

分子生物学

(修订版)

Molecular Biology

郜金荣 叶林柏 编著



WUHAN UNIVERSITY PRESS
武汉大学出版社

Q7
2T84
2

分子生物学

(修订版)

Molecular Biology

郜金荣 叶林柏 编著



WUHAN UNIVERSITY PRESS
武汉大学出版社

编写人员（以姓氏笔画为序）

王玉华¹ 叶力¹ 叶林柏¹ 刘友勋² 向中华¹
李宝宗¹ 李珊珊¹ 余应龙¹ 罗明² 郜金荣^{1,2}
赵鹏¹ 廖庆姣¹

制图和辅助人员（以姓氏笔画为序）

方小楠¹ 王磊² 王薇¹ 孔令保¹ 朱生力¹
吴正辉¹ 郑竑¹ 项萧萧¹ 高博¹ 黄娟²
宿利雅¹ 韩涛¹ 曾莹春¹ 蔡唯佳¹

注：1. 武汉大学
2. 武汉科技大学中南分校

图书在版编目(CIP)数据

分子生物学/郜金荣,叶林柏编著. —修订版. —武汉:武汉大学出版社,2007.3

ISBN 978-7-307-05261-1

I. 分… II. ①郜… ②叶… III. 分子生物学 IV. Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 116368 号

责任编辑:黄汉平 责任校对:黄添生 版式设计:杜 枚

出版发行:武汉大学出版社 (430072 武昌 珞珈山)

(电子邮件:wdp4@whu.edu.cn 网址:www.wdp.com.cn)

印刷:华中科技大学印刷厂

开本:787×1092 1/16 印张:27.875 字数:675 千字

版次:1999 年 1 月第 1 版 2007 年 3 月修订

2007 年 3 月修订版第 1 次印刷

ISBN 978-7-307-05261-1/Q · 85 定价:38.00 元

版权所有,不得翻印;凡购买我社的图书,如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请与当地图书销售部门联系调换。

前 言

分子生物学研究核酸(DNA 和 RNA)、蛋白质等生物大分子在生命活动中的功能,也就是说在分子水平研究生物学,因此,分子生物学并不神秘,归根到底它还是生物学。由于生命体十分复杂和精细,即使是组成生命的一个细胞,也远比一台最庞大、最复杂、最精密的机器复杂和精细得多。因此,在整体水平和细胞水平上研究生物学困难相当大,当我们超越细胞,去研究组成细胞的生物大分子的功能时,分子生物学就诞生了。只有在我们充分认识各种生物大分子的功能,认识环境与基因互作、基因之间互作、蛋白质之间互作、信号途径的交叉互作等之后,我们才能更好地在细胞水平和机体水平上研究和认识生命科学。

我们从事分子生物学研究的科学工作者,决不能把分子生物学与生命科学的其它学科领域对立起来,不能把分子生物学凌驾于其它学科之上,王婆卖瓜,自卖自夸,认为分子生物学是生命科学乃至整个自然科学的主体,只有用分子手段才能研究和解答生命科学每一个分支中的根本性问题,未免有些夸大,事实上,分子生物学的发展,与物理仪器的发展、化学方法的发展以及生命科学各学科的发展是不可分割的,生命科学的各个学科都发展到研究分子水平,分子生物学与其说是一门学科,倒不如说是现代生物学研究的方式和手段。分子生物学与其它学科之间也是互相依存,互相促进,互相交叉,渗透和融合的。

分子生物学者,切不可仅仅满足于体外研究和从凝胶中获得的结果,体外和体内有着天壤之别,而且研究单一基因、单一蛋白的功能,获得的信息往往可能是不够全面、不够具体,甚至是错误的,即使在体外培养的细胞系统中研究,和整体研究有时也有较大差别,例如人体中存在免疫系统和多种激素引起的信号途径,可以干预基因表达模式和蛋白质活性水平,而体外培养的人类细胞株就不同,HSV(单纯性疱疹病毒)和 HCMV(人巨细胞病毒)可以有效地感染体外培养的细胞,在细胞系中研究可以获得有关病毒的基因表达时序、基因组复制、各种病毒特异性蛋白的水平和功能等大量数据,但在免疫功能正常的人体中,存在着复杂的病毒-宿主互相作用,使这些病毒为了生存而改变成为潜伏状态,这时病毒基因组复制,基因表达的模式时序、病毒蛋白水平等就完全不同了。所以,分子生物学的研究和生物学的其它学科研究还需结合起来,把从试管、凝胶中获得的信息再回到细胞和整个机体中去,最终能解答生命科学中的一些重要的、根本性的问题。

分子生物学这一术语在 1938 年由 Warren Weaver 首先使用,作为 Rockefeller 基金自然科学部的领导,他宣布财政支持将给予科学的一个新分支——新生物学——分子生物学,接着这一术语被 William Astbery 等从事生物大分子的物理、化学结构研究的学者们广泛使用。从 1928 年 Griffith 对肺炎双球菌转化现象的研究到 1944 年 Avery 等证实 DNA 是遗传物质;从 1953 年 Watson 和 Crick 发表 DNA 双螺旋结构模型到 1961 年 Jacob 和 Monod 阐明原核基因表达调控机制并建立了乳糖操纵子负控制模型。分子生物学的发展速度可以用“突飞猛进”来形容。

早在 20 世纪 80 年代初,武汉大学病毒系就开始了分子生物学的教学工作,通过近 10 年的教学实践,于 1991 年 1 月由广西科学出版社出版了由作者编写,由高尚荫院士审校的《分子生物学》一书。该书一直作为本科生教材,在分子生物学教学中起了重要作用。从 1995 年开始,在武汉大学教务处的支持下,作者开始着手分子生物学的教材建设,经过大量的增减、补充,于 1999 年 1 月由武汉大学出版社重新出版了《分子生物学》,该书已 8 次印刷,发行近 3 万册,成为国内许多高等院校本科生和研究生教材。在全国已造成相当好的影响。台湾合记图书出版社还在台湾和香港两地发行了繁体字版本,进一步扩大了本教科书的影响范围。

武汉大学出版社出版的新版《分子生物学》已用多年,许多内容需更新。武汉大学出版社新版分子生物学第二版从结构体系到内容上都作了较大改动。由原来的 16 章变为 19 章。增加了分子生物学研究方法,基因组学等内容,并对第一章绪论,第六章遗传物质,第十章遗传物质的复制,第十二章遗传重组,第十四章蛋白质的生物合成,第十六章真核基因表达调控中的内容进行了较大幅度地修改和调整,去除一些陈旧的知识 and 概念,增加一些最新的观点、理论和概念以及一些最近的研究成果及结论。使本书的内容更加丰富、更加先进;插图更加精美,内容的结构体系更加合理,逻辑性更强。

本书在编写过程中,受到武汉大学教务部、武汉大学生科院领导及同仁以及部分博士生的大力帮助,这里一并致谢。该书虽然是在教学实践的基础上而编写,经过了教学实践的考验,并且见到了良好的效果。但由于作者本人能力有限,书中不恰当或错误的地方,希望读者多提宝贵意见。

作者 郜金荣 叶林柏

目 录

第一章 绪 论	1
一、分子生物学定义	1
二、分子生物学发展简述	1
三、分子生物学的主要内容	3
四、展望	4
第二章 生物大分子	5
第一节 生物大分子的化学结构	5
一、蛋白质	5
二、核酸	6
三、多糖	6
四、脂类	6
第二节 决定蛋白质和核酸三维结构的非共价相互作用	6
一、无规则线团	7
二、氢键	7
三、疏水相互作用	7
四、离子键	8
五、范德华引力	8
第三节 研究生物大分子的基本方法	8
一、速度沉降	8
二、区带离心(zonal centrifugation)	8
三、平衡离心(equilibrium centrifugation)	9
四、电泳(electrophoresis)	9
五、电镜(electronmicroscopy)观察	9
第四节 生物大分子的分子量测定	9
一、DNA 的分子量测定	9
二、蛋白质的分子量测定	9
第三章 核 酸	10
第一节 DNA 的基本结构	10
一、双螺旋结构是 DNA 的基本结构	10

二、决定 DNA 结构的因素	12
三、环状超螺旋 DNA	16
四、左手螺旋 DNA	18
第二节 DNA 的基本性质	19
一、复性	19
二、DNA 的修饰	20
三、核酸降解	20
第三节 RNA	22
一、成熟 RNA	23
二、前体 RNA	24
三、病毒 RNA	24
四、RNA 的结构	25
第四节 核酸的结构分析	25
一、DNA 的物理图谱	25
二、测定 DNA 顺序的方法	26
第四章 蛋白质	30
第一节 蛋白质的结合位点和多亚基蛋白质	30
第二节 蛋白质活性的调节	32
一、终产物的抑制作用	32
二、多亚基蛋白质的调节——变构	33
三、变构调节的两种机制	33
四、一种变构酶:门冬酰胺转氨甲酰酶	35
五、真核细胞中蛋白质的磷酸化是导致变构的共同方式	36
第三节 蛋白质重要的结构域	41
一、结构域的化学概念	41
二、结构域与蛋白质结构与功能	41
三、蛋白质重要的结构域	42
第五章 生物大分子相互作用和复杂聚集物的结构	49
第一节 一种多蛋白装配体——胶原蛋白	49
一、胶原蛋白的氨基酸组成和顺序	50
二、一种三链螺旋单位——原胶原蛋白(tropocollagen)	50
三、原胶原单位的相互作用形成纤维	50
第二节 复杂的 DNA 结构	52
第三节 DNA 与一个识别专一碱基顺序的蛋白质的相互作用	53
第四节 生物膜(biological membranes)	58
第五节 复杂聚集物的自我装配	59

第六章 遗传物质	61
第一节 遗传物质的证明	61
一、转化实验	61
二、化学实验	63
三、Blendor 实验	63
第二节 遗传物质的性质	64
一、遗传信息由 DNA 贮存和传递	64
二、遗传信息从亲代传递到子代	65
三、携带遗传信息的 DNA 的化学稳定性	65
四、遗传物质的变异性(突变)	66
第三节 遗传物质——RNA	67
第四节 基因和基因组	68
 第七章 可转移的遗传因子	70
第一节 质粒(plasmid)	70
一、质粒的一般性质及类型	70
二、质粒的复制机制及其拷贝数的控制	71
三、几种质粒	76
第二节 转座因子	80
一、插入顺序(insertion sequence IS)	80
二、转座子	84
第三节 病毒及其与质粒、转座因子之间的关系	89
 第八章 分子生物学的研究方法	92
第一节 生物大分子的分离	92
一、凝胶电泳	92
二、双向凝胶电泳	94
三、离子交换层析	95
四、凝胶过滤层析	95
第二节 标记示踪剂	97
一、放射自显影	97
二、磷光成像	98
三、液体闪烁计数	98
四、非放射性示踪	99
第三节 核酸杂交	100
一、Southern Blot(DNA 印迹杂交):鉴定特异的 DNA 片段	100
二、DNA 指纹和 DNA 分型	101
三、Northern Blot:检测基因活性	102

四、原位杂交:确定基因在染色体上的位置	103
五、定点突变	103
第四节 转录子的作图和定量分析	105
一、S1 作图	105
二、引物延伸	107
三、Run-off 转录和 G-Less Cassette 转录	108
第五节 体内测定转录速率	110
一、细胞核持续转录技术 (Nuclear Run-on Transcription)	110
二、报告基因转录	111
第六节 DNA 与蛋白质的相互作用	113
一、滤膜结合法	113
二、凝胶迁移率变化实验 (Gel Mobility Shift Assay)	113
三、DNase 足迹实验	113
四、硫酸二甲酯 (Dimethylsulfate DMS) 足迹法和其他足迹法	115
五、基因敲除 (Gene knockout)	116
第九章 重组 DNA 技术——分子克隆技术	119
第一节 载体和工具酶	119
一、载体	119
二、工具酶	126
第二节 目的基因制备	129
一、直接分离法	130
二、构建基因组文库或 cDNA 基因文库分离法	130
三、PCR 法分离目的基因	131
四、目的基因的化学合成法	131
第三节 目的基因与载体的体外重组	131
一、目的基因与载体的剪切	131
二、目的基因和载体的体外连接	133
第四节 重组子导入细胞技术	135
一、重组 DNA 分子转化原核生物细胞 (大肠杆菌)	135
二、重组 DNA 分子导入哺乳动物细胞	136
三、重组 λ 噬菌体 DNA 分子转导大肠杆菌	136
四、重组 DNA 分子导入植物细胞	137
第五节 重组子的筛选与鉴定	137
一、根据重组载体的选择性标记进行筛选	137
二、PCR 法	138
三、限制性核酸内切酶酶切分析法	138
四、核酸杂交法	139
五、免疫学方法	139

六、核苷酸序列测定	139
七、植物转化细胞和哺乳动物转化细胞的筛选鉴定	139
第六节 克隆基因的表达	140
一、目的基因在原核生物表达系统中的表达(大肠杆菌表达系统)	140
二、目的基因在真核生物表达系统中的表达	141
第七节 重组 DNA 技术应用	143
一、重组 DNA 技术在医学上的应用	143
二、重组 DNA 技术在农业上的应用	146
三、基因工程在环境保护中的应用	148
第十章 遗传物质的复制	149
第一节 复制概述	149
一、复制子(Replicon)	149
二、半保留复制和半不连续复制	151
三、DNA 的复制起始区	155
第二节 DNA 复制的相关蛋白质	158
一、DNA 聚合酶	159
二、DNA 连接酶(DNA Ligase)	165
三、与解链有关的酶和蛋白质	166
第三节 原核生物 DNA 复制的起始延伸和终止	169
一、大肠杆菌 DNA 的复制	170
二、噬菌体 Φ X174 的复制	175
三、细菌接合产生单链基因组	176
四、线粒体 DNA 的复制	176
五、线状 DNA 复制问题	177
第四节 真核生物的复制过程	182
一、猴病毒 SV40 的复制	182
二、染色质复制需要核小体组装	182
三、端粒酶	186
第五节 DNA 复制的调控	187
第六节 逆转录	189
一、逆转录酶	189
二、逆转录病毒的基因组复制过程	189
三、乙肝病毒基因组的复制	191
第七节 RNA 复制	191
第十一章 DNA 损伤修复和基因突变	193
第一节 避免差错的 DNA 损伤修复	194
一、光复活作用和切除修复	194

二、重组修复	196
三、N-糖苷酶和 DNA 损伤修复	198
四、校读作用	198
五、交联的修复	200
第二节 避免差错的 DNA 损伤修复和基因突变	201
第三节 应急修复反应(SOS)	201
一、 <i>recA</i> 和 <i>lexA</i> 基因	202
二、SOS 反应过程	203
三、SOS 反应和细胞分裂	204
四、SOS 反应和 DNA 复制	204
五、SOS 网络中的基因和诱发突变	204
六、二聚体和诱发突变	204
七、无嘌呤位点和基因突变	205
八、DNA 聚合酶和基因突变	205
第四节 诱变剂、诱变、基因突变和突变体	205
一、突变的类型和它们的标志	206
二、突变株的筛选	207
三、自发突变	207
四、诱变	208
五、Oligo 诱导的定点突变	213
第五节 基因突变的校正	216
一、无义突变的校正	216
二、误义突变的校正	216
三、移码突变的校正	216
第十二章 遗传重组	218
第一节 同源重组的机制	218
一、断裂重接和异源双链	218
二、支链迁移	219
三、碱基对的错配及消除	220
四、DNA 分子的配对	221
第二节 细菌转化中的重组	223
一、细菌中的转化	223
二、酵母中的转化	223
第三节 同源双链 DNA 分子之间的交换	225
一、噬菌体的整合	225
二、细菌接合转移中的重组	226
三、转导中的重组	226
四、减数分裂重组	228

第四节 同源重组模型	230
一、Holliday 模型	230
二、不对称链转移模型	231
三、8 字形分子的解离	233
第五节 RecA 和 RecBCD 蛋白在重组中的作用	234
一、RecA 蛋白	234
二、RecBCD 酶	236
三、参与同源重组的其他蛋白质	237
第十三章 转 录	243
第一节 RNA 的酶促合成	243
一、RNA 合成的基本特征	243
二、大肠杆菌 RNA 聚合酶 (<i>E. coli</i> RNA polymerase)	244
三、RNA 聚合酶在 DNA 上的识别结合位点	245
四、转录的起始	249
五、RNA 链的延伸	250
六、RNA 链的终止和新合成 RNA 的释放	252
第二节 RNA 分子的种类及转录后加工	255
一、mRNA 的结构	255
二、mRNA 的寿命	255
三、稳定 RNA: 核糖体 RNA 和转移 RNA	255
四、tRNA 分子的加工	256
五、大肠杆菌中核糖体 RNA 的加工	258
第三节 真核生物的转录和 RNA 加工	260
一、真核细胞中的转录	260
二、真核 mRNA 分子 5' 端和 3' 端的结构	270
三、真核 mRNA 的加工	272
四、RNA 拼接 (RNA splicing)	276
五、RNA 编辑	287
第十四章 蛋白质的合成	288
第一节 遗传密码的破译	288
一、Crick 的探索	289
二、Nirenberg 的实验	289
三、Khorana 的实验	290
第二节 摇摆假设	293
第三节 蛋白质生物合成的机制	294
一、与蛋白质生物合成有关的生物大分子	294
二、蛋白质生物合成的机制	303

三、蛋白质的翻译后加工	307
第十五章 原核基因表达调控	309
第一节 乳糖系统和操纵子模型	310
一、酶的诱导	310
二、结构基因和调节基因的突变	312
三、调节基因	313
四、Jacob-Monod 的负控制模型及实验依据	314
五、I 基因产物及功能	315
六、操纵区和启动区	316
七、正控制系统	317
八、P-O 区的结构	319
第二节 半乳糖操纵子	320
一、cAMP-CAP 对两个半乳糖启动子的不同作用	321
二、双启动子的生理功能	322
三、双操纵区	322
第三节 色氨酸操纵子	323
一、色氨酸操纵子的阻遏-操纵系统	324
二、弱化子和前导区	324
三、mRNA 的前导区全序列分析	326
四、弱化的机制	326
五、色氨酸操纵子弱化机制的实验依据	327
第四节 λ 噬菌体基因表达的调节	330
一、 λ 噬菌体简介	331
二、 λ 噬菌体基因组	332
三、 λ 噬菌体感染宿主后的转录次序	333
四、 λ 噬菌体的调控区	333
五、溶源化的遗传控制及 λ 阻遏物的发现	334
六、 λ 噬菌体的操纵区和启动子结构	335
七、CI 蛋白和 Cro 蛋白	336
第五节 DNA 重排对基因表达的调节	339
第六节 sigma 因子对基因表达的调控	340
第七节 转录后的调控	344
一、翻译水平上的调控	344
二、翻译后调控	349
第十六章 真核基因组及其基因表达调控	351
第一节 真核生物基因组	351
一、重复序列	351

二、基因家族 (gene families)	353
三、逆转病毒和癌基因	355
四、真核细胞中的转座因子	358
五、真核细胞中的线粒体基因组和叶绿体基因组	358
第二节 真核基因的结构	359
一、rRNA 基因	359
二、tRNA 基因	362
三、为蛋白质编码的基因	363
四、内部间隔区和隔裂基因	365
第三节 真核基因表达的调控	369
一、真核基因表达控制的特点和复杂性	369
二、真核基因转录起始的控制机制	369
三、几种真核基因转录调控模型	378
四、DNA 修饰和染色质结构控制基因转录	380
五、转录后的控制	388
六、真核蛋白质合成的控制	390
第十七章 细胞信号调控	397
第一节 细胞信号的一般概念	397
一、信号分子和信号受体	397
二、细胞对信号的反应	398
三、三类已知的细胞表面受体	399
第二节 通过 G-蛋白关联受体进行的信号调控	399
一、G-蛋白关联受体结构——七次跨膜	399
二、三聚体 G 蛋白	400
三、G-蛋白关联受体作用的两条主要途径	400
第三节 通过酶关联细胞表面受体进行的信号调控	402
一、受体酪氨酸激酶是大多数生长因子的受体	403
二、形成二聚体是酶关联受体被信号激活的普遍机制	403
三、受体酪氨酸激酶上的磷酸化的酪氨酸被具有 SH2 结构的蛋白质识别和结合	403
第四节 小分子信号调控	404
一、NO 和 CO 能直接与细胞内的酶结合	404
二、维生素 D 和甾类激素等直接和基因转录的调控蛋白结合	404
第五节 细胞对信号的反应	405
一、细胞信号逻辑:信号网络	405
二、细胞对信号的适应性	405
第十八章 癌分子生物学	407
第一节 癌发生的分子基础——DNA 序列改变	407

第二节 癌的发生和发展包括多种因素的协同作用·····	407
第三节 原癌基因和癌基因·····	408
第四节 原癌基因的激活·····	409
一、Ras 原癌基因可被基因变异所激活·····	409
二、插入、转位和基因放大可激活原癌基因·····	411
第五节 肿瘤抑制蛋白·····	413
 第十九章 基因组学·····	415
第一节 基因组的测序·····	415
一、人类基因组计划(human genome project, HGP)·····	416
二、运用在大规模基因组计划的克隆载体·····	417
三、克隆-克隆战略(The Clone-clone Strategy)·····	418
四、鸟枪法测序·····	422
第二节 基因组学的应用·····	424
一、功能基因组研究技术·····	424
二、功能基因组学的应用·····	430
三、生物信息学·····	430
四、蛋白质组学·····	431

第一章 绪 论

一、分子生物学定义

分子生物学是从分子水平研究生命本质的一门新兴边缘学科,该学科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,是当前生命科学中发展最快并正在与其他学科广泛交叉与渗透的重要前沿领域。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。

所谓在分子水平上研究生命的本质主要是指对遗传、生殖、生长和发育等生命基本特征的分子机理的阐明,从而为利用和改造生物奠定理论基础和提供新的手段。这里的分子水平指的是那些携带遗传信息的核酸和在遗传信息传递及细胞内、细胞间通信过程中发挥重要作用的蛋白质等生物大分子。这些生物大分子均具有较大的分子量,由简单的小分子核苷酸或氨基酸排列组合以蕴藏各种信息,并且具有复杂的空间结构以形成精确的相互作用系统,由此构成生物的多样化和生物个体精确的生长发育和代谢调节控制系统。阐明这些复杂的结构及结构与功能的关系是分子生物学的主要任务。

分子生物学是由生物化学、生物物理学、遗传学、微生物学、细胞学,以至信息科学等多学科相互渗透、综合融会而产生并发展起来的,分子生物学的发展对其他生物学科的发展也产生了重大影响,现在生物学的其他学科也发展到了分子水平,学科之间的互相交叉和渗透越来越广泛。分子生物学从人们决定打破细胞、研究组成细胞的大分子的结构和生物学功能开始,逐步在分子水平上认识了生物的遗传、变异、进化、遗传信息的传递、基因的表达和调控、细胞内和细胞间的信号调节、细胞分化和细胞癌变、个体发育过程,直到认识高等动植物乃至人类基因组学、蛋白质组学。这样,分子生物学的发展又回到了整体生物学,而生物学的各学科则可能在分子生物学的基础上统一为整体生物学或总生物学。

二、分子生物学发展简述

早在 20 世纪 40 年代之前,人们就已经知道蛋白质和核酸是细胞内的重要成分,蛋白质参与或催化细胞内的化学反应,而且细胞组分可以在不依赖完整细胞的情况下进行反应从而实现物质转换,并且那时已经发现了病毒这种比细胞结构简单得多、微小得多的原始的生命形式,Stainly 可以把这种生命在试管中像化学物质一样“结晶”沉淀出来,这种生命只含蛋白质和核酸。但当时人们并不知道核酸是遗传物质,尽管摩尔根的“基因”概念这时已从“一个基因一种性状”向“一个基因一个酶”过渡,并且 Avery 的肺炎双球菌的转化结果已为人所知,但人们仍相信蛋白质是遗传物质,因为人们认为蛋白质是由 20 种不同的氨基酸通过肽键连接而成,比核酸只含 4 种碱基的结构要复杂得多。后来用从热灭活杀死的光滑型(野生型致病)肺炎球菌中提取的 DNA 转化的粗糙型(不致病)肺炎球菌,证实可使部分分子

代恢复成野生型,仍有人怀疑这是由于提取的核酸中带有蛋白质所致。直到1952年 Hershey 在著名的搅拌实验中分别用 ^{32}P 和 ^{35}S 标记 T_2 噬菌体的核酸和蛋白,证明在感染细胞时 T_2 噬菌体只要把核酸注入细菌内,就能完成感染和复制的过程,从而产生子代噬菌体,这才最后确定了核酸是遗传物质。现在我们都知, DNA 和 RNA (RNA 病毒的基因组) 都是遗传物质,是遗传信息的携带者。

确定 DNA 是遗传物质是分子生物学发展的重大里程碑,但是 DNA 只有 4 种不同的碱基,它如何能编码由 20 种不同氨基酸组成的蛋白质? 它如何能准确复制从而把性状准确遗传给后代? 它在核中携带的信息如何传递、如何准确控制细胞的各种生化反应? 这些困惑科学家们的问,立即就被提了出来,要回答这些问题,必须首先了解 DNA 的结构。1953 年, Watson 和 Crick 借助于其他研究组提供的 DNA 晶体 X 射线衍射照片来研究 DNA 结构,提出了 DNA 双螺旋结构模型,这一模型令人相信 DNA 可以通过碱基配对的原则准确复制而把信息遗传给后代,也可以转录成副本从核中转运到细胞质。Crick 接着又提出“中心法则”即遗传信息从 $\text{DNA} \rightarrow \text{RNA} \rightarrow \text{蛋白质}$ 。DNA 双螺旋结构模型的建立是分子生物学发展史上又一块丰碑,而有些学者认为这是分子生物学诞生的标志。此后,分子生物学发展越来越快,取得了不少重大突破性成果,取得的这些成果将永远载入学科发展史册,而这些成果同时也反映了分子生物学发展的历程。为使读者对分子生物学发展过程加深理解,现把这些重大发展略述如下:

- 1956 年 A. Kornberg 发现 *E. coli* DNA 聚合酶 I, 1958 年分离该酶并在体外环境下酶促合成有活性的 DNA, 因而于 1959 年获诺贝尔奖。
- 1958 年 Meselson 用著名的“密度转移”实验证实 DNA 的“半保留复制”; 建立密度梯度离心技术。
- 1968 年 冈崎片段发现后提出 DNA 复制是半保留不连续复制。
- 1959 年 S. Weiss 发现转录酶。
- 1960 年 Jacob 和 Monod 经 10 余年研究后提出乳糖操纵子模型, 这是第一个原核基因表达控制的模型, 同时还预言 mRNA 的存在。
- 1961 年 S. Spiegelman 在 T_2 感染的 *E. coli* 中发现 mRNA, 建立分子杂交技术。
- 1965 年 R. W. Holley 测定酵母丙氨酸 tRNA 的一级结构, 提出 tRNA 的“三叶草”结构模型。
- 1966 年 M. W. Nirenberg 和 H. G. Khorana 完成全部遗传密码的破译。
- 1967 年 Kates 和 McAuslan 发现真核转录酶, 1970 年发现真核 mRNA 含有 polyA 尾巴 (在天花病毒感染细胞中发现), 于是用 oligo(dT) 柱分离纯化真核 mRNA 从而促进研究发展。
- 1968 年 M. Gellert 等五个实验室发现 DNA 连接酶, 为发展体外 DNA 重组技术奠定了基础。
- 1970 年 H. M. Temin 和 D. Baltimore 同时发现不同逆转录病毒的逆向转录酶, 补充了“中心法则”。
- 1970 年 H. O. Smith 发现了第一个 II 型 DNA 限制性内切核酸酶 *Hind II*, 导致之后一系列 DNA 限制性内切核酸酶的发现及应用, 和 DNA 连接酶一起促进了 DNA 体外重组的发展。