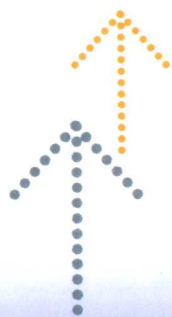



主 编 杨荣武  
副主编 郑伟娟 张敏跃

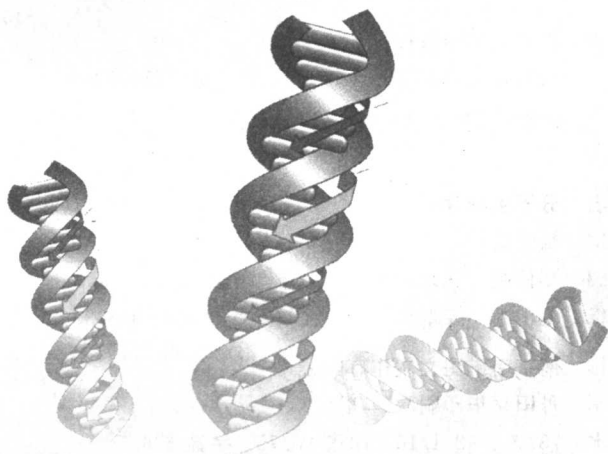
# 分子生物学



 南京大学出版社

# 分子生物学

主 编 杨荣武  
副主编 郑伟娟 张敏跃



 南京大学出版社

## 图书在版编目(CIP)数据

分子生物学/杨荣武主编. —南京:南京大学出版社,  
2007.2

ISBN 978-7-305-04321-5

I. 分... II. 杨... III. 分子生物学 IV. Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 019677 号

出版者 南京大学出版社  
社 址 南京市汉口路 22 号 邮 编 210093  
网 址 <http://press.nju.edu.cn>  
出版人 左 健  
书 名 分子生物学  
主 编 杨荣武  
副 主 编 郑伟娟 张敏跃  
责任编辑 蒋 平 荣翠琴 编辑热线 025-83593052  
照 排 南京南琳图文制作有限公司  
印 刷 丹阳兴华印刷厂  
开 本 787×1092 1/16 印张 25.75 字数 636 千  
版 次 2007 年 2 月第 1 版 2007 年 2 月第 1 次印刷  
印 数 1-3000  
ISBN 978-7-305-04321-5  
定 价 43.00 元(含光盘)  
发行热线 025-83592169 025-83592317  
电子邮件 [sales@press.nju.edu.cn](mailto:sales@press.nju.edu.cn)(销售部)  
[nupress1@public1.ptt.js.cn](mailto:nupress1@public1.ptt.js.cn)

\* 版权所有,侵权必究

\* 凡购买南大版图书,如有印装质量问题,请与所购  
图书销售部门联系调换

# 前 言

分子生物学是在分子水平上研究生物大分子的结构与功能的学科,其研究的核心内容是基因的化学本质和基因复制、突变及表达的分子机制。如果以 Watson 和 Crick 提出 DNA 双螺旋结构作为这门学科诞生的标志,那么分子生物学的发展已有半个多世纪。在过去的 50 多年里,分子生物学发生了翻天覆地的变化,它的变化也极大地带动和推进了其他许多学科的发展。可以说当今的分子生物学已经渗透到生命科学的各个方面。

为了能够充分反映这一门学科的核心内容和最新进展,急需一本既与时俱进又通俗易懂的新教材。上个世纪 80 年代末,南京大学的孙乃恩教授曾经编写一本在全国颇有影响的《分子遗传学》教科书。到 2005 年为止,孙先生的教材已重印过 15 次。然而,由于种种原因,这本教材的内容一直没能更新,显然,与当今分子生物学发展的速度相比,书中的许多内容已显陈旧了。为此我们在原来的《分子遗传学》的基础上,重新编著了这本《分子生物学》,希望这本新教材既能继承孙先生教材的诸多优点,也能克服原教材中的一些不足。

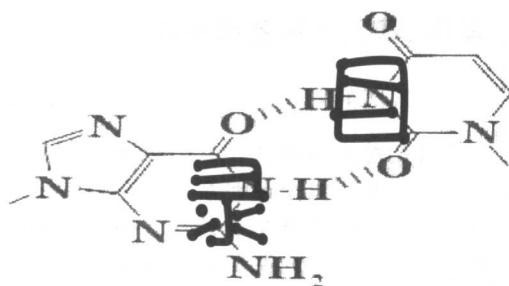
这本新版的《分子生物学》具有以下特点:(1)在内容上,突出了“新”字,充分反映了本学科发展的最新成果。例如,在本书的相关章节增加了 RNA 聚合酶作用的“热棘轮”模型、RNA 核开关、RNA 干扰和蛋白质的反式拼接等。考虑到本学科发展的特点,以后我们将随时更新本书内容;(2)在介绍重要的分子生物学原理的时候,已不再仅局限于介绍现成的结论,而是更多描述相关的背景知识。为了激发读者的学习兴趣,启发学生的创新意识和思维,在主要的章节后面附有具启发性的科学故事。例如,在第 9 章蛋白质的生物合成这一章,附有的科学故事是 RNA 领带俱乐部与遗传密码的破译;(3)在编写过程中,吸收了南京大学生命科学学院的部分优秀学生的参与,认真听取他们的意见。他们的主要任务是“试读教材”,以保障教材的通俗易懂性;(4)在编排体系上,力求做到各章节之间的衔接和连续性,尽可能避免不必要的重复。每一章有引言、主题内容、小结、科学故事、参考文献、推荐网址和思考题。(5)小结以填充题的形式给出,这为读者提供了一次自我检测的机会;(6)提供了配套的光盘。在光盘中,有各章节图表的彩图,以方便读者能够借助高清晰的彩图更加直观地理解复杂的分子机制。

本书的使用对象包括综合性院校、医学院、农林院校及师范院校的与生命科学相关专业的本科生使用,也可供相关专业的教师、研究生和科技工作者使用。

最后,衷心希望这本书的出版能够为我国的分子生物学的发展和分子生物学知识的普及做出一点贡献。

杨荣武等

2007 年 1 月于南京



## 第 1 章 分子生物学发展简史

1.1 分子生物学的起源 .....	1
1.1.1 传递遗传学 .....	1
1.1.2 分子遗传学 .....	2
1.2 分子生物学的发展 .....	3
1.2.1 DNA 的半保留复制 .....	3
1.2.2 基因与蛋白质之间的关系 .....	4
1.2.3 中心法则 .....	4
1.2.4 基因工程 .....	5
1.2.5 分子生物学的其他进展 .....	6
科学故事——朊病毒的发现 .....	6

## 第 2 章 遗传物质的分子本质

2.1 遗传物质的分子本质 .....	10
2.1.1 DNA 作为遗传物质 .....	10
2.1.2 RNA 作为遗传物质 .....	12
2.1.3 具有遗传物质特性的蛋白质 .....	13
2.2 核酸的结构 .....	14
2.2.1 核酸的化学组成和一级结构 .....	14
2.2.2 核酸的二级结构 .....	19
2.2.3 核酸的三级结构 .....	26
2.3 核酸的变性和复性 .....	28
2.3.1 核酸的变性(denaturation) .....	28
2.3.2 核酸的复性(renaturation) .....	29
2.3.3 核酸的分子杂交 .....	31
科学故事——究竟是谁首先发现了 DNA 的双螺旋结构? .....	31

### 第3章 基因、基因组和基因组学

3.1 基因的概念 .....	36
3.1.1 对基因的认识 .....	36
3.1.2 基因概念的扩展 .....	37
3.1.3 基因的种类和结构 .....	41
3.1.4 生物体内基因的大小和数目 .....	42
3.1.5 基因簇与重复基因 .....	44
3.2 基因组 .....	46
3.2.1 原核生物基因组 .....	47
3.2.2 真核生物基因组 .....	48
3.2.3 人类基因组计划 .....	51
3.3 基因组学 .....	53
3.3.1 结构基因组学 .....	53
3.3.2 功能基因组学 .....	57
科学故事——人类基因数大缩水的秘密与历程 .....	60

### 第4章 DNA的生物合成

4.1 DNA复制 .....	66
4.1.1 DNA复制的基本特征 .....	66
4.1.2 DNA复制的酶学 .....	71
4.1.3 DNA复制的详细机制 .....	84
4.1.4 DNA复制的高度忠实性 .....	92
4.1.5 DNA复制的调控 .....	93
4.2 逆转录 .....	95
4.2.1 逆转录病毒的结构 .....	95
4.2.2 逆转录病毒的生活史 .....	96
科学故事——HIV辅助受体的发现 .....	100

### 第5章 DNA的损伤、修复和突变

5.1 DNA损伤及其修复 .....	105
5.1.1 导致DNA损伤的因素以及损伤类型 .....	105
5.1.2 DNA的修复机制 .....	107
5.2 DNA的突变 .....	122
5.2.1 突变的类型与后果 .....	122
5.2.2 突变的原因 .....	125



5.2.3 正向突变、回复突变与突变的校正 .....	129
-----------------------------	-----

## 第6章 DNA重组

6.1 同源重组 .....	135
6.1.1 同源重组的分子机制 .....	135
6.1.2 参与同源重组的主要蛋白质的结构与功能 .....	138
6.1.3 <i>E. coli</i> 几种重要的同源重组途径 .....	141
6.1.4 真核生物的同源重组 .....	142
6.2 位点特异性重组 .....	143
6.3 转座重组 .....	145
6.3.1 原核生物的转座子 .....	146
6.3.2 真核生物的转座子 .....	149
6.3.3 转座的分子机制 .....	152

## 第7章 RNA的生物合成

7.1 DNA转录 .....	158
7.1.1 转录的一般特征 .....	158
7.1.2 DNA转录的酶学 .....	159
7.1.3 原核生物的DNA转录 .....	164
7.1.4 真核生物的DNA转录 .....	173
7.1.5 转录校对 .....	180
7.2 RNA复制 .....	180
7.2.1 双链RNA病毒的RNA复制 .....	181
7.2.2 单链RNA病毒的RNA复制 .....	181
科学故事——鉴定转录因子的生物化学及遗传学技术 .....	183

## 第8章 转录后加工

8.1 原核细胞RNA前体的后加工 .....	188
8.1.1 mRNA前体的后加工 .....	188
8.1.2 rRNA前体的后加工 .....	188
8.1.3 tRNA前体的后加工 .....	189
8.2 真核细胞RNA前体的后加工 .....	190
8.2.1 mRNA前体的后加工 .....	190
8.2.2 rRNA前体的后加工 .....	205
8.2.3 tRNA前体的后加工 .....	209
科学故事——第一例真正的核酶的发现 .....	210

## 第9章 蛋白质的生物合成

9.1 参与翻译的主要生物大分子的结构与功能 .....	216
9.1.1 核糖体 .....	216
9.1.2 mRNA .....	219
9.1.3 tRNA .....	220
9.1.4 氨酰-tRNA 合成酶 .....	222
9.1.5 辅助蛋白因子 .....	226
9.2 翻译的一般性质 .....	226
9.2.1 翻译的四个阶段 .....	226
9.2.2 翻译具有极性 .....	226
9.2.3 三联体密码 .....	227
9.2.4 反密码子决定特异性 .....	231
9.2.5 摆动规则 .....	231
9.3 翻译的详细机制 .....	232
9.3.1 原核生物的翻译 .....	233
9.3.2 真核生物的细胞质翻译系统 .....	242
9.3.3 真核生物的细胞器翻译系统 .....	249
9.4 翻译的抑制剂 .....	250
科学故事——RNA 领带俱乐部与遗传密码的破译 .....	252

## 第10章 多肽链折叠与翻译后加工

10.1 翻译后加工 .....	257
10.1.1 多肽链的剪切和修剪 .....	257
10.1.2 N-端添加氨基酸 .....	258
10.1.3 蛋白质拼接 .....	258
10.1.4 个别氨基酸残基的修饰 .....	260
10.1.5 形成二硫键 .....	262
10.1.6 添加辅助因子 .....	262
10.1.7 多肽链的折叠 .....	262
10.1.8 四级结构的形成 .....	266
10.2 蛋白质翻译后的定向与分拣 .....	266
10.2.1 共翻译途径 .....	267
10.2.2 翻译后途径 .....	269
科学故事——7SL RNA 的发现 .....	273



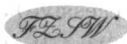
## 第 11 章 原核生物基因表达的调控

11.1	基因表达调控的两种方式 .....	278
11.2	DNA 水平的调控 .....	280
11.2.1	启动子序列对基因表达的调控 .....	280
11.2.2	DNA 重组对基因表达的调控 .....	280
11.3	转录水平的调控 .....	281
11.3.1	转录起始阶段的调控 .....	281
11.3.2	转录终止阶段的调控 .....	293
11.4	翻译水平的调控 .....	296
11.4.1	mRNA 高级结构对基因表达的影响 .....	296
11.4.2	反义 RNA 对翻译的调控 .....	297
11.4.3	翻译水平的自体调控 .....	298
11.4.4	严谨反应 .....	299
11.4.5	核开关 .....	300
11.5	$\lambda$ 噬菌体基因组表达的时序调控 .....	303
11.6	原核生物的全局调控——群体感应 .....	308

## 第 12 章 真核生物基因表达的调控

12.1	真核生物基因表达调控的多层次性 .....	313
12.1.1	染色质水平 .....	313
12.1.2	转录起始水平 .....	313
12.1.3	转录后水平 .....	313
12.1.4	翻译水平 .....	314
12.1.5	翻译后水平 .....	314
12.2	真核生物染色质结构和基因活性 .....	314
12.2.1	真核生物染色质结构 .....	314
12.2.2	染色质结构与基因活性 .....	317
12.3	转录激活因子对转录的影响 .....	321
12.3.1	转录激活因子的结构 .....	321
12.3.2	转录激活因子的作用机制 .....	326
12.3.3	转录激活因子活性的调节与信号传导途径 .....	333
12.4	转录后水平的基因表达调控 .....	335
12.4.1	可变拼接 .....	335
12.4.2	RNA 编辑 .....	337
12.4.3	mRNA 的转运 .....	337

12.5	翻译水平的基因表达调控 .....	338
12.5.1	mRNA 的稳定性对基因表达的影响 .....	338
12.5.2	在翻译起始阶段对基因表达的调控 .....	340
12.5.3	mRNA 的选择性翻译 .....	341
12.5.4	RNA 干扰导致的基因沉默 .....	342
12.6	翻译后水平的基因表达调控 .....	342
12.7	真核生物基因表达的发育调控 .....	343
12.7.1	果蝇的生长和发育周期 .....	343
12.7.2	果蝇发育过程中的基因调控 .....	344
	科学故事——RNAi 的发现 .....	346
<b>第 13 章</b>	<b>分子生物学方法</b>	
13.1	基因克隆 .....	354
13.1.1	工具酶 .....	355
13.1.2	基因克隆的载体 .....	356
13.1.3	基因文库 .....	361
13.2	聚合酶链式反应 .....	363
13.2.1	原理 .....	363
13.2.2	反转录-PCR 技术(RT-PCR) .....	364
13.2.3	荧光实时定量 PCR .....	365
13.3	核酸的体外标记与分子杂交技术 .....	366
13.3.1	核酸探针的种类 .....	366
13.3.2	探针标记的方法 .....	367
13.3.3	常用的杂交方法 .....	367
13.3.4	DNA 芯片技术及应用 .....	370
13.4	外源基因的表达 .....	372
13.4.1	大肠杆菌表达系统 .....	372
13.4.2	酵母表达系统 .....	374
13.4.3	哺乳动物细胞表达系统 .....	374
13.4.4	昆虫表达系统 .....	375
	科学故事——PCR 发明的启示 .....	376
	常见英文缩写 .....	381
	专业词汇英汉对照 .....	384
	主要参考书目 .....	399
	后记 .....	400



# 第 1 章 分子生物学发展简史

分子生物学(molecular biology)广义上是指从分子水平研究生物学现象的学科,但是按照这样的定义很难将它与生物化学区分开。实际上分子生物学主要以核酸和蛋白质等生物大分子的结构及其在遗传信息和细胞信息传递中的作用为研究对象,其核心内容是核酸在生命过程中的作用,因此称为核酸生物学也许更确切。然而,与生物化学侧重研究各种生物分子包括核酸的结构、功能、性质不同,分子生物学更侧重研究核酸的功能单位——基因的结构和功能,所以关于分子生物学的严格的定义是:从分子水平研究基因的结构和功能,包括遗传信息的传递、表达和调控的学科。

本章将主要介绍分子生物学的起源、发展及其应用。

## 1.1 分子生物学的起源

分子生物学侧重于从分子水平研究遗传信息的传递、表达和调控,因此可以认为是在遗传学和生物化学的基础上发展起来的一门新兴交叉学科。其起源可以追溯到 19 世纪中叶开始的一系列遗传学研究成果,但是当时还没有把遗传物质与核酸相关联,而侧重于研究遗传性状从亲本向子代传递的规律,称为传递遗传学(transmission genetics),那个阶段可认为是分子生物学的奠基阶段。

虽然早在 1869 年, Friedrich Miescher 就发现了核酸,但是直到 1944 年, Oswald Avery 通过肺炎双球菌的转化实验才证明遗传物质就是脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)。自那以后,人们才真正了解基因的化学本质,才开始从分子水平研究遗传物质的传递和表达规律,称为分子遗传学(molecular genetics),分子生物学的发展从奠基阶段进入迅速发展阶段。

### 1.1.1 传递遗传学

在 1858~1865 年间, Gregor Mendel 经过 7 年的豌豆杂交实验,总结了生物遗传的两条基本规律,即基因分离定律和基因的自由组合定律,于 1865 年发表了题为 Experiments in plant Hybridization(植物杂交实验)的论文。在此之前,人们认为遗传就是来自亲本的各种性状混合后传给子代,而 Mendel 根据自己的实验结果认为,生物的遗传性状由分开的遗传因子(hereditary factor)传递给后代。各种遗传因子独立地完整地传给子代,每一个亲本只传递一半的遗传因子给每一个子代,而同一个亲本的不同子代可以得到不同的一套遗传因子。后来,这些遗传因子被称为基因(gene),而符合 Mendel 所发现的遗传规律的遗传行为称为孟德尔遗传(Mendelian inheritance)。

Mendel 将一些显而易见的遗传性状(如黄色种子、白色花)称为表现型或表型(phenotype)。表型也指生物的一整套显而易见的遗传性状,是生物内在遗传因子的外在表现。

Mendel 发现基因能以不同的形式存在,这些不同形式称为等位基因(allele)。等位基因决定生物体的表型,两个等位基因中一个是显性(dominant)、一个是隐性(recessive),显性性状可以覆盖隐性性状。每个亲本都具有基因的两份拷贝,是二倍体(diploid),纯合体(homozygote)具有两个相同的等位基因,而杂合体(heterozygote)具有两个不同的等位基因。Mendel 进而推断性细胞即配子中只具有基因的一份拷贝,是单倍体(haploid)。具有不同等位基因的二倍体亲本在杂交时分别将不同的等位基因传给子代,每个亲本只传递一个等位基因给每一个子代,而子代因为得到来自亲本的不同等位基因而具有不同的表型。根据亲本的基因型可以预计子代出现不同性状的比例。

遗憾的是 Mendel 的研究成果并没有得到当时生物学界的注意和重视,直到 35 年以后,他的遗传学理论才被重新发现,并得到普遍应用,成为现代遗传学的基础,Mendel 也被公认为是经典遗传学的奠基人。

1900 年之后,大多数的遗传学家都开始认同基因是颗粒性的,遗传学也与此同时进入了繁荣期。19 世纪后期开始的关于染色体本质的研究是促使遗传学家们接受 Mendel 学说的因素之一。Mendel 早就预言配子中只有基因的一份拷贝,是单倍体,如果基因存在于染色体上,那么染色体的数量在配子中也应该减半,事实正是如此,因此染色体就成了基因的载体,这就是遗传的染色体学说(chromosome theory of inheritance)。认为基因存在于染色体之上,是遗传学一次至关重要的进步。基因不再是空洞的概念,而是细胞核中可以被观察到的实物。

1910 年,Thomas Hunt Morgan 利用果蝇进行遗传学试验,发现了连锁遗传规律,证实了染色体遗传学说。Morgan 因为“发现了染色体在遗传中所起的作用,证明了基因位于染色体上”而获得 1933 年的诺贝尔医学、生理学奖。

Morgan 选用在许多方面都比豌豆更适宜用于遗传学研究的果蝇(*Drosophila melanogaster*)为对象,发现果蝇眼睛颜色、翅膀大小等表型是与性别相关联的,称为伴性遗传。出现伴性遗传的原因是控制这些性状的基因都存在于同一条 X 染色体上,这使他确信染色体学说的正确性。

Morgan 的研究结果与 Mendel 遗传学并不矛盾,位于不同染色体上的基因在遗传中独立起作用,而位于同一染色体上的基因(比如决定白色眼睛和短翅的基因)在遗传过程中起作用时则是连锁的。

### 1.1.2 分子遗传学

传递遗传学明确了遗传性状由基因控制,基因位于细胞核的染色体上,在遗传过程中由亲本传递给子代,决定子代的遗传性状。但是并不了解基因的组成以及基因如何决定生物体的遗传性状。这些问题是分子遗传学的研究领域。

1869 年,获得医学博士学位仅一年的瑞士年轻科学家 Friedrich Miescher 从外科的脓细胞(白细胞)中分离得到完整的细胞核,然后经过碱抽提和酸化从细胞核中分离得到了一种新的富含磷的化合物,他称之为核素(nuclein)。第二年,他在莱茵河上游找到了分离核素的更好的材料——鲑鱼精子,并从中提取了纯的核素。1889 年,他的学生 Richard Altmann 引入了“核酸”(nucleic acid)概念。

那时虽然 Mendel 的《植物杂交实验》论文已经发表,但是却被束之高阁,有关的遗传学知识依然十分模糊和混乱,用于研究生物大分子的化学手段和技术也相对滞后,因此正确判断 Miescher 所发现的这种新物质的生物功能所需要的理论基础实际上当时并不具备,但是 Mie-

scher 在 1892 年的一封信中指出,这种大分子由一些彼此相似但不完全相同的小的化学片段重复组成,可以表达所有的非常丰富的遗传信息,正如所有语言的单词和概念都是由 24 到 30 个字母组成的一样。

1900 年,对 Mendel 遗传学理论的再发现更促进了对核酸的深入研究,1910 年,德国生理学家、化学家 Albrecht Kossel 首次分离得到单核苷酸,并阐明核酸的三种主要成分是核糖、磷酸和碱基。1924 年,德国细胞学家 R. Feulgen 发现核酸中的糖有核糖和脱氧核糖两种,并根据核酸所含核糖的不同,将核酸分为核糖核酸(ribonucleic acid,RNA)和脱氧核糖核酸。1929 年,Kossel 的学生、俄裔美国生物化学家 P. A. T. Levine 发现核酸中的碱基主要是腺嘌呤、鸟嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶。Levine 还证明核酸由更简单的核苷酸组成,核苷酸由碱基、核糖、磷酸组成。

Levine 为探明核酸的成分作出了重要贡献,但他错误地认为核酸结构比较简单,不可能携带大量信息,难以承担复杂的遗传功能,这一观点当时得到了广泛认同,染色体的主要成分除了核酸以外,还有蛋白质,因而科学家们普遍倾向于认为结构更为复杂的大分子——蛋白质是遗传信息的载体。

直到 1944 年,Avery 通过肺炎球菌转化试验证明 DNA 而不是 RNA 或者蛋白质可以使生物体的遗传性状发生改变,DNA 是遗传信息的载体(参看第 2 章遗传物质的分子本质)。

1952 年,A. D. Hershey 和 Martha Chase 利用噬菌体感染细菌实验进一步证实了 DNA 作为遗传物质的作用。在此之前不久,Linus Pauling 刚刚发表了关于蛋白质详细结构的论文,并认为蛋白质是遗传物质,Hershey 和 Chase 的实验结果不仅使 Pauling 承认他对蛋白质充当遗传物质的认识是错误的,DNA 才更可能是遗传物质,而且引导了当时的许多科学家转向研究 DNA 的结构。

1953 年,美国科学家 James D. Watson 与英国科学家 Francis Crick 提出了 DNA 的双螺旋结构模型,这一事件一直被认为是分子生物学发展史上的里程碑,是分子生物学兴起的标志。这之后分子生物学的发展进入了一个崭新的时代,分子生物学的迅速发展不仅带动了整个生命科学的发展,也使得生物学在自然科学中的地位发生了根本的变化,生物科学与物理学、化学、数学、信息科学等各学科的交叉渗透也极大地推动了这些学科的发展,现在,生物学已经毫无疑问地成为自然科学的带头学科之一,21 世纪是生物科学的世纪!

## 1.2 分子生物学的发展

明确了生物体主要遗传物质的化学本质就是 DNA,并揭示了 DNA 的双螺旋结构之后,下面的问题就是 DNA 作为遗传物质如何保证遗传的稳定性?即在传代之前如何进行高保真的复制?以及 DNA 如何决定生物体的遗传性状?

### 1.2.1 DNA 的半保留复制

在 Watson 和 Crick 提出 DNA 的双螺旋结构模型的时候,就对 DNA 的复制过程进行了预测,按照 DNA 的双螺旋结构模型,DNA 分子由两条反平行的 DNA 单链组成,两条链上的碱基按照碱基互补配对原则,通过氢键相连,一条链上的 G 只能与另一条链上的 C 配对,A 只能与 T 配对,即一条链上的碱基排列顺序决定了另一条链上的碱基排列顺序,或者说,DNA 分子中的每一条链都含有合成它的互补链所需要的全部信息。因此,Watson 和 Crick 认为,DNA 复制时,两条互补链的碱基对之间的氢键首先断裂,双螺旋解开,两条链分开,分别作为

模板,按照碱基互补配对原则合成新链,每条新链与其模板链组成一个子代 DNA 分子,子代 DNA 分子具有与亲代 DNA 分子完全相同的碱基排列顺序,即携带了相同的遗传信息。在这个过程中,一个亲代 DNA 分子通过复制产生了两个相同的子代 DNA 分子,每个子代 DNA 分子中一条链来自亲代 DNA(模板),一条链来自新合成的 DNA,这种方式被称为半保留复制(semi-conservative replication)。后来由 Meselson 和 Stahl 设计的实验结果与按照半保留复制机制预期的结果完全一致(参看第 4 章 DNA 的生物合成),这就验证了 Watson 和 Crick 预测的正确性。

## 1.2.2 基因与蛋白质之间的关系

DNA 通过半保留复制机制精确地自我复制,从而将遗传信息传递给子代,保证了遗传的稳定性,这也是“种瓜得瓜,种豆得豆”的原因。那么 DNA 又是如何发挥作用,决定“瓜所以为瓜,豆所以为豆”的不同生物特定的性状呢?

1902 年,Archibald Garrod 在研究黑尿病(alkaptonurea)时发现这种疾病符合孟德尔隐性遗传规律,因此推测这种疾病很可能是由一个基因变异失活而引起的。病人的主要症状是尿液中黑色素的积累,Garrod 据此认为该病是由某条生化代谢途径中的某种中间产物的异常积累而引起的,他假设这种异常积累是因为转化该中间产物的酶失活而造成的。在此基础上 Garrod 提出了“一个失活的基因产生一种失活的酶”的假设,即一个基因一种酶假说(one-gene/one-enzyme hypothesis)。

不久,George Beadle 和 E. L. Tatum 通过链孢菌(*Neurospora*)实验证明了这一假说。他们在突变菌株中找到了催化某一代谢反应的失活的酶,并证明在突变菌株中只有一个基因发生了突变。也就是说,一个突变的基因产生一种失活的酶,或者干脆不产生产物。这就是一个基因一种酶假说。“一个基因一种酶”的假说在 1957 年第一次得到了很好的实验证明。V. M. Ingram 研究了镰刀形细胞贫血症(sickle cell anemia)的血红蛋白和正常血红蛋白的氨基酸序列后发现,镰刀形细胞贫血症患者的  $\beta$ -珠蛋白同正常野生型之间仅有一个氨基酸的差别,即在  $\beta$ -珠蛋白的氨基端第六位缬氨酸取代了正常的谷氨酸。这表明基因的突变会直接影响到它所编码的蛋白质多肽链的结构,从而为“一个基因一种酶”的假说提供了有利的证据。然而,这个假说并不完全正确,这是因为:

- (1) 许多酶分子可以由数条多肽链组成,而一个基因只能产生一条多肽链;
- (2) 许多基因负责产生非酶蛋白质;
- (3) 一些基因的产物并不是蛋白质,而是 RNA。因此,后来有人主张将“一个基因一种酶”假说修正为“大多数基因含有产生一条多肽链的信息”。

## 1.2.3 中心法则

在提出 DNA 双螺旋结构模型五年之后,Crick 便提出了中心法则(central dogma)。在当时许多研究尚未进行或非常不明朗的情况下,Crick 从 DNA 复制时的碱基配对规则出发,天才地预言模板 RNA 的存在,并由 RNA 碱基无法直接与多肽链氨基酸配对的事实,提出了密码和适应体(adaptor)(即后来发现的 tRNA)的概念,认为生物体可以在 DNA 模板上合成 RNA,再以 RNA 为模板、在适应体参与下、氨基酸按密码顺序合成肽链。遗传信息从 DNA 流向 RNA 再流向蛋白质的规律称为中心法则。这是一个革命性的、划时代的创举,在中心法则的影响下,生物学向新的层次大踏步地前进,生物学理论出现了日新月异的发展,推动了基因工程的诞生和发展。

在中心法则之中,编码蛋白质的基因中所蕴含的信息通过转录(transcription)和翻译(translation)两个相关联的过程得到表达。RNA 聚合酶(RNA polymerase)以 DNA 中的一条链为模板合成互补的一条 RNA 单链,将 DNA 中所蕴含的遗传信息以 mRNA 的形式带到核糖体中,在核糖体中作为多肽链合成的直接模板指导蛋白质的合成。

因为核糖体本身就含有 RNA(rRNA),Crick 最初认为是这种存在于核糖体上的 RNA 指导蛋白质的合成。按照这种学说,每个核糖体只能合成由该核糖体上的 rRNA 编码的蛋白质。Francois Jacob 和 Sydney Brenner 提出了另一种看法:核糖体只是一种非特异性的翻译机器,可以按照进入核糖体的 mRNA 上的信息指导合成不同的蛋白质,实验证明这种看法才是正确的。

在 20 世纪 60 年代,Marshall Nirenberg 和 Gobind Khorana 从不同的途径破译了遗传密码。他们发现三个连续的碱基组成一个编码单位,称为密码子(codon),代表一种氨基酸。在 64 种密码子中,有 61 种编码氨基酸,其他的三个是终止信号。他们因为共同阐明了遗传密码及其在蛋白质合成中的作用而分获了 1968 年的诺贝尔医学、生理学奖。

1970 年前后,Howard Temin 和 David Baltimore 分别从致癌 RNA 病毒——劳氏肉瘤病毒(Rous sarcoma virus)和鼠白血病病毒(Murine leukemia virus, MuLV)中发现了逆转录酶(reverse transcriptase, RT)。逆转录酶的发现揭示了生物遗传中存在着由 RNA 形成 DNA 的过程,遗传信息不仅可以从 DNA 流向 RNA,也可以从 RNA 流向 DNA,进一步发展和完善了“中心法则”。因此, Temin 和 Baltimore 分享了 1975 年的诺贝尔医学、生理学奖。

#### 1.2.4 基因工程

在了解了基因与生物体遗传性状之间的关系以及动植物品种的优劣和自身的某些疾病是由于遗传基因所导致的之后,人们自然而然地试图根据人类的需要改变遗传基因。于是,以基因工程为核心的生物工程技术便应运而生了。从 20 世纪 60 年代末开始,限制性内切酶等工具酶的发现, DNA 测序技术的建立,质粒载体、病毒载体的利用,终于在 70 年代中期诞生了基因工程。人们可以任意地将 DNA 基因元件切割、组建,并使指定的基因在不同的细胞中工作。

1965 年,瑞士微生物遗传学家 Werner Arber 首次从理论上提出了生物体内存在着一种具有切割基因功能的限制性内切酶(restriction enzyme, RE),并于 1968 年成功分离出 I 型限制性内切酶;1970 年,Hamilton O. Smith 分离出了 II 型限制性内切酶;同年, Daniel Nathans 使用 II 型限制性内切酶首次完成了对基因的切割。他们于 1978 年分获了诺贝尔医学、生理学奖。他们的研究成果为人类在分子水平上实现人工基因重组提供了有效的技术手段。

1975 年, Frederick Sanger 发明了确定 DNA 分子一级结构的末端终止法(酶法);1977 年, Walter Gilbert 发明了 DNA 一级结构测定的化学断裂法。他们与 Paul Berg 分获了 1980 年的诺贝尔化学奖。Sanger 发明的 DNA 测序法至今仍被广泛使用,经过改良之后的末端终止法是分子生物学研究中最基本、最常用的技术之一。Berg 把两个不同来源的 DNA 连接在一起并发挥其应有的生物学功能,证明了完全可以在体外对基因进行操作,因而被称为“重组 DNA 技术之父”。

1973 年, S. N. Cohen 和 H. W. Boyer 等人将大肠杆菌中两种不同特性的质粒片段用内切酶和连接酶进行剪切和拼接,获得了第一个重组质粒,然后通过转化技术将它引入大肠杆菌细胞中进行复制,并发现它能表达原先两个亲本质粒的遗传信息,从而开创了遗传工程的新纪元。在此基础上, Boyer 于 1976 年成功地运用 DNA 重组技术生产出人的生长激素;1978 年,



美国哈佛大学的科学家利用 DNA 重组技术生产出胰岛素;1980 年,瑞士和美国科学家利用 DNA 重组技术生产出干扰素。从此引发了 70 年代末、80 年代初的基因工程工业化的热潮。现代生物工程由此崛起,它包括基因工程、细胞工程、酶工程与发酵工程、蛋白质工程等。到 20 世纪末,全世界已有 50 多个国家和地区拥有生物工程企业、生物工程产品不少于 160 种。这些最新成果已经对人类健康、生命质量、农业生产及其产品的加工产生了积极而深远的影响。

1983 年,美国生物化学家 Kary B. Mullis 发明“聚合酶链式反应”(polymerase chain reaction, PCR)。该技术可从极其微量的样品中大量扩增 DNA 分子,使基因工程又获得了一个新的工具。

### 1.2.5 分子生物学的其他进展

1983 年,Barbara McClintock 因为提出并发现可转座因子(transposable element)而获得了诺贝尔医学、生理学奖。她在 1940 到 1950 年的 10 年间,一直致力于玉米的细胞遗传学研究,发现了大量具有修饰与控制活性的“控制因子”。

1989 年,Sidney Altman 和 Thomas R. Cech 因为各自独立地发现某些 RNA 也具有生物催化功能而分享了诺贝尔化学奖。1982 年,Cech 发现四膜虫细胞大核期间 26S rRNA 前体具有自我剪接功能,并于 1986 年证明其内含子 L-19IVS 具有多种催化功能;1984 年,Altman 发现核糖核酸酶 P(RNase P)的核酸组分——M<sub>1</sub> RNA 具有催化活性,而该酶的蛋白质部分——C<sub>5</sub> 蛋白并无酶活性。这一发现改变了生物催化剂的传统概念,后来具有催化活性的 RNA 被称为核酶(ribozyme)。

1995 年,Edward B. Lewis、Christiane Nüsslein-Volhard 和 Eric F. Wieschaus 因为先后独立地鉴定了控制果蝇体节发育的基因而分享了诺贝尔医学、生理学奖。

1997 年,Stanley Prusiner 因为发现朊病毒(prion)以及在朊病毒致病机理方面的研究而获得诺贝尔医学、生理学奖。朊病毒是一种蛋白质侵染因子,可导致人和动物的多种神经系统退行性疾病,如库鲁病(Kuru)、克-雅氏综合症(Creutzfeld-Jakob disease, CJD)或者称早老性痴呆症以及动物中的羊搔痒病(Scrapie)、牛海绵状脑病(Bovine spongiform encephalopathy, BSE)或称疯牛病(mad cow disease)等。

2001 年,Leland H. Hartwell、Timothy Hunt 以及 Paul Nurse 因为在细胞周期调控研究中做出的突出贡献而分享了诺贝尔医学、生理学奖。2002 年,Sydney Brenner、John E. Sulston 和 H. Robert Horvitz 因为在细胞凋亡(apoptosis)即细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD)和器官发育方面的贡献而分获了诺贝尔医学、生理学奖。2006 年,Andrew Fire 和 Craig Mello 因发现 RNA 干扰机制而荣获诺贝尔医学、生理学奖。

在分子生物学一百多年的发展历史上做出突出贡献的科学家还有很多,不能一一枚举,分子生物学的发展为人类认识生命现象带来了前所未有的机会,也为人类利用和改造生物创造了极为广阔的前景。

#### 科学故事——朊病毒的发现

1982 年,美国的 Prusiner 报道了出人意料的发现。他在研究中发现了一种具有遗传物质特性的蛋白质——朊病毒,这一发现对中心法则提出了挑战。朊病毒的发现,揭开了长期以来困扰人们的若干种动物和人的奇怪的神经性退化疾病的谜团。

大约 300 年前,英国农庄的羊群中出现了一种奇怪的疾病。得病的羊浑身奇痒难熬,只有靠在粗糙的岩石或树干上摩擦以求缓解,结果羊身上的羊毛大片脱落。病羊的另一个症状是站立不稳,运动机能出现障碍。病羊最终结局都是瘫痪和死亡。人们把羊得的这种病称为痒痒病。解剖羊的尸体发现,所有病羊的脑组织像海绵一样,充满了细小的空洞(因此后来又把这种病称为“海绵样脑病”)。几百年来,羊痒痒病一直是一种不治之症,病因不详。

在大洋洲的巴布亚新几内亚(Papua New Guinea)岛上,生活着一个叫 Fore 的部落。直到 20 世纪,部落的生活方式还基本处于原始社会的状态。这个部落一直奉行着一种令人毛骨悚然的习俗,他们在亲人死后的祭祀活动中,会剖开死者的尸体,一起分食尸肉和脑组织。在 20 世纪上半叶,部落中爆发了一种可怕的瘟疫。得病的人就像得痒痒病的羊一样,走路摇摇晃晃,并伴随着肢体的震颤,最终发展到失语、瘫痪,直至死亡。这同样是一种不治之症。病人的脑组织和死于痒痒病的羊一样,充满了令人心悸的细小空洞。更为可怕的是,这种不知病因的疾病像瘟疫一样在部落中到处蔓延。



图 1-1 患有库鲁病的小孩

人人担心不知道什么时候病魔会降临到自己的头上。当地人把这种怪病叫做“库鲁”,也就是“恐惧”或“震颤”的意思(库鲁病也叫震颤病)。这场由库鲁病造成的浩劫使部落中 80% 的人死于非命。如果没有一位勇敢的美国科学家的研究,整个部落很可能难逃灭绝的厄运。这位科学家的名字是 D. Carleton Gajdusek。

50 年代,Gajdusek 在美国国家卫生研究院病毒研究实验室工作。1954 年,他作为访问学者前往澳大利亚墨尔本的 Walter and Eliza Hall 医学研究所,从而有机会接触了巴布亚新几内亚 Fore 部落。当时震颤病正在到处蔓延,Gajdusek 从 Fore 部落带回了一些病人的标本。经过研究,他发现:库鲁病和羊痒痒病、人早老性痴呆症一样,都是由一类相同的病原体感染导致的。这类病原体具有病毒的一般特征,如传染性、滤过性、致病性等;同时又具有一些病毒所没有的特征,如抗紫外辐射、耐高温、耐强酸和福尔马林等化学处理等。因此,Gajdusek 称之为“非常规病毒”。通过在实验动物上研究这类疾病的传染性,他最终得出结论,这种疾病是当地人通过分食患病死者的脑组织而横向传染的。Gajdusek 的研究向世人揭示了震颤病的传播途径。在世界卫生组织和澳大利亚政府干预下,Fore 部落改变了传统的祭祀方式,放弃了分食亲人尸体的习俗。20 世纪 50 年代以后,库鲁病的传播逐步得到了控制。Gajdusek 的出色工作拯救了 Fore 部落,使他荣获了 1976 年的诺贝尔医学、生理学奖。

但是,Gajdusek 的研究并没有查明导致库鲁病的病原体。在 Gajdusek 之后,各国科学家在库鲁病方面又做了大量的研究工作,并成功地构建了动物模型。人