

文章编号: 1004-0374 (2009) 01-035-04

· 新思维 ·

拷问双螺旋

徐有成*

(美国德克萨斯大学达拉斯西南医学中心, 美国)

摘要: DNA真的完全是右旋的双螺旋吗(plectonemic)? 作者提出了一些疑问, 并用实验证明质粒分子的拓扑环绕数可以为零, 这是经典双螺旋结构不能解释的现象。据此实验观察以及若干其他证据, 作者提出了关于DNA双螺旋结构的假说——左右旋共存的双螺旋(ambidextrous), 供研究和讨论。希望读者能革除先入之见, 用开放的态度来独立思考、分辨是非、认真审视本文中不见于教材的新观点, 从而作出自己明智的判断。

关键词: pBR322; 旋转酶; 左旋DNA; DNA复制; 拓扑环绕数; 8字结构

中图分类号: Q523 **文献标识码:** A

To interrogate the double helix

XU You-cheng*

(University of Texas Southwestern Medical Center at Dallas, USA)

Abstract: Is DNA really right-handed (plectonemic) double helix? The author asked several questions and proved that the linking number of a plasmid could be zero, which is a phenomenon unexplainable by the traditional double helix model. Based on this observation and several other evidences, a hypothesis about the double helix was proposed. It is called ambidextrous double helix, in which the two strands are supposed to wind in both directions. This essay is provided for discussion. It is hoped that the readers can block their first impression, keep their minds open, to think carefully, independently, critically on the novel ideas that were not written in textbooks and to make their own judgments.

Key words: pBR322; gyrase; left-handed DNA; DNA replication; linking number; figure 8 structure

作者与DNA双螺旋打了几十年交道, 对它严刑拷问, 用尽了种种酷刑——开水烫(boiling method)、灌辣椒水(alkaline method)、躺钉板(sample fixing for EM)、上电椅(electrophoresis)、电击(electroporation)……终于从它身上榨出了一些秘密, 从而提出一些不见于经传的主张。这些主张可能只是个人闭门造车的一得之见, 也许完全是无稽之谈。本着“百花齐放, 百家争鸣”的宗旨, 现在提出来供有兴趣的朋友批评和讨论。

1953年, Watson和Crick提出了DNA双螺旋结构模型。后来, 诸多事实证明了DNA的确如模型指出的那样, 是反向排列的两条脱氧核糖核酸长链由氢键维系在一起的生物大分子。互补碱基之间的配对为DNA分子的自我复制提供了合理的解释。经

典双螺旋结构还根据分子模型提出, DNA每10个碱基对构成一个右旋双螺旋。在当时, 这是一个惊天动地的新思想, 推动和促进了一系列重要的科学发现, 从而奠定了分子生物学的基础。DNA双螺旋模型的发现已经被公认为20世纪最重要的发现之一。

这一双螺旋结构模型经过了50多年的考验, 被认为是正确无误的理论, 写进了生物化学和医学的教科书。一代又一代的学生在经典双螺旋模型的指导下成长为学者和教授。这种有关经典DNA双螺旋模型的先入之见已经不知不觉地深深植入了许多学者脑中, 形成了思考问题的一种习惯。

然而, 随着许多实验事实的积累和生物化学的

收稿日期: 2009-01-12

*通讯作者: ycxu2001@hotmail.com

飞速进步,在解释DNA的复制时遇到了许多当初提出双螺旋模型时没有想到过的问题。简要说起来有下列几点:

(1)许多事实证明,在大肠杆菌中DNA的“双向,半保守”复制机理是一个不容怀疑的事实。DNA在每一个复制叉处的推进速度为每秒1 000碱基对,因此,按双螺旋模型,DNA的解旋速度为100转/秒,即6 000转/分。这难免令人怀疑——纤细的DNA长链能在黏稠的菌体体液内这么快地旋转吗?这么快地解旋必然会受到极大的阻力,难道阻力不存在了吗?正是它,激发了作者追根究底的好奇心!

(2)环状双链DNA在复制的时候会碰到十分棘手的拓扑学难题:复制前,大肠杆菌中环状双链DNA的拓扑环绕数约为四十万($L \approx 400\ 000$),在短短40 min里,这么高的拓扑环绕数必须降到零,才能使新生的两个细菌各有一条完整的、独立的环状双链DNA。

拓扑异构酶发现以后,人们一度以为万事大吉,解开环状双链DNA这个拓扑学难题就可以依靠这种酶的魔力了!但是实际上,大肠杆菌里的拓扑异构酶尽管有好多种,真正在DNA复制时起解开双链作用的只有旋转酶(gyrase)。在大肠杆菌里,这个酶的数量有限、酶催化反应速度又很慢(6次/旋转酶/分)。计算表明,即使全部旋转酶都被用来解开双螺旋,还是不足以使拓扑环绕数在40 min内降低到0。

(3)从拓扑学的角度来看,只有结合在复制叉前端的旋转酶才对解开双链有意义。复制时,随着大肠杆菌里两个复制叉同时向复制终点靠近,在母链上可结合旋转酶的位点会越来越少,DNA复制就会越来越慢。这与事实不符。

(4)大肠杆菌的DNA复制是一个十分复杂的过程,需要几十种生物因子和酶的共同参与和精巧配合,它们组合成一个庞大的称为复制体(replisome)的DNA复制机器。以往人们以为,在复制时,复制体像火车一样在双链DNA的轨道上开,开过之后,一条DNA就变成两条了,有点像拉开拉链一样。可是当人们认识到复制体的复杂成份、庞大体积和分子量后改变了想法。较新的观点是:复制体作为一台巨大的工作母机是很难在大肠杆菌体内作相对移动的。在一个快速生长的大肠杆菌里,可以有4个以上的起始点和6个以上的复制叉!这就使DNA复制更困难了。按经典的双螺旋结构理论,复制时DNA必须飞快地解旋,这是一个牵动整个分子的动作,现在它要解旋就必需联带着拖动该复制叉

前面的其他复制体,这显然是一个不可能完成的任务。此外,在一个生长旺盛的大肠杆菌里,它的DNA在复制的同时还在转录许多转运核糖核酸(tRNA)、信使核糖核酸(mRNA)、核糖体核糖核酸(rRNA),这就使DNA复制所必需的解旋运动还要背上这些重重的额外负担!

(5)科学研究的目的是要揭露隐藏在自然现象背后的规律。复杂的生命现象是可以科学来解释的。在生命科学高度发达、大肠杆菌的全部DNA碱基排列顺序已经测定出来的今天,几乎不可能再发现有新的拓扑异构酶来解开DNA双螺旋。

这些问题折磨着包括作者在内的许多人。究其根源,这些问题都源自右旋的经典双螺旋结构模型!为了避免这些不可克服的困难,有些科学家提出了并排并(side-by-side)的双螺旋结构模型——每5个碱基对长度的右旋双螺旋和5个碱基对长度的左旋双螺旋连在一起。可是,这种改进的结构模型并没有得到实验事实的支持。

应该指出,经典双螺旋结构模型在提出的时候,并没有充足的证据可以证明双螺旋是右旋的。出人意外的是:第一个小片段DNA的X-射线晶体结构分析的结果竟是左旋的Z-DNA。当前学术界普遍认可的观点是:在溶液里,DNA主要以右旋双螺旋的形式存在。

显然,以上这些对右旋双螺旋结构的疑问不能从经典双螺旋结构模型里找到答案。

经过多年的探索,作者用实验证明了环状双链DNA的拓扑环绕数(L)可以为零。这是一个用经典双螺旋结构模型不能解释的现象,也是反证法的一次成功的应用。作者据此提出了一个假说——在天然DNA分子中,左旋双螺旋和几乎等量的右旋双螺旋共处于同一条DNA中。这小小的改进可以免去所有以上这些DNA复制时遇到的麻烦。

一个证据是在电子显微镜下可以清清楚楚地看到:经过适当处理的质粒分子的两条环状单链DNA松散地互相套在一起。这常常被认为是实验假象,但是作者用经过纯化的相邻拓扑异构体证明假象不可能非常有规律地重复发生。而且,通过实验可以找到 $L=0$ 的拓扑异构体。

另一个证据是两个经过纯化的互补环状单链DNA可以在适当条件下重新结合,产生一个完整的拓扑异构体。这个新生的拓扑异构体的拓扑环绕数必定为零,因为它是由两个环状单链DNA经过退火而产生的,没有经过任何拓扑异构酶的处理。

为了验证这个假说是否可靠,作者又进行了另一个重要的试验:先用 λ DNA Hind III的2kb互补

片段反向地嵌入两个 M13 环状双链 DNA，再用这两种噬粒 (phagemid) 制备两种环状单链 DNA。当这两种环状单链 DNA 在适当条件下退火时，互补片段就应该形成 2kb 的双螺旋。这样产生的分子的拓扑环绕数应该还是零。按照经典双螺旋结构可以预测，两条 M13 的单链 DNA 应该以 200 个左旋的方式互相环绕在一起。可是，实验结果却出乎意外地显示这 2kb 双螺旋 DNA 中，左旋和右旋几乎相抵消，导致两条单链 DNA 没有紧紧地，而是松松地套在一起(图 1)，这与经典双螺旋结构预测的结果明显不符。此外，在还有不少证据都不能用经典双螺旋结构来解释。篇幅有限，不能一一列举，有兴趣的读者可参阅有关文献。

综上所述，作者的注意力集中在许多科学家观察双螺旋的盲点上，得到了一些新的结果，并提出了一种假说，以改进经典双螺旋理论。此假说可以解释许多新的实验事实，但是也引发了许多有待回答的新问题。例如：左旋和右旋之间的 DNA 是怎样过渡的？二级结构是否由一级结构来决定？

人人都以为右旋双螺旋模型是理论，其实不然，在刚提出的时候，它也是一种有待证明的假说。后来双螺旋模型得到许多实验事实的支持，没有遇到有力的反对，才逐渐成为理论，被认为是完全正确的。可是，人类对真理的认识不是一步到位

的，科学知识有一定的临时性。当新的事实和证据与旧的认识不相容时，就催化了新知识、新理论的诞生。在新旧两种理论交替之际，争论是免不了的。

学术争论不能靠民主集中制来解决——既不能由举手或投票数目的多少来决定，也不能由少数权威人士来裁定。科学争论的判别通常有赖于时间。犹如拼块找全以后就可以拼出一张完整的图画一样，当证据积累到有利于某一种假说时，问题就不辩自明了。

DNA 的双螺旋结构是分子生物学的基石，对它的正确认识直接决定对其功能的深入了解，因此是一个重大的理论问题，必需要有许多科学家的共同努力，决非一个人可以做到。作者从拓扑学的角度观察问题，将几十年里在实验室里积累的经验的结果写出来，以使后继者在进一步探索 DNA 双螺旋结构的真相时有所裨益。

ÖÄ»£±¾,äÖÜÖÐ,ÆÖ°ÉÜî»-ÑŞÓäï,°ÜÈÜÁöÐÄÖ«
 Ô°Ê,°ÆI¹,üÈÜ½,îÈÜµÄ¹,ØÐÄ°í¹,ÄÄøïÄ³,ÉÏÄ,Ex÷,ÖßÖÜ´É
 ìöÈÜÄÇ±Ê³¼,ÐÐ»!

[参 考 文 献]

[1] Crick FH, Wang JC, Bauer WR. Is DNA really a double helix? J Mol Biol, 1979, 129 : 449
 [2] Xu YC. Finding of a zero linking number topoisomer. Biochim Biophys Acta, 2009, 1790 (2) : 126-33

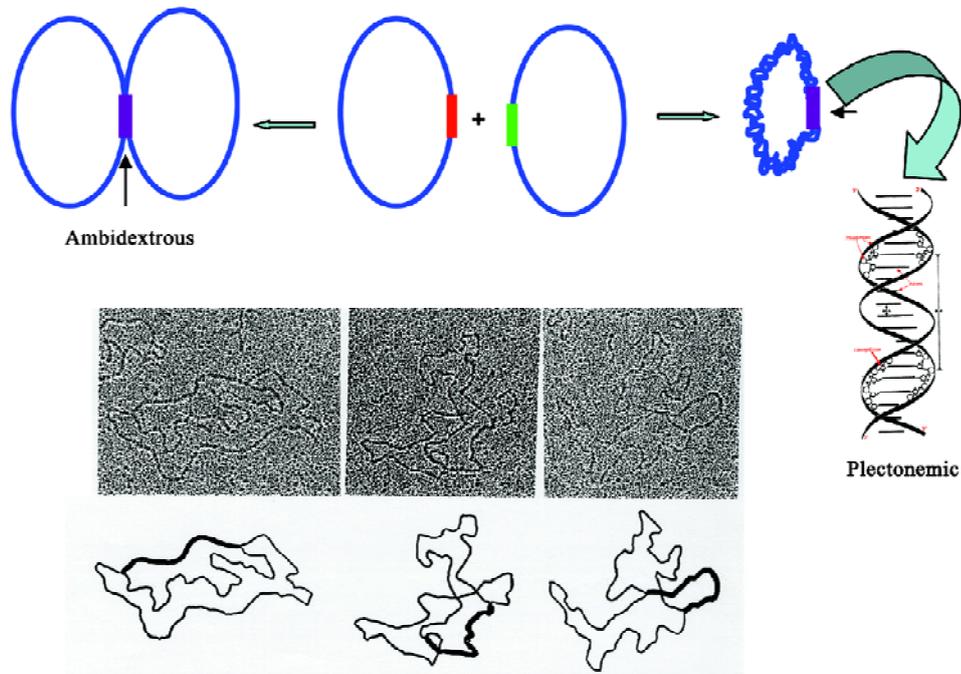


图 1 含 2kb 互补片段的两种 M13 环状单链 DNA 退火后，不同理论所预期的可能形态和电子显微镜观察到的实验结果