

基礎分子生物學

Introduction to Molecular Biology

Peter Paolella 著

生物科技碩士 邱珮琪 譯



美商麥格羅·希爾國際股份有限公司



合記圖書出版社 發行

第十三届全国书市样书

基礎分子生物學

Introduction to Molecular Biology

First Edition

Peter Paolella 著

生物科技碩士
邱珮琪 譯

The McGraw-Hill Companies, Inc.

Taipei New York San Francisco Washington, D.C. Auckland
Bangkok Bogota Caracas Hamburg Hong Kong Jakarta Lisbon London
Madrid Manila Mexico Milan Montreal New Delhi Paris San Juan
Sao Paulo Seoul Singapore Sydney Tokyo Toronto



合記圖書出版社 發行

基礎分子生物學

© 2000 年，美商麥格羅·希爾國際股份有限公司台灣分公司版權所有。本書所有內容，未經本公司事前書面授權，不得以任何方式（包括儲存於資料庫或任何存取系統內）作全部或局部之翻印、仿製或轉載。

Original: Introduction to Molecular Biology First Edition

By Peter Paoletta

ISBN: 0-07-115837-5

Copyright © 1998 by McGraw-Hill, Inc.

All rights reserved.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 0 P H W 2 1 0 9 8 7 6 5 4 3 2 1 0

作 者 Peter Paoletta

編 譯 邱珮琪

合作出版 美商麥格羅·希爾國際股份有限公司（台灣）

暨發行所 台北市 110 信義區忠孝東路五段 510 號 23 樓

TEL: (02) 2727-2211 FAX: (02) 2346-3300

總代理 合記圖書出版社

總公司 台北市 114 內湖區安康路 322-2 號

TEL: (02) 2794-0168 FAX: (02) 2792-4702

北醫店 台北市 110 信義區吳興街 249 號

TEL: (02) 2723-9404 FAX: (02) 2723-0997

台大店 台北市 100 中正區羅斯福路 4 段 12 巷 7 號

TEL: (02) 2365-1544 FAX: (02) 2367-1266

榮總店 台北市 112 北投區石牌路 2 段 120 號

TEL: (02) 2826-5375 FAX: (02) 2823-9604

台中店 台中市 404 北區育德路 24 號

TEL: (04) 203-0795 FAX: (04) 202-5093

高雄店 高雄市 700 三民區北平一街 1 號

TEL: (07) 322-6177 FAX: (07) 323-5118

郵政劃撥 19197512

戶名：合記書局有限公司

出版日期 西元 2000 年 12 月初版

行政院新聞局出版事業登記證／局版北市業字第 323 號

印 刷 宏陽電腦製版排版有限公司

ISBN : 957-493-314-8

作者序

本書適合修大學部生物課或高中非主修遺傳學之其他科學的學生研讀。對於以分子生物為基礎以致其他相關生物科學有興趣的學生約需要一學期的課程研修。但需要有基本生物學及有機化學為基礎。

本書於代謝的一般架構上談分子遺傳。如此，基因功能及控制等機制及過程才能跟細胞內其他活動有所連繫。

開始以遺傳物的結構談至這些物質的功能（如，基因的表現與調節），末以兩個相關新領域，基因工程及DNA的操縱，描述其知識之運用。整體而言，本書關心的是DNA的結構，表現，調節及操縱。

對主修遺傳學而言，理論及相關實驗是很重要的，但本書在這方面的內容較少。取而代之的，筆者希望能提供一個架構，提供對分子生物或遺傳學或其他相關科學有需要進一步研究的讀者能先建立基本的觀念。而在實驗上的證據對這個領域的推進有其重要性，在這方面也有詳細的討論（如：Meselson-Stahl的實驗證明DNA之半保留複製）。

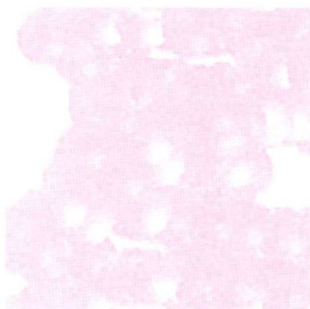
此書非一己之力始能完成，筆者也得到許多人的協助、建議與幫助，我要感謝的人有：

Helen H. Benford	Douglas J. Burks
Tuskegee University	Wilmington College
Richard Crawford	Christopher Cullis
Trinity College	Case Western Reserve
Beth Destasio	Univesity
Lawrence University	Carolyn Jones
Karen Kurvink	Vincennes University
Mmoravian College	Joel Piperberg
Roger Sloboda	Millersville University
Dartmouth College	Steven Woeste
	Scholl College

最後，我要感謝Meg Johnson，因為他是第一個引起我對這項工作產生興趣的人，還有最終得到Wm. C. Brown的允許，此書之著作得以完成。同時也要謝謝我的主編Robin Steffek，他讓我能盡量在沒有壓力之下，督促這本的出版。

Peter Paolella

於 Johnston, Rhode Island



● ● ● ● ● ● ● 詳有片 ● ● ● ● ● ● ●

近年來，因為其中無限的商機與遠景，生物科技逐漸受到各方矚目，各大學也都紛紛成立與

最後，能完成此書之翻譯工作令人欣喜，更感謝家人的陪伴與支持，才能突破所遇到的任何瓶頸，而使此中譯本順利出版。

於基隆 2000 年 10 月

目錄

作者序 iii
譯者序 v

參考文獻 36

1 DNA的本質 1

概論 2

通往Watson及Crick模型之路 2

DNA的組成 7

DNA的結構 8

DNA的物理特性 11

DNA在生物上的疑點 13

DNA的生物功能 14

基因 15

摘要 16

問題 16

參考文獻 17

2 雙股DNA的複製 18

概論 19

Watson及Crick模型 19

DNA複製模型：保留、半保留、
分散 20

原核生物DNA複製所需要之
成分 28

原核生物雙股DNA複製 29

DNA的半不連續複製 31

DNA的雙向合成 32

真核生物DNA複製 34

複製忠實性 35

摘要 35

問題 35

3 其他核酸的複製 37

概論 38

ØX174 38

菸草鑲嵌病毒 41

反轉錄病毒：HIV 43

λ噬菌體及溶原性 45

摘要 49

問題 50

參考文獻 50

4 蛋白質 51

概論 52

蛋白質之功能類別 52

攜帶者蛋白質 52

酶 53

G蛋白質 55

訊息分子 55

肌肉蛋白質 55

保護分子 56

接受器蛋白質 56

調節蛋白質 57

結構蛋白質 57

其他種類的蛋白質 58

結論 58

摘要 58

問題 58

參考文獻 59

5 基因的本質：訊息的貯藏室 60

- 概論 61
 - 基因的定義 61
 - 基因的大小 62
 - C 值議論 62
 - 基因中的訊息 63
 - 結構基因 63
 - 調節基因 66
 - 蛋白質及 RNAs 的基因 67
- 摘要 68
- 問題 68
- 參考文獻 69

6 遺傳密碼 70

- 概論 71
 - 一般特徵 71
 - DNA 及 RNA 的 64 個密碼 71
 - 搖擺假說 73
 - 讀碼框 73
 - 遺傳密碼幾乎是普遍性的 74
 - 特殊序列：起始及終止 75
 - 遺傳上常用的名詞 76
- 摘要 76
- 問題 77
- 參考文獻 77

7 原核生物基因表現之調控 78

- 概論 79
 - 代謝的調控 79
 - 細胞活性的細微調控 80
 - 細胞活性的粗略調控 83
 - 操作組 83
 - 乳糖操作組 83
 - 乳糖操作組之組成 84
 - 乳糖操作組之活化 88
 - 乳糖操作組之去活化 90
 - 色胺酸操作組 90
 - 色胺酸操作組之組成 91

- 色胺酸操作組之調控：抑制作用及衰減作用 92
- 阿拉伯糖操作組 95
- 阿拉伯糖操作組之組成 95
- 阿拉伯糖操作組之調控 96

- 摘要 97
- 問題 98
- 參考文獻 98

8 原核生物之蛋白質合成 99

- 概論 100
 - 分子生物學之中心法則 100
 - 輔直線性 100
 - 蛋白質/多肽及其生物活性 102
 - 蛋白質合成所需之能量 104
 - 蛋白質合成之組成分 106
 - 轉錄作用 112
 - 轉譯作用 115
 - 蛋白質摺疊 118
- 摘要 119
- 問題 120
- 參考文獻 120

9 突變及 DNA 修復 121

- 概論 122
 - 突變的定義 122
 - 突變的機制 122
 - 點突變 123
 - 突變率 126
 - 篩選突變種 127
 - 沈默突變 128
 - 致變劑 129
 - 突變造成的結果 134
 - DNA 修復 137
 - Ames 測驗 141
- 摘要 143
- 問題 143
- 參考文獻 143

10 真核生物之基因：基本結構及功能 145

- 概論 146
- 真核生物 DNA 及染色體 146
- 組蛋白及非組蛋白質 152
- 包裹捆綁 DNA 153
- 真核生物基因 155
- 分裂的基因 155
- 多基因家族 155
- 超基因家族 156
- 同源箱基因 156
- 基因之甲基化 159
- 印痕及 X 染色體之不活化 161
- DNA 引導之 RNA 聚合酶 I, II, III 161
- 調節蛋白質 163
- RNAs 之加工處理 164
- RNAs 之轉錄後修飾 169
- 免疫系統遺傳學 172
- 摘要 173
- 問題 173
- 參考文獻 174

11 基因操縱：基因工程 175

- 概論 176
- 所需要之元素 176

- 產生重組 DNA 181
- 聚合酶鏈反應 182
- 原核生物細胞之選殖：細菌 183
- 真核生物細胞之選殖：酵母菌、植物及哺乳動物細胞 185
- 基因庫 189
- 基因圖、限制圖譜及定序 190
- 其他的技術 194
- 摘要 198
- 問題 199
- 參考文獻 199

12 新遺傳學的前瞻及風險 201

- 概論 202
- 人類基因組計劃 202
- 可被治療的疾病 203
- 纖維囊腫 205
- 實驗室程序 208
- 從人類學到接合子 208
- 基因之失活 215
- 倫理道德上的爭論 215
- 摘要 217
- 問題 217
- 參考文獻 218

-
- 字彙 219
 - 索引 232

第 **1** 章

DNA 的本質

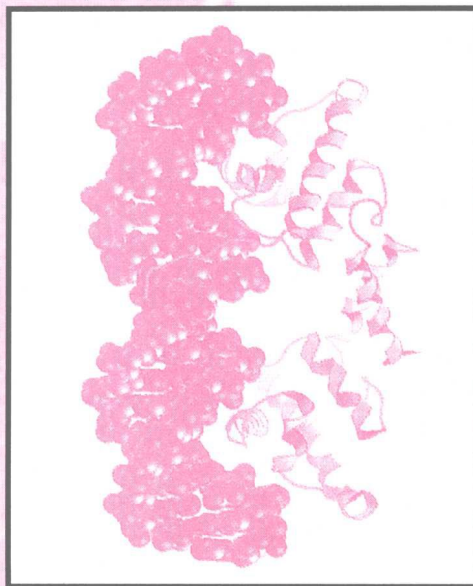
大綱 (OUTLINE)

- 2 概論
- 2 通往 Watson 及 Crick 模型之路
- 7 DNA 的組成
- 8 DNA 的結構
- 11 DNA 的物理特性
- 13 DNA 在生物上的疑點
- 14 DNA 的生物功能
- 15 基因
- 16 摘要
- 16 問題
- 17 參考文獻

本章主題 (CHAPTER OBJECTIVES)

本章將討論

- 為了解 DNA 的本質，科學家們所做的貢獻。
- DNA 的物理及化學特性。
- 遺傳物質的生物功能。
- 如何計算 DNA 分子中的核苷酸數目。
- 基因的本質。



概論 (INTRODUCTION)

英國雜誌 *Nature* 於 1953 年 4 月 25 日之當期月刊中發表了一篇名為「核酸之分子結構：去氧核糖核酸的結構」的文章。此篇由美國人 James D. Watson 及英國人 Francis H. C. Crick 兩人共同發表 (圖 1-1)。在文章中第一段，他們提出關於 DNA 結構的敘述「我們所發現的新奇特徵將引起生物界的重視。」在此篇文章的最後敘述著「無法不引起我們所注意的是，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。」

追溯至 85 年前，德國科學家 Friedrich Miescher 曾報導其對核酸物質的發現。而後，Watson 及 Crick 在 *Nature* 雜誌所發表的文章更將這項研究工作發揮至極。起初，因為 Miescher 是在膿細胞及鮭魚精子細胞的核中所分離到的物質，因此他將之稱為核質 (nuclein)。到了 1871 年 Miescher 才發表了他這項發現。而於 1866 年 Gregor Mendel 發表他的研究成果，也就是有關基因的獨立分離及分配。

1800 年代末期被認為是遺傳學誕生的重要時期，由於遺傳學的誕生，新的科學研究開始往兩方面發展。以 Mendel 的研究為基礎者，稱為古典遺傳學；而由 Miescher 的發現而起始之研究稱為分子遺傳學。兩者的研究成果，很明顯地並不因為相互需要而衝突。

古典遺傳之研究著重在基因如何由上一個世代遺傳 (inheritance) 到下一個世代，是研究有關基因在染色體 (chromosomes) 上的位置；染色體的重排及顯隱性等觀念。而另一方面，分子遺傳學則著重在研究基因的結構及其如何運作調節。

近一世紀以來，科學家們一直持續不斷地嘗試闡明有關 nuclein (Miescher 所發現的物質) 到底是什麼樣的結構。Nuclein 在遺傳及細胞代謝上的角色一直未被普遍接受。事實上，染色體的二大成分：核酸及蛋白質 (protein) 被發現之後，一直爭議的是：核酸是太過簡單的物質，不足以解釋染色體間的差異以及個體 (不論同種與否) 間的差異。此外，蛋白質本身是由不同的次單位組成，這些次單位又是由不同的胺基酸 (amino acid) 組成，蛋白質本質上的多變異反而使人更容易聯想，用以解釋染色體及不同個體間的差異。

Watson 及 Crick 所發表的文章終止了某項研究，卻也同時掀起另一項研究的開端。遺傳分子的結構研究告了一段落，而卻興起了對核酸物質的分子功能之研究。其中一項功能，複製 (replica-

tion)，在其文章中第一段已經被提出 (「無法不引起我們注意的是…」)。經由複製，遺傳訊息可由上一代傳到下一代。其餘的功能，如：基因如何運作及在細胞代謝中被調節，仍被繼續地研究著。

在 Miescher 發現 nuclein 後再經過 60 年，真正組成核酸的基本成分及其相互關係才被確定。

直到進入 20 世紀，A. Kossel 證明了核酸是由一個氮鹼基 (腺嘌呤 (adenine)、鳥糞嘌呤 (guanine)、胞嘧啶 (cytosine)、胸腺嘧啶 (thymine) 或尿嘧啶 (uracil)) (圖 1.2) 一個糖及一個磷酸根 (圖 1.3) 所組成。

之後，在 1930 年代早期，P.A.T. Levene 發現了氮鹼基、糖、及磷酸根三者之相關排列。一個氮鹼基與糖相連接，另一個方向再與磷酸根連接，這個三者合一的結構稱之為核苷酸 (nucleotide, 圖 1.4)，也就是核酸組成之最基本成分。

Levene 及其共同研究者發現 nuclein 上的糖為去氧五碳糖 (deoxyribose) 並且他們發現事實上核酸有二類：核酸 (ribonucleic acid) 或稱為 RNA (事實上由 Kossel 發現) 及去氧核酸 (deoxyribonucleic acid) 或稱為 DNA (即 Miescher 所謂之 nuclein)。

核酸成分的被發現，使得 Takahashi 於 1930 年提出 DNA 的第一個模型，稱為「核苷酸四聚體」。此模型指出 DNA 是由腺嘌呤、鳥糞嘌呤、胞嘧啶及胸腺嘧啶四種核苷酸，以規則的型式重複出現所組成。因此，DNA 是由簡單的部分以簡單排列所組成的觀念被建立。

1953 年，可說是 DNA 的確切結構被確定的重要時期，除了 James Watson 及 Francis Crick 之外，L. Linus Pauling, R. Corey 及 Fracer 也都提出了模型。Pauling 及 Corey 的模型指出磷酸根是延著整個分子的軸心而排列；而氮鹼基部分是位在分子裡面。Fraser 也正確地預測了磷酸根及氮鹼基的位置。Watson 及 Crick 認為這些模型為「頗不清楚的闡義」。

通往 Watson 及 Crick 模型之路 (THE PATH TO THE WATSON AND CRICK MODEL)

就我們所知，在 1930 年代，許許多多有關 DNA 組成的證據不斷被發掘，但是，在 20 世紀中，到底是什麼趨使著科學家們研究 DNA 的結構呢？答案是：大多數證據當中都指出 DNA 為遺傳物質。

1880 年代早期，曾有推測認為染色體與遺傳的相關。Wilhelm Roux 提出有絲分裂 (mitosis) 及減

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 di-ester 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 is a residue on each chain every 3.4 Å, in the α -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 α -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 stereo-chemical 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 inter-atomic 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 King's College, London. One of us (J.D.W.) has been aided by a fellowship from the National Foundation for Infantile Paralysis.

J. D. WATSON
F. H. C. CRICK

Medical Research Council Unit for the
Study of the Molecular Structure of
Biological Systems,
Cavendish Laboratory, Cambridge.
April 2.

¹Pauling, L., and Corey, R. B. *Nature*. 171. 346 (1953); *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, 38, 84 (1953).

²Furberg, S., *Acta Chem. Scand.*, 6, 634 (1952).

³Chargaff, E., for references see Zamenhof, S., Brawnerian, G., and Chargaff, E., *Biochim. et Biophys. Acta*, 9, 402 (1952).

⁴Wyatt, G. R., *J. Gen. Physiol.*, 36, 201 (1952).

⁵Astbury, W. T., *Symp. Soc. Exp. Biol.* 1, Nucleic Acid, 66 (Camb. Univ. Press, 1947).

⁶Wilkins, M. H. F., and Randall, J. T., *Biochim. et Biophys. Acta*, 10, 182 (1953).

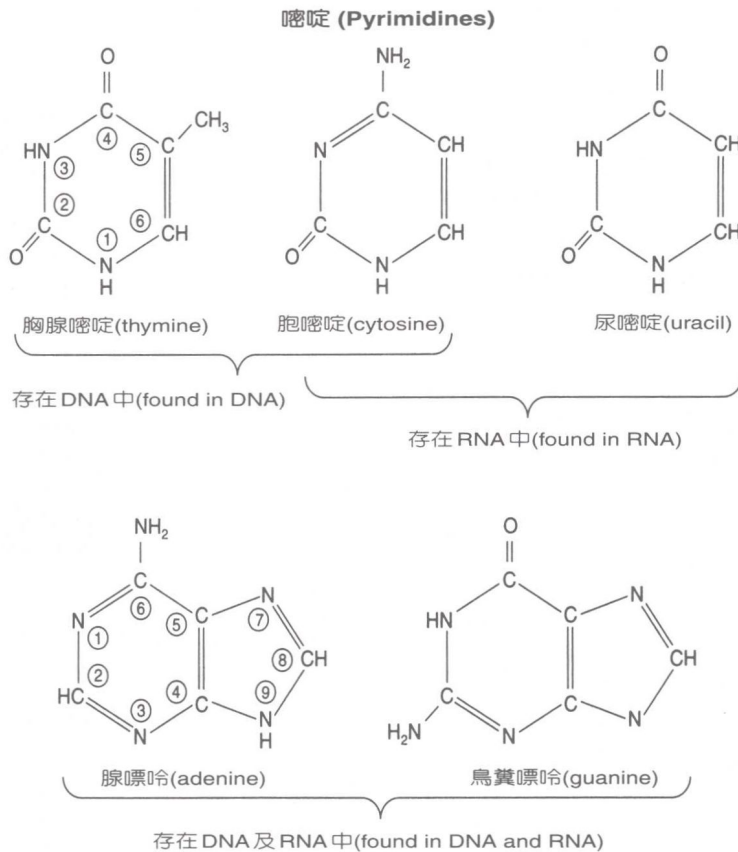


圖 1.2

核酸的鹼基。嘧啶有一個碳－氮環；嘌呤有二個碳－氮環。

數分裂(meiosis)的機制沒什麼理由不與遺傳無關，因此他提出染色體為遺傳物質的說法。顯而易見的，在沒有 Mendel 的理論支持下，他也預測了遺傳單位是延著染色體線條呈直線排列的。

但是直到 1928 年，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。Griffith 是一位在英國公共衛生單位服務的英國物理學家。他的研究奠定了其他科學家包括 O.T. Avery 及其夥伴；E. Chargaff；A.D. Hershey 及 M. Chase；還有 Franklin 等人在科學貢獻上的基礎。

現在，讓我們很快介紹一下有關這些科學家的實驗，看看 Watson 及 Crick 所提出的 DNA 分子模型是如何建立，進而導引出複製機制假說。

Griffith 的工作在於研究肺炎雙球菌，這種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之為「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（能致使肺炎），而沒有莢的細菌為無毒

性的。根據這樣的特性，研究者可以很快的了解到生長在固態培養基上的菌落是否有毒。以肉眼觀察，可以看出有毒性的菌落為平滑、有黏性的外觀，以 S 表示之。反之，無毒性的菌落為乾燥、粗糙的外觀，以 R 表示之。

Griffith 的實驗是將不同型的細菌，注射至老鼠體內，過幾天後，殺死老鼠，取其心臟的血液作細菌培養，觀察那一種細菌會出現。實驗過程簡述如下：

1. 以 type III S 細菌注射正常老鼠，結果產生死老鼠 + type III S 菌。
2. 以 type II R 細菌注射正常老鼠，結果產生活的老鼠。
3. 將 type III S 細菌先以熱殺死再注射正常老鼠，結果產生活的老鼠。
4. 將 type III S 細菌先以熱殺死再混合 type II R 細菌，注射正常老鼠後結果產生死的老鼠 + type III S 細菌。

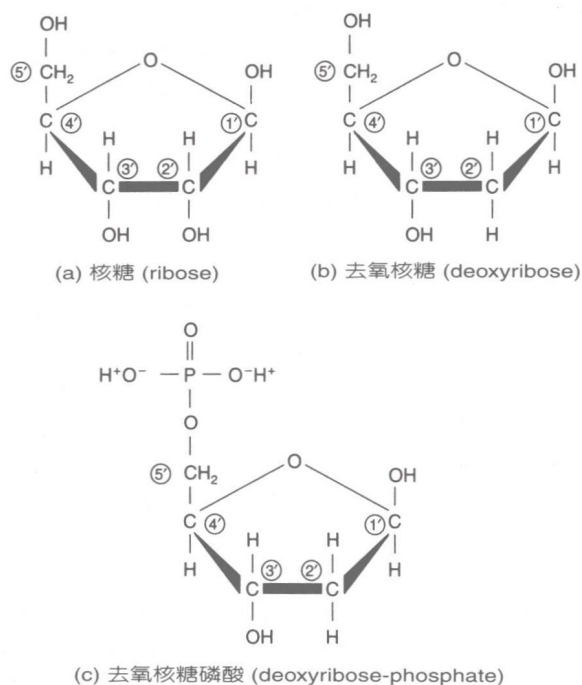


圖 1.3

(a)核糖的2'碳上有—OH與之連接。(b)去氧核糖的2'碳上只有H與之連接。(c)去氧核糖連接一磷酸根。

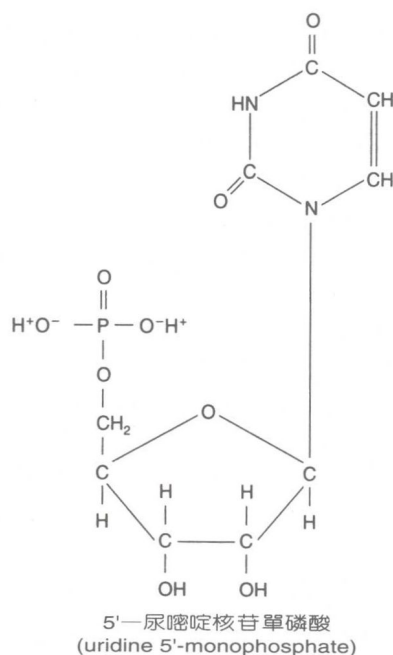
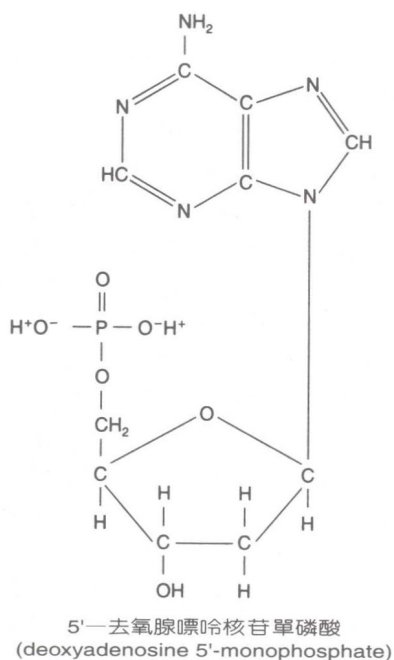


圖 1.4

核苷酸。

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 II細菌轉變成S III細菌。但突變(mutation)並不足以解釋此結果，因為，當細菌由R突變成S或由S突變成R，莢的型式並不會改變。

例如，突變會造成R II細菌變成S II細菌而非S III細菌。

Griffith研究的結果公布在1928年的英國雜誌Hygiene月刊上，過幾年後，J.L. Alloway報告說，將S型細菌打碎，經過過濾除去未打碎的完整細菌後，其萃取液仍具有使R型細菌轉型的能力。之後，在1944年，O.T.Avery, C.M.MacLeod及M. McCarty等人共同發表其實驗結果。以Watson慣用語敘述：「Avery的驚人發現。」結論是：「懷著驚訝及難以置信的心情，在當時很難有人相信並接受DNA扮演著與訊息相關的角色。」Avery及其共同研究者證明了在Griffith實驗中的轉型因子確實為DNA。

Avery, MacLeod及McCarty設計出一些酵素反應，用來破壞某些分子。利用化學法、酵素法、血清反應、電泳、超高速離心及紫外光等方法能除去蛋白質、未鍵結脂類、RNA、多醣類等可能

的轉型因子。報告中說：「但只有在含有破壞DNA的酵素反應中，測不到轉型因子的活性。(Avery等，1944年)。

或許以上實驗可以讓人普遍接受DNA是遺傳物質，但是在Avery的實驗製備過程中仍有些爭議。例如可能有少量未測得的蛋白質污染。事實上，Avery在其報告中的敘述是「若在最近的研究當中，轉型因子的化學性質被確定，則核酸至今應該被視為化性未確知，但具有生物特異性的物質。」儘管如此，這些科學家的研究及資料對生物學家Erwin Chargaff而言，無疑是一大激勵！

一項被稱為「濾紙層析法」的技術被用來鑑定未知物質。其原理是利用物質溶在不同溶劑中，當溶劑延著紙條移動，根據溶劑移動的距離，與對照組相比較，即可知某物質的一些特性。

Chargaff收集不同來源的DNA，在高溫高壓之下以酸做水解處理，使能釋出腺嘌呤、鳥糞嘌呤、胸腺嘧啶及胞嘧啶。他利用濾紙層析法以2~40 μ g（根據吸光值）的量來分析。

1950年，他發表了實驗結果。Chargaff記錄說，來自不同種類的DNA萃取液是「來自相同種類中不同器官的DNA，其組成分不變，且具有獨特性。」此外，「這些結果將反駁核苷酸四聚體假說。」核苷酸四聚體假說認為腺嘌呤、鳥糞嘌呤、胞嘧啶及胸腺嘧啶是等量的。

反過來，他在文中敘述「值得注意的是，在所有被檢測的DNA樣本中，嘌呤對嘧啶的莫耳比值都大於或小於1；而腺嘌呤對胸腺嘧啶或者是鳥糞嘌呤對胞嘧啶的莫耳比值卻都接近於1。這個現象稱之為「查氏規則」(Chargaff's rule)

自1930年Levene的研究以來，Chargaff的研究對DNA的結構特徵而言，是第一個發表且相當重要的一份報告。但仍有想法認為遺傳物質有可能是蛋白質而非DNA。

Alfred Hershey及Martha Chase的研究最後終於終止了蛋白質可能為遺傳物質的想法。兩位在1952年於The Journal of General Physiology所發表的實驗報告標題為「生長的噬菌體中，病毒的核酸及其蛋白質各具有獨立不同的功能」。這項發表激勵了Watson及Crick盡更大努力於1953年時提出DNA分子模型。

有些細菌病毒，稱為噬菌體(bacteriophage)，是已知由蛋白質及DNA兩種巨分子所建構而成。跟所有的病毒一樣，它必須寄生在活的細菌中才能生存。一開始，噬菌體先吸附在細菌表面，然

後再穿透它。噬菌體在剛進細菌裡面時是沒有感染能力的，也就是說，在感染細菌之後短時間內，若細菌破裂，則釋出的噬菌體是沒有感染其他細菌的能力。這種在細菌內沒有感染力的型式，類似介於親代與子代間的連繫。對於研究病毒生長而言，要闡明這種型式的結構及功能變成一個重要的問題。

Hershey及Chase利用不同的同位素標定生長中之噬菌體T2。以硫標定蛋白質中的**甲硫胺酸(methionine)**及**半胱胺酸(cysteine)**，以磷標定DNA。重點在於T2蛋白質不含磷，而其DNA不含硫。標定過的T2噬菌體拿來感染**大腸桿菌(E. coli)**，在感染了預定時間之後，以攪拌器猛力攪拌以除去附著在大腸桿菌上的T2噬菌體，接著做以下檢查：

1. 被感染的細菌產生病毒後代的能力：不造成任何影響，因此細菌內型式會出現且有功能。
2. 含硫部分的去除：攪拌的力量剝除了70%~80%已感染細菌上所附著的同位素硫。
3. 含磷部分的去除：攪拌的力量只去除了20%~35%已感染細菌上所附著的同位素磷。(此現象是可被理解的，因為並非所有的噬菌體都穿透細菌，因此會有殘留的同位素磷，留在細胞表面，然後被攪拌力量去除。)

Hershey及Chase解釋這些結果，認為病毒DNA離開病毒的蛋白質外殼，並進入細菌。為了支持這項說法，他們讓病毒吸附在已分離的細菌細胞膜上，或者吸附在以熱殺死的細菌上，再利用核酸對DNase酵素具易感性質的方法，顯示吸附在這兩者上面均會導致DNA釋出。

Hershey及Chase從這些實驗結論出（在1952年）：「T2噬菌體生長的第一步，應該是將病毒粒子裡的核酸由其蛋白質外殼中釋出，而含硫的這些外殼將變成沒有功能的蛋白質。」

也就是說，T2噬菌體的遺傳物是DNA而非蛋白質。兩者之間的爭議在其證明有利於DNA的確定下終於塵埃落定。自此以後，DNA在遺傳上所扮演的角色將無庸置疑！

到底Watson及Crick兩人在對DNA模型的推測上是否正確，說服他們的最後一項證據在於Rosalind Franklin的研究。她利用一項在1913年由W. H. Bragg及W. L. Bragg兩人所證明的技術，稱為

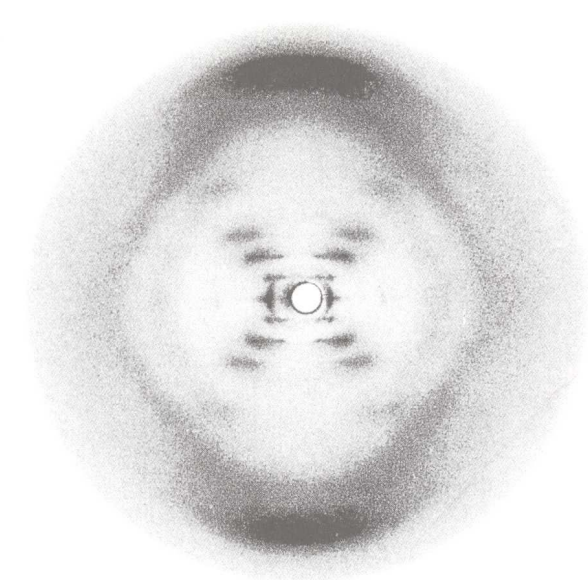


圖 1.5

Franklin 的 DNA X 光繞射圖。

X 光結晶顯影。其利用 X 光繞射所產生的型式揭開分子三度空間的結構。將某物的結晶狀態暴露於 X 光束當中，光束粒子打在結晶上時會偏離而打在另一張底片上，將底片沖洗後，可以看到原子間特殊結構排列的方式。

1952～1953 年的冬天，Franklin 利用這項技術，表現出 DNA 分子的 X 光照片（圖 1-5）。Watson (1976) 對這張照片描述說：

這張具有關鍵性的照片，關係到闡明 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，就立體空間上論，二個嘌呤或嘧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。

DNA 的組成 (THE COMPONENTS OF DNA)

就以上所言，我們知道 DNA 由三種基本成分組

成：一個磷酸根、一個糖及一個含氮鹼基。其中磷酸根賦予 DNA 有酸及帶負電荷的特性。在活體中，除非這些酸性被中和，否則巨大的 DNA 分子是不可能被網綁在細胞核內的。在**真核生物(eukaryotes)**（其細胞具有核膜者）如人類；以及**原核生物(prokaryotes)**如細菌。像這樣的中和反應是由一些鹼性蛋白質所造成的。在真核生物中，參與 DNA 網綁的蛋白質為組蛋白(histones)而在原核生物中，是以稱為多胺(polyamines)的小型蛋白質來中和 DNA 的酸性。

事實上，人類細胞染色體中最小的 DNA 分子大約長 1.4 公分，在進行有絲分裂時漸漸收縮成染色體，長度約是未收縮前的 1/7,000。因此，若以此例，DNA 分子以染色體長度為一個單位，則其網綁的比例約為 7,000。

DNA 上的糖為 2' - 去氧五碳核糖（圖 1-3）“prime”是用來與氮鹼基上的碳原子區別（圖 1-2 上的碳原子沒有 prime）。

在 DNA 分子中常見的氮鹼基（圖 1-2）為：腺嘌呤、鳥糞嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶，還有一些少見的氮鹼基，在此我們不做討論。

細胞將這三種 DNA 成分一磷、糖及鹼基組成**去氧核糖核苷酸(deoxyribonucleotides)**，通常簡稱**核苷酸(nucleotides)**。任何一種鹼基加上去氧核糖，產生一種核苷(nucleosides)（圖 1-6 去氧腺嘌呤核苷）。若此時再加上一個磷酸根，則產生一個核苷酸（圖 1-4 5' - 去氧腺嘌呤核苷單磷酸）。（見圖 1-4 及 1-6，稍後，我們將討論由核糖如何形成核苷及核苷酸）

DNA 為一種**多聚體(polymer)**或由核苷酸形成的長鏈分子（圖 1-7）。五碳核糖上的 1' 號碳原子接連鹼基的氮原子，事實上，所有的核苷酸均是以 5' - 核苷單磷酸的形式被合成的。例如，以腺嘌呤為鹼基的核苷酸，事實上是 2' - 去氧腺嘌呤 - 5' - 單磷酸；以胞嘧啶為鹼基者，事實上是 2' - 去氧胞嘧啶 - 5' - 單磷酸。

在活體當中，這些核苷酸經過嘌呤途徑及嘧啶途徑來合成（表 1-1）。所有核苷酸的合成都是由磷酸根連接糖的 5 號碳而來。稍後，我們將看到這樣的事實，對 DNA 的結構及複製而言將極為重要。

為了方便起見，這些核苷酸將以其鹼基的第一個字母大寫來表示。即 A、G、C、T 分別表示含有腺嘌呤、鳥糞嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶的核苷酸。於本書中，我們將使用這種表示系統。

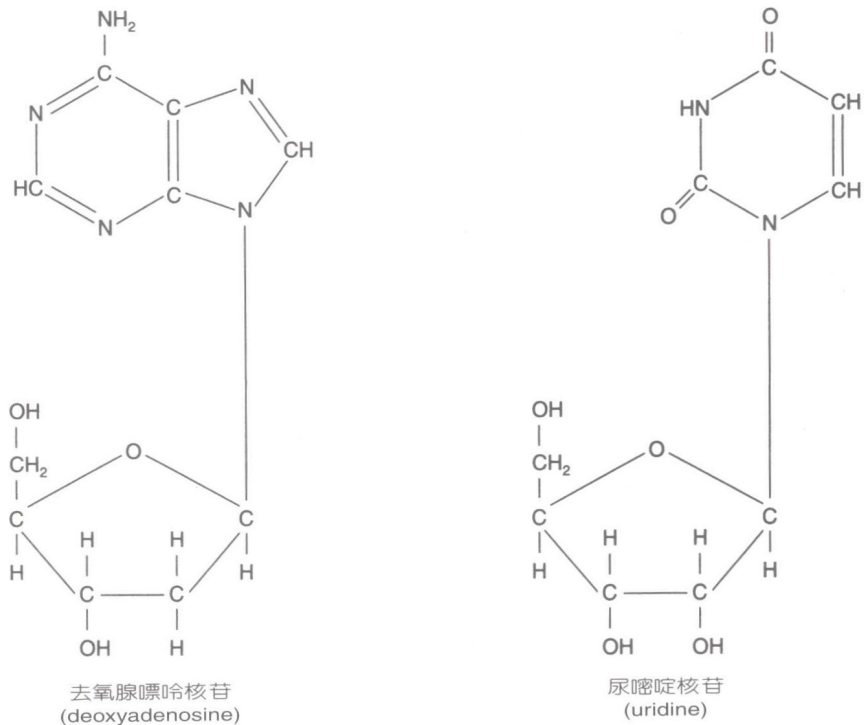


圖 1.6

核苷。

DNA 的結構 (THE STRUCTURE OF DNA)

雙股 DNA 是靠二種化學鍵的力量：**磷酸雙酯鍵 (phosphodiester bonds)** 及**氫鍵**，才能固定形成雙股螺旋。核苷酸之間是靠磷酸雙酯鍵的力量來維持；而二股之間是靠氫鍵的力量結合。磷酸雙酯鍵是經由一個磷原子與兩個相鄰的含碳基團上的氧原子相連(圖 1-7)，一條多核苷酸鏈於是以這種接連方式形成。一個核苷酸的 5' 號碳上的磷與前一個不帶磷酸根的核苷酸上的 3' 號碳相連。整條 DNA 長鏈上，除了第一個及最後一個核苷酸之外，均在其 5' 及 3' 號碳上都經由磷酸雙酯鍵與其相鄰核苷酸相連接。因此，每一條開放的核苷酸鏈，都會各在二端有一個 5' 及 3' 號碳沒有與別的核苷酸連接，即所謂的 5' 端及 3' 端。

事實上，DNA 分子在合成時的方向是從 5' 端到 3' 端的。記住，一個單獨的核苷酸其 5' 端為單磷酸根；而 3' 端為羥基。因此，任何一個核苷酸是以其 5' 端及 3' 端與相鄰二個核苷酸相連接。此一觀念必須建立，因為 DNA 及蛋白質的合成與其有

重要關連。在敘述一個細胞時，像左、右這類的名詞是沒有意義的。因此，當一個分子的方向很重要時，我們利用標示出某分子的二端來區別分子的方向。例如核苷酸的 5' 端及 3' 端。

如圖 1.7 所示，磷酸雙酯鍵上的磷並非直接接在碳原子上，其中有氧原子介於磷及碳之間形成酯類。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。故這樣的多核苷酸鏈，即**DNA**，是利用磷酸雙酯鍵來連接成為一連串的**核苷酸序列**。

雙股 DNA 擁有二條這樣的聚合鏈（或稱股）。而這二股的拉近是藉由並列的二條核苷酸鏈之間的氫鍵力量來保持著。

總之，一個雙股 DNA 分子在其每一條 DNA 鏈內是藉著磷酸鍵來連接，而與另一條 DNA 鏈之間的拉近，則靠氫鍵來維持。磷酸雙酯鍵為一種共價鍵結，因此，其力量比氫鍵強。

存在於兩股 DNA 間的氫鍵將這些跨股且並列的核苷酸對，即所謂的查氏配對結合在一起。這些配對永遠會是腺嘌呤對胸腺嘧啶(A = T)及鳥糞嘌呤對胞嘧啶(G = C) (圖 1-8)。大寫字母表示鹼基種類，而在字母間的短線數目表示兩鹼基間的氫鍵數目。腺嘌呤與胸腺嘧啶間存在二個氫鍵；

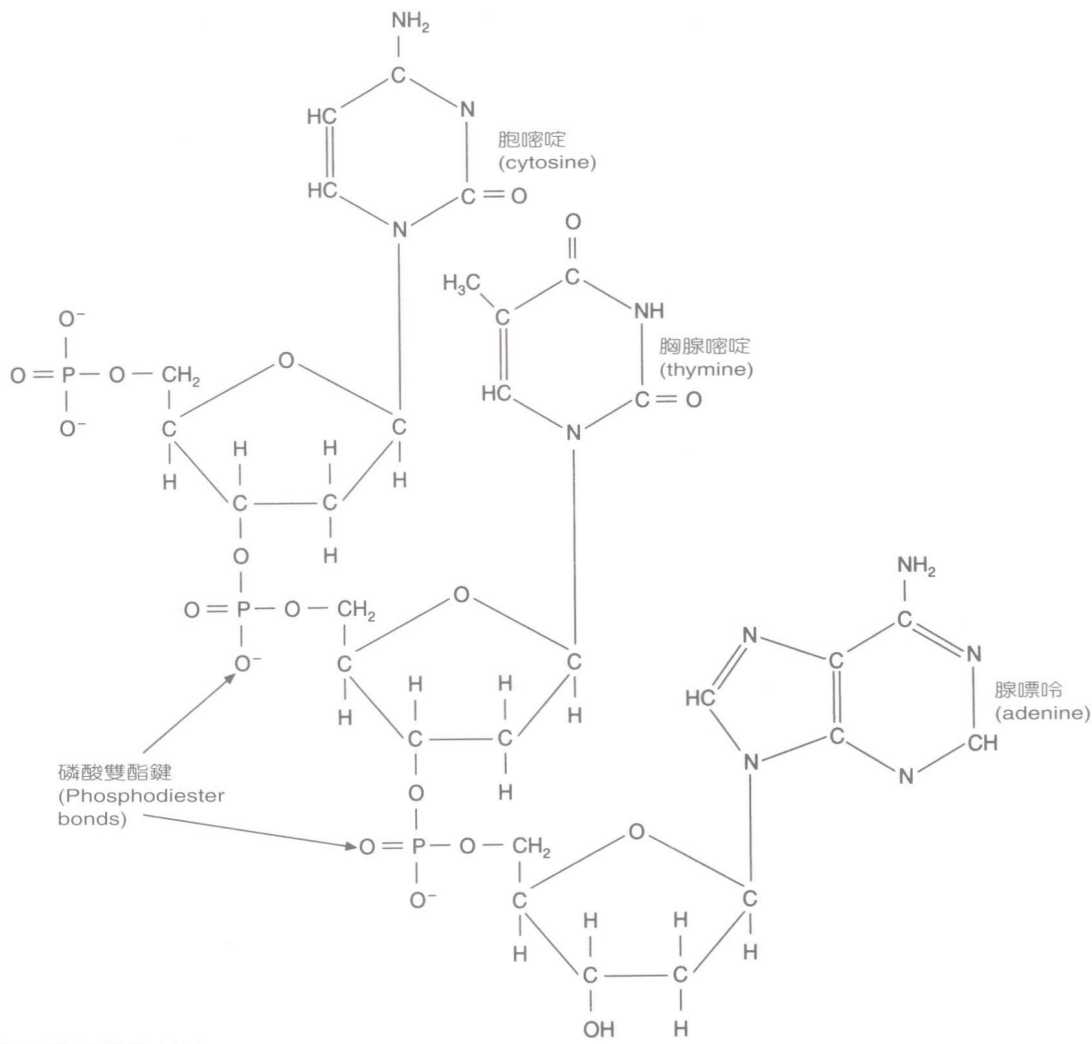


圖 1.7
聚核苷酸之磷酸雙酯鍵結。

表 1.1 核苷酸合成之兩種途徑

核苷酸合成之兩種途徑

途徑	鹼基	核苷	核苷酸
嘌呤	腺嘌呤(A)	腺嘌呤核苷	5'-去氧腺嘌呤核苷單磷酸
	鳥糞嘌呤(G)	鳥糞嘌呤核苷	5'-去氧鳥糞嘌呤核苷單磷酸*
嘧啶	胸腺嘧啶(T)	胸腺嘧啶核苷	5'-去氧胸腺嘧啶核苷單磷酸
	胞嘧啶(C)	胞嘧啶核苷	5'-去氧胞嘧啶核苷單磷酸
	尿嘧啶(U)	尿嘧啶核苷	5'-尿嘧啶核苷單磷酸†

* 存在 DNA 中，不存在 RNA 中

† 存在 RNA 中，不存在 DNA 中