



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

分子生物学

Molecular Biology

● 陈启民 耿运琪 编著



高等教育出版社
Higher Education Press

内容简介

本书共分 13 章,以遗传信息传递、原核生物与真核生物基因组结构、基因表达与调控、DNA 突变与修复、基因重组和转座为重点,说明生物个体生长发育期间细胞内微观世界的变化,使读者理解分子生物学的基本原理、概念和研究策略。同时就基因工程、结构分子生物学、病毒分子生物学、肿瘤分子生物学和免疫分子生物学进行较为详细的叙述,使读者领悟到分子生物学是生命科学中发展最迅速的学科之一。本书内容广泛,叙述深入浅出,力求使学生接触到生命科学发展的前沿。可作为综合性大学、医科大学、师范院校和农林院校生命科学本科生的分子生物学教材,也可作为研究生、高校教师和科技工作者的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

分子生物学/陈启民,耿运琪编著. —北京:高等教育出版社,2010.3

ISBN 978-7-04-028645-8

I. ①分… II. ①陈…②耿… III. ①分子生物学—高等学校—教材 IV. ①Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 002718 号

策划编辑	高新景	责任编辑	田 军	封面设计	张志奇	责任绘图	尹 莉
版式设计	王 莹	责任校对	姜国萍	责任印制	毛斯璐		

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街 4 号
邮政编码 100120
总 机 010-58581000

经 销 蓝色畅想图书发行有限公司
印 刷 北京中科印刷有限公司

开 本 850×1168 1/16
印 张 27
字 数 680 000

购书热线 010-58581118
咨询电话 400-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
畅想教育 <http://www.widedu.com>

版 次 2010 年 3 月第 1 版
印 次 2010 年 3 月第 1 次印刷
定 价 38.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

物料号 28645-00

前 言

自从 20 世纪 40 年代确立遗传物质基础以来,许多生物学家与物理学、化学、数学、信息学、计算机科学、工程及材料学等对生命科学感兴趣的科学家,共同努力探索和发现一些自然科学规律,新的理论、新的概念、新的思路、新的成果层出不穷,产生许多新的技术、新的方法和新的学科,引起生命科学知识的大爆炸。当生命科学知识大爆炸归于平静的时候,留下了一部“分子生物学”。

分子生物学是在分子水平上探索生命现象。分子生物学发展的早期,科学家集中研究和描述 DNA、RNA 和蛋白质合成的关键大分子,在生物化学、遗传学、微生物学等学科帮助下阐明了基因结构和表达调控模式。今天,人们能够分离单基因并进行系统研究,然而一个细胞内基因表达调控的分子细节尚需结构生物学的帮助。这样分子生物学就成为细胞内大分子的组织结构、表达模式、调节控制、相互作用和遗传性状研究的纽带。分子生物学的发展为人类认识自身、改造自然,为新的工业、农业、医药卫生、环境保护、清洁能源等各行业格局的重大变革做出了重大贡献。

生命科学从性状描述推测遗传本质到从分子水平上阐明生命过程,这一切都说明生命科学是一个古老的学科,同时又是一个崭新的学科。当生命科学从宏观描述到微观分析、再回归到整体研究的时候,才确立了生命科学在 21 世纪成为带头学科的地位。

为了让学生掌握分子生物学的基本原理、概念和研究策略,我们纵览了国内外一些教科书和一些发现,依据 1984 年以来的教学积累和学生用书现状,我们决定编写《分子生物学》教材。本教材共分 13 章:第二章到第八章是遗传信息的传递,原核、真核生物基因组结构,基因表达与调控,DNA 突变与修复,基因重组和转座,说明生物个体生长发育期间细胞内微观世界的变化,各种细胞组分在各自岗位尽职尽责、相互促进、相互制约,形成一个复杂的网络体系。该体系的协调发展保持了生物体遗传稳定性和物种多样性,使学生理解分子生物学是在分子水平上探索生命的奥秘,这一部分是本教材的重点;第九章基因工程使学生深入理解基因是一个化学实体,可以操作,利于深入研究;第十章到第十三章就结构分子生物学,病毒、肿瘤、免疫分子生物学进行较为详细的描述,使学生对这几个方面知识有比较深入的了解。引入结构分子生物学目的是:第九章以前如果是在平面上讲述分子生物学,这一部分将把学生引向三维空间去探索生命活动的基本过程,可能更接近生命的真实。每一部分的内容都力求深入浅出,按照由简单到复杂的思路进行编写,但又不纠缠于繁杂的实验细节,提高学生阅读的兴趣,希望把读者一步一步引向金字塔的顶点。

参加本教材编写的人员均是本院长期从事分子生物学、生物化学、分子遗传学、分子病毒学、分子免疫学、肿瘤学和结构生物学教学的教授,他们都有较高的科研实践水平,负责编写的内容又都是他们各自熟悉的研究领域,故能保证教材的科学性和权威性。

本教材是普通高等教育“十一五”国家级规划教材,南开大学校领导和院系领导给予了大力支持和帮助;分子生物学研究室的研究生、博士生们在插图制作、资料查询、文字处理等方面付出了巨大的努力;高等教育出版社的编辑们对本书进行了精心编排。对上述关心、支持和参与本书

出版的所有人员表示衷心感谢。

分子生物学发展迅速,资料浩瀚,几乎涉及生命科学的所有方面,要想全面反映分子生物学各领域的进展,在一本教科书中几乎是不可能的,只能从最通用的基本理论、基本技术方面进行编写。但限于作者水平,疏漏和不周之处在所难免,敬请广大读者批评、指正。我们将把您的宝贵意见融入下一次修订之中。

陈启民 耿运琪
2009年9月于天津

目 录

第一章 概论	1	第三节 RNA 生物合成	32
第一节 生物学的发展和分子生物 学的诞生	1	一、转录的酶学基础	33
一、生物学的发展	1	二、原核生物转录机制	35
二、经典遗传学	2	三、真核生物转录机制	37
三、分子遗传学	3	四、真核生物前体 RNA 的加工	40
四、分子生物学	5	第四节 蛋白质生物合成	48
第二节 分子生物学的研究内容和 方法	7	一、遗传密码	48
一、分子生物学研究内容	7	二、tRNA	51
二、生物化学与分子生物学之间的 关系与区别	8	三、核糖体	53
三、分子生物学研究方法	8	四、与翻译相关的重要蛋白质 因子	56
第三节 21 世纪分子生物学发展的 趋向	13	五、翻译过程	57
一、功能基因组学	14	六、蛋白质合成后的加工与转运	59
二、蛋白质组学	14	本章小结	63
三、生物信息学	15	关键词	63
本章小结	16	思考题	64
关键词	17	第三章 原核生物基因组结构	65
思考题	17	第一节 细菌基因组结构和基因	65
第二章 遗传信息的传递	18	一、细菌核质体	66
第一节 中心法则	18	二、核质体超螺旋化	66
一、中心法则的基本内容	18	三、拓扑异构酶	69
二、中心法则的发展	19	四、结合 DNA 的蛋白质	70
第二节 DNA 生物合成	20	五、抗生素抑制细胞生长	71
一、DNA 复制方式	20	六、原核生物的基因	73
二、DNA 复制酶学基础	21	第二节 细菌染色体复制	74
三、DNA 复制过程	26	一、细菌染色体复制起始	75
四、原核生物 DNA 的复制与调控	26	二、复制的终止	77
五、真核生物 DNA 的复制与调控	29	三、细胞分裂与染色体复制协同	78
六、DNA 反转录合成	32	第三节 噬菌体	81
		一、噬菌体裂解发育循环	82
		二、噬菌体 DNA 的复制	85
		第四节 原核生物基因组及基因组 计划	90

本章小结	92	第七节 cAMP 调控	116
关键词	93	一、分解代谢物敏感操纵子	116
思考题	93	二、cAMP 及其结合蛋白	116
		三、CAP-cAMP 的激活作用	117
第四章 原核生物基因表达与		第八节 核糖体和 tRNA 合成	
调控	94	调节	118
第一节 细菌的转录调控	94	一、核糖体	118
一、细菌操纵子	95	二、核糖体蛋白和 rRNA	119
二、阻遏物和激活物	95	三、rRNA 和 tRNA 基因	119
三、正调控和负调控	95	四、核糖体蛋白基因	119
四、诱导物和辅阻遏物	97	五、核糖体蛋白合成的调节	120
五、正负调控的遗传学证据	97	六、rRNA 和 tRNA 合成的调节	121
第二节 负调控	98	本章小结	123
一、 <i>lac</i> 操纵子的遗传学	98	关键词	124
二、Jacob 和 Monod 的 <i>lac</i> 操纵子		思考题	124
模型	100		
三、 <i>lac</i> 操纵子的修正	101	第五章 真核生物基因组结构	126
四、 <i>lac</i> 操纵子的分解代谢产物		第一节 真核生物基因组的组成	126
阻遏	101	一、真核生物基因组的大小	126
五、 <i>lac</i> 操纵子调控区的结构	102	二、真核生物基因组的基因数量	126
六、 <i>lac</i> 操纵子的实际应用	102	三、真核生物基因组的非重复序列	
第三节 <i>E. coli gal</i> 操纵子	102	和重复序列	127
一、阻遏物: GalR 和 GalS	103	四、细胞器基因组	130
二、两个 <i>gal</i> 操作子: <i>galO_E</i> 和		第二节 断裂基因	131
<i>galO_I</i>	104	一、断裂基因由外显子和内含子	
三、两个 <i>gal</i> 启动子和分解代谢		组成	131
产物阻遏	105	二、外显子	133
第四节 生物合成操纵子的调控	106	三、内含子	134
一、生物合成操纵子的几个概念	106	第三节 基因家族和基因簇	137
二、 <i>E. coli trp</i> 操纵子	106	一、基因家族	137
第五节 正调控	110	二、基因簇	139
一、 <i>E. coli</i> L-阿拉伯糖操纵子		第四节 真核基因组的包装	140
(L- <i>ara</i>)	110	一、染色质的结构单位:核小体	141
二、 <i>E. coli</i> 麦芽糖操纵子	112	二、染色质的高级结构	143
三、 <i>tol</i> 操纵子	113	三、常染色质和异染色质	144
第六节 反馈抑制	115	四、核骨架与核骨架结合元件	145
一、色氨酸合成反馈抑制	115	五、染色体	146
二、异亮氨酸-缬氨酸反馈抑制	115	第五节 重要模式生物的基因组	
三、反馈抑制的机制	115	结构	149

一、酿酒酵母基因组结构	150
二、秀丽新小杆线虫基因组结构	150
三、黑腹果蝇基因组结构	151
四、小鼠基因组结构	151
五、拟南芥基因组结构	152
第六节 人类基因组结构	152
一、人类基因组计划	152
二、人类基因组学研究方法	153
三、人类基因组的结构特点	156
四、后基因组时代	156
五、人类基因组计划的意义	156
本章小结	158
关键词	158
思考题	158

第六章 真核生物基因表达与

调控	159
第一节 染色质结构与基因转录	159
一、染色质结构的控制与重塑	160
二、组蛋白修饰与染色质结构	163
三、DNA 甲基化与转录阻抑	164
四、核基质与基因活化	166
第二节 真核生物基因的转录	166
调节	166
一、基础转录及其调节	167
二、调节真核基因转录的顺式作用 元件	168
三、转录因子的 DNA 结合域	168
四、转录因子的活性调节	172
第三节 转录产物的加工和转录后 调节	173
一、RNA 结合蛋白与转录产物的 加工	173
二、转录本的可变剪接及其调节	175
三、RNA 编辑	177
四、转录本核输出调节	178
五、非编码小分子 RNA 与转录后 基因沉默	178
第四节 真核生物基因的翻译调节	

和蛋白质的活性调节	180
一、翻译的起始、延伸和终止	180
二、5'UTR 结构与翻译起始的 调节	181
三、3'UTR 结构与 mRNA 稳定性 调节	181
四、蛋白质磷酸化对翻译效率的 影响	183
五、蛋白质的加工与活化	184
本章小结	185
关键词	185
思考题	186

第七章 基因突变和修复

第一节 基因突变	187
一、基因突变的类型	187
二、基因突变的特点	193
第二节 DNA 修复的证据	194
一、诱变剂对细胞的杀伤作用	195
二、诱变剂处理细胞的死亡曲线	195
第三节 直接修复	196
一、DNA 聚合酶的校正功能	196
二、嘧啶二聚体的光复活修复	197
三、烷基转移酶介导的修复	198
第四节 错配修复系统	198
一、错配修复系统根据不同甲基化 状态识别模板链和新生链	199
二、大肠杆菌的错配修复系统由 MutS、MutH 和 MutL 发挥 作用	200
三、真核生物的错配修复系统	200
第五节 切除修复系统	201
一、碱基切除修复	201
二、核苷酸切除修复	202
三、DNA 链交联修复	205
第六节 重组修复	206
一、同源重组修复	206
二、非同源末端连接	207
第七节 跨损伤 DNA 合成	208

一、跨损伤 DNA 合成机制	208	第三节 DNA 克隆	261
二、催化跨损伤 DNA 合成的 DNA 聚合酶	209	一、基因克隆的全过程	261
三、SOS 应答	211	二、克隆载体	262
本章小结	213	三、DNA 克隆	262
关键词	214	四、克隆技巧	262
思考题	214	第四节 原核生物基因克隆和 鉴定	264
第八章 基因重组和转座	215	一、DNA 文库构建	264
第一节 同源重组	215	二、检出目的克隆	264
一、同源重组的分子机制	216	三、在克隆 DNA 片段上定位 基因	267
二、同源重组的酶学机制	220	第五节 原核生物基因克隆的 应用	268
三、细菌同源重组	224	一、DNA 序列分析	268
第二节 位点特异性重组	225	二、表达载体	269
一、 λ 噬菌体 DNA 的整合与切除 ..	225	三、定点诱变	271
二、位点特异性重组的分子机制 ..	227	第六节 聚合酶链反应	273
第三节 转座	228	一、引物	275
一、原核生物转座子的发现	229	二、DNA 聚合酶	276
二、原核生物转座子类型	229	三、RT-PCR	276
三、转座机制	234	第七节 真核生物基因工程	276
四、反转录病毒	237	一、cDNA 文库的建立	276
五、真核生物转座子	238	二、酵母菌基因工程	277
第四节 异常重组	243	三、植物基因工程	278
一、末端连接	243	四、动物基因工程	278
二、链滑动	243	第八节 新型转基因技术及应用 ..	279
本章小结	244	一、诱导表达系统	279
关键词	245	二、位点特异性重组	280
思考题	245	三、不改变靶基因的几种基因失活 策略	281
第九章 基因工程	246	四、生物大分子的相互作用	282
第一节 工具酶及基因工程相关 技术	246	本章小结	284
一、用于基因克隆的核酸酶	246	关键词	284
二、其他工具酶	254	思考题	285
第二节 基因工程载体	256	第十章 结构分子生物学	286
一、基因工程的基本问题	256	第一节 蛋白质结构研究	286
二、质粒载体	256	一、历史回顾	286
三、 λ 噬菌体载体	259	二、研究现状	287
四、单链噬菌体载体	260		

三、研究内容	288	第三节 DNA 病毒的复制	331
四、研究方法	288	一、DNA 病毒的转录	332
五、研究意义	289	二、DNA 病毒基因组的复制	332
第二节 X 射线蛋白质晶体学和核 磁共振法	289	三、病毒保证基因组完整性的 策略	334
一、X 射线蛋白质晶体学	289	四、DNA 病毒的组装和释放	334
二、核磁共振法	298	第四节 RNA 病毒的复制	335
三、其他衍射方法	299	一、HCV 的生活周期	335
第三节 晶体学坐标和蛋白质 晶体	300	二、HCV 基因组的结构和功能	336
一、PDB 文件	300	三、HCV 基因组的复制	338
二、空间画图	304	第五节 反转录病毒的复制	339
三、蛋白质晶体	305	一、HIV 的复制	339
四、晶体的生物学活性	307	二、FV 的复制	343
五、晶体和核磁共振的比较研究	308	第六节 病毒与宿主的相互作用	345
第四节 蛋白质的三维结构	310	一、病毒对宿主的作用	345
一、四级结构	310	二、宿主对病毒感染的反应及病毒 对抗宿主反应的机制	350
二、二级结构	314	本章小结	352
三、结构域	319	关键词	353
四、超二级结构	322	思考题	353
本章小结	323	第十二章 肿瘤的分子生物学	354
关键词	324	第一节 肿瘤和肿瘤细胞	354
思考题	324	一、肿瘤的特征和分类	354
第十一章 病毒的分子生物学	325	二、肿瘤细胞与正常细胞的区别	355
第一节 概述	325	三、体外细胞转化	356
一、病毒基因组的结构与功能	325	第二节 肿瘤的发生和演进	357
二、病毒基因组的复制和表达 调控	325	一、肿瘤发生的多步骤模型	357
三、病毒与宿主细胞的相互作用	326	二、肿瘤微环境与肿瘤血管生成	358
四、病毒与肿瘤发生	326	三、肿瘤侵袭与转移	358
五、病毒基因工程疫苗及病毒 载体	326	四、肿瘤免疫	359
第二节 病毒的基因组	326	第三节 肿瘤病毒和病毒癌基因	360
一、病毒基因组的核酸类型和 大小	327	一、肿瘤病毒	360
二、病毒基因组的特点	328	二、反转录病毒癌基因	362
三、DNA 病毒的基因组	329	三、反转录病毒癌基因的起源	363
四、RNA 病毒的基因组	330	第四节 细胞癌基因和抑癌基因	365
		一、细胞癌基因	365
		二、细胞癌基因的激活	366
		三、抑癌基因	367

四、抑癌基因的失活	368	机制	382
第五节 癌基因和抑癌基因的		一、T 细胞受体激活的信号转导	
功能	369	机制	382
一、生长因子	369	二、B 细胞的激活与抗体的产生 ...	388
二、生长因子受体与蛋白激酶	369	第三节 固有免疫反应的分子	
三、转录因子	372	机制	391
四、细胞周期调控	373	一、固有免疫反应的信号识别	391
五、DNA 损伤修复与细胞凋亡	374	二、细胞因子与信号转导	393
第六节 分子生物学在肿瘤诊治上		第四节 免疫反应的效应机制	401
的应用	374	一、细胞免疫的效应机制	401
本章小结	375	二、体液免疫的效应机制	406
关键词	376	本章小结	410
思考题	376	关键词	411
第十三章 免疫分子生物学	377	思考题	411
第一节 免疫细胞与抗原识别	377	参考文献	412
一、免疫细胞	377	名词索引	415
二、抗原的呈递与识别	379		
第二节 淋巴细胞的激活与分子			

第一章 概 论

分子生物学(molecular biology)广义的定义是:在分子水平上研究生命现象的学科。这个定义太笼统,难于和生物化学、遗传学等许多学科区分。应该有一个狭义的定义,表述分子生物学的特征,其合适的定义是:在分子水平上研究生物的结构、组织、功能和相互作用的科学,并试图根据化学和物理规律来解释生命现象。分子生物学是人类从分子水平上认识生物世界的奥秘,由被动适应自然转向主动改造自然的基础学科。它是从生物化学、生物物理学、遗传学、微生物学等多种学科交叉而逐渐发展起来,并以 DNA 的结构和功能、RNA 的结构和功能、蛋白质的结构和功能、遗传信息的传递和基因表达调控机制等为研究对象,目前已成为现代生物学领域最具活力的学科之一。

在 Science 杂志创刊 125 周年之际,编辑部邀请世界著名科学家畅想有待解决的重要科学问题,2005 年 7 月 1 日出版的 Science 杂志刊登了 25 个重大科学问题和 100 个较小的重要问题,涉及从宇宙本质到人类和社会本质的广泛科学领域。在 25 个重大问题中,与生物学相关的有 15 个,其中处于前 10 位的,生物学问题占 8 个。在总共 125 个问题中,有 65 个与生物学有关,可见 21 世纪是生命科学大发展的时期。原因很简单,物理学、化学、数学等学科已经发展到相对较高的水平,而生物学则属于一个发展滞后的领域,大量的科学问题有待深入探讨,吸引大批物理学家、化学家、数学家、信息学家等加入到探索生命奥秘的队伍中来。因为生物学的古老、复杂、与人类自身息息相关,必须借助其他学科的高度发展才能回过头来发展生命科学,使 21 世纪成为生命科学的世纪,古老学科焕发了青春。生命科学的不断发展又为其他学科提出新的问题,推动它们的继续发展。由此可以看出自然科学是相互依存、相互促进、协调发展的。

这一章通过历史回顾,说明分子生物学的产生是生命科学发展的必然,只有在分子水平上揭示生命现象,才能更接近实际;同时简单描述分子生物学的研究内容和研究方法;最后阐释分子生物学发展的未来走向。

第一节 生物学的发展和分子生物学的诞生

一、生物学的发展

生命的诞生就意味着生物学的存在。生物学的发展经历了一个漫长的过程。

人们早就知道“种瓜得瓜,种豆得豆”,“子女酷似双亲”是生物的遗传性决定的,但是这种遗传性的机制直到 19 世纪以前都是用“泛生论”来解释的。“泛生论”是由亚里士多德(Aristotle, 382—322 B. C.)和其他一些古希腊学者提出的解释遗传现象的理论,该理论认为精液是在全身各个部分形成并在血管中流动,所以反映出各部分的性状。“泛生论”一直延续到 19 世纪初,拉马克(Chavalier de Lamarck, 1744—1829)把它作为生物进化变异的机制,著名的生物学家达尔文(Charles Darwin, 1809—1882)也接受了该理论。

魏斯曼(August Weismann, 1839—1914)首先向“泛生论”挑战,提出了“种质”学说(germ-

plasm theory)。他区分了“种质”(指性细胞和产生性细胞的那些细胞)和“体质”(指构成身体所有其余部分的细胞),认为在生物世代繁殖过程中“种质”永世长存,“体质”则是保护和帮助“种质”繁殖自身的一种手段,“体质”由“种质”产生。他连续几代割掉小鼠的尾巴,子代小鼠的尾巴还是同正常小鼠一样长,由此认为尾巴是由“种质”细胞决定的。虽然这样的实验显得粗放,但对于以后遗传学观点的形成具有相当大的影响。

1859年,英国生物学家达尔文发表了著名的《物种起源》一书,用大量事实证明了“物竞天择,适者生存”,基于适者生存提出进化理论,使“创世论”第一次受到真正的质疑。进化论认为各种形式的生命不是亘古不变的,而是不断地产生一些略有差异的动植物,其中一些为适应环境而存活下来,产生更多的后代。尽管尚不知道持续发生变异的原因,但早期的进化论学者正确地意识到这些变化要想成为进化的基础,所获得的新性状一定要在后代中保持下去。这种认识已经接近遗传的物质基础并得到普遍接受,除了极少数教派人士,他们拒绝的理由不是基于理智,而是来自宗教的信条。依据进化论推测40亿年前存在于地球上的生命是一种简单形式——细菌,显示生命状态是在很小生物中建立的,并进一步推论生命的基本原理适用于任何生命形式。

1604年,荷兰学者列文虎克(A. V. Leeuwen Hoek)用自制的光学显微镜,观察了许多动植物活细胞和原生动物,1674年描述了鱼红细胞的细胞核结构;1665年,英国学者胡克(Robert Hooke)用放大40~140倍的自制显微镜观察软木(栎树皮)薄片,第一次使用“细胞”(cell)一词并描述了植物细胞的构造,实际上是枯死细胞的细胞壁,因此人们就认为细胞是在1665年发现的。此后虽然对细胞观察的资料不断增加,但在长达170多年的历史中,对细胞的知识以及它与有机体的关系并没有进行科学概括,也没有上升到具有普遍指导意义的高度。直到1838年德国植物学家施莱登(M. J. Schleiden)发表了“植物发生论”,指出细胞是构成植物的基本单位;1839年,德国动物学家施旺(M. J. Schwann)“关于动植物的结构和生长的一致性的显微研究”,指出动植物都是细胞的集合物。他们提出:一切动植物都是由细胞组成的,细胞是一切动植物的基本单位,这就是细胞学说(cell theory)。后又经过许多研究者的补充和修正,直到1858年才算最后完成了细胞学说。细胞学说的提出对生物学的发展具有重大意义,恩格斯把细胞学说、能量守恒、达尔文进化论并列为19世纪自然科学的“三大发现”。人们通常称细胞学说、进化论和遗传学三定律为现代生物学的三大基石。对细胞结构的了解是其他一切生物科学和医学分支进一步发展的基础,在此基础上建立了庞大的生命科学体系。

二、经典遗传学

1965年,一个夏天的傍晚,在捷克布尔诺的一个教堂里挤满了人,他们是来参加为已故基督教修道院院长孟德尔(Gregor Mendel)而召开的纪念大会。这一群大部分是非教徒的人聚集在一起并不是对已故主教有多大的虔诚,而是出于对这位遗传学奠基人由衷的敬仰。因为1965年是孟德尔对布尔诺自然科学学会报告的“植物杂交实验”论文发表100周年。

1865年,孟德尔通过豌豆杂交实验,建立了遗传学的两大定律:分离定律和自由组合定律。首次提出遗传因子(genetic element)的概念。他的革命性见解,对于他所处的时代来讲,实在是太先进了,以至于论文发表35年还没有引起生物学界同行的注意,特别是因进化论而享誉世界的最著名的生物学家达尔文,就从来不知道孟德尔发现了遗传因子。

为了使“遗传因子”的概念更加准确和方便,1909年,丹麦科学家W. Johannsen提出了“基因”(gene)一词,这个概念是以孟德尔的工作和假设为基础,只是作为一种遗传性状的符号,并

没有任何物质的内容,但是却为基因概念的建立奠定了基础。

1910年,在遗传学研究工作中开辟了一个新天地,美国的遗传学家兼胚胎学家摩尔根(T. H. Morgan)以果蝇为材料进行的遗传学研究。他证明在同一条染色体上某些性状的基因“连锁”(linkage)在一起,不易交换的现象,阐明了它的规律和本质,创建了遗传学上的第三条定律——连锁交换定律,并提出基因学说(gene theory)。连锁交换定律连同孟德尔的分离定律和自由组合定律统称为遗传学三定律。

依据摩尔根对果蝇杂交的研究,首先提出位于同一染色体上的两个基因可以通过染色体交换而分处在两条同源染色体上,根据交换频率(即重组频率)可以绘制染色体遗传图谱(genetic map),有力地证明基因在染色体上呈直线排列,并且有一定的相对位置,所以摩尔根科学地预见基因是一个“化学实体”。目前一般人都把上述诸人所贡献的知识体系称为经典遗传学。经典遗传学的基本单位是一个不可再分而且抽象的基因。

三、分子遗传学

1. 遗传的物质基础

遗传的单位是基因。基因是什么?它由什么物质组成?也就是说遗传的物质基础是什么?

1) 转化实验:1928年,F. Griffith用肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)的两个变种进行小鼠实验:一个变种在平板上形成平滑型菌落(S型),它在小鼠中是致病的;另一个变种在平板上形成粗糙型菌落(R型),它不使小鼠致病。将这两个变种同时进行的小鼠实验发现了转化(transformation)现象,这一现象为确定遗传物质的化学本质奠定了基础。

为了搞清转化因子的化学本质,O. T. Avery和他的协作者C. M. Macleod、M. J. McCarty着手对含有R-S转化因子进行全方位的研究,结果发现转化因子就是DNA。细菌DNA是细菌遗传性的载体。换句话说,DNA是细菌(bacteria)遗传的物质基础。1944年,Avery等所作结论的发表引起很大的震惊,过去还没有人考虑过DNA会有这样一种遗传信息上的作用,因为当时科学界普遍认为蛋白质可能就是转化因子。D. Hotchkiss继续对转化因子进行化学提纯,到1949年他已能把活性DNA的蛋白质沾污物的含量降低到0.02%,DNA的转化活性有增无减。D. Hotchkiss在纯化工作上取得如此大的成就,还是没有使所有人相信DNA就是遗传变化的原因所在。现在我们知道,Avery的工作是阐明DNA就是遗传物质基础的第一个明确的实验证据。他多次申请诺贝尔奖,由于种种原因未获批准,不能不说是科学界的一大憾事。

2) 病毒重建实验:烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)是由蛋白质外壳和核糖核酸(RNA)核心构成。生化技术可以将完整的病毒颗粒分成RNA和蛋白质两部分。在适当条件下,纯化的RNA和蛋白质在试管中混合重新组装成具有感染力的完整病毒颗粒(virus particle)。TMV有多种变种,各变种蛋白质氨基酸有明显差别。野生型TMV外壳蛋白没有组氨酸和甲硫氨酸,而过敏反应(hypersensitive response, HR)变种外壳则含有这些氨基酸。用纯化的野生型TMV RNA和HR变种外壳蛋白重建成有感染力的杂合病毒,感染植物后,子代病毒外壳的蛋白质氨基酸组成总是同于野生型TMV,说明病毒蛋白质的特性由RNA决定,即遗传物质是核酸而不是蛋白质。

3) 噬菌体感染实验:1952年,A. D. Hershey和M. Chase用同位素研究T2噬菌体。T2噬菌体(phage)是大肠杆菌的一种烈性噬菌体,它由蛋白质外壳和DNA核心构成。蛋白质中含有硫而不含磷,DNA中含有磷而不含硫,用 ^{32}P 和 ^{35}S 标记T2噬菌体。通过感染实验证明:决定其蛋

白质外壳特性的遗传信息的载体是 DNA,而不是蛋白质。

以上三个实验证明遗传物质是 DNA(或 RNA)而不是蛋白质。这样,孟德尔的基因概念不再是形式上的符号,而是摩尔根所预期的“它是一个化学实体”。

2. 分子遗传学

1) 接合:1946年,J. Lederberg 和 E. Tatum 发现在细菌中存在不同类型的基因交换。当他们把不同类型的大肠杆菌菌株混合,观察到不同于亲本的重组体类型,不像 Griffith 的转化实验,这种基因交换需要 2 个菌株的直接接触。后来证明,这种基因交换是由 F 因子(质粒)介导,就命名为“接合”(conjugation)。这种基因交换类型的出现使得绘制大肠杆菌的染色体图谱成为可能。

2) 转导:1953年,N. Zinder 和 J. Lederberg 还发现了细菌之间基因转移的第三种机制。他们证明沙门氏菌的噬菌体能够携带一段细菌的 DNA 转移到另一个菌株,这种基因转移方式被命名为转导(transduction)。转导的发现,才使人们开始对基因的精细结构进行分析。

3) 基因内重组:用细菌和噬菌体做的实验证明,在 DNA 上的基因是线状排列的核苷酸。早在 20 世纪 50 年代初期,基因重组(gene recombination)已是一个普遍的现象,但是人们认为基因重组只在不同的基因之间发生,而在同一基因内就不能发生重组。因为当时普遍认为,基因像是一条线上的念珠,重组可能发生在两个念珠之间或者两个基因之间,但在基因内不会发生重组。1955年,S. Benzer 利用噬菌体遗传学证明,重组能够发生在 T4 噬菌体的 *YII* 基因内。他在 *YII* 基因内制备了大量的突变株,不同突变株混合感染受体菌,在分析新产生的 *YII* 基因的遗传性状时发现,重组可以发生在一个基因内。

4) 分子遗传学的诞生:20 世纪 40 年代后期,为了研究 DNA 作为转化因子的结构,W. T. Astbury 首先想到应该研究 DNA 的三维结构,他是利用 X 射线衍射进行蛋白质晶体学研究的创始人之一。Astbury 在 40 年代摄得了一些 DNA 的 X 射线衍射照片,由于照片的质量不佳,还不足以显示 DNA 结构中太多的细节,可是他确实证明了多核苷酸乃是一叠扁平的核苷酸的推断,表明那些核苷酸残基每一个的取向都垂直于分子的长轴,沿着叠柱每隔 $3.4\text{\AA}$ 就有一个。50 年代初期,有三个研究小组把 Astbury DNA 的 X 射线衍射晶体学分析工作继承下来,Pauling 和他的同事没有取得成功;第二组由 M. H. Wilkins 领导,他们设法制成了高度定向的 DNA 纤维,获得了 X 射线衍射照片表示出前所未有的细节。这张由 R. Franklin 摄取的高超的图片中,证实了 Astbury 所作的核苷酸间距是 $3.4\text{\AA}$ 的推论;在 1952—1953 年冬天,当 Franklin 的照片被第三组的 J. Watson 和 F. Crick 看到时,这张照片告诉了他们所需要的资料,不出几个星期,就得出了 DNA 双螺旋(DNA duplex)结构。1953 年 4 月中旬,Watson 和 Crick 关于 DNA 分子的结构,与 Wilkins 和他的同事所提出的关于这一结构的 X 射线衍射的证据发表在同一期的 Nature 上。

DNA 双螺旋模型的建立,开创了分子遗传学(molecular genetics)的新纪元。这个模型预期之一便是 DNA 以半保留方式复制。1958 年,M. Meselson 和 F. Stahl 利用细菌确定, DNA 由半保留复制(semiconservative replication)机制进行复制。1961 年,S. Brenner, F. Jacob 和 M. Meselson 利用噬菌体感染细菌证明:核糖体(ribosome)是蛋白质合成的场所,并确定了 mRNA 的存在,这种 mRNA 携带 DNA 的信息结合到核糖体上;1958 年,Crick 最早提出遗传信息在细胞内的生物大分子之间转移的基本法则——中心法则(central dogma)。1961 年,Crick 和他的同事利用噬菌体和细菌证明三联体遗传密码的存在;此后,Yanofsky 利用大肠杆菌的 *trpA* 基因证明蛋白质与基因的共线性关系,Jacob 和 Monod 利用大肠杆菌 *lac* 系统提出乳糖操纵子模型(*lac* operon model)

等;这些里程碑式的成果都是在微生物这类模式生物中取得的。所以,没有微生物,就没有今天的分子遗传学,而分子遗传学占据了分子生物学的中心位置。

四、分子生物学

1871年,Lankester就提出,生物不同种属间的化学和分子差异的发现和发现,对确定系统发生的关系,要比总体形态学的比较研究更为重要。后来,随着德国、美国生理化学实验室的建立和生物化学杂志的创办,促进了生物化学的发展。当生物化学深入到研究生物大分子时,1938年,Warren Weaver在写给洛克菲勒基金会的报告中,首次使用了分子生物学一词。他写道:“在基金会给予支持的研究中,有一系列属于比较新的领域,可称之为分子生物学……”。一年以后,研究蛋白质结构的Astbury使用了这个名词,以后它变得越来越普遍。特别是在1953年,Watson和Crick发表了著名论文“脱氧核糖核酸的结构”,DNA双螺旋结构的发现,促进了遗传学、生物化学和生物物理学的结合,推动了分子生物学(molecular biology)的形成和迅速发展,使生命科学全面地进入分子水平研究的时代,这是生物科学发展史上的重大里程碑。1956年,剑桥医学研究委员会率先建立了分子生物学实验室,1959年,创刊了分子生物学杂志,1963年,成立了欧洲分子生物学国际组织,分子生物学从而成为崭新的独立学科,带动着生命科学迅猛发展,成为现代自然科学研究中的最重要领域之一。

在分子生物学的形成和发展过程中,有许多重大的发现和事件,见表1.1。

表 1.1 分子生物学发展过程中的里程碑

1944	Avery 提出遗传信息的载体是 DNA,而不是蛋白质
1950	Chargaff 提出了 Chargaff 规则
1951	Pauling 和 Corey 研究了氨基酸和多肽的精细空间结构,提出了 α 螺旋和 β 折叠理论
1953	Watson 和 Crick 提出 DNA 双螺旋结构模型;Sanger 完成了第一个蛋白质——胰岛素的氨基酸全序列分析
1956	Volkin 和 Astrachan 发现了 mRNA
1958	Meselson 和 Stahl 证明 DNA 的半保留复制;Crick 提出遗传信息传递中心法则
1960	Kendrew 等得到肌红蛋白 2Å 分辨率的结构,Perutz 等得到血红蛋白 5.5Å 分辨率的结构
1961	Jacob 和 Monod 提出操纵子学说,Crick 等证明遗传密码的通用性
1962	Arber 证明限制性核酸内切酶的存在,并由 Nathans 和 Smith 应用于 DNA 图谱和序列分析
1965	Holley 等测定了酵母丙氨酸-tRNA 的一级结构
1967	Gellert 发现了 DNA 连接酶,Philips 及其同事确定了溶菌酶 2Å 分辨率的三维结构
1970	Temin 和 Baltimore 发现了反转录酶
1972—1973	Berg,Boyer 将 SV40 和 λ DNA 混合,EcoRI 消化,T4DNA 连接酶连接,获得高相对分子质量重组 DNA,荣获诺贝尔奖;Cohen 等第一次完成基因工程全过程,1973 年定为基因工程诞生年
1975	Southern 发明了 Southern blot 技术
1976	Bishop 和 Varmus 发现动物肿瘤病毒的癌基因来源于细胞基因(即原癌基因)
1977	Berget 等发现了“断裂”基因;Sanger,Maxam 和 Gilbert 创立了“酶法”、“化学法”测定 DNA 序列
1979	Solomon 和 Bodmer 提出至少 200 个限制性片段长度多态性(RFLP)可作为连接人整个基因组图谱之基础
1981	Cech 等发现四膜虫 26S rRNA 前体的自我剪接作用和前体中的居间序列有 5 种酶的活力,Altman 证明催化 tRNA 前体成熟的催化剂是 RNA(ribozyme)

续表

-
- 1982 Prusiner 等在感染瘙痒病的仓鼠脑中发现了朊病毒(Prion)
- 1984 Schwartz 和 Cantor 发明了脉冲梯度凝胶电泳法, Simons 和 Kleckner 等发现了反义 RNA
- 1985 Saiki 等发明了聚合酶链(式)反应(PCR), Sinsheimer 提出人类基因组图谱制作计划的设想, Smith 等报导了 DNA 测序中应用荧光标记取代同位素标记的方法, Miller 等发现 DNA 结合蛋白的锌指结构
- 1986 Dryja 等发现视网膜细胞瘤基因(*Rb*)是一种抑癌基因; Robin 等采用 X-光晶相学, 证实 DNA 结合蛋白的螺旋-转角-螺旋结构
- 1987 Mirkin 等在酸性溶液的质粒中发现三链 DNA, Burke 等用酵母人工染色体(YAC)作载体克隆大片 DNA
- 1988 Landschaltz 等发现结合区亮氨酸序列的周期性, 提出 DNA 结合蛋白亮氨酸拉链结构; Whye 等证明癌的发生是癌基因的激活和抑癌基因失活的结果
- 1989 Greider 等在纤毛原生动物中发现端粒酶是以内源性 RNA 为模板的反转录酶, Hiatt 等报导在植物中亦可产生单克隆抗体
- 1990 人类基因组计划(HGP)全面正式启动, Simpson 等发现了对 mRNA 前体编辑起指导作用的小分子 RNA (guide RNA); Sinclair 等在人 Y 染色体上发现了新的性别决定基因——*Sry* 基因
- 1991 由欧洲共同体(EC)组织 17 个国家 35 个实验室的 147 位科学家完成第一条完整染色体(酵母 3 号染色体)315 kb 的测序工作; Blackburn 等提出调节聚合序列[通式为 $(T/A)_m G_n$, $m = 124$, $n = 1 \sim 8$]的单链 DNA 可形成分子内或分子间的四螺旋结构, 起着稳定染色体的作用
- 1993 Jurnak 等在研究果胶裂解酶时, 发现一种新的蛋白质结构——平行 β 螺旋; Yuan 等在哺乳动物细胞内发现参与调节细胞凋亡并具有剪切作用的蛋白质——IL-1 β 转换酶
- 1994 日本科学家在 *Nature Genetics* 上发表了水稻基因组遗传图; Wilson 等完成了线虫(*C. elegans*)3 号染色体连续的 2.2 Mb 的测定
- 1995 Cuenoud 等发现具有酶活性的 DNA; Tu 等在 *E. coli* 中发现了具有转运与信使双功能的 RNA——10 Sa RNA
- 1996 Lee 等报导酵母转录因子 GCN4 中的氨基酸片段能自动催化合成自我复制的肽; 洪国藩等采用“指纹-锚标”战略构建了高分辨率的水稻基因组物理图谱, DNA 片段的长度为 120 kb; Goffeau 等完成了酵母基因组 DNA 全序列(1.25×10^7 bp)的测定
- 1997 Lan Wilmut 等在不经受精、用成年母羊体细胞的遗传物质, 成功获得克隆羊——多莉(Dolly); Willard 等构建了人染色体(HACs); Salishury 等发现 DNA 一种新的结构形式——四显性组合; Blattner 等完成 *E. coli* 基因组全序列测定
- 1998 Renard 等用体细胞操作获得克隆牛; GenBank 公布最新人的“基因图谱 98”, 代表了 30 181 条基因定位的信息; Venter 对人类基因组计划提出全基因组随机测序, 毛细管电泳测序仪启动
- 1999 美国科学家布洛贝尔(Günter Blobel)发现蛋白质内控制蛋白质在细胞内传输和定位的信号, 获得诺贝尔医学或生理学奖
- 2000 瑞典卡尔松(Arvid Carlsson)、美国格林加德(Paul Greengard)、奥地利坎德尔(Eric R. Kandel)在人类脑神经细胞间信号相互传递方面获得重要发现, 共同获得诺贝尔医学或生理学奖; 绘制完成人类基因组框架草图
- 2001 美国哈特韦尔(Leland H. Hartwell)、英国亨特(R. Timothy Hunt)、纳斯(Paul M. Nurse)发现细胞周期关键分子调节机制, 共同获得诺贝尔生理学或医学奖
- 2002 英国布雷内(Sydney Brenner)和苏尔斯顿(John El Sulston)、美国霍维茨(H. Robert Horvitz)选择线虫作为实验生物模型, 找到了对细胞每一个分裂和分化过程进行跟踪的细胞图谱, 共同获得诺贝尔医学或生理学奖; 建立生物大分子鉴定和结构分析方法, John B. Fenn, Koichi Tanaka(建立生物大分子质谱分
-