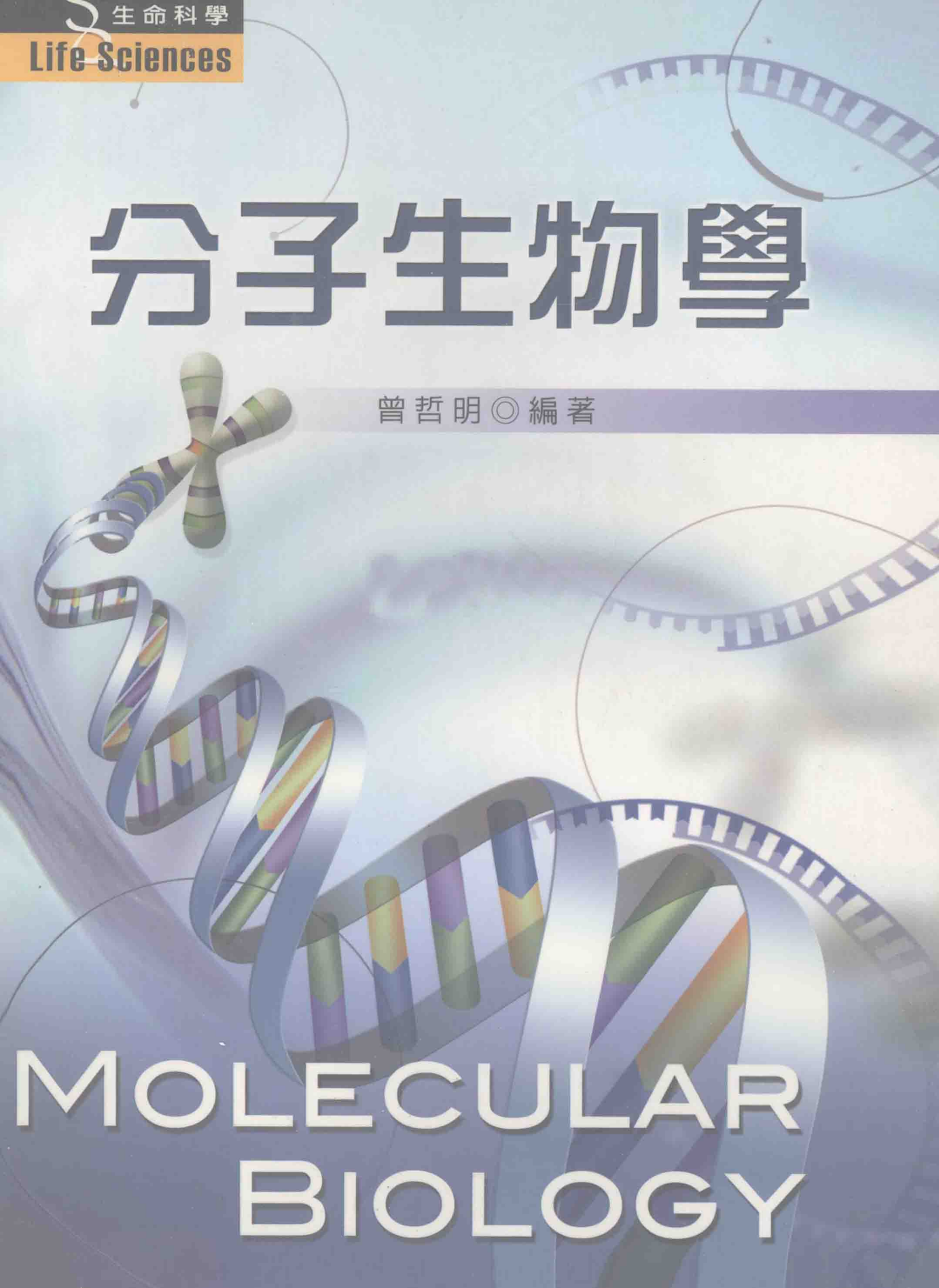


2 生命科學

Life Sciences

分子生物學

曾哲明◎編著

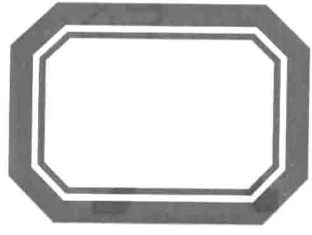


MOLECULAR
BIOLOGY



生命科學

Life Sciences



分子生物學

曾哲明◎編著

7

MOLECULAR BIOLOGY

國家圖書館出版品預行編目資料

分子生物學=Molecular biology / 曾哲明編著.-初版.-

臺北縣中和市：新文京開發，2008.12

面；公分

含索引

ISBN 978-986-150-899-3 (平裝)

1. 分子生物學

361.5

97011179

分子生物學

(書號：B294)

編著者 曾哲明
出版者 新文京開發出版股份有限公司
地址 台北縣中和市中山路二段 362 號 8 樓 (9 樓)
電話 (02) 2244-8188 (代表號)
F A X (02) 2244-8189
郵撥 1958730-2
初版 西元 2008 年 12 月 13 日

有著作權 不准翻印

建議售價：495 元

法律顧問：蕭雄淋律師

ISBN 978-986-150-899-3

序言 Preface



序言為何總是在最後才寫？因為下筆時仍不知道這將會是一本什麼樣的書，初期的遠大計畫，往往在時間的洪流中放任他縮水。不過寫到第3章時，已經逐漸將本書定位為現代分子生物學概念的啟蒙專書，目的是幫助學子們奠定必要的理論基礎，為進一步研習生物技術、分子醫學、生物資訊等應用性學門作準備。故本書不詳細描述生物技術專書皆會提到的技術，如南方轉漬法、基因選殖(gene cloning)、核酸定序(sequencing)、微矩陣(microarray)及聚合酶連鎖反應(polymerase chain reaction)等，而專注在與基因表現有關的DNA、RNA與蛋白質等大分子上，探討其結構、合成、功能與活性的調節。

1950年代初期，DNA被確認是攜帶遺傳訊息的分子，歷經半個世紀，分子生物學的概念與技術已經廣泛應用在生物、醫學與生技產業領域，在大量的研究人力與資源的投入下，分子生物學的廣度與深度，已經遠超過其他生物學門。不難想像一本即使已經使用8號字印刷的分子生物學或基因學（如GENE VIII），頁數仍然超過了一千頁，其中還已經割捨了許多精彩有趣的觀念與實驗。而本書在撰寫過程中，我們擱置了許多與細胞學、醫學等相關的觀念（如胞內傳訊機制、細胞週期、致癌基因等），在編輯過程中，又割捨了一些較進階的內容，或改列為「延伸學習」專欄，期使內容能著重在基礎概念上。不過部分內容可能還是略有難度，故選用本書為教材的教師們，或許還需要從中選擇適當的重點概念講授。而對於即將報考研究所的學子而言，本書則可作為重點概念的溫習用書。

二十一世紀初，人類基因體定序工作大致完成，分子生物學邁入「後基因體時代」，各種生物基因體定序產生的龐大資料，透過生物資訊學的快速判讀、歸類與比對，以及蛋白體學對開放讀框的陸續解讀、蛋白分子的充分解構，一項將改變人類本質的無聲革命才正要開始。立志投入生物醫學領域的學子們，如果還沒下定決心讀好分子生物學，那麼你將會發現自己竟然站在月台上，看著二十一世紀的高速列車開走；而已經上了車的諸位，就讓我們開始輕鬆地瀏覽分子生物學中無數的驚奇。



曾哲明 Jerming Tseng

學歷

美國俄亥俄州立大學(The Ohio State University)微生物研究所博士
美國俄亥俄州立大學(The Ohio State University)微生物研究所碩士
輔仁大學生物系學士

經歷

醫學論文編譯公司學術總監
彰化基督教醫院實驗動物中心主任
國立台灣師範大學生物學系教授
國立台灣師範大學生物學系副教授
美國俄亥俄州立大學(The Ohio State University)微生物系講師
Children's Hospital, Columbus, OH (USA)小兒科血液癌症研究員
美國俄亥俄州立大學(The Ohio State University)微生物系助教
長庚紀念醫院過敏免疫科助理研究員
中央研究院植物研究所助理

著作

免疫學

目錄 Contents

Chapter 01 核酸分子的結構 1

- 1-1 分子生物學的里程碑 2
- 1-2 去氧核糖核酸 (DNA) 的結構 13
- 1-3 從 DNA 到染色體 23

Chapter 02 基因體的結構與特性 35

- 2-1 基因 36
- 2-2 基因體 44
- 2-3 基因體中的重複序列 50
- 2-4 核外的基因體 61

Chapter 03 原核細胞基因的轉錄與調控 67

- 3-1 轉錄調控序列 69
- 3-2 原核細胞的轉錄 74
- 3-3 早期研究－乳糖操縱組 80
- 3-4 操縱組調控機制 85
- 3-5 雙因子調控系統 92

Chapter 04 噬菌體的基因調控 99

- 4-1 λ 噬菌體生活史 100
- 4-2 溶菌期的基因調控 104

4-3 潛溶期的基因調控 110

4-4 基因體的整合與誘發 115

Chapter 05 真核細胞基因的轉錄 119

- 5-1 啟動子與順向調控元素 120
- 5-2 基因轉錄的起始 125
- 5-3 轉錄的延伸與終止 139

Chapter 06 真核細胞基因轉錄的調控 153

- 6-1 轉錄因子 154
- 6-2 組蛋白乙酰化與基因調控 166
- 6-3 DNA 甲基化與基因調控 169
- 6-4 RNA 干擾機制 175

Chapter 07 傳訊 RNA 的轉錄後修飾 183

- 7-1 5' 端帽化作用 184
- 7-2 3' 端的轉錄後處理 186
- 7-3 剪接體的插入子剪接作用 190
- 7-4 自我剪接的插入子 199
- 7-5 另類的剪接模式 202
- 7-6 細胞質 RNA 的修飾與分解 205

Chapter 8 轉譯—合成蛋白質 211

- 8-1 轉送 RNA 212
- 8-2 胺基酸乙醯 tRNA 219
- 8-3 核糖體 223
- 8-4 轉譯 229
- 8-5 轉譯的調節 242

Chapter 9 轉譯後修飾與蛋白質轉送 249

- 9-1 蛋白質的修飾 250
- 9-2 自由態核糖體的轉譯與轉送途徑 265
- 9-3 內質網固著態核糖體途徑 275

Chapter 10 DNA 複製 289

- 10-1 DNA 複製的特性 290
- 10-2 原核細胞 DNA 複製 298
- 10-3 真核細胞 DNA 複製 310

Chapter 11 DNA 的突變與修補 319

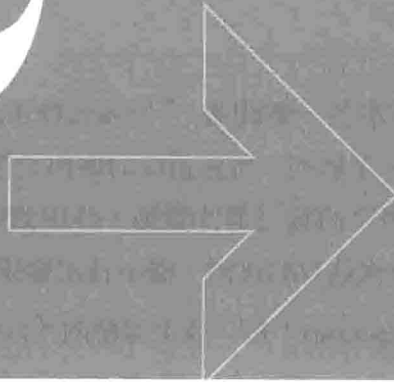
- 11-1 DNA 突變與損傷 320
- 11-2 點突變的修補機制 330
- 11-3 結構損傷的修補機制 334

Chapter 12 DNA 的重組與轉位 345

- 12-1 DNA 重組 346
- 12-2 轉位子 355
- 結語 371

Index 索引 373

核酸分子的結構



Molecular Biology

■ 1-1 分子生物學的里程碑

古典遺傳學
主宰遺傳的分子
遺傳工程世代的來臨
基因體的解碼與後基因體時代

■ 1-2 去氧核糖核酸 (DNA) 的結構

核苷酸
DNA 的分子結構
DNA 熔解現象及其意義
環狀 DNA

■ 1-3 從 DNA 到染色體

核體的結構與組合
組蛋白的轉譯後修飾
染色質與染色體的結構

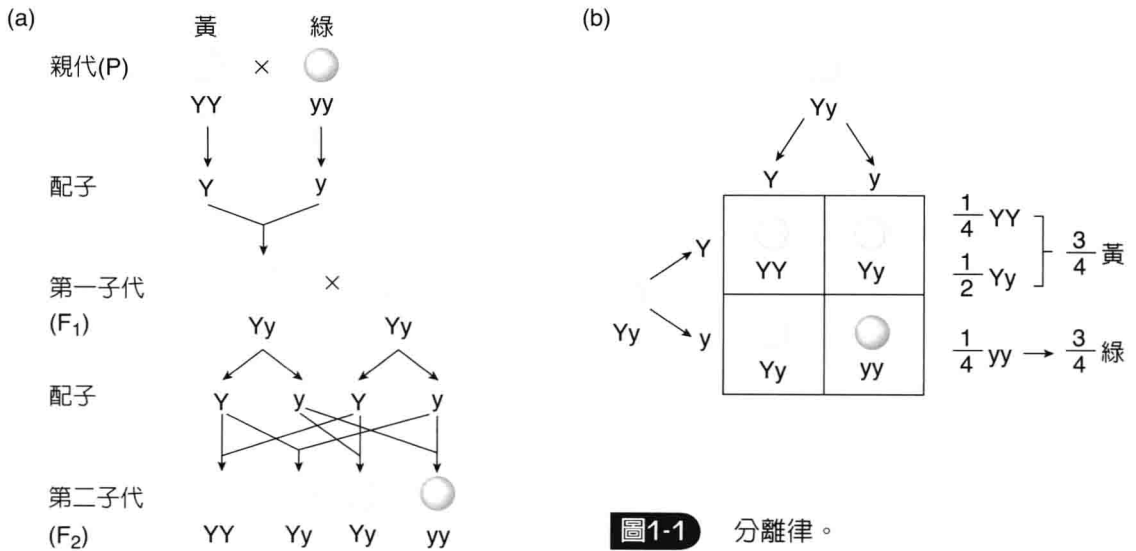
1-1 分子生物學的里程碑

生物學源於人類對生命現象的好奇。從精、卵結合，新生命呱呱落地，到接續的新陳代謝、生長、生殖、感應與適應，最後老化、凋零、死亡，歧異中含有共通的準則，複雜中具有不變的規律。生命現象是否有主導者？宗教家從形而上的角度切入，試圖提出具有說服力的答案；而科學家則經由一系列嚴謹設計的實驗與邏輯推論，逐步解開生命的奧密。

古典遺傳學

分子生物學的源起是為了解答一個問題：「使親代特徵遺傳給子代的關鍵分子是什麼？」，1856年至1863年間，奧地利一所修道院的僧侶孟德爾 (Gregor Johann Mendel) 在修道院旁的小菜園做了一連串的豌豆遺傳實驗，詳細觀察親代特定性狀（如種子顏色、種皮、植株高度等）在子代佔有的比例，從中找出規律後，提出兩個遺傳法則：

- (1) **分離律 (principle of segregation)**：每一種可遺傳的性狀皆由一對遺傳因子所決定，個體產生配子（精子或卵子）時，這一對遺傳因子會分離並分別由不同配子攜帶，精、卵結合逢機進行，產生攜帶有一對遺傳因子的受精卵（圖 1-1）。



(2) **獨立分配律** (principle of independent assortment): 每個配子皆攜帶許多不同性狀的遺傳因子，而 A 性狀的遺傳因子並不會要求必須與 B 性狀的那一個遺傳因子共處 (圖 1-2); 換言之，在分離、分配至配子時，不同性狀的遺傳因子之間是獨立的、不相互影響。

孟德爾開啟了遺傳學的大門，不過直到 1900 年，三位歐洲的生物學家 (Hugo de Vries、Carl Correns 及 Erich von Tschermak) 才分別在三個獨立的實驗室，證明了孟德爾的遺傳法則確實普遍存在於生物族群中 (孟德爾已在 1884 年過世)。1882 年，德國細胞學家 Walther Flemming 觀察到細胞核中的絲狀物質，並將之稱為「染色體 (chromosome)」; 1903 年，由 Sutton 及 Boveri 提出「染色體遺傳學說」，認為精細胞及卵細胞中的遺傳物質就是染色體，而孟德爾描述的遺傳因子就在染色體上。

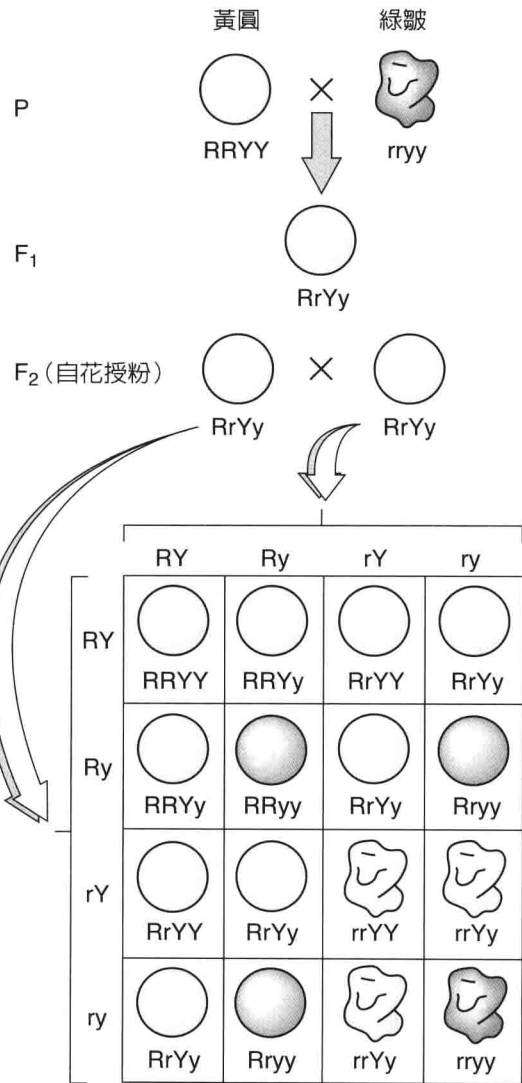


圖1-2 獨立分配律。

1909 年，丹麥的植物學家 Wilhelm Johannsen 將孟德爾所說的遺傳因子稱為**基因** (gene)，分子生物學最基本的專有名詞就是「基因 (Gene)」。其他經常會提到的名詞與概念如下：

- **基因座** (locus; 複數為 loci): 基因在染色體上的位置。
- **對偶基因 (等位基因)** (allele): 在同源染色體相同基因座上的不同基因形式，一對同源染色體的特定基因座上，會有兩個對偶基因，可能相同，也可能不同。
- **同源染色體** (homologous chromosome): 在體細胞 (somatic cell) 中成對存在，分別來自精子與卵子，攜帶決定相同性狀的基因組。

- **基因型 (genotype)**：決定某一特定外表特徵（性狀）的基因形式。
- **外表型 (phenotype)**：基因表現產生的外表特徵（性狀）。
- **顯性對偶基因 (dominant allele)**：當一對同源染色體兩個對偶基因不同時，其中一個主導外表型的呈現，稱為「顯性基因」。
- **隱性對偶基因 (recessive allele)**：當一對同源染色體兩個對偶基因不同時，其中一個基因無法決定外表型，稱為「隱性基因」。
- **同型合子 (homozygous)**：當決定某一特定外表特徵（性狀）的兩個對偶基因完全相同時，稱為「同型合子」；如 AA 基因型。
- **異型合子 (heterozygous)**：當決定某一特定外表特徵（性狀）的兩個對偶基因彼此不相同時，稱為「異型合子」；如 Aa 基因型。

美國科學家 Thomas Morgan 在二十世紀初期針對果蠅遺傳的研究，發現某些遺傳現象並不完全遵循孟德爾遺傳法則，他的研究使遺傳學又邁進一大步：(1) 他提出**性聯遺傳基因 (sex-linked gene)** 的概念，發現某些性狀基因的表現與性別有關，某些對偶基因位於**性染色體 (sex chromosome)** 上；(2) 他發現某些基因是成群遺傳給子代，即形成**連鎖群 (linkage group)**，造成連鎖的原因是這些連鎖基因皆位於同一條染色體上；(3) 連

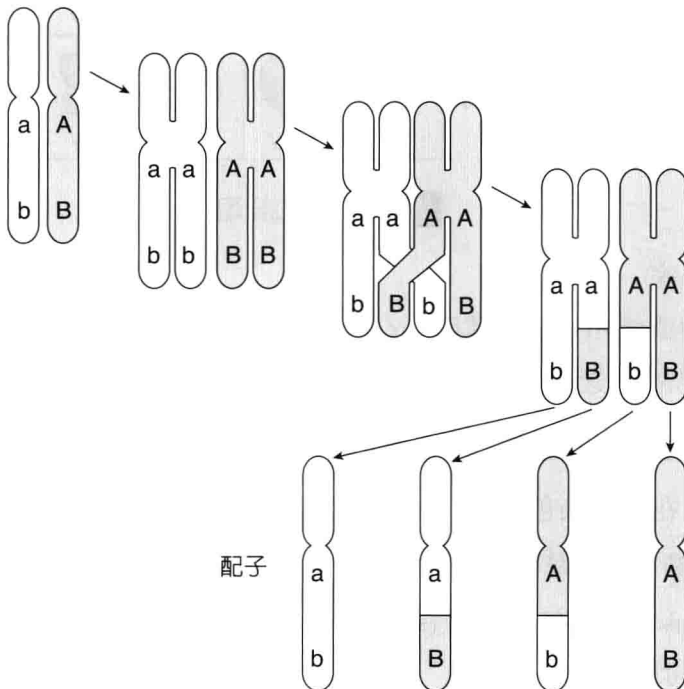


圖1-3 染色體互換。同源染色體在減數分裂的聯會過程中產生互換現象，造成基因的重組。

鎖現象有時也會被破壞，原因是同源染色體在減數分裂的聯會過程中，產生互換現象 (cross-over)，造成基因的重組 (recombination) (圖 1-3)。Morgan 於 1933 年獲得諾貝爾生理醫學獎。

另一項遺傳學的重要里程碑是發現某些遺傳因子是可移動的。美國遺傳學家 Barbara McClintock 觀察玉米顆粒的顏色遺傳，提出玉米具有某種移動型遺傳元素的假說，這些移動型元素能影響其他基因的突變率，故稱之為**控制元素** (controlling elements)。McClintock 的假說到 1960 年代才被細菌的基因研究者證實，科學家發現細菌具有移動型遺傳元素，稱之為**轉位子** (transposon)。McClintock 在 1983 年獲得諾貝爾生理醫學獎。

1940 年左右，美國的生化學家 George Beadle 及 Boris Euphrussi 的突變果蠅實驗，以及 Beadle 與 Edward Tatum 的突變麵包黴 (*Neurospora crassa*) 實驗 (圖 1-4)，證明基因的功能主要是攜帶著合成蛋白質 (酵素) 的訊息；Beadle 與 Tatum 隨後提出了「一基因—一酵素」假說，不過在細胞內攜帶基因的大分子是什麼？是蛋白質還是核酸？基因又如何「指導」蛋白質的合成？在當時並沒有令人滿意的解答。

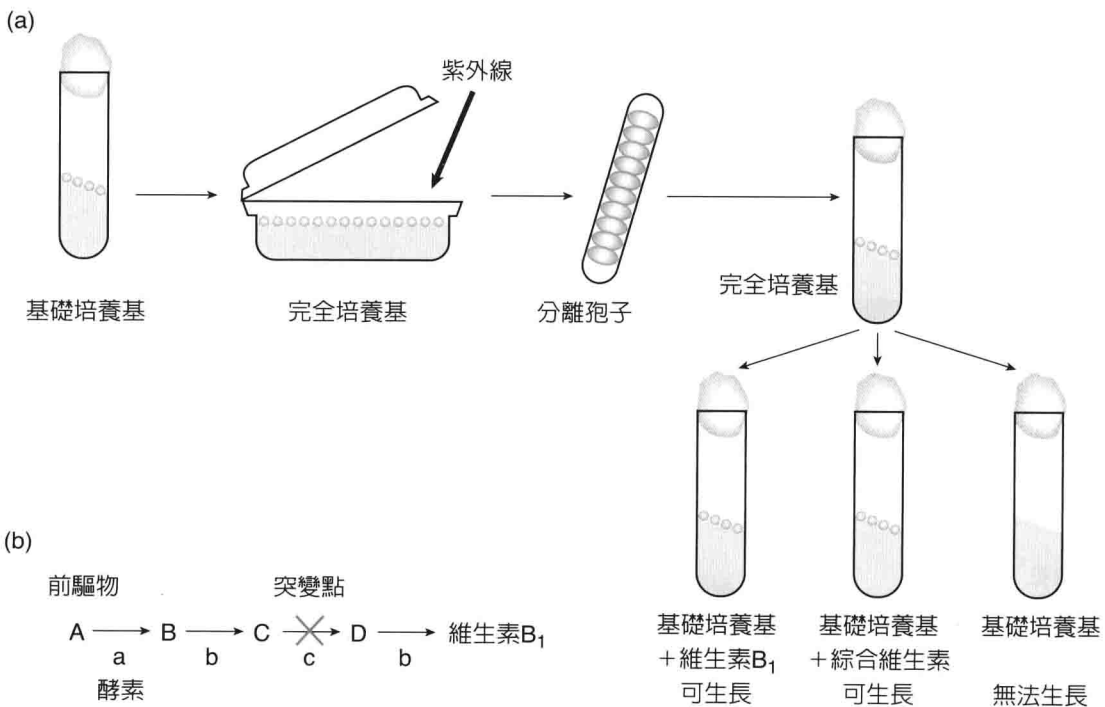


圖1-4 Beadle 與 Tatum 的突變麵包黴 (*Neurospora crassa*) 實驗。

主宰遺傳的分子

1869年，瑞士化學家 Johann Miescher 從白血球的細胞核中，分離出一種大分子物質，並命名為**核素** (nuclein)；Miescher 的學生 Richard Altman 隨後以化學技術純化出「核素」，並發現這是一種酸性大分子，故將核素更名為**核酸** (nucleic acid)；核酸有兩大類，即**核糖核酸** (ribonucleic acid, **RNA**) 及**去氧核糖核酸** (deoxyribonucleic acid, **DNA**)，1920年至1930年之間，科學家證明 DNA 可在所有生物的細胞核中發現，而且這種大分子皆位於染色體上；不過 DNA 在染色體上有何作用？仍舊沒有答案。1928年，英國醫生 Fred Griffith 將平滑型 (S 型；具有莢膜，能干擾白血球的殺菌功能，有致病力) 肺炎雙球菌 (*Streptococcus pneumonia*；當時被稱為 *Pneumococcus*) 加熱殺死之後，混合粗糙型 (R 型；不具有莢膜，無致病力) 肺炎雙球菌，一起打入老鼠體內，結果導致老鼠死亡。他發現 R 型菌在老鼠體內皆變成了 S 型菌，他將之稱為**轉型** (transformation) (圖 1-5)；推論已被殺死的 S 型菌釋放了某種物質，改變了 R 型菌的外表型。1944年，美國勒克菲勒大學的 Oswald Avery、Colin MacLeod 及 MacLyn McCarty，以 Fred Griffith 的實驗模式為基礎，將 S 型菌打破，製成細胞萃取液 (cell lysate)，分裝至三個試管，分別以 DNA 分解酶、RNA 分解酶及蛋白質分解酶進行分解處理，再與 R 型菌混合，發現只有 DNA 分解酶那一組無法使 R 型菌轉型為 S 型 (圖

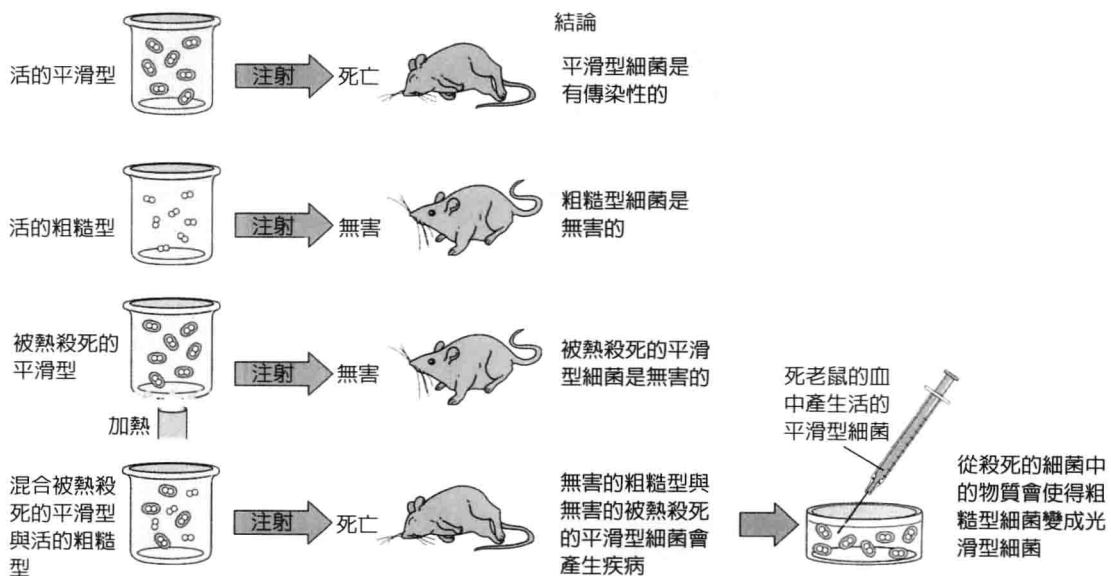


圖1-5 Fred Griffith 肺炎雙球菌轉型的實驗。圖片來源：生物學 (第2版)，Levine、Miller 著，簡春潭等編譯，2007。

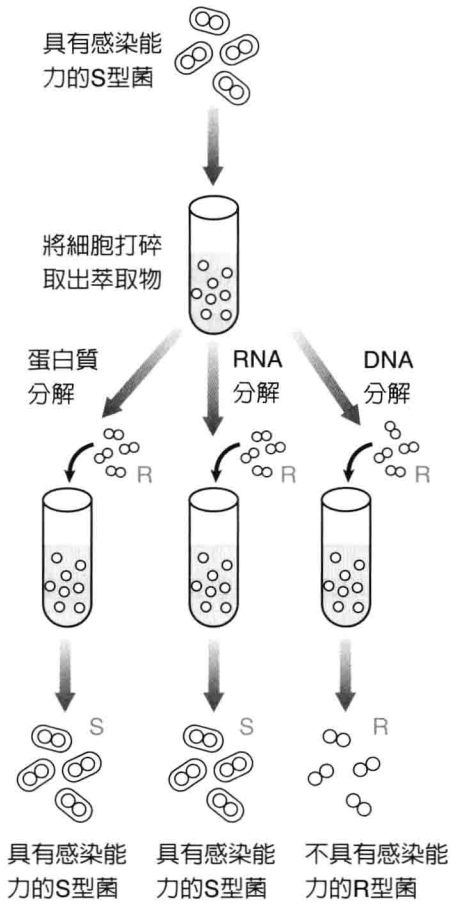


圖1-6 Oswald Avery、Colin MacLeod 及 MacLyn McCarty 以 Fred Griffith 的實驗模式為基礎，推論造成 R 型菌轉型的物質應該是 DNA 的實驗。

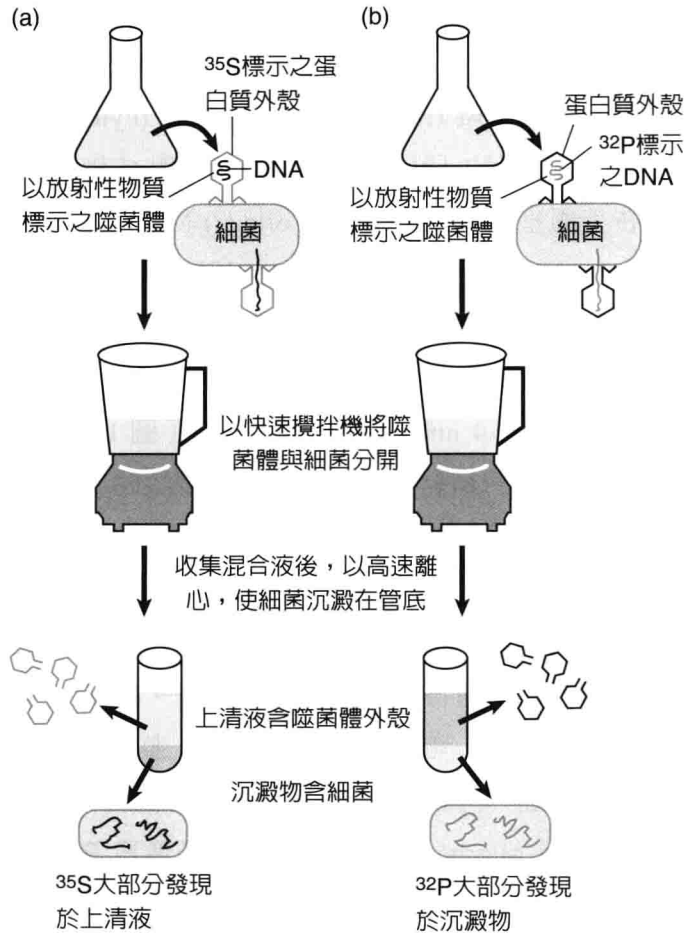


圖1-7 Alfred Hershey 及 Martha Chase 以感染大腸桿菌的 T2 噬菌體為實驗材料，直接證明 DNA 攜帶遺傳訊息的實驗。

1-6)；推論造成 R 型菌轉型的物質應該是 DNA。1952 年，美國紐約冷泉港 Carnegie Laboratory of Genetics 病毒學家 Alfred Hershey 及 Martha Chase，以感染大腸桿菌的 T2 噬菌體為實驗材料，利用 ^{35}S 放射性元素標定 T2 的蛋白質， ^{32}P 標定 T2 的 DNA，再分別感染細菌，發現細菌分裂增殖產生的子代具有 ^{32}P ，而 ^{35}S 在實驗過程中已經被清除（圖 1-7）；此實驗直接證明進入細菌體負責傳遞遺傳訊息的是 DNA。至此，科學家已能確認 DNA 是遺傳訊息的攜帶者，是主宰生物性狀的分子。

1944 年至 1952 年間，美國哥倫比亞大學的 Erwin Chargaff 分析許多物種之 DNA 分子，發現同一物種的個體間，DNA 分子中腺嘌呤 (adenine, A)、鳥嘌呤 (guanine, G)、胸腺嘧啶 (thymine, T)、胞嘧啶 (cytosine, C) 等四種鹼基 (base) 所佔的比值皆一致，且 A 與 T 所佔的比值相近，C 與 G 相近；1953 年，英國科學家 Rosalind Franklin 在英國皇家學院 (King's College) Maurice Wilkins 的實驗室，經過長期的努力，作出 DNA 晶體的 X 光繞射圖，在英國劍橋大學的 James Watson 與 Francis Crick 參考了 Chargaff 及 Franklin 等人的研究成果，建構了 DNA 的三度空間構造模型，判斷 DNA 應該是逆雙股螺旋構造，且 A 與 T 成對，C 與 G 成對，每 0.34 nm 有一對嘌呤－嘧啶鹼基，每 3.4 nm 螺旋結構轉一圈 (圖 1-8)，Watson 與 Crick 在 Nature 雜誌第 171 卷發表了第一篇對 DNA 分子結構看法的文章，題目是「Molecular structure of nucleic acid: A structure for deoxyribose nucleic acid」。DNA 結構的確認，使科學家得以闡釋 DNA 的功能，建構了中心規範 (Central Dogma) 概念，即 DNA 指導 RNA 的合成，稱為轉錄 (transcription)，RNA 隨後指導蛋白質的製造，稱為轉譯 (translation)，而來自親代的遺傳訊息則順著 DNA → RNA → 蛋白質的方向流傳，表現出各種特定的性狀，主宰一切生命現象的進行。整體而言，分子生物學就是以實證科學與邏輯推理為基礎，詳細探討此遺傳訊息的流傳與表現。1961 年，Sydney Brenner、Francois Jacob 及 Matthew Meselson 發現了傳訊 RNA (messenger RNA, mRNA)，mRNA 是遺傳訊息流傳過程中最關鍵的訊息傳遞者。1961 至 1966 年間，美國科學家 Marshall

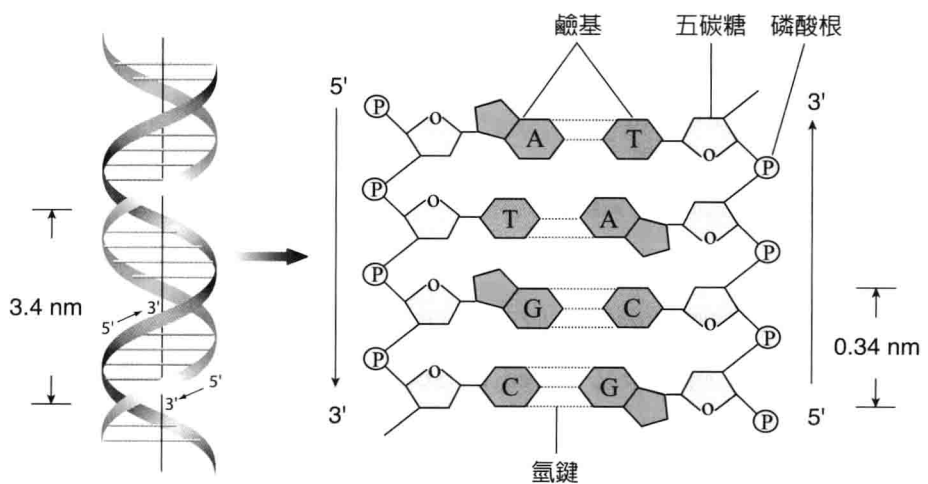


圖1-8 James Watson 與 Francis Crick 建構的 DNA 三度空間構造模型。DNA 分子為逆雙股螺旋構造，且 A 與 T 成對，C 與 G 成對，每 0.34 nm 有一對嘌呤－嘧啶鹼基，每 3.4 nm 螺旋結構轉一圈。



Nirenberg 及 Gobind Khorana 以體外（試管內）蛋白質合成系統，逐步的確定核苷酸序列與胺基酸間的對應關係，確定每三個核苷酸對應一種胺基酸，如 UUU 對應苯丙胺酸 (phenylalanine)，AAA 則對應離胺酸 (lysine) 等，即每三個核苷酸構成一個密碼子 (codon)。Nirenberg 等人的成就使科學家得以解讀 DNA 及 mRNA 分子中的遺傳密碼。

遺傳工程世代的來臨

1970 年代的分子生物學，在理論與技術相輔相成之下快速發展。1970 年，Hamilton Smith 發現了第一種能辨識並切割 DNA 特定序列的核酸內切酶 *Hind II*，這類酵素又稱為**限制酶** (restriction enzyme)。1971 年美國史丹佛大學的 Paul Berg 將環狀的 SV40 病毒 DNA 以限制酶切割後，再將兩條 SV40 DNA 以 DNA **接合酶** (ligase) 接成雙倍體的重組 SV40 DNA。1973 年，Stanley Cohen 與 Herbert Boyer 將帶有不同抗生素拮抗基因的環狀 pSC101 質體分別以 *EcoRI* 切割，隨後將這兩段線狀 DNA 以 DNA 接合酶接合成帶有雙拮抗基因的環狀 DNA，成功的組合成**重組 DNA** (recombinant DNA)，為爾後蓬勃發展的遺傳工程及生物技術奠下基石。1975 年及 1977 年分別發展出遺傳工程另外兩項重要技術：(1) 1975 年由 Edward Southern 以電泳與雜合技術（DNA 與帶有放射性的 DNA 探針結合）配合運用，發展出**南方轉漬法** (Southern blotting)，用以辨識特定的 DNA；科學家隨後發展出 RNA-DNA 雜合技術，並稱之為**北方轉漬法** (Northern blotting)；(2) 1977 年由 Allan Maxam 與 Walter Gilbert 利用對噁吟與嘧啶不同的化學切割法，發展出辨認核苷酸序列的技術，而在同一年，Frederick Sanger 與其同事也以四種 2,3- 雙去氧核苷酸類構物 (ddNTP)，分別在 A、T、C 或 G 點終止 DNA 複製，從而判讀核苷酸序列。目前高效能、高產量的 **DNA 定序儀** (DNA sequencer) 就是應用 Sanger 的定序法。

1978 年 Genentech 生物技術公司的研究團隊，正式公布研發成功 DNA 重組技術產生的人類胰島素，1980 年 6 月開始進行臨床實驗，由於 DNA 重組胰島素的研發成功，Genentech 股票在 1980 年 10 月 15 日開市的短短 20 分鐘，從美金 35 元漲到美金 89 元，創下美國股市的歷史紀錄。1982 年，DNA 重組 B 型肝炎疫苗核准上市，是 1796 年 Edward Jenner 研發第一種抗天花疫苗以來，最關鍵性的突破，使疫苗的製造擺脫了對細胞與病原體的依賴。1985 年，Kary Mullis 發表了**聚合酶連鎖反應** (polymerase chain reaction, PCR) 技術，能將極微量的 DNA 在數小時內放大到足以被

分析的數量，PCR 技術很快的被廣泛應用在生物醫學的每一個領域，以及疾病檢驗、犯罪偵查等範疇，為分子生物技術帶來突破性進展，Mullis 因而在 1993 年獲得諾貝爾化學獎。

基因轉殖技術從 1980 年代萌芽，1990 年代開花、結果。基因轉殖技術是以特殊技術將外來基因於宿主胚胎期即植入胚胎細胞中，此外來基因隨著胚胎細胞增殖而複製，使發育、出生、成長的宿主個體中，每個細胞皆攜帶有此段外來基因。基因轉殖技術使分子生物技術從試管發展到活體，使外來基因的表現完全成為實驗動物的外表型之一。基因轉殖技術在 1980 年代成功的在動物（主要是老鼠）及植物上進行，此後在山羊、牛、魚、雞、豬身上皆有成功的例子。基因轉殖技術也為植物育種技術帶來革命性的突破，經過基因轉殖育種成功的農作物，已經進入我們的消費市場。1997 年，蘇格蘭愛丁堡 Roslin 研究所研究員 Ian Wilmut 及 Keith Campbell 發表了一篇成功複製羊的論文，他們以綿羊乳房細胞之細胞核，植入移除細胞核的受精卵中，再以電極刺激細胞分裂，初期的胚胎隨後植入代孕母羊子宮後，成功產下一隻基因型及外表型與提供乳房細胞的綿羊完全相同的小羊，這項研究成果無疑是生物技術史上重要的里程碑。1998 年，日本近畿大學的 Yukio Tsunoda 及 Yoko Kato 也發表了成功複製牛的技术，隨後的數年間，複製成功的動物包括豬、鼠、山羊、猴等多種動物。更重要的是**核移植技術** (nuclear transplantation) 的應用，可有效的產生基因轉殖動物，加速畜產的品種改良與醫療用蛋白（如凝血因子等）的量產。

基因體的解碼與後基因體時代

1990 年，美國由 James Watson 領導的團隊，啟動一項**人類基因體計畫** (Human Genome Project, HGP)，將人類含 3.3×10^9 個核苷酸的基因體定序出來，預定花費 15 年的時間、30 億美元完成。這項計畫最先由美國主導，隨後陸續有英國、德國、日本、法國及中國等國團隊的加入，包含 20 個研究群。1998 年，由 J. Craig Venter 領導的 Celera Genomics 生物技術公司團隊，利用高產能 (high-throughput) 的核苷酸定序儀器及電腦系統，以超越國際團隊的速度，加入人類基因體定序的行列，此時 HGP 團隊才完成約 10% 基因體的定序，Celera 團隊的研究成果促使 HGP 加快腳步，在 15 個月內完成剩下的 90%。在 HGP 跨國團隊與 Celera 團隊的協同合作之下，這項工作在 2000 年的 6 月 23 日，由美國總統及英國首相正式宣佈，人類基因體的定序工作大致完