

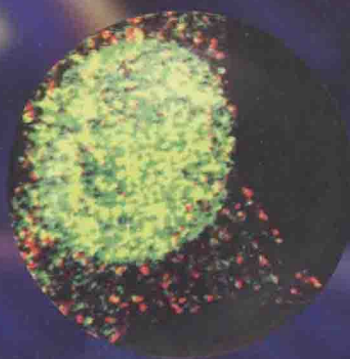
国家精品课程配套教材

全国高等医学院校规划教材

医学分子生物学

(第2版)

胡维新 主编



科学出版社

国家精品课程配套教材
全国高等医学院校规划教材

医学分子生物学

(第二版)

胡维新 主编

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书在第一版的基础上对有关内容进行了适当的调整,及时补充了新进展,系统地阐述了分子生物学的热门研究领域。全书共有14章,第一章简要介绍分子生物学的研究对象、发展历史以及与医学的关系;第二章至第六章介绍分子生物学的基本理论和基础知识;第七章至第十章介绍现代分子生物学研究策略、方法、原理及其应用;第十一章至第十四章讨论疾病产生的分子基础和分子生物学在医学领域中的应用。

本书不仅可以作为相关专业本科生、研究生的教材,还可作为医学、生命科学领域从事教学、科研的教师及医务工作者的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

医学分子生物学/胡维新主编. —2版. —北京:科学出版社, 2014. 6
国家精品课程配套教材 全国高等医学院校规划教材
ISBN 978-7-03-040846-4

I. ①医… II. ①胡… III. ①医学-分子生物学-医学院校-教材 IV. ①Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 116726 号

责任编辑: 席 慧 贺窑青/责任校对: 宋玲玲

责任印制: 阎 磊/封面设计: 迷底书装

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

铭浩彩色印装有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007年2月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2014年6月第 二 版 印张: 24 3/4

2014年6月第十一次印刷 字数: 649 000

定价: 55.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

《医学分子生物学》(第二版)

编写委员会

主 编 胡维新

编 者 (按姓氏笔画排序)

方定志 (四川大学)

刘 静 (中南大学)

刘贤锡 (山东大学)

朱振宇 (中山大学)

何淑雅 (南华大学)

肖志强 (中南大学)

罗志勇 (中南大学)

胡维新 (中南大学)

贺智敏 (广州医科大学)

陶 钧 (长沙理工大学)

德 伟 (南京医科大学)

第二版前言

分子生物学是在分子水平上研究生命现象和生命本质的科学。以生命为研究对象的各个学科之间的相互交叉和相互渗透,正面临着在理论上的大综合和大发展。而分子生物学以其崭新观点和技术全面渗透,推动着细胞生物学、遗传学、发育生物学、神经生物学等学科向分子水平的方向发展。尽管生命现象在数以百万计的不同种属中表现出丰富多彩和千姿百态的形式,但是生命活动的本质在不同生物中却是高度一致的。分子生物学开辟了研究不同种属生物所表现出的生命现象和生命活动的最重要途径。分子生物学已经对生物学和医学的各个领域产生了非常深刻的影响,形成了一系列的“分子”学科,如分子遗传学、分子免疫学、分子病毒学、分子病理学、分子肿瘤学和分子药理学等。

分子生物学的发展十分迅速,新理论与新技术不断涌现,并渗透进入生命科学的每一个领域,全面推动着生物学和医学向各个方面纵深发展。分子生物学对医学的影响尤为巨大,人们可以从分子水平来研究生命现象和处理疾病。过去难以诊治的遗传疾病和某些常见病及各种生命现象(包括生命的起源和演化、生长发育、遗传变异、细胞增殖、分化及凋亡等机制),有可能在分子基础上进行解释和研究。利用分子生物学理论与技术,对各种疾病进行诊断和治疗,使医学进入了一个崭新的“分子医学”时代,开启了基因诊断和基因治疗的先河。

人们有可能从某种生物体的基因组中分离某一特定功能的基因,将其导入另一种生物的基因组中,改变这种生物的遗传性状,或进行疾病的基因治疗。外源基因可与载体在体外进行连接,或者在基因水平上进行定向诱变,从而诞生了基因工程和蛋白质工程。生物技术也随之进入了分子水平,人们有可能按照自己的意愿和社会需求来改造基因,以制备各种具有生物活性的大分子。DNA、RNA 和蛋白质也已经成为人类防病、治病的一类新型生物制品或药物。

本书第一版自 2007 年出版以来,经历多次印刷,受到广大读者的欢迎。根据医学分子生物学的长期教学实践,在第一版的基础上,我们对本书的章节和内容进行了适当的调整,并根据需要增加了部分新内容、新进展,以求更加实用。在编写过程中,紧密结合教学实际,对书中内容有所取舍,力求理论联系实际、通俗易懂、图文并茂、深入浅出。

本书紧扣当代分子生物学发展的主题,系统地阐述了该学科的热门研究领域。全书共 14 章,第一章简要介绍分子生物学的研究对象、发展历史及其与医学的关系;第二章至第六章介绍分子生物学的基本理论和基础知识;第七章至第十章介绍现代分子生物学的研究策略、方法、原理及其应用;第十一章至第十四章讨论疾病产生的分子基础和分子生物学在医

学领域中的应用。参加本书编写的作者均为在相关领域第一线的、长期从事教学和科学研究的国内知名专家、教授，他们既具有深厚的分子生物学理论知识，又有丰富的实践工作经验。本书不仅可以作为相关专业本科生、研究生的教材，也可作为医学、生命科学领域从事教学、科研的教师及医务工作者的参考书。

在本书编写过程中，汤立军、曾海涛、朱敏、吴坤陆、曾赵军、孙曙明、萧小鹏、熊德慧等同志在图片制作，文字处理和校对等方面给予大力协助，特此致谢。

由于编者水平有限，时间仓促，不当之处在所难免，欢迎读者在使用过程中批评指正。

编 者

2014 年 3 月

第一版前言

生命科学是研究生命物质的结构与功能、生物与生物之间以及生物与环境之间相互关系的科学。以生命为研究对象的各个学科之间的相互交叉和相互渗透，正面临着在理论上的大综合和大发展。分子生物学已经成为当代生命科学领域中的核心前沿和推动整个生命科学发展的基础。由于分子生物学以其崭新观点和技术的全面渗透，推动了细胞生物学、遗传学、发育生物学、神经生物学和生态学等学科向分子水平的研究发展，使它们已不再局限于原来的经典学科。概括地说，分子生物学是在分子水平上研究生命现象和生命本质的科学。尽管生命现象在数以百万计的不同种属中表现的形式丰富多彩和千姿百态，但是生命活动的本质在不同生物中却是高度一致的。分子生物学开辟了研究各种不同种属生物所表现出生命现象和生命活动的最重要的途径。分子生物学已经对生物学和医学的各个领域产生了非常深刻的影响，并逐步形成了一系列的分子学科，如分子遗传学、分子免疫学、分子病毒学、分子病理学、分子肿瘤学和分子药理学等。

由于分子生物学渗透于生命科学的每一个领域，才全面推动了生物学和医学向各个方面纵深发展。分子生物学对医学的影响尤为巨大，人们可以从分子水平来研究生命现象和处理疾病。过去难以诊治的遗传疾病和某些常见病以及各种生命现象（包括生命的起源和演化、生长发育、遗传变异、细胞增殖、分化及凋亡等机制），有可能在分子基础（核酸与蛋白质）上进行解释和研究。利用分子生物学理论与技术，对各种疾病进行诊断和治疗，并使医学进入了一个崭新的“分子医学”时代，开启了基因诊断和基因治疗的先河。

同时，人们有可能从某一生物体的基因组中分离某一特定功能的基因，导入到另一种生物的基因组中，改变这种生物的遗传性状，或进行疾病的基因治疗。外源基因可与载体在体外进行连接，或者在基因水平上进行定向诱变，从而诞生了基因工程和蛋白质工程。生物技术也随之进入了分子水平，人们有可能按照自己的意愿和社会的需求改造基因，以制备各种具有生物活性的大分子，如蛋白质和核酸，DNA、RNA 和蛋白质也已经成为人类防病、治病的一类新型的生物制品或药物。

近年来，分子生物学的发展十分迅速、日新月异，新内容与新进展不断涌现，信息量不断扩大。为了展示分子生物学的最新进展，紧扣当代分子生物学发展的主题，本书系统地阐述了该学科的热门研究领域。但本书毕竟不是一部百科全书，不可能包罗万象，因此在编写过程中，紧密结合教学实际，对书中内容有所取舍。并且力求理论联系实际，通俗易懂，深入浅出，图文并茂。

全书共十五章，第一章简要介绍了分子生物学的研究对象、发展历史以及与医学的关系；第二章至第六章为分子生物学基本理论和基础知识；第七章至第十章介绍了现代分子生物学研究策略、方法、原理及其应用；第十一章至十五章讨论了疾病产生的分子基础和分子生物学在医学领域中的应用。参加本书编写的作者均为在相关领域第一线长期从事教学和科学研究的国内知名专家、教授，既具有深厚的分子生物学理论知识，又有丰富的实践工作

经验。本书不仅可以作为相关专业本科生、研究生的教材，也可作为医学、生命科学领域从事教学、科研的教师以及医务工作者的参考书。

本书得到了湖南省高等教育 21 世纪课程教材建设项目、湖南省研究生精品课程建设项目和中南大学研究生教育创新工程研究生教育精品课程建设项目资助。本书在编写过程中，熊德慧、朱敏、曾海涛、吴坤陆、曾赵军等同志在图片制作，文字处理和校对等方面给予大力协助，特此致谢。

由于编者水平有限，加上时间仓促，出现各种不当之处甚至错误在所难免，欢迎读者在使用过程中批评指正。

编者

2006 年 10 月

目 录

第二版前言

第一版前言

第一章 绪论 1

第一节 分子生物学的研究对象 1

一、分子生物学的定义 1

二、分子生物学的研究内容 3

第二节 分子生物学发展简史 3

一、生物遗传物质的发现 3

二、现代分子生物学的建立 4

三、现代分子生物学的深入发展 6

第三节 分子生物学与相关学科的关系 11

一、分子生物学与生物化学 12

二、分子生物学与细胞生物学 12

三、分子生物学与遗传学 13

四、分子生物学与生物技术 13

第四节 分子生物学与医学未来 14

一、分子生物学在医学中的应用 14

二、分子生物学与基础医学 15

三、分子生物学和病理学 15

四、分子生物学和疾病诊断 16

五、分子生物学和疾病治疗 16

参考文献 17

第二章 基因、基因组与基因组学 18

第一节 基因的结构与功能 18

一、基因的生物学概念 18

二、基因的现代概念 19

第二节 基因组的结构和功能 21

一、原核生物基因组 22

二、真核生物基因组 27

三、病毒基因组的一般结构特点 32

四、反转录病毒基因组的结构特点 34

第三节 基因组学 36

一、基因组学的研究内容 36

二、人类基因组及人类基因组学研究进展 38

第四节 基因组复制 39

一、基因组复制的共同机制和不同特点 40

二、原核生物基因组的复制模式 41

三、真核生物基因组的复制特点 41

参考文献 42

第三章 遗传信息的复制与表达 43

第一节 中心法则 43

第二节 DNA 的生物合成 44

一、DNA 复制的特点 44

二、原核生物 DNA 的复制 49

三、真核生物 DNA 的复制特点 51

四、DNA 生物合成的抑制 52

五、反转录 53

第三节 RNA 的生物合成 55

一、原核生物 RNA 的生物合成 55

二、真核生物 RNA 的生物合成 58

三、转录产物的加工和修饰 62

四、RNA 生物合成的抑制 65

第四节 蛋白质的生物合成 66

一、原核生物蛋白质的生物合成 66

二、真核生物蛋白质合成的特点 73

三、蛋白质生物合成的抑制剂 75

参考文献 76

第四章 蛋白质的加工、运输与降解 77

第一节 新生肽链的折叠 77

一、新生肽链的折叠加工 77

二、分子伴侣 78

三、影响新生肽链折叠的酶类 80

四、新生肽链错误折叠所致的疾病 81

第二节 蛋白质亚基的聚合与组装 82

一、亚基的聚合与组装过程 83

二、蛋白质寡聚化的优越性 83

三、组装错误有关的疾病 84

第三节 蛋白质翻译后的修饰 84

一、一级结构修饰 84

二、辅基、金属离子的结合 85

三、氨基酸残基侧链共价修饰	87	五、重组修复	144
四、蛋白质分子中二硫键的形成	92	六、跨损伤修复	147
五、蛋白质修饰异常所致的疾病	92	七、线粒体损伤和修复	147
第四节 蛋白质的运输和定位	92	八、基因的损伤与修复异常所致的疾病	148
一、分泌蛋白和膜蛋白的运输及定位	93	参考文献	148
二、细胞浆蛋白的靶向定位	96	第七章 基因结构与表达分析的基本方法	
三、蛋白质定位紊乱所致的疾病	100		149
第五节 细胞内蛋白质的降解	100	第一节 DNA 序列分析	149
一、影响蛋白质降解的因素	101	一、双脱氧末端终止法	149
二、蛋白质降解的途径	102	二、化学降解法	153
三、蛋白质降解异常所致的疾病	104	三、DNA 序列分析的自动化	153
参考文献	104	四、新一代 DNA 测序技术	153
第五章 基因表达调控	106	第二节 核酸分子杂交技术	155
第一节 原核生物基因表达的调控	106	一、核酸分子杂交的原理	155
一、原核生物基因表达的特点	106	二、Southern 印迹杂交	156
二、原核生物基因表达的调控	107	三、Northern 印迹杂交	157
第二节 真核生物基因表达的调控	117	四、斑点杂交和狭缝印迹杂交	158
一、真核生物基因表达的特点	117	五、原位分子杂交	158
二、真核生物基因表达的调控	118	六、液相杂交	158
第三节 基因表达的调控网络与协同控制	129	第三节 聚合酶链反应	160
一、转录调控物的活性调节	129	一、PCR 反应的基本原理	160
二、转录因子调节基因表达的几种方式	130	二、耐热 DNA 聚合酶	162
三、转录过程与 mRNA 前体的加工协调	131	三、PCR 引物及设计原则	164
四、mRNA 出核运输与 mRNA 前体的加工和转录过程偶联	132	四、PCR 反应条件的优化	165
五、基因表达调控发生在多个环节	132	五、常用的 PCR 改进技术	166
六、珠蛋白基因表达的精确时空调控	132	第四节 基因芯片和微阵列技术	173
参考文献	134	一、芯片制备	173
第六章 DNA 损伤与修复的分子机制	136	二、样品制备与杂交反应	174
第一节 DNA 损伤的原因及后果	136	三、DNA 芯片技术的主要应用	176
一、DNA 分子的自发性损伤	136	第五节 Western 免疫印迹技术	176
二、物理因素引起的 DNA 损伤	137	第六节 基因结构与表达分析的其他技术	177
三、化学因素引起的 DNA 损伤	138	一、cDNA 末端快速扩增技术	178
四、DNA 损伤的后果	139	二、限制性片段长度多态性和 PCR-RFLP 分析	178
五、DNA 损伤的检测和与 DNA 损伤相关的蛋白质	139	三、PCR 产物单链构象多态性分析	179
第二节 DNA 修复	139	四、PCR-ELISA	179
一、错配修复	140	参考文献	180
二、直接修复	141	第八章 基因克隆与基因体外表达	181
三、碱基切除修复	142	第一节 基因克隆的工具酶	181
四、核苷酸切除修复	143	一、限制性内切核酸酶	181
		二、其他常用的工具酶	183

第二节 基因克隆的载体	184	蛋白质组学	235
一、常用的克隆载体	184	第一节 蛋白质组学的概念及其发展	
二、表达载体	190	史	235
第三节 基因克隆的基本过程	192	一、蛋白质组学的概念	235
一、目的基因的获得	192	二、蛋白质组学的产生与发展	236
二、载体的选择与准备	194	第二节 蛋白质组学研究方法概述	237
三、DNA 分子的体外连接	194	一、蛋白质组表达模式的研究方法	237
四、外源基因导入宿主细胞	195	二、蛋白质组功能模式的研究方法	243
五、目的基因的筛选与鉴定	197	第三节 蛋白质组学在疾病研究中的	
第四节 真核细胞转染	199	应用	249
一、真核细胞转染的方法与基本原理	199	参考文献	255
二、转染细胞的筛选	200	第十一章 疾病产生的分子基础	257
第五节 基因的改造	202	第一节 基因结构改变引起的疾病	257
一、基因定点诱变技术	202	一、不同的分子机制产生不同类型的基因	
二、基因定点诱变技术的应用	204	突变	258
第六节 克隆基因的表达	205	二、基因突变引起的遗传学效应	259
一、大肠杆菌表达系统	206	三、基因结构改变导致的疾病	261
二、哺乳动物细胞表达系统	208	四、调控序列变异导致基因表达水平变化	
三、其他表达系统	209	引起疾病	264
第七节 电子克隆	209	第二节 细胞间异常信号导致基因表达	
参考文献	210	异常引起的疾病	265
第九章 基因功能研究的基本策略	211	第三节 细胞内因素导致基因表达异常	
第一节 动物转基因技术的原理与方法		引起的疾病	266
.....	211	一、细胞内信号异常导致基因表达异常	
一、动物转基因技术的基本原理	212		266
二、基因转移方法	213	二、DNA 甲基化异常导致基因表达异常	
三、转基因动物的检测及鉴定	216		266
四、转基因动物的应用	218	三、组蛋白异常修饰	267
第二节 动物基因敲除技术的原理与		四、非编码 RNA 引起基因表达改变	268
方法	218	第四节 翻译后加工运输障碍引起的	
一、构建基因敲除动物的基本原理和操作		疾病	268
流程	218	第五节 蛋白质降解异常引起的疾病	268
二、Cre/loxP 系统	220	第六节 病原生物基因引起的疾病	270
三、基因打靶的基本方案和策略	220	第七节 通过结构、表达及功能分析	
四、基因敲除小鼠的建立与鉴定	227	研究疾病分子机制	270
五、基因敲除动物的应用	230	一、基因结构变异分析	271
第三节 细胞模型的建立与特定基因		二、基因表达水平分析	272
功能研究	230	三、基因功能研究	276
一、细胞模型中过表达特定基因	230	参考文献	281
二、抑制或沉默基因表达	231	第十二章 基因诊断的原理与应用	283
参考文献	234	第一节 基因诊断学基础	283
第十章 蛋白质组学的研究方法和疾病		一、基因诊断的概念及特点	283

二、基因诊断的常用分子生物学技术	284	一、反义 RNA	320
三、基因诊断技术路线和方法的选择	290	二、干扰 RNA	321
第二节 遗传病基因诊断	294	三、核酶	324
一、血红蛋白病基因诊断	294	第四节 治疗基因的受控表达	326
二、血友病基因诊断	297	一、基因内部的调节机制	327
三、脆性 X 染色体综合征基因诊断	299	二、基因外部的调节机制	328
第三节 传染病基因诊断	300	三、利用病灶微环境使治疗基因特异性表达	328
一、病毒性疾病基因诊断	300	四、治疗基因的诱导表达	328
二、细菌性疾病基因诊断	301	第五节 基因治疗的应用研究	329
三、寄生虫病基因诊断	302	一、遗传病的基因治疗研究	330
四、其他应用	302	二、恶性肿瘤基因治疗研究	331
第四节 恶性肿瘤基因诊断	302	三、病毒性疾病的基因治疗研究	335
一、原癌基因与抑癌基因的检测	303	四、其他疾病的基因治疗研究	336
二、常见恶性肿瘤基因诊断	304	第六节 基因治疗的前景与问题	336
第五节 基因型检测在药效评价和指导个体化用药的应用	306	一、安全性问题	336
一、临床药物疗效评价	306	二、伦理问题	337
二、指导个体化用药	306	三、当前存在的技术问题	337
第六节 基因诊断在法医学上的应用	307	参考文献	338
一、DNA 指纹与多态性遗传标记	307	第十四章 肿瘤分子生物学	339
二、DNA 指纹与法医学诊断	307	第一节 肿瘤发生的分子基础	339
参考文献	309	一、多因素启动癌变的分子基础	340
第十三章 基因治疗的原理与应用研究	310	二、多基因参与癌变的作用规律	344
第一节 基因治疗的基本策略	310	三、多阶段递进性癌变的分子依据	354
一、基因置换	310	第二节 肿瘤转移的分子基础	355
二、基因添加	311	一、肿瘤转移相关因子	355
三、基因干预	311	二、肿瘤转移相关基因	358
四、自杀基因治疗	311	三、肿瘤转移相关机制	360
五、基因免疫治疗	312	第三节 肿瘤靶向治疗的分子基础	362
第二节 基因转移的基本技术	313	一、常见靶分子及其检测方法	362
一、病毒载体介导的基因转移系统	314	二、分子靶向药物及其作用原理	364
二、非病毒载体介导的基因转移系统	318	三、分子靶向治疗的特点及应用策略	366
第三节 基因干预	320	参考文献	367
索引	369		

第一章

绪论

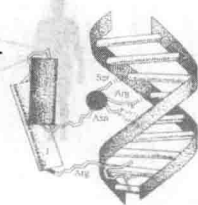


图 1-1 DNA 双螺旋结构模型

分子生物学是在分子水平上研究生命物质的结构、组织和功能的一门新兴、边缘学科。以核酸和蛋白质等生物大分子的结构、功能及其在细胞信号转导中的作用为研究对象，发展十分迅速，并与其他学科广泛交叉与渗透。由于分子生物学以其崭新的观点和技术对其他学科进行了全面渗透，推动了细胞生物学、遗传学、发育生物学、神经生物学等学科向分子水平的方向发展，使它们已不再是原来的经典学科，而成为生命科学的真正前沿学科。尽管生命现象在数以百万计的不同种属生物中的表现形式多种多样和千姿百态，但是生命活动的本质在不同生物中却是高度一致的。例如，绝大多数生物遗传的分子基础取决于 DNA；除少数例外，遗传密码在整个生命世界中都是一致的。又如，核酸一级结构和蛋白质一级结构的对应关系及蛋白质的有序合成也表现出高度一致性。因此，分子生物学开辟了研究各种不同种属生物生命现象的最基本、最重要的途径。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遇，也为人类利用和改造生物创造了极为广阔的前景。

第一节 分子生物学的研究对象

一、分子生物学的定义

生命科学的发展经历了从生物的表现型到基因型、从整体水平到细胞水平再到分子水平的漫长过程。图 1-1 形象地描述了生命科学的发展历程。细胞是生命机体构建的基本单位（病毒等生物体例外），活的细胞具有遗传、变异、生长、增殖、分化、衰老及凋亡等基本特征。这些生命的特征是一系列极其复杂但又井然有序的化学反应链，是细胞本身及其制造的生物大分子（核酸及蛋白质等）相互作用的结果。不同生命机体具有不同的遗传特征，而遗传特征取决于特异基因。基因是携带有遗传信息的 DNA 片段，遗传信息是指 DNA 片段中的核苷酸特异序列，它们编码蛋白质多肽链中的氨基酸序列。人类每个细胞中的全部遗传信息均包含在 24 条（或 23 对）染色体及线粒体上，由 30 亿对核苷酸组成，共编码 2.5 万~3 万个不同的基因。但在不同细胞中，哪些基因表达、如何表达、表达量多少，又与基因本身及其旁侧 DNA 序列和蛋白质（DNA 结合蛋白）有极为密切的关系。

由于分子生物学涉及研究和认识生命的本质，它已广泛渗透到医学科学的各个领域，成为现代医学的理论基础。医学的各个学科，包括生理学、微生物学、免疫学、病理学、药理学及临床学科等都与分子生物学有着广泛的交叉与渗透，形成了一系列交叉学科，如分子免疫学、分子病毒学、分子病理学、分子肿瘤学和分子药理学等，从而大大促进了医学的发展。

整体水平 → 细胞水平 → 分子水平

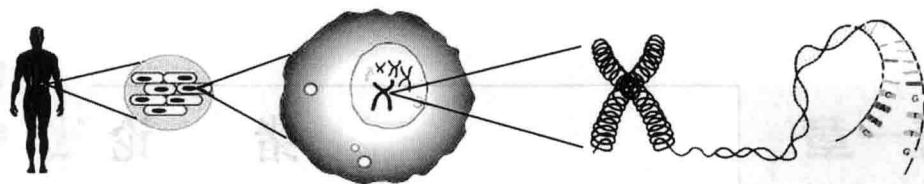


图 1-1 生命科学从整体水平发展到分子水平的示意图

重组 DNA 技术和其他分子生物学技术的发明和应用，带动了整个生命科学的发展。分子生物学技术是由传统生物化学、生物物理学、细胞生物学、遗传学、应用微生物学及免疫学等各专业技术的渗透、综合而形成的，同时包含了数学、化学、物理学、计算机科学和信息学技术等的广泛渗入，并在此基础上发明和创造了一系列新的技术，如 DNA 及 RNA 的印迹转移、核酸分子杂交、DNA 克隆或重组 DNA、基因体外扩增、DNA 测序等，形成了独特的重组 DNA 技术及其相关技术，以及研究蛋白质一级结构、二级结构和三级结构与功能分析的技术，这些技术统称为分子生物学技术。重组 DNA (recombinant DNA) 技术是现代分子生物学技术的核心，又称为基因操作 (gene manipulation)、分子克隆 (molecular cloning)、基因克隆 (gene cloning) 或基因工程 (gene engineering) 等。虽然这些名词彼此间存在某些微小的差别，但在不同情况和不同条件下常可交换使用。这种技术的不同名词只不过是人们对“基因操作”的不同理解，但对基因操作和重组 DNA 技术有其明确的定义。一般将“基因操作”定义为：通过任何方法将在细胞外构建的 DNA 分子（或片段）插入病毒、质粒或其他载体系统，形成遗传物质的重新组合，并使它们能够进入宿主细胞内；虽然它们在天然宿主中并不存在，但能在其中继续扩增。而“重组 DNA 技术”在狭义上也具有与“基因操作”相同的含义，但它涉及的范围更广泛，甚至用以泛指分子生物学中与 DNA 水平研究有关的技术。因此，分子生物学技术已成为推动生物科学的各个领域向分子水平发展的重要工具或手段，也是服务于人类和社会，推动医药和工业、农业发展的强大动力。

1953 年，Watson 和 Crick 提出了 DNA 双螺旋结构模型，从而开创了现代分子生物学的新纪元。经典遗传学中的决定生物遗传性状的基本单位——基因，其化学本质就是一个 DNA 片段。DNA 印迹转移、核酸分子杂交、基因重组、DNA 体外扩增和序列分析等技术，使对 DNA 分子进行体外操作和分析成为可能。特别是 1985 年 Mullis 发明的聚合酶链反应，可在体外将 DNA 大量扩增，并使 DNA 操作技术更为简便、所需样品更微量。过去难以诊治的遗传性疾病和某些常见病，以及各种生命现象（包括生命的起源和演化、生长和发育、遗传与变异，以及细胞的增殖、分化和凋亡等）的机制有可能在分子基础（核酸与蛋白质）上进行研究。分子生物学已成为当代生命科学研究中的核心前沿和推动整个生命科学发展的基础。由于分子生物学渗透进入生物学的每一个分支领域，全面推动了生命科学和医学的各个方面的发展，使医学在一个更高的水平——分子水平来研究生命现象和处理疾病，并使医学进入了一个崭新的“生物医学” (biomedicine) 或“分子医学” (molecular medicine) 时代。

人们有可能从某种生物体的基因组中分离出某一特定功能基因，并将其导入到另一种生

物的基因组中,改变这种生物的遗传性状或治疗某种疾病。由于外源 DNA 可与载体在体外进行连接,或在基因水平上进行有目的的定向诱变,从而诞生了基因工程和蛋白质工程。生物技术也随之进入了分子水平,基因(或 DNA)也因此进入了社会生产和人们生活的各个方面。人们有可能按照自己的意愿和社会需求改造基因,以制备各种具有生物活性的大分子,如蛋白质和核酸。DNA、RNA 和蛋白质也已成为人类治病、防病的一类新型的生物制品或药物。在农业上生物技术还可应用于快速育种,改良品种,提高农作物的产量和质量以及抗病虫害、抗干旱等能力。

二、分子生物学的研究内容

分子生物学主要研究生物大分子的结构、功能,生物大分子之间的相互作用及其与疾病发生、发展的关系。分子生物学的研究内容主要包括以下 3 个方面。

1. 核酸分子生物学 核酸分子生物学主要研究核酸的结构及其功能。核酸的主要作用是携带和传递遗传信息,因此形成了分子遗传学。20 世纪 50 年代以来,分子遗传学已形成了比较完整的理论体系和研究技术,它是目前分子生物学中内容最丰富、研究最活跃的一个领域。其研究内容包括基因和基因组的结构,遗传信息的复制、转录与翻译,核酸信息的储存、修复与突变,基因表达调控和基因工程技术的发展及应用等。遗传信息传递的中心法则则是其理论体系的核心部分。

2. 蛋白质分子生物学 DNA 分子中虽然储存了生命活动的各种信息,但生命活动的执行者是蛋白质。蛋白质分子生物学主要研究蛋白质的结构与功能。尽管人类对蛋白质研究的历史比对核酸研究的要长得多,但由于其研究难度较大,与核酸分子生物学相比,蛋白质分子生物学发展缓慢。近年来虽然在认识蛋白质的结构与功能关系方面取得了一些进展,但是对其基本规律的认识仍缺乏突破性进展。

3. 细胞信号转导 细胞信号转导分子生物学主要研究细胞内、细胞间信息传递的分子基础。构成生物体的每一个细胞的分裂与分化及其他生物学功能,均依赖于外界环境所产生的各种信号。在这些外源信号的刺激下,细胞可以将这些信号通过第二信使转变成一系列生物化学变化,如蛋白质构象的转变、蛋白质分子的磷酸化、蛋白质与蛋白质之间及蛋白质与核酸之间的相互作用等,从而使细胞的增殖、分化及分泌状态等发生改变,以适应细胞内外环境的变化。信号转导研究的目的主要是阐明这些变化的分子机制,明确每一条信号转导途径及参与该途径的所有分子间的相互作用和调节方式,以及认识各种途径间的网络控制系统。信号转导机制的研究在理论和技术方面与核酸和蛋白质的功能研究有紧密的联系,是当前分子生物学中发展最迅速、最热门的领域之一。

第二节 分子生物学发展简史

一、生物遗传物质的发现

早在 1868 年, F. Miescher 就从脓细胞中分离出了细胞核。他用稀碱抽提再加入酸,得到了一种含氮和磷特别丰富的物质,当时称其为核素(nuclein)。1872 年,他又在鲑鱼精子细胞核中发现了大量的这类物质。由于这类物质都是从细胞核中提取出来的,而且又呈酸性,故称其为核酸(nucleic acid)。

早期实验证明,核酸是由嘌呤碱、嘧啶碱、戊糖和磷酸组成的高分子物质。同时还发现,胸腺及许多其他动物组织细胞的核酸中所含的戊糖都是 D-脱氧核糖,称这类核酸为“脱氧核糖核酸”(DNA);而酵母及多种植物细胞中所含的戊糖都是 D-核糖,称这类核酸为“核糖核酸”(RNA)。这些发现是核酸研究中的重要成果,但也给人们带来了一些错觉,以至长期以来,人们误认为 DNA 只存在于动物组织,而 RNA 只存在于植物组织,而且二者都只存在于细胞核。直到 20 世纪 40 年代,这些事实才被逐步澄清。

自核酸被发现以来的相当长一段时期内,对它的生物学功能几乎毫无所知。1944 年, O. T. Avery 等将从 S 型肺炎双球菌(外面有一层多糖荚膜)中提出的 DNA 与 R 型肺炎双球菌(外面没有荚膜)一起温育,可使 R 型肺炎双球菌转化为 S 型肺炎双球菌,而且还能传代,表明肺炎双球菌的 DNA 与其转化和遗传有关。1952 年, A. D. Hershey 和 M. Chase 用 ^{35}S 和 ^{32}P 分别标记 T2 噬菌体的蛋白质和核酸,将其感染大肠杆菌,而在大肠杆菌细胞内增殖的噬菌体中只含有 ^{32}P 而不含有 ^{35}S ,这表明噬菌体的增殖直接取决于 DNA 而不是蛋白质。这些实验充分证明了 DNA 是遗传的物质基础。

在对 DNA 结构的研究上,1949~1952 年, S. Furber 等应用 X 射线衍射分析阐明核苷酸并非平面的空间构象,提出 DNA 是螺旋型结构;1948~1953 年, E. Chargaff 等用新的层析和电泳技术分析了组成 DNA 的碱基和核苷酸量,积累了大量的数据,提出了 DNA 碱基组成含量比 $\text{A}=\text{T}$ 、 $\text{G}=\text{C}$ 的 Chargaff 规则,为碱基配对的 DNA 结构打下了基础。

二、现代分子生物学的建立

1950 年, W. T. Astbury 在一次题为“*Adventures in Molecular Biology*”的讲演中首先使用了“分子生物学”这一术语,用以说明它研究的是生物大分子的化学和物理学结构。但现代分子生物学并不是从那时开始的,因为分子生物学创始的里程碑是在 1953 年 J. D. Watson 和 F. H. Crick 提出的“DNA 双螺旋结构学说”以后。该学说启动了分子生物学及重组 DNA 技术的发展,开创了分子遗传学基本理论建立和发展的黄金时代。DNA 双螺旋结构发现的最深刻意义在于:确立了核酸作为信息分子的结构基础;提出了碱基配对是核酸复制、遗传信息传递的基本方式,从而最终确定了核酸是遗传的物质基础,为认识核酸与蛋白质的关系及其在生命活动中的作用打下了最重要的基础。20 世纪 50~70 年代为 DNA 和遗传信息的研究和认识阶段,其主要进展包括以下几个方面。

(1) 1953 年, Watson 和 Crick 通过分析 DNA 的 X 射线衍射数据,提出了 DNA 分子的双螺旋结构模型,并在 *Nature* 杂志上发表了一篇震动生物学界的论文“脱氧核糖核酸的结构”。根据这一模型, DNA 的二级结构是由两条平行但方向相反的多核苷酸链组成,两条链由氢键相连,如同一架梯子。每一条多核苷酸链由脱氧核糖、磷酸和碱基组成。组成 DNA 的碱基有 4 种:腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胸腺嘧啶(T)和胞嘧啶(C)。在两条平行链上, $\text{A}-\text{T}$ 、 $\text{G}-\text{C}$ 配对, DNA 分子中嘌呤数与嘧啶数相等,即 $\text{A}=\text{T}$ 、 $\text{G}=\text{C}$ 。4 种碱基可任意排列,形成无数种排列方式。数周后他们又发表了第二篇论文,对 DNA 复制过程作了更详尽的阐明。Watson 和 Crick 的 DNA 双螺旋结构学说被普遍地视为是分子生物学发展的最主要里程碑,也是分子生物学及其技术的重要理论基础。

(2) 在发现 DNA 双螺旋结构的同时, Watson 和 Crick 还提出了 DNA 复制的可能模型。其后, 1956 年, A. Kornberg 首先发现了 DNA 聚合酶; 1958 年, M. Meselson 和

F. W. Stahl 提出了 DNA 半保留复制模型；1968 年，R. Okazaki (冈崎) 等提出了 DNA 不连续复制模型，并于 1972 年证实了 DNA 复制开始时需要短 RNA 片段作为引物，在 RNA 引物基础上分段合成 DNA 片段，这个不连续的 DNA 片段被称为“冈崎片段”(Okazaki fragment)；20 世纪 70 年代初，科学家获得了 DNA 拓扑异构酶，并对真核 DNA 聚合酶特性作了分析研究。这些都逐渐完善了对 DNA 复制机制的认识。1958 年，S. B. Weiss 及 J. Hurwitz 等发现了依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶；1961 年，B. D. Hall 等用 RNA-DNA 杂交证明 mRNA 与 DNA 序列互补。这些工作使 RNA 转录合成的机制得以逐步阐明。

(3) 20 世纪 50 年代初，P. C. Zamecnik 等在形态学和亚细胞组分实验中发现微粒体 (microsome) 是细胞内蛋白质合成的部位；1957 年，M. B. Hoagland、P. C. Zamecnik 和 M. L. Stephenson 等分离出了 tRNA，并对它们在合成蛋白质中转运氨基酸的功能提出了假设；1961 年，S. Brenner 和 P. R. Gross 等观察了在蛋白质合成过程中 mRNA 与核糖体的结合；1963 年，R. W. Holley 从酵母中提出了丙氨酰转移核糖核酸 (tRNA)，它可以根据 mRNA 序列寻找对应的氨基酸，在核糖体上合成蛋白质，mRNA 的密码子不能直接选择氨基酸，而是依靠 tRNA 结构中的反密码子来识别 mRNA 的密码，并通过氨酰-tRNA 合成酶连接相应的氨基酸。1965 年，Holley 测定了 tRNA 核苷酸序列。1961 年，M. W. Nirenberg、H. G. Khorana 等几组科学家通过共同努力破译了 RNA 上编码合成蛋白质的遗传密码，证明 DNA 分子中的遗传信息是以三联密码的形式储存，他们将人工合成的多聚尿嘧啶核苷酸 [poly(U)] 加至分离的核糖体中，同时加入标记的氨基酸，发现仅苯丙氨酸渗入到合成的多肽——聚苯丙氨酸中，因此设想 UUU 三联体是苯丙氨酸的遗传密码或密码子 (codon)。随后证明 AAA 是赖氨酸的密码子，最后全部破译了 20 种氨基酸的密码子，并确定 UAG、UGA 和 UAA 是肽链合成的终止信号，称为“终止密码”，从而认识了蛋白质翻译合成的基本过程，并研究证明了这套遗传密码在生物界具有通用性。以上这些重要发现共同建立了以中心法则为基础的分子遗传学基本理论体系。1970 年，H. M. Temin 和 D. Baltimore 同时从鸡的 Rous 肉瘤病毒 (Rous sarcoma virus, RSV) 颗粒中发现了以 RNA 为模板合成 DNA 的反转录酶，进一步补充了遗传信息传递的中心法则。

人们认识到遗传信息存在于 DNA 分子中，纠正了长期将染色体上的蛋白质看成是遗传信息的携带者的错误观点。从 DNA 双螺旋结构的发现和遗传密码的破译，到 1978 年体外首次成功地人工合成第一个完整基因，经历了近 30 年，人们才真正认识到，G. Mendel 在 1865 年发现的遗传因子 (基因) 的化学本质即是 DNA 分子，而且基因或 DNA 分子竟是多种多样生命现象的物质基础——蛋白质编码的模板。从此 DNA 成为生命物质最本质的分子基础和打开认识生命现象之谜的钥匙，为分子生物学的进一步发展奠定了坚实的理论基础。

(4) 与此同时，对蛋白质结构与功能的研究也在进行。1956 年，C. B. Anfinsen 等根据对酶蛋白的变性和复性实验，首次提出蛋白质的三维空间结构是由其氨基酸序列来确定的。1958 年，V. M. Ingram 证明正常的血红蛋白与镰状细胞溶血症患者的血红蛋白之间，其 β 亚基的肽链上仅有一个氨基酸残基的差别，使人们对蛋白质一级结构的改变影响其功能产生了深刻的印象。蛋白质的研究方法也得到了很大改进，1969 年，K. Weber 首先使用十二烷基磺酸钠 (SDS)-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定蛋白质分子质量；20 世纪 60 年代先后分析了血红蛋白 (Hb)、核糖核酸酶 A (RNase A) 等一批蛋白质的一级结构；1973 年，氨基酸序列自动分析仪问世，大大加快了蛋白质的结构和功能的研究。中国科学家在 1965 年人工合成了牛