



1981年

人工合成酵母丙氨酸转移核糖核酸

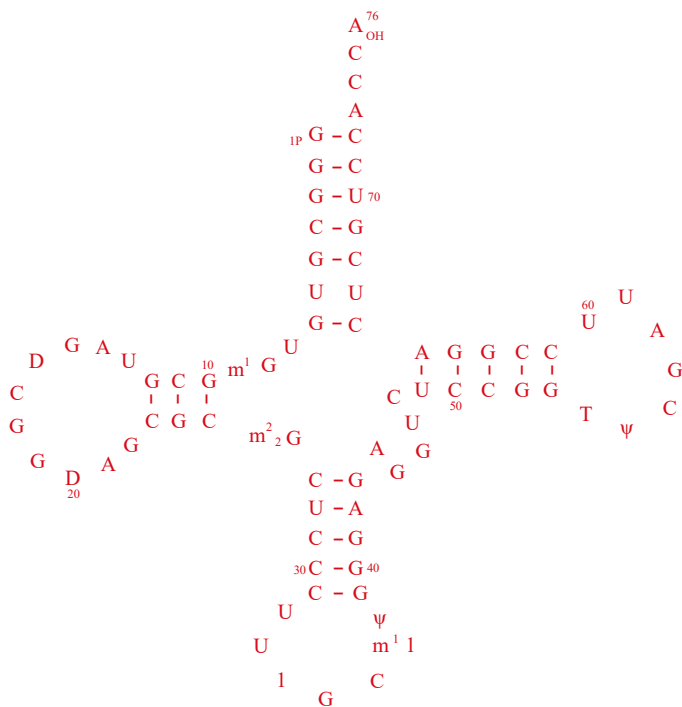
1981年11月20日，我国继1965年在世界上首次合成蛋白质——结晶牛胰岛素后，又在世界上首次合成核酸——酵母丙氨酸转移核糖核酸。这一历时13年，由4个研究所、1所大学和1个工厂共同参与并最终完成的科研成果，凝聚了我国科技工作者的集体智慧，同时也体现了他们严谨的科学态度，得到了国内外专家的一致肯定。该成果获得1984年中国科学院重大科技成果奖一等奖、1987年国家自然科学奖一等奖和1991年陈嘉庚生命科学奖。



向生命基质——核酸进军

1965年，我国在世界上首次合成蛋白质——牛胰岛素，并获得与天然牛胰岛素完全相同的结晶。此后，中国科学家开始思考下一步工作，经过各界的热烈讨论，与蛋白质同为生命活动最基本物质的核酸的合成工作，进入了科学家的视野。

要合成核酸，就要选择合适的合成对象，合成对象的正确与否直接关系到实验的成败。科研小组选择了酵母丙氨酸转移



▲ 酵母丙氨酸转移核糖核酸的结构图

核糖核酸 ($\text{tRNA}_y^{\text{Ala}}$)。这是因为：人工合成 DNA 虽然比合成 RNA 容易得多，但当时还没有一个 DNA 分子的序列被测定，直到 1977 年，第一个 DNA 全序列才由英国桑格工作组完成，而 $\text{tRNA}_y^{\text{Ala}}$ 作为世界上第一个被全序列测定的 RNA 分子，其测定工作已由美国霍利领导的工作组于 1965 年完成；tRNA 分子较小、功能明确，易于在实验室里测定其生物活性，同时 tRNA 表现功能时与其他许多生物大分子有密切关系，可为进一步开展 tRNA 的结构与功能研究创造有利条件；此外 $\text{tRNA}_y^{\text{Ala}}$ 来源于酵母，含量较高，比较容易提取和制备。于是， $\text{tRNA}_y^{\text{Ala}}$ 就成为合成核酸的首选考虑对象。

1967 年，人工合成酵母丙氨酸转移核糖核酸课题上报国家科委，1968 年年初国家科委批复同意开展此项研究，1968 年秋中国科学院发文批准这项研究课题，并指定上海由当时的生物化学研究所负责，上海实验生物研究所（后改名为上海细胞生物化学研究所）和上海有机化学研究所参加；北京由当时的生物物理研究所负责，微生物研究所、遗传研究所和动物研究所参加。1978 年，经过调整，中国科学院保留四个研究所参与工作，即上海生物化学研究所、上海细胞生物化学研究所、上海有机化学研究所和北京的生物物理研究所。此外，北京大学生物系和上海化学试剂二厂也先后参加本项工作。

“环卫”科学家首次合成核酸

$\text{tRNA}_y^{\text{Ala}}$ 由 76 个核苷酸组成，除了 4 种常见核苷酸——腺苷酸 (Ap)、鸟苷酸 (Gp)、胞苷酸 (Cp) 和尿苷酸 (Up)，还含有 7 种 (9 个) 稀有核苷酸——1 个 1- 甲基 Gp (m^1Gp)、2 个二氢 Up (Dp)、1 个 2- 二甲基 Gp (m^2_2Gp)、1 个肌苷酸 (Ip)、1 个 1- 甲基肌苷酸 (m^1Ip)、2 个假尿苷酸 (ψp) 和 1



个核糖胸腺苷酸 (Tp)。基于 $tRNA_{y}^{Ala}$ 的这一特殊结构，同时结合国外已有成果，研究小组确定了先分头合成两个半分子 (5' 半分子和 3' 半分子)，然后将它们连接得到完整的 $tRNA_{y}^{Ala}$ 分子的大路线。

合成路线确定之后，合成原料核苷酸的生产就成为第一步工作。这主要是由东风生化试剂厂与上海化学试剂二厂承担的。这方面的工作非常艰难。拿假尿苷酸的生产来说，它需要用人尿为原料，人尿中假尿苷含量高，经过磷酸化才能得到假尿苷酸。于是研究人员在公共厕所放了一些桶收集人尿，然后再分离。由于用量很大，同时为了克服公共厕所收集到的人尿可能带病的问题，研究人员后来找到上海警备区合作。研究人员放了几个桶到部队的厕所里，定期去拿，然后用卡车拉到上海试剂二厂。可以说，研究人员合成 $tRNA_{y}^{Ala}$ 的工作是从做“环卫



▲ 中国科学院院士、生物化学家王德宝 (右二) 与科研人员在一起

工人”起步的。

在具体的合成方法上，研究小组最初采用了化学合成的方法。但实践证明，这一方法效率很低，不仅合成产率低下、副反应多（它比脱氧核糖核苷酸多了一个2'位羟基），而且副反应产生的集团还非常活跃，必须加以保护，此外稀有核苷酸的保护也是化学反应必须考虑的内容。面对困难，研究小组又把目光投向了刚发现不久的RNA连接酶。王应睐、王德宝给他们认识的一位美国科学家写信，得到了相关的菌种。之后，研究小组制备出了RNA连接酶。研究人员首先使用化学或酶促方法合成了许多小片段，随后用RNA连接酶先将小片段拼接成中片段，得到了两个半分子，然后再将两个半分子相连接就得到了tRNA_y^{Ala}整分子。经专家鉴定，人工合成得到的tRNA_y^{Ala}分子与天然的tRNA_y^{Ala}分子结构完全相同，而且合成的产物具有高达70%~80%的生物活性。这标志着我国继1965年9月在世界上首次合成蛋白质后，又在世界上首次合成了核糖核酸分子——tRNA_y^{Ala}。

这项工作的创新点主要是：

在合成路线的试探过程中，用天然分子做模型，确定了半分子合成路线，为全合成打开了通路。

分子中含有位置正确的7种（9个）稀有核苷酸。实验结果表明稀有核苷酸对于tRNA的活性是至关重要的，这也是我国工作与外国同类工作的最大差别。

对T4 RNA连接酶的性质进行了非常深入的研究，提出并坚守将该酶用于合成工作的信念，并把化学与酶促合成方法有机结合起来，最终取得成功。

发展了合成和测定活性的少量和微量方法。最终找到一个只需7微微克（ 7×10^{-12} 摩尔）样品即可测定生物活性的方法。这大大节省了样品，也节省了合成的工作量。



13年磨一剑 奠定中国核酸合成世界领先地位

20世纪后期，国外也在进行类似的 tRNA 人工合成研究。如 1981 年日本科学家合成了一个大肠杆菌甲酰甲硫氨酸 tRNA 分子，但其活性只有天然 tRNA 的 6%，且合成产物不含天然分子稀有核苷酸。1988 年加拿大科学家合成的 tRNA 也不含核苷酸，活性只有天然的 11%。1992 年法国科学家合成的大肠杆菌丙氨酸 tRNA 虽含有 76 个核苷酸，但只有 3 个稀有核苷酸，活性只有天然的 42%。因此，我国的这项成果无论在完成时间还是在生物活性结果上，都居于世界领先地位。

该成果先后获得 1984 年中国科学院重大科技成果奖一等奖、1987 年国家自然科学奖一等奖和 1991 年陈嘉庚生命科学奖。此外，王德宝由于领导 tRNA_{y^{Ala}} 的人工全合成工作所取得



▲ “酵母丙氨酸转移核糖核酸的人工全合成”项目获 1987 年国家自然科学奖一等奖

的突出成果，于1996年获何梁何利基金科学与技术进步奖（生命科学奖）。1998年11月25日，王德宝向中国革命博物馆捐赠了他珍藏的、在人工合成 tRNA_y^{Ala} 工作中撰写的文章、材料底稿，以及中国科学院领导给他的贺信。

从1968年中国科学院批文算起，该项研究前后进行了约13年。这一成果的取得不仅标志着我国核酸合成研究领域达到了世界最高水平，更重要的是培养了一大批该领域的专业科技人才，为我国核酸合成以及与此相关的生物化学、基因工程等其他领域的研究攀登世界科学高峰，奠定了坚实的基础。

（图文 / 中国科学院生物化学与细胞生物学研究所*）



1981年
人工合成酵母丙氨酸转移核糖核酸

* 2000年，该单位由上海生物化学研究所与上海细胞生物学研究所整合后成立。