吸光值會比雙股緊密結合的 DNA 還高。這就是所謂的減色效應(hypochromic effect)。因此，若雙股的核酸變性後其吸光值會上升，這種現象稱為增色效應(hyperchromic effect)。所以，DNA 由雙股暫時變成單股的情形可用其對 UV 的吸光值來檢測。

不同物種間的核酸也是可以相互雜交(hybridize, 圖 21)，我們可以利用互補的 DNA 有互相配對的特性，來檢驗不同物種間是會有相似的基因存在。假設我們有兩個樣品分別為人類與老鼠的 DNA，首先加熱使得人類與老鼠的雙股螺旋解開成單股，並將它們充分的混合，置於 65°C 下好幾個小時，結果發現大多數的 DNA 會互相黏點成雙股，其中大部份老鼠的單股 DNA 會其互補的另一股老鼠 DNA 形成雙股，人類也是同樣會狀況，但是有少部份的老鼠單

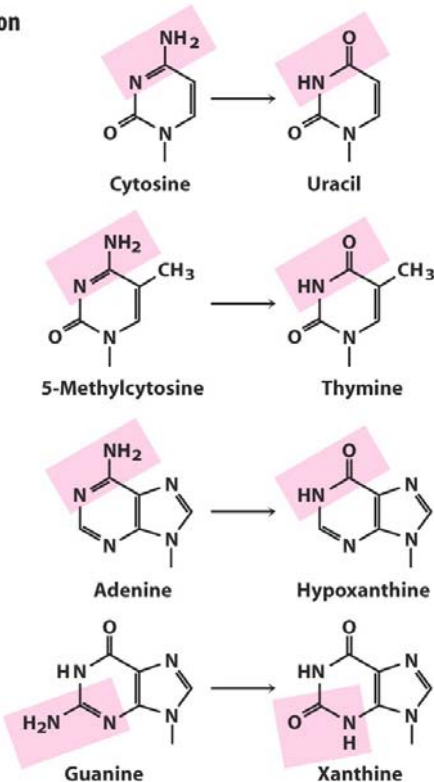
股 DNA 片段會和人類單股 DNA 片段黏合而形成雜交的兩股(hybrid duplexes)。這種現象顯示出演化過程中不同物種間還保有相似功能的構造基因片段。兩段不同來源的 DNA 可以互相雜交，在分子遺傳學上有廣泛的應用，雜交的技術也可以用來檢測 RNA，犯罪現場遺留下來的生物訊息，或用在致病基因的診斷。



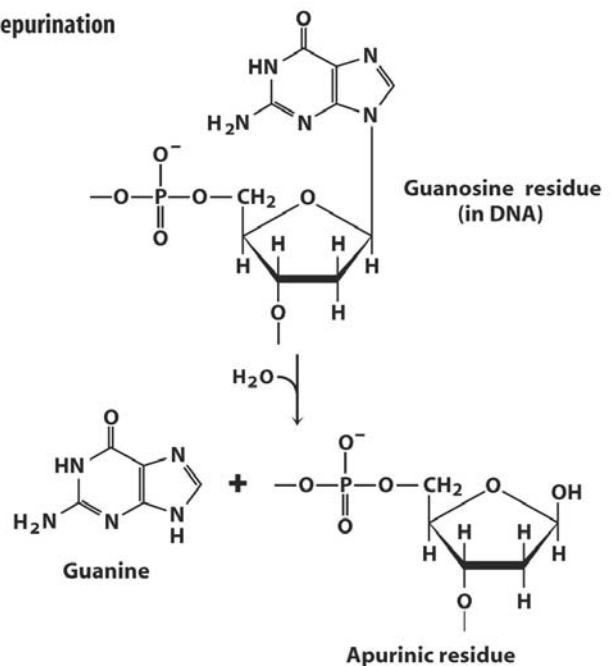
(圖 21 From Lehinger 4E Fig.8-32)

之前有稍微提過，核酸間會自動的轉換成其他鹼基、或修飾過的型式(圖 22)，但是這種變異的速度是非常緩慢的，而且細胞也有一套自我修復的機制，因為若這些變異存在而無法被及時修復時，就會導致遺傳訊息的編譯改變，這種現象稱為突變(mutations)，有許多證據指出老化和癌症都和突變有一定的關聯性。

(a) Deamination



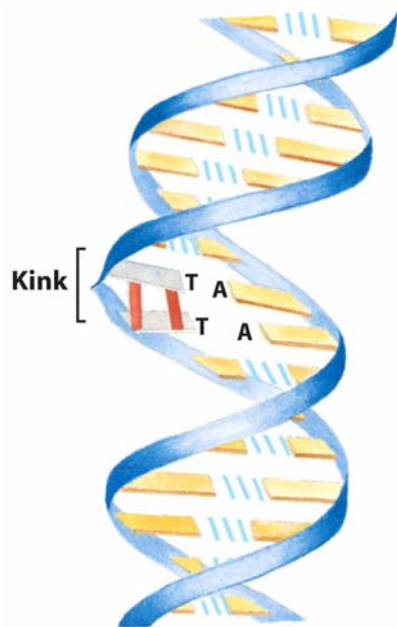
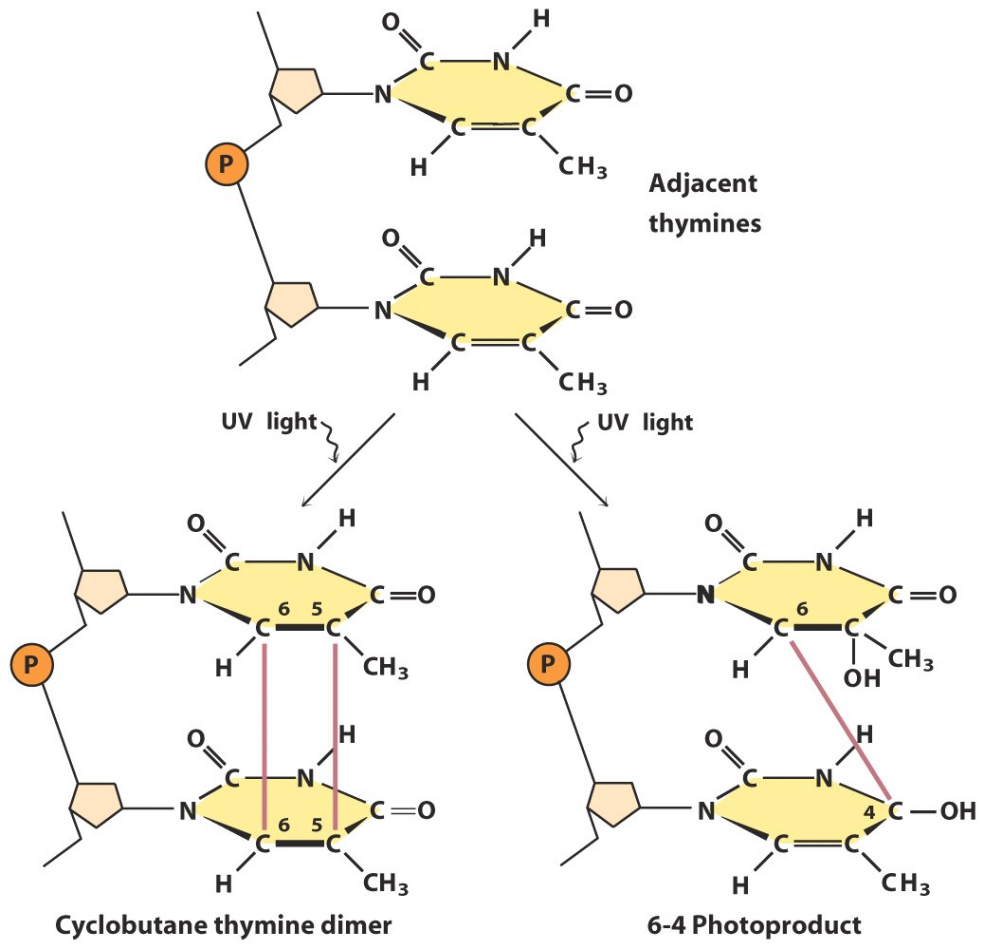
(b) Depurination




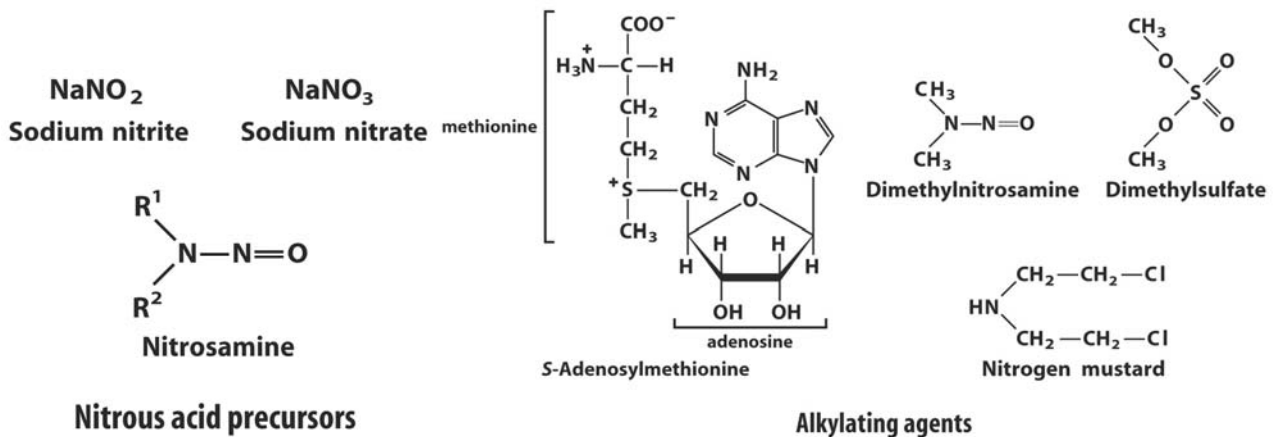
(圖 22 From Lehinger 4E Fig.8-33)

然而曝露在大量的放射線環境中則更容易促使核酸分子發生變異，如UV光會誘導DNA相鄰兩個胸腺嘧啶發生T=T二聚體(T=T dimer, 圖 23)，或是另一種 6-4 光產物(6-4 photoproduct)，如圖。游離輻射如X光和伽嗎射線(γ -ray)會導致環狀結構的打開、鹼基的斷裂和核酸骨架共價鍵結的斷裂，因為這些輻射的能量都相當的高，有足夠的能力去破壞核酸分子結構。還有DNA也會受到化學物質的影響而分子發生改變，兩種較著名的化學試劑去胺基試劑如亞硝酸(HNO₂)或其衍生物亞硝酸鹽(圖 24)；第二種為烷基化試劑(alkylating agent)。亞硝酸是一個有效的鹼基去胺加速藥劑，常常用來當防腐劑使用。而烷基化試劑會造成DNA某些鹼基發生變異，如高活性的二甲基硫酸鹽會使鳥糞嘧啶甲基化產生O⁶-甲基鳥糞嘧啶，使其無法與胞嘧啶配對。另一個會危害DNA的來源是氧化反應，激發態的氧如過氧化氫、羥(\cdot OH)和超氧化自由基等，這些都會經由複雜的氧化反應對核酸和鹼基造成破壞進而使DNA受到傷害。

雖然日常生活中潛著許多致癌物質，它們致癌的原因亦是經由對DNA的鹼基加以修飾。然而DNA是大分子中唯一具有修復機制的，所以DNA比RNA或蛋白質更能準確而忠實的保留遺傳訊息，而這些修復機制將在後面章節詳細討論。



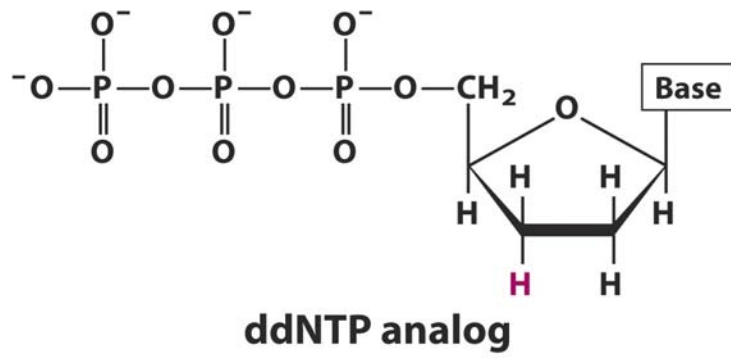
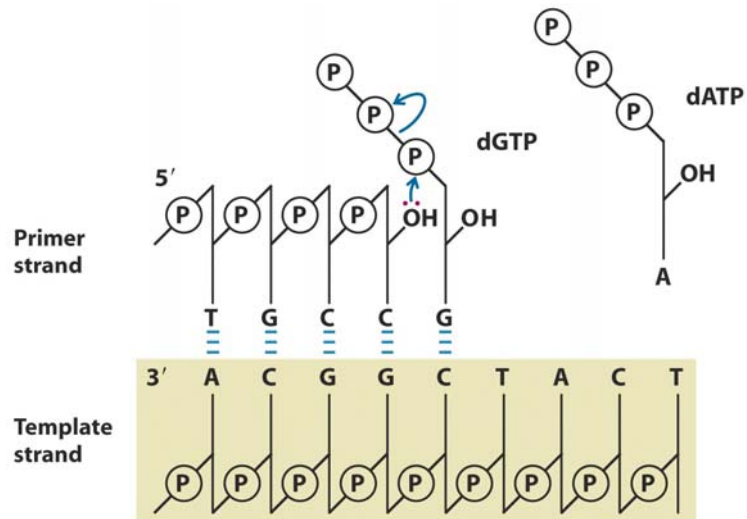
( 23 From Lehinger 4E Fig.8-34)

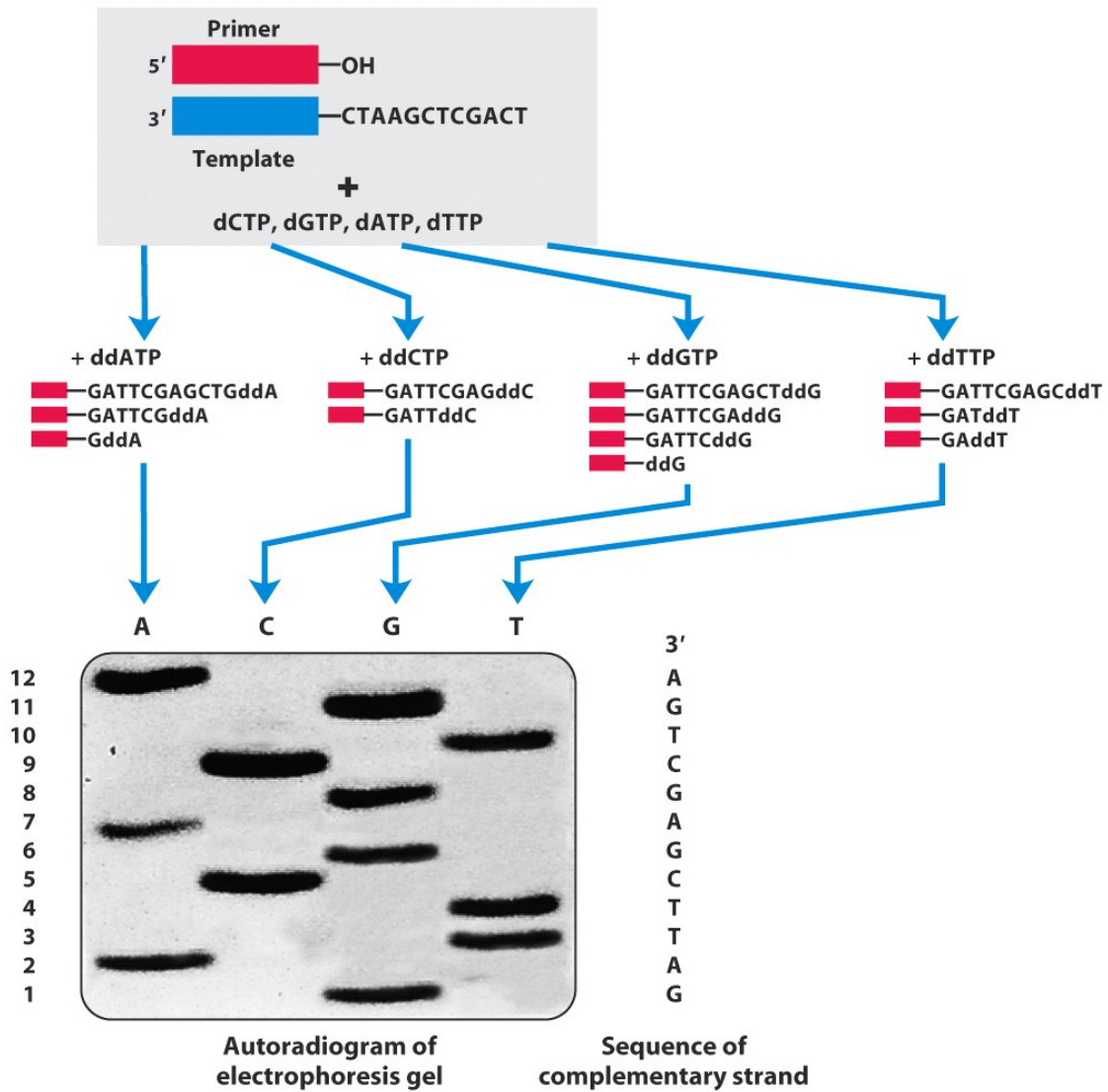


(圖 24 From Lehinger 4E Fig.8-35)

人類在 1990 年開始人類基因組計畫，其中最主要的目標就是將所有人類的基因全部定序出來，即為完全解讀人類 DNA 中所有核苷酸之排列順序。由於 DNA 的功能是保存遺傳訊息，所以 DNA 最重要的特性就是上面鹼基序列。在 1970 年代以前，要定出一段長度約為 5~10 個核苷酸的核酸序列是件非常困難的事。但到了 1977 年時有兩個 DNA 定序的技術被發展出來。一種是麥可林(Alan Maxam)和基伯特(Water Gilbert)發明的；另一種是山格(Frederick Sanger)發明。這兩種方法都需要用到電泳技術(圖 25)，這種電泳方法與蛋白質電泳一樣。聚丙烯醯胺(polyacrylamide)是用在分離小片段的 DNA(通常是指少於 100 個核苷酸)常被用來當作電泳膠的基質；洋菜膠(agarose)則是用來分離大片段的 DNA。山格的方法在技術上比較容易也較為廣泛的應用，所以這裡以山格定序方法來說明 DNA 的定序。山格需要 DNA 聚合酶、引子(primer)、dNTP、ddNTP、模板股(template)。DNA 聚合酶是用來與引子、模板股、dNTP 結合，延長引子股。引子 3' -OH 會和 dNTP 反應形成磷酸雙酯鍵。這邊只是稍微說明一下，後面 DNA 複製會有更詳細的描述。而 ddNTP 則是用來中斷 DNA 的合成，當一個 ddNTP 被用來當作合成材料時，則會停止合成。我們看一下 ddNTP 的結構，它在 2'、3' 都是接上氫(H)，所以它在 3' 上並沒有 OH 官能基可以與下一個 dNTP 的磷酸根形成磷酸雙酯鍵，所以就中斷 DNA 的複製。欲被定序的 DNA 會當成模板，加入一個以放射線或燭光標定的短引子，此引子會和模板黏合。再將單一種少量的 ddNTP 加入正常的反應中，

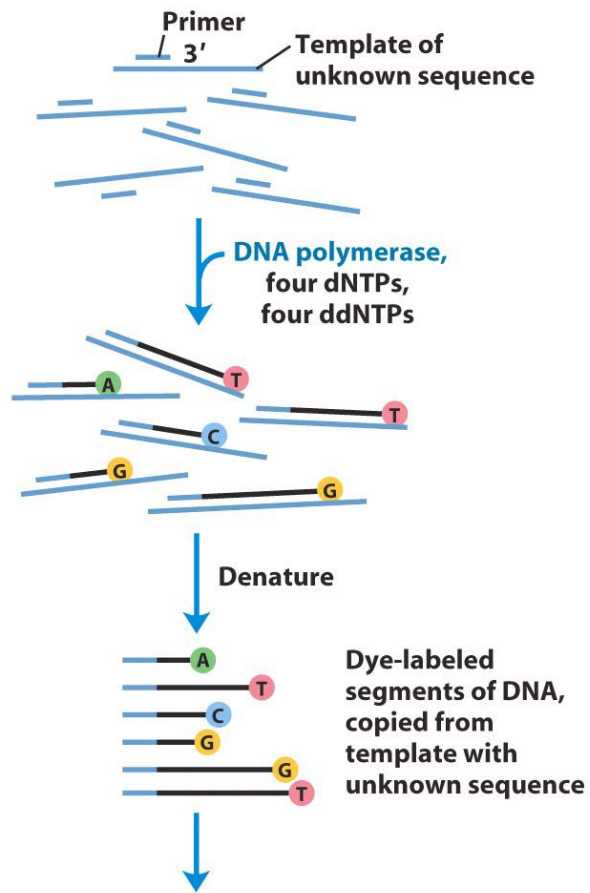
因為較短的片段在電泳膠上移動較快，所以愈靠近電泳膠底部的 DNA 片段代表愈靠近引子(5' 端)的核苷酸。因此，此序列的讀取方式(由 5' 到 3')為從底部往上讀。注意，所讀出的序列是與被分析的序列(模板股)互補的。

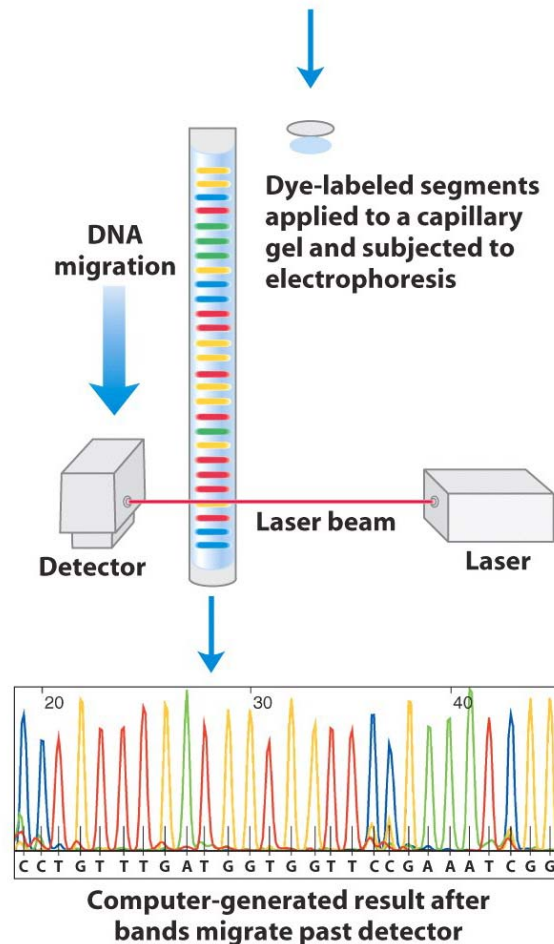




(圖 25 From Lehinger 4E Fig.8-36)

現在 DNA 定序工作都已自動化了，自動定序的原理是改良了山格定序的方法，將 4 種 ddNTP 標定上不同的螢光。就如下圖所示(圖 26)。





(圖 26 From Lehinger 4E Fig.8-37)

最後我們來看一下核苷酸其他的功能，核苷酸除了有保存遺傳訊息、參加重要生理功能：核苷酸除了組成核酸外，另有下列生理功能。

- (1) ATP (或 GTP 等三磷核苷酸) 是攜帶能量的分子。ATP 經常會活化許多代謝小分子，以進入特定的代謝途徑；例如 Glc-1-P 被 UTP 修飾為 UDP-glc，可參加肝糖合成。
 - (2) 構成輔酶，是某些酵素不可缺的輔助因子；如FAD, NAD⁺ 及coenzyme A (CoA)。
 - (3) cAMP 是傳遞細胞內外信息的分子，稱為 第二傳信者 (second messenger)。
- 有些核苷酸可當成調控分子