

现代

分子遗传学

理论与发展研究

XIANDAI FENZI YICHUANXUE LILUN YU FAZHAN YANJIU

主 编 陈海伟
副主编 赵 冰 文 静 赵美荣
李永春 毕晓丹 陈建兴



中国水利水电出版社
www.waterpub.com.cn



现代

分子遗传学

理论与发展研究

XIANDAI FENZI YICHUANXUE LILUN YU FAZHAN YANJIU

主 编 陈海伟
副主编 赵 冰 文 静 赵美荣
李永春 毕晓丹 陈建兴



中国水利水电出版社
www.waterpub.com.cn

内 容 提 要

本书收集了最近几年现代分子遗传学发展的最新成果,对细胞遗传的过程和分子遗传学的研究进展做了重点介绍。从书的线索来看,本书可分为两个部分。前一部分(第3章~第10章)主要对DNA的复制与表达做了详细介绍;后一部分(第11章~第14章)主要对分子遗传学的应用研究做了介绍。该书适合的读者群是生物遗传方面的专业人员、教师、学生以及对遗传有浓厚兴趣的业余人士。

图书在版编目(CIP)数据

现代分子遗传学理论与发展研究/陈海伟主编. --
北京:中国水利水电出版社,2013. 10
ISBN 978-7-5170-1338-9

I. ①现… II. ①陈… III. ①分子遗传学—研究
IV. ①Q75

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 257401 号

策划编辑:杨庆川 责任编辑:杨元泓 封面设计:马静静

书 名	现代分子遗传学理论与发展研究
作 者	主 编 陈海伟
出版发行	中国水利水电出版社 (北京市海淀区玉渊潭南路 1 号 D 座 100038) 网址:www. waterpub. com. cn E-mail:mchannel@263. net(万水) sales@waterpub. com. cn
经 售	电话:(010)68367658(发行部)、82562819(万水) 北京科水图书销售中心(零售) 电话:(010)88383994、63202643、68545874 全国各地新华书店和相关出版物销售网点
排 版	北京鑫海胜蓝数码科技有限公司
印 刷	三河市天润建兴印务有限公司
规 格	184mm×260mm 16 开本 23. 75 印张 608 千字
版 次	2014 年 1 月第 1 版 2014 年 1 月第 1 次印刷
印 数	0001—3000 册
定 价	84. 00 元

凡购买我社图书,如有缺页、倒页、脱页的,本社发行部负责调换
版权所有·侵权必究

前言

分子遗传学是在分子水平研究基因结构与功能的遗传学分支学科,是体外重组技术的重要理论基础,也是生命科学最为活跃的领域之一。它可以追溯到 1944 年 Avery 等人的肺炎球菌转化实验。1953 年, Watson 和 Crick 的 DNA 双螺旋结构模型的提出开创了分子生物学和分子遗传学的新纪元。1977 年, Sanger 弄清了噬菌体 $\phi\times 174$ 的全部碱基序列(5 386 个碱基),确立了 DNA 序列分析的新战略和新方法,从而使分子生物学和分子遗传学进入了一个崭新的时代。30 多年来,分子遗传学取得了极其巨大的成就,它已成为生命科学的带头学科之一,有力地促进了生命科学中各分支学科的发展。在实践方面,分子遗传学促进了基因工程的发展,使得人类能够以更快的速度和更准确的目标进行生物品种的改良,甚至创造新物种,大规模进行生物活性物质的生产。在工业、农业、医药、环境保护等方面,基因工程都已崭露头角,应用范围日益扩大,它正在成为一个有巨大潜力的产业部门。在新理论、新知识、新技术和新成果迅猛增长的形势下,为了适应学科的发展、反映学科的最新发展动态,《现代分子遗传学理论与发展研究》一书应运而生。

全书共分为 14 章,第 1 章绪论,主要介绍分子遗传学含义、基因、基因组学及生物信息学的发展等;第 2 章主要阐述了病毒基因组、原核生物基因组、真核生物基因组以及核外基因组的结构与功能;第 3 章~第 10 章详细论述了 DNA 复制、染色体、转录、RNA 的加工、翻译、基因表达的调控、遗传重组、基因突变与 DNA 的修复等内容;第 11 章阐述了现代分子遗传学的最新进展,包括癌分子遗传学、植物发育的分子遗传学、动物发育的分子遗传学、分子遗传学与社会;第 12 章重点介绍了现代分子遗传学领域的最新技术进展,涉及体细胞克隆技术、干细胞技术、植物的遗传转化等;第 13 章讨论了分子遗传学的重要发展分支——人类基因组的研究进展与动态;第 14 章阐述了现代分子遗传学的应用领域与发展,涉及生物芯片、药物创新、遗传病的分子诊断与治疗等。

全书由陈海伟担任主编,赵冰、文静、赵美荣、李永春、毕晓丹、陈建兴担任副主编,并由陈海伟负责统稿,具体分工如下:

第 1 章~第 3 章、第 5 章:陈海伟(赤峰学院);

第 4 章第 3 节、第 8 章:赵冰(赤峰学院);

第 6 章、第 11 章:文静(赤峰学院);

第 7 章、第 10 章:赵美荣(赤峰学院);

第 4 章第 2 节、第 14 章:李永春(赤峰学院);

第 12 章、第 13 章:毕晓丹(赤峰学院);

第 4 章第 1 节、第 9 章:陈建兴(赤峰学院)。

本书内容体系新颖,全面、系统地介绍了分子遗传学的基本概念、基本原理等;概念力求准确、明了、高度概括;特别注重分子遗传学理论与实际应用的科学合理的结合;具有适当的深度和

广度,较全面地反映了分子遗传学的最新研究进展;所涉及的遗传材料——植物、动物和微生物并重,尽量使用经典和有代表性的遗传材料和范例;文字精练,图文并茂,通俗易懂。

在编写过程中吸收并借鉴了很多前人、学者的著作、文献、期刊、论文等资料,在此对他们谨表最真诚的谢意。同时,由于水平有限,书中提出的相关分子遗传学的发展动态可能还存在一些不足之处以及需要进一步深入研究和论证的内容,恳切地希望各位专家、读者对我们的工作给予批评和指正。

编者

2013年9月

目 录

第 1 章 绪论.....	1
1.1 分子遗传学含义与发展	1
1.2 基因及其发展	9
1.3 基因组学与后基因组学.....	16
1.4 中心法则及其发展.....	20
1.5 生物信息学的兴起	24
第 2 章 基因结构与功能	26
2.1 病毒基因组.....	26
2.2 原核生物基因组.....	31
2.3 真核生物基因组.....	33
2.4 核外基因组.....	45
第 3 章 DNA 复制.....	52
3.1 DNA 复制的一般特征	52
3.2 DNA 复制的酶学	63
3.3 DNA 复制的过程	71
第 4 章 染色体	78
4.1 染色体的结构与组成.....	78
4.2 细胞分裂与染色体运动.....	87
4.3 染色体异常与疾病.....	92
第 5 章 转录	99
5.1 参与转录的组成成分与结构.....	99
5.2 原核基因转录机制	102
5.3 真核基因转录机制	112
第 6 章 RNA 的加工	125
6.1 rRNA 的加工	125

6.2	tRNA 的加工	127
6.3	mRNA 前体的加工	128
第 7 章	翻译	139
7.1	参与翻译的组成成分与结构	139
7.2	遗传密码	144
7.3	蛋白质合成	151
7.4	蛋白质定位	158
7.5	蛋白质运输	160
第 8 章	基因表达的调控	167
8.1	调控序列与调控蛋白	167
8.2	原核生物基因表达的调控	169
8.3	真核生物基因表达的调控	179
第 9 章	遗传重组	206
9.1	遗传重组概述	206
9.2	同源重组	207
9.3	位点特异性重组	221
9.4	转座作用	224
第 10 章	基因的突变与 DNA 的修复	238
10.1	基因突变	238
10.2	DNA 的修复	247
第 11 章	分子遗传学进展	256
11.1	表观遗传学	256
11.2	癌分子遗传学	258
11.3	植物发育的分子遗传学	264
11.4	动物发育的分子遗传学	270
11.5	分子遗传学与社会	278
第 12 章	分子遗传技术	287
12.1	体细胞克隆技术	287
12.2	干细胞技术	291
12.3	植物的遗传转化	295
12.4	DNA 甲基化检测技术	303

第 13 章 人类基因组 314

13.1 基因组计划 314

13.2 模式生物基因组 320

13.3 人类核基因组概述 324

13.4 我国人类基因组学现状与展望 326

第 14 章 分子遗传学应用与发展 329

14.1 生物芯片 329

14.2 药物创新 334

14.3 重组 DNA 技术 338

14.4 个体识别技术 350

14.5 遗传病的分子诊断与治疗 353

14.6 分子技术应用的伦理问题 360

参考文献 369

后记 371

第 1 章 绪论

自 1958 年由分子生物学奠基者之一的英国科学家 Francis Crick 建立“中心法则”以来,分子遗传学伴随分子生物学的发展获得了丰富的内涵,并伴随基因组时代的到来正处于蓬勃发展和不断完善的历史进程之中。

1.1 分子遗传学含义与发展

1.1.1 分子遗传学的含义

1. 分子遗传学的定义

分子遗传学(molecular genetics)是在分子水平上研究基因的结构、功能以及遗传信息传递规律的学科。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、细胞间通讯过程中发挥着重要作用的蛋白质等生物大分子。

2. 分子遗传学的研究方法

经典遗传学是采用正向遗传学方法(forward genetics),即由表型到基因型,利用位置克隆等手段通过表型性状遗传变异特征研究其基因型,获得基因的遗传变异规律。随着分子遗传学及其技术的发展,在分子水平上直接对候选的目标基因序列进行遗传分析,通过遗传重组(genetic recombination)或定向诱变(directed mutagenesis)技术,有目的、精确地改造基因结构进而寻找表型性状的改变,这种由基因型到表型的分析方法与经典遗传学方法刚好相反,称为反向遗传学方法(reverse genetics)。分子遗传学正是反向遗传学分析方法的理论基础(图 1-1)。



图 1-1 遗传学的研究方法:正向遗传学与反向遗传学

3. 分子遗传学的内容

分子遗传学的内容主要包括 DNA/RNA 的复制、转录、翻译,以及基因表达调控和基因组结构、基因突变与 DNA 修复、DNA 重组、表观遗传等。分子遗传学的技术方法涉及的内容包括分子克隆技术(基因工程)、转基因技术、体细胞克隆技术、基因组测序技术、基因定位与遗传图谱的构建以及生物信息学技术、干细胞技术等。

1. 1. 2 分子遗传学研究的任务

1. 研究遗传物质的分子结构与传递机制

所有已知的自然界有机体和许多病毒的遗传物质都是 DNA,有些病毒的遗传物质是 RNA。作为遗传物质必须具备的特性是:储存并表达遗传信息;能把遗传信息传递给子代;物理和化学性质稳定;含有遗传重组和变异的信息。1953 年 Watson 和 Crick 提出的 DNA 双螺旋结构模型,不仅表明了 DNA 序列由不同的核苷酸排列而成,遗传信息就储存在其中,而且精确阐明了遗传信息的复制与传递,特别是通过 DNA 双链分子的“半保留复制”(semiconservative replication),由亲链(parental chain)产生了两个与亲链完全相同的 DNA 双链分子,即两个子链 DNA 分子(progeny DNA molecular),保证了遗传物质从亲代向子代的传递,为分子遗传学的诞生奠定了理论基础,如图 1-2 中(a)的箭头指向。某些病毒,主要是反转录病毒,是以 RNA 作为遗传物质,尽管 RNA 的化学结构与 DNA 不同,但复制的基本原理是相似的,也是通过其互补链的合成来实现的,从而起着遗传信息的储存与传递的功能。

2. 研究遗传信息表达的分子机制

作为遗传物质不仅要具有精确复制和传递的机制,同时要具有控制性状表达实现功能的机制。生命活动和功能的表达是通过蛋白质来实现的。蛋白质分为酶、运输蛋白、贮藏蛋白、毒蛋白、抗体、激素、细胞因子、基因表达调控因子和结构蛋白等等。蛋白质不仅构成了生命体的基本结构,而且生物的生长、发育、繁殖、代谢物的合成和分解、能量的产生和利用、对外界刺激的反应及运动等都是蛋白质功能的具体体现。同时,不同生物有稳定遗传的不同的结构和性状,显然这些表现都是由基因决定的。也就是说,基因决定生物的遗传性状是通过蛋白质来实现的。基因将所携带的遗传信息传递给蛋白质,不同基因决定不同的蛋白质。

在 20 世纪 50 年代,关于遗传信息的流向与表达,Crick 提出了中心法则(central dogma),它指出了遗传信息的流动方向,即遗传信息的复制、转录、翻译形成蛋白质的全过程,也就是 DNA、RNA 到蛋白质之间的线性关系,如图 1-2 中(b)的箭头指向。中心法则对分子遗传学的建立与发展具有重要意义,也是分子遗传学的重要基础。

3. 研究基因表达调控的分子机制

基因表达(gene expression)是指基因通过转录和翻译最终产生功能产物的过程。这些功能产物为蛋白质或 RNA(如 tRNA、rRNA 等)。生物在不同内外条件下,或在不同发育时期,以至不同组织或器官中,尽管具有相同的基因组,但是其表达产物是不同的。显然基因表达过程受到

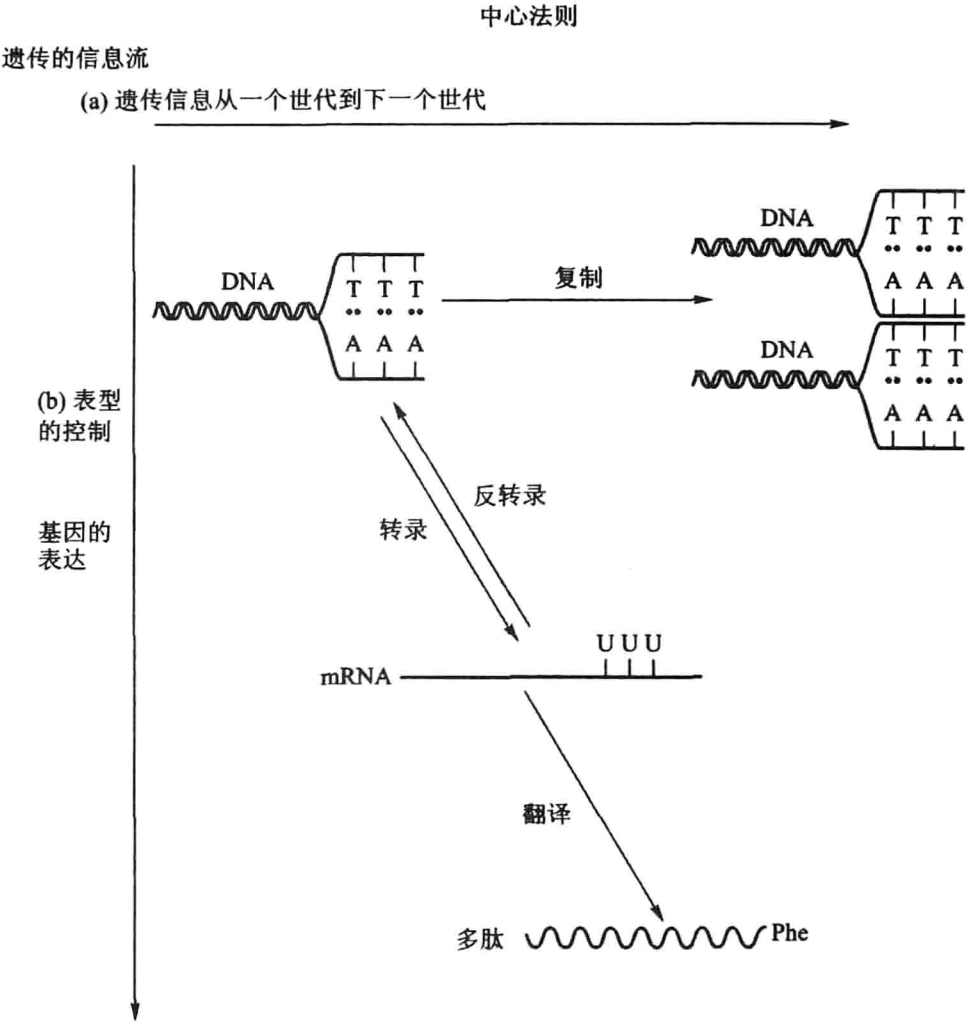


图 1-2 依照中心法则的遗传信息流向

一系列精确的调控,调控可以发生在基因表达的任何阶段。

在 20 世纪 60 年代, Jacob 和 Monod 提出的大肠杆菌乳糖操纵子模型已表明,遗传信息的表达与调控是统一的,基因不仅是遗传信息的载体,同时又具有调控基因表达活性的功能。这一套相互制约的基因使生物在不同环境条件下表现出不同的遗传特性。该模型为研究基因表达调控的分子机制奠定了基础。只是原核生物基因与真核生物基因的结构不同,如原核生物基因一般成簇排列,构成一个操纵子,一个操纵子中的几个基因都受同一个启动子的调控;而真核基因则多半是独立存在,各有自己的启动子。因此,真核基因与原核基因表达调控机制也不相同。

4. 研究基因和基因组的结构与功能

任何一种生物的基因组都具有单倍体细胞内所含的整套染色体(chromosome),它蕴藏着一套完整的遗传信息,决定了该生物体的遗传特性。基因组中每条染色体由一个 DNA 分子组成,而每个 DNA 分子则包含很多基因。迄今已有几百种生物基因组完成了全序列分析,表明基因组大小和所含的基因数目与生物进化程度呈现不完全对应的关系。随着研究的进展,基因结构和类型也愈加丰富,如断裂基因(split gene)、重叠基因(overlapping gene)、可移动基因(movable gene)、超基因(supergene)和基因家族(gene family)及假基因(pseudogene)等等。在人类基因

组和多种生物基因组测序完成的基础上,分子遗传学的研究任务不仅是研究单个基因的结构与功能,而且还要关注生物整个基因组的结构与功能,从全新的视角探讨遗传与变异、结构与功能以及健康与疾病等的分子机制。

5. 研究生物遗传变异的分子机制

作为遗传物质不仅储存和传递遗传信息,而且应含有变异的分子基础,这是因为生命过程是一个遗传和不断变化的动态过程,从而生物得以进化。生物遗传变异的分子基础正是由于在进化过程中决定性状的基因和基因的载体染色体会发生改变。无论是基因发生突变,还是染色体发生改变,都会使性状的遗传方式和遗传下来的性状发生相应的改变。基因突变、染色体数目和结构的变异以及遗传重组是导致基因或基因组不断变化的主要因素,但其分子机制是各不相同的。此外,基因组中转座因子(transposable element)的位置移动和插入也带来各种效应的突变。三核苷酸扩增急剧增加的动态突变(dynamic mutation)也是导致基因组不稳定的重要因素之一。尽管引起遗传变异的各种类型的机制不完全相同,但其共同的分子基础是相同的,那就是改变了基因组 DNA 序列。但表观遗传变异则是另一种类型的遗传性的变化,它是指基因组中的 DNA 序列不发生改变,而在基因表达时发生的可遗传的变化,造成基因产物的改变,最终导致表型的改变。

6. 研究基因控制细胞分化和发育的分子机制

发育是生物的共同属性,也是生物进行遗传和变异的全过程。随着人类基因组计划和一些重要动植物基因组计划的完成,功能基因组的研究已成为重要课题,而发育生物学正是研究基因组功能的主要领域。当今发育生物学的研究真正在分子水平以基因和基因组为对象,研究各类生物基因组在发育不同的时空中基因差异表达和调控的网络,以揭示细胞分化、发育、生殖、遗传、变异以及癌变和衰老等发育生物学全过程的分子机制,进一步认识许多重大生物学问题的分子机制。研究表明基因控制着发育的图式形成,发育是在特定的时间和空间基因差异表达的结果,是生物体基因型与内外环境因子相互作用并逐步转化为表型的过程(图 1-3)。

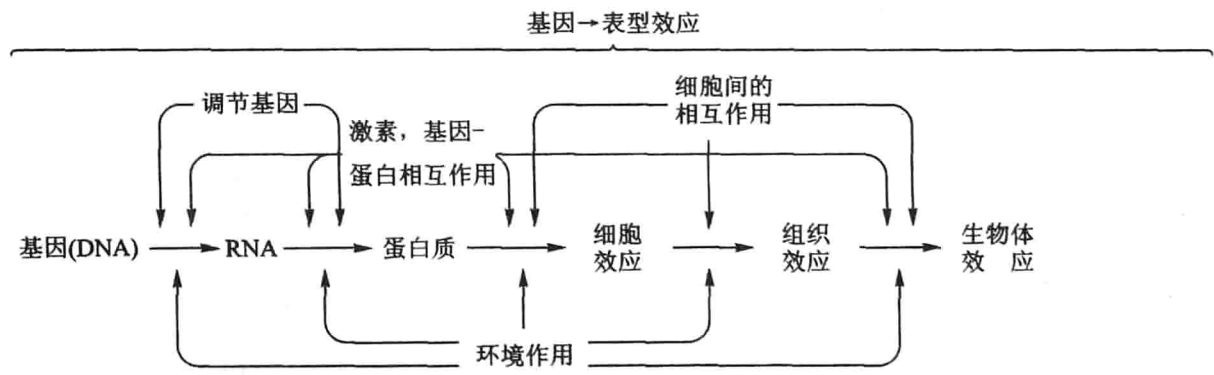


图 1-3 基因影响生物表型效应的复杂途径

1.1.3 分子遗传学的发展

分子遗传学的产生标志着分子生物学的崛起。分子生物学是微生物学、遗传学、化学、物理

等学科相互渗透、相互交叉的产物。

1. 分子遗传学的物理学语言

1945年,量子力学的创始人之一薛定谔(Erwin Schrodinger)的《生命是什么》一书出版。他倡导用物理学与化学的思想和方法研究生命的秘密。《生命是什么》一书可以说是分子生物学的雏形。薛定谔是第一个用物理和化学语言对生命进行了系统描述的物理学家。薛定谔用物理与化学的语言为我们提供了现代分子生物学完整的理论框架,把生命、遗传、基因彻底分子化,并把信息论、量子力学的概念引入生命过程之中。

(1) 负熵

20世纪前期,人们认为生命现象并不服从热力学定律,因而不能用物理学定律来解释。根据热力学第二定律,自然界演化的方向是从有序到无序,而生命的发生、演化、分化、生长等过程,显然是从组织程度较低的无序到组织程度较高的有序。这是无生命世界中难以实现的。

薛定谔用“负熵”的概念,使物理学渗透到生物学领域,启动了分子生物学的崛起。

熵是一个可以计算的物理学的量。在绝对零度时,任何一种物体的熵都等于零。当以缓慢的、可逆的、微小的变化使物体进入另一种状态时,熵的增加是这样计算的:在此步骤中必须供给的每一小部分热量,除以供给热量时的温度(摄氏),然后把所有这些求得的商数加起来。例如,当熔解一种固体时,熔化热除以熔点温度,就是它的熵的增加数。因此,熵的单位是卡/摄氏度。

$\Delta S = k \log D$, k 是所谓的玻尔兹曼常数($k = 3.2983 \times 10^{-24} \text{ cal/}^\circ\text{C}$), D 是有关物质的原子无序状态的数量量度。要用简短的非专业性的术语对 D 这个量做出精确的解释几乎是不可能的。它所表示的无序,一部分是热运动的无序,另一部分是存在于随机混合的、不是清楚地分开的各种原子或分子中间的无序。

薛定谔认为,既然 D 是无序的度量,它的倒数 $1/D$ 可以作为有序的度量。因为 $1/D$ 的对数正好是 D 的负对数,玻尔兹曼的方程式可以表达为负熵 $= k \log(1/D)$ 。所以,负熵就是取负号的熵,它本身是有序的一个量度。

自然界中正在进行着的每一件事,都是意味着它在其中进行的那部分世界的熵的增加。因此,一个生命有机体在不断地增加它的熵,并趋于接近最大值的熵的危险状态,那就是死亡。要摆脱死亡的唯一办法就是从环境里不断地汲取负熵,有机体就是以负熵为生的。因此,生命是以负熵为生。有机体本身吸引了一连串的负熵去抵消它在生命活动中增加的熵,从而使它自身维持在一个稳定的而又很低的熵的水平上,生命因此得以继续。薛定谔指出一个开放系统的熵不一定增加,它可以从外界引入“负熵”;生命正是一个开放系统。

$$S = \Delta S_e + \Delta S_i, \Delta S_i \geq 0$$

算式中, ΔS_e 是外部引入的熵,它可以是负的。 ΔS_i 是内部产生的熵,不能小于零。因此,系统的总熵 S 可正可负,只要 $\Delta S_i \geq 0$ 就不违反热力学第二定律。

(2) 非周期性晶体分子

薛定谔认为,“一个有机体在它自身集中了‘秩序之流’,从而避免了衰退到原子混乱(从合适的环境中‘吸取秩序’)。这种惊人的特点似乎同‘非周期性固体’,即染色体分子的存在有关。”他指出,在非周期性晶体中是靠每个原子和每个自由基在固体里发挥各自的作用。在这种结构里,不必有大量的原子就可产生出几乎是无限可能的排列。

薛定谔据此推导出遗传密码的存在。他说:“一个基因——也许是整个染色体纤丝——是一

种非周期性的固体。”“就基因分子的图式来说,微型密码是丝毫不错地对应于一个高度复杂的特定的发育计划,并且包含了使密码发生作用的手段,这一点已经不再是难以想像的了。”

(3)生物学的量子论

“遗传的机制是同量子论的基础密切相关的,确切地讲,是建立在量子论的基础之上的。”按量子力学来说,一个物体在大范围内连续地改变着它的能量。例如,摆的摆动会由于空气的阻力而逐渐地缓慢下来。但是对于微观系统来说,如在原子这一级上的行为就不同了。它们大多数是不连续地发生变化的,是量子化的,通常称之为量子跃迁。薛定谔对基因的突变进行了量子力学的描述:“我们将假定一个基因的结构是一个巨大的分子,只能发生不连续的变化,这种变化在于原子的重新排列并导致一种同分异构的分子。这种重新排列也许只影响到基因中的一小部分区域,大量的各种不同的重新排列也许是可能的。从任何可能的同分异构体中,把实际的构型分离出来的阈能一定是很高的(这是同一个原子的平均热能相比),致使这种变化成为一种罕有事件。这种罕有事件我们认为就是自发突变。就是说,突变是不出现中间形式的,而是‘跃迁式’的变异。跃迁式,并不是说这个变化是相当大的,而是说这是一种不连续的变化,在未变和少许改变之间没有中间形式。德弗里斯称之为突变。”德弗里斯的突变论,不妨称为生物学的量子论。因此,“突变并不是由连续的小剂量辐射相互增强而产生的一种积累效应。突变一定是由辐射期间发生在一条染色体中的单一事件所产生的”。

薛定谔还估算了一个突变点在遗传物质上的大小。他说:“突变的单一事件正是在生殖细胞的某个‘临界’体积内发生的电离作用(或类似的过程)。这种临界体积有多大呢?它可以根据观察到的突变率,按照这样的考虑来做出估计,即如果每立方厘米产生 50 000 个离子的剂量,使得任何一个配子(它们是在照射的区域里的)以那种特定的方式发生突变的机会只是 1:1 000,那么,我们就可断定那个临界体积,即电离作用要引起突变所必须‘击中’的‘靶’的体积只有 $1/50\,000\text{ cm}^3$ 的 $1/1\,000$,就是说,只有五千万分之一立方厘米。”

薛定谔在《生命是什么》这本小册子中,用当时水平的物理与化学语言,给我们构筑了现代分子生物学的框架。如果把他的“非周期性晶体”换成 DNA,那就是一个现代分子生物学的宣言。

2. 微生物学向遗传学的靠拢

虽然摩尔根的“基因论”在 1926 年已经问世,但 20 世纪 30 年代的微生物学家却往往采用拉马克的遗传观点,这是因为他们对微生物的遗传可塑性往往有极深刻的印象。例如,在含有致死药物的培养基上,可以很容易地培育出对各种致死药物有抗性的微生物品系;把不能利用乳糖的微生物放在以乳糖为主要营养来源的培养基上,可以培育出利用乳糖的新品种。似乎人们所期望的微生物的任何变异,都能通过适当的培养而产生出来,这就容易使人相信培养基中的物质可以引起微生物遗传的定向变异。20 世纪 40 年代抗生素的大规模使用,发生了病原菌的抗药性问题。许多灵丹妙药经过几个月的使用就会失灵,这使医药界大伤脑筋。面对这种局面,微生物学家必须回答这样一个问题:细菌的抗药性是后天获得的定向变异,还是早已发生的变异而被药物所筛选?只有明确了这个问题,医生们才能确定使用抗生素的方案:两种以上的抗生素,是同时使用还是交替使用?

实验表明,病原菌的一种抗药性,在没有该药物存在的情况下随机地发生了。利用影印培养(replica plating),可以在从来没有接触过该种致死药物(如青霉素)的培养基中分离出抗该药的菌落。这说明抗药性的产生并不是由于微生物在某种药物作用下的后天获得性遗传,而是随机

发生的自发突变经过药物的筛选作用,使不具有抗药性的菌体死亡,使具有抗药性的变异菌体大量繁殖起来。拉马克学说在微生物学的最后一道防线崩溃了,人们开始转向摩尔根基因突变理论。

3. 生化遗传学的出现

近代遗传学的基础已稳固建立,人们开始转向研究基因是怎样发生作用的问题。生物化学家很自然地把性状的差别与不同的生化反应联系起来,把支配性状的基因与控制生化反应的酶联系起来。1923 年,英国人加罗德(A. E. Garrod)证明人类的黑尿症是一种隐性遗传病。当这种纯合隐性基因存在时就不能产生尿黑酸酶,使尿黑酸(蛋白质的代谢产物)不能最终分解为二氧化碳和水而积累于血液中。这样,一部分尿黑酸多聚物沉积于软骨及其他结缔组织中,使患者年老时发生黄褐病(Ochronosis),患者双颊、鼻、巩膜及耳廓呈灰黑色或褐色,有时并发退变性关节炎;一部分尿黑酸则随尿排出,暴露在空气中氧化成黑色素,使尿迅速转为黑色。这一症状自婴儿期即出现(常在尿布上见黑色斑点),终身如此,故称黑尿症。这表明基因通过对酶合成的控制而影响遗传性状的发育。

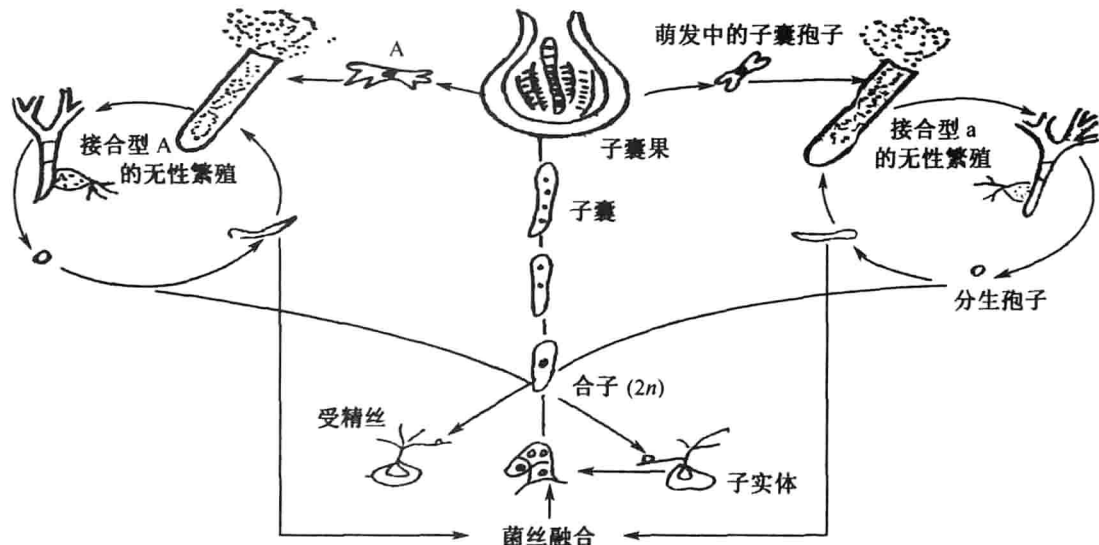


图 1-4 粗糙脉孢霉生活史

但是用高等生物来研究各种突变型的生化细节,是一项繁杂艰难的工作,后来由于采用了粗糙脉孢霉为材料才得以突破。粗糙脉孢霉的菌丝体由许多菌丝细胞组成,每个菌丝中含有多个单倍体细胞核,菌丝体能够通过产生单倍体的分生孢子进行无性繁殖,有性繁殖时则必须在两个不同接合型(mating type)的菌丝体之间才能发生(图 1-4)。一种接合型的分生孢子通过另一相对接合型的受精丝进入子实体中,然后分裂成若干单倍体核并与子实体中的单倍体核融合,形成合子。合子核在狭窄的孢子囊中进行减数分裂,减数分裂后的 4 个细胞再进行一次有丝分裂,最后形成 8 个单倍体的子囊孢子。子囊孢子萌发后,产生新的菌丝体。

粗糙脉孢霉作为研究材料具有以下特点:因为是单倍体,没有显性基因掩盖隐性基因问题;孢子能在简单的化学培养基上生长并产生一系列营养缺陷型突变体;一定的基因型表现为一定的性状,基因型的分离与重组必然表现为性状的分离与重组。在粗糙脉孢霉的减数分裂中,如果四分体的非姊妹染色体不发生交换,则 8 个孢子来自两种基因型(两种亲本型),必然发生 4 : 4 的性状分离。如发生交换,则 8 个孢子来自四种基因型,必然发生 2 : 2 : 2 : 2 的性状重组。如

果某一性状是由单基因所决定的,则在交换后也就不存在性状重组问题,在后代中总是出现1 : 1 的性状分离。用诱变剂处理粗糙脉孢霉能得到各种营养缺陷型的突变体。有一种精氨酸营养缺陷型,必须在培养基中加入精氨酸才能正常生长发育,这种突变型的共同特点是最终不能形成精氨酸。但从具体的生化反应步骤上看,这种突变型又可分为三类。

第一类突变型不能形成精氨酸,可能因为它们不能把瓜氨酸转化为精氨酸;第二类突变型不能形成精氨酸是由于它们不能把鸟氨酸转化为瓜氨酸;第三类突变型缺乏形成精氨酸的能力,是因为它们不能把谷氨酸转化为鸟氨酸。当把第一类突变型与正常亲本杂交后,一个子囊中的 8 个孢子总是表现 4 : 4 的性状分离,其中 4 个孢子能在缺少精氨酸的培养基上生长,另外 4 个则只有在加入精氨酸的培养基上才能生长。这说明第一类突变型是单一基因突变的结果。第二类、第三类突变型也是同样的道理。这意味着一个专一的基因控制一个特异的生化反应,而每一个特异的生化反应都涉及一个特异酶的催化作用。这种基因与酶之间的相关性就产生了“一个基因一个酶”的假说。它表明一个基因控制着一个酶的形成。酶是蛋白质,它第一次暗示在基因的分子结构与其产物(蛋白质)之间存在着对应关系。

4. 从生化遗传学到分子遗传学

基因与酶(蛋白质)的对应性,使人们想到了基因在遗传信息上与其产物相关。以下的三项重要发现更促成了从生化遗传学向分子遗传学的转变。

(1)20 世纪 40 年代解决了遗传的物质基础问题

1928 年,格里菲思(F. Griffith)把活的 R II 型肺炎球菌(无致病力)与灭活的 S III 型肺炎球菌(活时有致病力)分别注射入小白鼠体后,小鼠仍然健康,但是当用 R II 型活菌与灭活的 S III 型死菌共同注入鼠体后,则小白鼠被感染死亡,在死鼠体中发现大量活的 S III 型肺炎球菌。这说明 S III 死菌中的遗传物质使 R II 型转化为 S III 型。1944 年艾弗里(O. T. Avery)进一步证明使 R II 型转化为 S III 型的遗传物质正是 S III 菌体的 DNA。后来赫尔希等(A. Hershey 和 M. Chase)用³⁵S 与³²P 分别标记 T2 噬菌体的蛋白质外壳与核心 DNA。发现在感染过程中蛋白质外壳留在菌体外,只有 DNA 进入菌体。在感染后 25 min 左右菌体被溶解,产生出 100~150 个完整的 T2 噬菌体。这个实验令人信服地证明 DNA 是遗传的物质基础,它含有产生整个 T2 噬菌体的遗传信息。

(2)20 世纪 50 年代确定了分子水平上的遗传机理问题

1953 年沃森(J. Watson) 和克里克(F. Crick)提出的 DNA 分子的双螺旋模型(图 1-5),其主要内容是:双螺旋的两条链以氢键相连,碱基的配对原则是 A 与 T,C 与 G,这个模型合理地解释了 DNA 复制和转录过程,解决了 DNA 的自我复制问题,巩固了 DNA 作为遗传物质的地位。

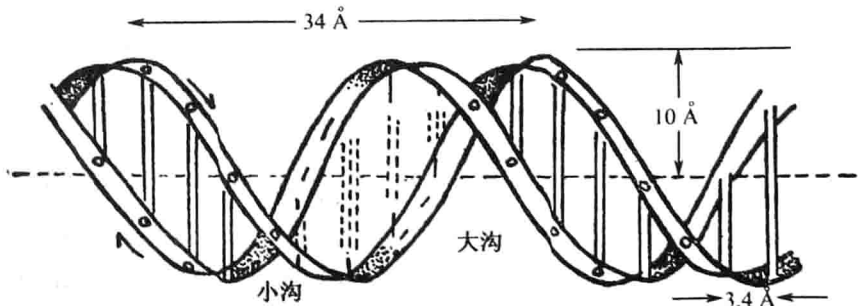


图 1-5 Watson-Crick DNA 双螺旋模式

(3) 20 世纪 60 年代解决了遗传密码问题

1955 年桑格(F. Sanger)测定了牛胰胰岛素中氨基酸残基的准确顺序;1958 年克里克提出中心法则(centre dogma)。这些工作鼓舞着人们把核酸与蛋白质的线性结构联系起来,终于使“遗传密码字典”在 1967 年问世。至此,分子遗传学有了稳固的基础。

1.2 基因及其发展

1.2.1 顺反子

早期的基因概念,如 Mendel 的遗传因子,即生物的一个性状的表现与传递是由颗粒性“遗传因子”(inherited factor)决定的。后来人们采用 Johannsen 提出的“基因”一词代替了 Mendel 的“遗传因子”,但是当时对遗传因子或基因的认识还只是一种逻辑推理的产物,作为一种遗传性状的符号,没有任何物质的内涵。Sutton 和 Boveri 的遗传的染色体学说,不仅提出了染色体可能是基因的载体,而且促进了染色体理论向基因论的过渡。Morgan 的“基因论”进一步论证了基因是“似念珠一样串在一起的线状物”(bead-on-a-string),是在染色体上占有一定空间的化学实体,从而赋予基因以物质的内涵。Morgan 还提出基因是一个功能单位、一个突变单位和一个交换单位的“三位一体”概念。尽管这个概念不准确,但 Morgan 的基因论对基因的研究具有十分重要的意义。

Garrod 的“一个突变基因决定一种代谢障碍”的观点表明了基因的功能,Beadle 和 Tatum 提出的“一个基因一个酶”的理论,表明基因是通过酶来控制遗传性状的。后来知道有些酶由几个多肽组成,而有些基因的产物是多肽而不是酶,加之有些多肽,如肽激素和核糖体蛋白质等等不具有酶的催化活性,因而改为“一个基因一种多肽”学说。Griffith 和 Avery 等的研究又证实了遗传物质是 DNA, RNA 病毒的遗传物质则是 RNA。而且遗传物质可在不同物种之间转移和表达相应特定功能。这些研究结果都表明,基因是一个功能单位,但基因不是突变的最小单位,也不是重组的最小单位。这种“三位一体”的概念不断受到新发现的挑战。

1957 年 Benzer 以 T4 噬菌体为材料,在分子水平上研究基因内部的精细结构。T4 噬菌体有多个快速裂解大肠杆菌的突变型,分别称 $r\text{I}$ 、 $r\text{II}$ 、 $r\text{III}$ 等,它们位于 T4 DNA 的不同区段,裂解时所需要的酶是在 T4 DNA 的 r 区控制下合成的,分析最详细的是 $r\text{II}$ 区,这个区域有 3 000 多个突变型。Benzer 在 $r\text{II}$ 的这些不同突变型之间进行的重组测验(recombination test)和互补测验(complementation test)结果的基础上提出了顺反子(cistron)、突变子(muton)和重组子(recon)的概念。

顺反子是一个遗传功能单位,Benzer 在互补测验中所用的两个突变型,如分别位于两条染色体上,则这种组合称为反式杂合子(trans heterogenote);如两个突变同时位于一条染色体上,则称为顺式杂合子(cis heterogenote)。在互补测验中,两个隐性突变如表现互补效应,则证明这两个突变型分别属于不同基因;如不能表现出互补效应,则证明这两个突变型是在同一基因内。对于不同基因间的突变型,在互补测验中不论是顺式还是反式杂合子均表现出互补效应;但如果