

生物科学
生物技术
系 列

MOLECULAR BIOLOGY

普通高等教育“十二五”规划教材

精品课程教材

分子生物学

郜金荣 主编



化学工业出版社

普通高等教育“十二五”规划教材
精品课程教材

分子生物学

郜金荣 主编



化学工业出版社

· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

分子生物学/郜金荣主编. —北京: 化学工业出版社, 2010.12
普通高等教育“十二五”规划教材 精品课程教材.
生物科学生物技术系列
ISBN 978-7-122-10062-7

I. 分… II. 郜… III. 分子生物学-高等学校-教材 IV. Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 237879 号

责任编辑: 刘 畅 赵玉清 洪 强
责任校对: 宋 玮

文字编辑: 张春娥
装帧设计: 尹琳琳

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)
印 装: 大厂聚鑫印刷有限责任公司
787mm×1092mm 1/16 印张 18¼ 彩插 2 字数 485 千字 2011 年 2 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899
网 址: <http://www.cip.com.cn>
凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 36.00 元

版权所有 违者必究

前 言

时代发展至今，人类基因组计划早已完成，并已进入后基因组时代。同样，在蛋白质结构的认识上也有了相当大的飞跃。就在最近几年，分子生物学所涉及的参与生命的基本过程，例如，DNA 转录、复制、蛋白质合成等的一些大分子均在原子水平得到了阐明，并且这些过程的详细机制也得到了揭示。

目前，国内外有关分子生物学的书籍虽然较多，但很少有偏重于应用型人才培养需要的教材。随着我国高等教育的蓬勃发展，含有生物技术、生物工程专业的各类大学应运而生，迫切需要一部合适的分子生物学教材。经化学工业出版社及全国十几所大学的领导和任课教师的多次商讨和共同努力，决定编写一部新的分子生物学教材。

我们认为，该教材在保持分子生物学学科的知识体系和内容框架的基础上，应适当增加实验研究示例及分子生物学在国民经济中的应用实例，除了反映分子生物学领域的最新进展之外，还要涉及其他诸多方面的内容。但此书绝不能被编撰成一本百科全书，也不必过多深入介绍相关学科，如细胞生物学，而应该把重点放在原理及概念上。因此，我们的讨论采用了图解的方法，主要用方框来介绍背景资料、慎重选用实验或研究进展，以避免此书变得过于庞杂。

本书的基本框架及部分内容采用了武汉大学叶林柏、郜金荣编写的《基础分子生物学》。我们还要感谢过去几年中为该书做出贡献的其他参编人员，他们的影响体现在第十章及其他一些章节的内容中。本书主编郜金荣除了编写第一、二、六章外，还负责所有稿件的核对、修改和统稿工作，副主编刘友勋除了编写第七章等内容外，还负责所有的联络、集稿、统稿及大量的文字工作。刘艳参与了第一章的编写，韩涛参与了第二章、第六章的部分编写工作，徐庆华、李世杰、巩校东编写了第三章，李晓玲编写了第四章，王宝琴编写了第五章以及第十章中的部分内容，代建丽编写了第八章，雷湘编写了第九章，陈国华、黄娟、刘友勋、廖庆姣编写了第十章部分内容，梁红、梁雪莲编写了第十一章。

我们要特别感谢赵红梅、余应龙对书中所有的结构插图进行了组织、修改和整理。张国彬、杨艺华、周毓、梁秋菊对稿件进行了校对。

我们还对化学工业出版社参与本书编写的组织、协调工作致谢。

最后，我们想对我们的家人和朋友致以衷心的感谢，在整个过程中，他们都给予了深深的理解和毫无保留的支持。

编者

2010 年 11 月

目 录

第一章 绪论	1	展望	6
第一节 历史回顾	1	一、分子生物学的定义	6
一、孟德尔遗传定律	1	二、分子生物学的发展简述	6
二、遗传的染色体理论	2	三、分子生物学的主要内容	8
第二节 分子生物学的遗传学背景	3	四、展望	9
一、DNA 的发现	3	本章小结	9
二、基因的组成	5	思考及练习题	9
三、基因与蛋白质之间的关系	5	启迪、思考、探索、进展	9
第三节 分子生物学的诞生、发展及			
第二章 生物大分子的基本结构和性质	11		
第一节 生物大分子概述	11	三、病毒 RNA	23
一、生物大分子的化学结构	11	四、RNA 的结构	24
二、决定蛋白质和核酸三维结构的非		五、核酸的结构分析	24
共价相互作用	12	第四节 蛋白质	27
三、研究生物大分子的基本方法	13	一、蛋白质的结合位点和多亚基蛋	
四、生物大分子的分子量测定	14	白质	27
第二节 DNA 的结构和性质	14	二、蛋白质活性的调节	29
一、DNA 的基本结构	14	三、蛋白质重要的结构域	33
二、DNA 的基本性质	19	四、生物大分子相互作用和复杂聚	
第三节 RNA	22	集物的结构	35
一、成熟 RNA	22	本章小结	40
二、前体 RNA	23	思考及练习题	41
第三章 遗传物质的维持及维护	42		
第一节 复制	42	二、倾向差错的 DNA 损伤修复和	
一、概述	42	基因突变	65
二、DNA 复制的相关蛋白质	48	三、基因突变	67
三、原核生物 DNA 复制的过程	53	第三节 遗传重组	70
四、真核生物 DNA 复制的过程	55	一、同源重组的机制及重组模型	71
五、DNA 复制的调控	56	二、转化中的重组	74
六、逆转录	58	三、同源双链 DNA 分子之间的	
七、可转移的遗传因子(质粒、		交换	76
转座因子)的复制	58	四、同源重组的酶和蛋白质	79
第二节 DNA 损伤修复和基因突变	61	本章小结	82
一、避免差错的 DNA 损伤修复和		思考及练习题	82
基因突变	62		

第四章 遗传信息的传递过程 (1)——转录	83
第一节 RNA 的酶促合成	84
一、RNA 合成的基本特征	84
二、大肠杆菌 RNA 聚合酶	84
三、RNA 聚合酶在 DNA 上的识别与结合位点	85
四、转录的起始	87
五、RNA 链的延伸	88
六、RNA 链的终止和新合成 RNA 的释放	89
第二节 RNA 分子的种类及转录后加工	91
一、mRNA	91
二、tRNA 和 rRNA	91
第三节 真核生物的转录和 RNA 加工	93
一、真核生物 RNA 聚合酶	93
二、真核生物的转录	94
三、真核生物 mRNA 的加工	104
四、选择性剪接	115
五、顺式剪接与反式剪接	115
六、RNA 编辑	117
本章小结	118
启迪、思考、探索、进展	119
思考及练习题	121
第五章 遗传信息的传递过程 (2)——翻译	122
第一节 遗传密码的破译	122
一、Crick 的探索	122
二、Nirenberg 的实验	123
三、Khorana 的实验	124
第二节 遗传密码的主要特征	126
一、密码的连续性	126
二、密码的简并性	126
三、密码的摆动性	127
四、密码的通用性和特殊性	127
第三节 蛋白质的翻译	127
一、与蛋白质生物合成有关的生物大分子	128
二、蛋白质生物合成的机制	134
三、蛋白质的翻译后加工、修饰及定位	138
本章小结	140
启迪、思考、探索、进展	142
思考及练习题	143
第六章 原核基因表达调控	144
第一节 乳糖系统和操纵子模型	145
一、酶的诱导	145
二、结构基因和调节基因的突变	147
三、调节基因	147
四、Jacob-Monod 的负控制模型	148
五、正控制系统	149
第二节 半乳糖操纵子	150
一、cAMP-CAP 对两个半乳糖启动子的不同作用	151
二、双启动子的生理功能	152
三、双操纵区	152
第三节 色氨酸操纵子	153
一、色氨酸操纵子的阻遏-操纵系统	153
二、弱化子和前导区	153
三、mRNA 的前导区全序列分析	154
四、弱化的机制	155
第四节 λ 噬菌体基因表达的调节	155
一、 λ 噬菌体简介	156
二、 λ 噬菌体基因组	156
三、 λ 噬菌体感染宿主后的转录次序	157
四、 λ 噬菌体的调控区	158
五、 λ 噬菌体的操纵区和启动子结构	158
六、CI 蛋白和 Cro 蛋白	158
第五节 DNA 重排对基因表达的调节	161
第六节 σ 因子对基因表达的调控	162
第七节 转录后的调控	162
一、翻译水平上的调控	163
二、翻译后调控	165
本章小结	166
思考及练习题	167

第七章 真核基因组及其基因表达调控	169
第一节 真核生物基因组	170
一、重复序列	171
二、多基因家族与假基因	174
三、逆转录病毒和癌基因	174
四、真核细胞中的转座因子	175
五、真核细胞中的线粒体基因组和 叶绿体基因组	177
第二节 真核基因	177
一、rRNA 基因	178
二、tRNA 基因	178
三、编码蛋白质的基因	178
第三节 真核基因表达的调控	179
一、真核基因表达调控的特点	179
二、真核生物基因表达调控的 种类	179
三、DNA 和染色体水平上的调控	180
四、真核基因转录水平上的调控	184
五、真核基因一般转录调控模型	187
六、真核基因转录后的控制	188
七、真核基因翻译水平的调控	190
八、真核基因翻译后水平的调控	191
九、真核基因表达中小分子 RNA 的 调控	193
本章小结	194
启迪、思考、探索、进展	195
思考及练习题	196
第八章 细胞信号调控	197
第一节 细胞信号的一般概念	197
一、信号分子和信号受体	198
二、三类已知的细胞表面受体	198
三、细胞对信号的反应过程	199
第二节 通过 G 蛋白偶联受体进行的 信号调控	199
一、G 蛋白偶联受体的结构——七次 跨膜	199
二、三聚体 G 蛋白	199
三、G 蛋白偶联受体作用的两条主要 途径	200
第三节 通过酶联细胞表面受体进行的 信号调控	202
一、受体酪氨酸激酶是大多数生长因 子的受体	203
二、形成二聚体是酶关联受体被信号 激活的普遍机制	203
三、受体酪氨酸激酶上的磷酸化的酪 氨酸残基被具有 SH2 结构的蛋 白质识别和结合	203
四、受体酪氨酸激酶介导的 RTK- Ras 信号通路	204
第四节 通过细胞内受体进行的信号 调控	205
一、维生素 D 和甾类激素等直接和 基因转录的调控蛋白结合	205
二、NO 和 CO 能直接与细胞内的酶 结合	205
第五节 细胞对信号的反应	206
一、细胞信号逻辑：信号网络	206
二、细胞对信号的适应性	206
本章小结	207
启迪、思考、探索、进展	207
思考及练习题	207
第九章 癌分子生物学	209
第一节 癌发生的分子基础	209
第二节 癌的发生和发展	209
一、肿瘤启动因子和促进因子	210
二、肿瘤发生的阶段	210
第三节 癌基因	210
一、癌基因的分类	211
二、病毒癌基因	211
三、细胞癌基因	212
第四节 细胞癌基因的激活	213
一、点突变和基因扩增	213
二、染色体易位或基因重排	214
三、病毒基因启动子或增强子的插入 和转位	214
第五节 抑癌基因	215
一、抑癌基因的确定	216
二、抑癌基因的种类	216
本章小结	217
启迪、思考、探索、进展	217

思考及练习题	218
第十章 分子生物学的研究方法	219
第一节 生物大分子的分离	219
一、凝胶电泳	219
二、双向凝胶电泳	220
三、离子交换色谱	221
四、凝胶过滤色谱	221
第二节 标记示踪剂	222
一、放射自显影	222
二、磷光成像	223
三、液体闪烁计数	223
四、非放射性示踪	224
第三节 核酸杂交	224
一、DNA 印迹杂交	224
二、DNA 指纹和 DNA 分型	225
三、RNA 印迹杂交	225
四、原位杂交	226
五、定点突变	226
第四节 转录子的作图和定量分析	227
一、S1 作图	227
二、引物延伸	228
三、Run-off 转录和 G-less cassette 转录	229
第五节 体内测定转录速率	230
一、细胞核持续转录技术	230
二、报告基因转录	231
第六节 DNA 与蛋白质的相互作用	232
一、滤膜结合法	232
二、凝胶迁移率变化实验	232
三、酵母双杂交系统	233
四、DNase I 足迹试验与硫酸二甲酯 足迹试验	233
五、免疫共沉淀	235
第七节 基因敲除技术	235
第八节 基因工程	237
一、载体和工具酶	238
二、目的基因的制备	245
三、目的基因与载体的体外重组	247
四、重组 DNA 导入细胞技术	248
五、重组子的筛选与鉴定	249
六、克隆基因的表达	251
七、基因工程应用	252
本章小结	257
思考及练习题	257
第十一章 基因组学	259
第一节 基因组的测序	259
一、人类基因组计划	259
二、运用在大规模基因组计划的克隆 载体	262
三、克隆-克隆战略	265
四、鸟枪法测序	267
第二节 基因组学的应用	268
一、功能基因组学研究技术	268
二、功能基因组学的应用	269
三、生物信息学	272
四、蛋白质组学	275
本章小结	276
思考及练习题	277
索引	278
参考文献	282

第一章 绪 论

第一节 历史回顾

现代遗传学之父，奥地利生物学家格雷戈尔·孟德尔（Gregor Mendel, 1822—1884）发现了遗传定律，他通过繁育豌豆，画出结果图，得出了卓越的结论。孟德尔发现，在预先可知规律下控制的组合，亲代可将其独特的特性传给子代。

20 世纪初，科学家推断必然是某些实际的物质携带这种遗传特性，创立了基因（gene）这个词，以后又证明了基因的化学本质是脱氧核糖核酸（DNA）分子。1953 年，发现了 DNA 的双螺旋结构。



格雷戈尔·孟德尔
(Gregor Mendel)

一、孟德尔遗传定律

孟德尔对“种瓜得瓜，种豆得豆”的生物遗传现象感到好奇和困惑，他挑选了 20 多种大小不同，形状、颜色各异的食用豌豆，反复进行杂交、自交等试验，并作了详细的记载。他集中研究明确界定的特征间的差异，几年间选择了 7 对差异明显的简单性状，通过对豌豆的生长进行仔细观察，总结得出了独立分配和自由组合两大定律。

1. 分离定律

孟德尔用红花豌豆的植株同白花豌豆的植株杂交，得到的杂种第一代（F₁）全是表型为红花的个体，再将子一代个体自交，得到的杂种第二代（F₂）中，红花后代为 705 株，白花后代为 224 株，红花和白花的比例为 705 : 224 ≈ 3 : 1。在 F₁ 代中表现的性状称为**显性**（dominant），而在 F₁ 中不表现的性状称为**隐性**（recessive）。

红花豌豆与白花豌豆杂交所产生的 F₁ 植株，全开红花。在 F₂ 群体中出现了开红花和开白花两类，比例为 3 : 1。孟德尔曾将父本母本反过来做杂交，结果完全一致，这说明 F₁ 和 F₂ 的性状表现不受亲本组合方式的影响，父本性状和母本性状在其后代中还将是分离的。

根据豌豆一对相对性状杂交试验的结果（表 1-1），孟德尔提出了以下假设：

表 1-1 孟德尔的豌豆杂交试验

亲本(P)	红花(母本)	×	白花(父本)
杂种一代(F ₁)		↓ 红花 ↓	
杂种二代(F ₂)	红花		白花
株数	705		224
比例	3. 15		1

① 遗传性状是由遗传因子所控制，遗传因子在体细胞中成对存在，每对遗传因子中，一个来自母方，一个来自父方。一个单位性状由一对遗传因子控制。

② 遗传因子间存在显隐关系。

③ 形成配子时，两个遗传因子彼此分开，分别随机进入到不同配子中，配子只含有成对遗传因子中的一个。这就是遗传学三大基本规律之一的**分离定律**（law of segregation）。

分离规律的实质是：在配子形成时，成对的基因彼此分离，互不干扰。这一规律从理论上说明了生物界由于杂交和分离所出现变异的普遍性。

2. 独立分配规律

孟德尔还进行了具有 2 个相对性状的豌豆品系之间的双因子杂交试验。他发现，当选用产生黄色圆形种子的豌豆品系同产生绿色皱皮种子的豌豆品系进行杂交时，所产生的 F_1 代种子全是黄色圆形的。但在自交产生的 F_2 代 556 粒种子中，不但出现了 2 种亲本类型，而且还出现了 2 种新的重组类型，其中黄色圆形 315 粒，黄色皱皮 121 粒，绿色圆形 108 粒，绿色皱皮 32 粒，这四种类型的比例接近于 $9:3:3:1$ 。

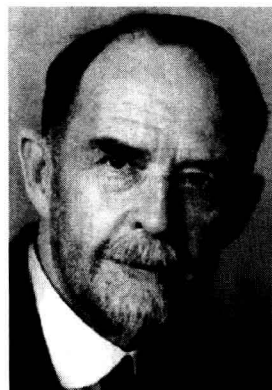
通过分析豌豆两对相对性状杂交试验的结果，孟德尔提出了遗传学第二个基本规律——**独立分配规律**（principle of independent assortment），也称作**自由组合规律**。

独立分配规律的实质是：在减数分裂形成配子时，位于不同对染色体上的、控制不同相对性状的等位基因随着同源染色体的分离和非同源染色体的自由组合，在等位基因分离的基础上，非等位基因随机组合在一起进入不同配子中。同源染色体上的等位基因发生分离，非同源染色体上的非等位基因自由组合。但是孟德尔当时并不知道独立分配规律的实质。

令人遗憾的是，由于孟德尔的研究方法和结论都远远超过了科学界当时的认识水平，因此，他的这些天才的科学发现和见解，并没有立即引起生物学界的注意。从 1865 年他发表《植物杂交试验》一文到 1884 年逝世，欧美各国科学界几乎无人理睬他的巨大贡献。直到 1900 年，他的理论才被重新发现并得到普遍应用，孟德尔也逐渐被公认为经典遗传学的奠基人。

二、遗传的染色体理论

在孟德尔遗传学的基础上，美国著名的遗传学家摩尔根（Morgan）又提出了基因学说。1910 年，Morgan 和他的助手们发现了第一只白眼雄果蝇。因为在正常情况下，果蝇都是红眼的，称为野生型，所以，他们将白眼果蝇称为突变型。到 1915 年，他们一共找到 85 种果蝇的突变型。这些突变型果蝇与野生型相比，在翅长、体色、刚毛形状、复眼数目等性状上都有差别。有了这些突变型，就能更广泛地进行杂交试验，从而更加深入地进行遗传机理探讨。Morgan 将白眼雄果蝇与红眼雌果蝇交配，所产生的 F_1 代不论雌雄，全为红眼果蝇。让这些 F_1 代果蝇互相交配所产生的 F_2 代有红眼也有白眼，但有趣的是所有的白眼果蝇都是雄性的，说明白眼性状与性别有联系，这一点与孟德尔的遗传性状独立分离规律是背道而驰的（现在我们已经知道，当所研究的两个基因位于同一染色体上而又距离较近时，Morgan 的连锁遗传规律起主导作用；而当所研究的两个基因位于不同染色体上时，孟德尔的独立分离规律起主导作用）。



摩尔根（Morgan）

为了解释这些现象，有必要对果蝇的染色体做一简单介绍。果蝇只有 4 对染色体。在雌果蝇中，有 1 对很小呈颗粒状的染色体，2 对呈“V”形的染色体，另有 1 对呈棒状、称为 XX 的染色体。在雄果蝇体内，前 3 对染色体同雌果蝇完全相同，但缺少棒状的 XX 染色体，而由一条棒状的 X 染色体和一条呈“J”形的 Y 染色体所取代，人们称这一对染色体为 XY 染色体。Morgan 当时就知道性染色体的存在，因此他推想，白眼这一隐性基因（ w ）是位

于 X 染色体上,而在 Y 染色体上没有它的等位基因。他让 F_1 红眼雌果蝇 (Ww) 与白眼雄果蝇亲本 (wY) 回交,结果产生的后代果蝇中有 $1/4$ 是红眼雌果蝇、 $1/4$ 是白眼雄果蝇。这个实验证明,白眼隐性突变基因 (w) 确实位于 X 染色体上。这一现象被称为遗传性状的连锁定律,又称连锁遗传。

Morgan 和他的助手们第一次将代表某一特定性状的基因同某一特定的染色体联系起来,使科学界普遍认识了染色体的重要性并接受了孟德尔的遗传学原理。Morgan 特别指出:种质必须由某些独立的要素组成,我们把这些要素称为遗传因子,或者更简单地称为基因。

第二节 分子生物学的遗传学背景

一、DNA 的发现

尽管由于 Morgan 及其学派的出色工作,基因学说得到了普遍承认,但是,直到 1953 年 Watson 和 Crick 提出 DNA 双螺旋模型之前,人们对于基因的理解仍然是抽象的、概念化的,缺乏准确的物质内容。那时的遗传学家,不但没有探明基因的结构特征,而且也不能解释位于细胞核中的染色体和基因是怎样控制发生在细胞质中的各种生化过程,不能解释基因是怎样在细胞繁殖过程中准确地复制和遗传的。

认为 DNA 是遗传物质的思想是从 1928 年 F. Griffith 的观察开始的。他研究细菌和人类肺炎的关系。所用的细菌是肺炎双球菌,这种细菌的毒力依赖于它们有无荚膜。有荚膜的细菌能抵抗机体对它们的破坏,这种肺炎双球菌在琼脂平板上长成的菌落是光滑型 (smooth edged, S 型),用光滑型菌株感染小鼠使小鼠致死。后来 Griffith 分离到了一种形成粗糙型菌落的肺炎双球菌 (rough edged, R 型) 突变株, R 型菌株不能使小鼠致死。接着他做了一个很重要的观察,他把加热杀死的 S 型菌注射小鼠,小鼠存活了下来;但把加热杀死的 S 型菌和活的 R 型菌混合注射小鼠,出乎意外地小鼠死亡 (图 1-1)。从死亡小鼠血液中竟分离到了活的 S 型菌,看来在加热杀死的 S 型菌中存在一种使活的 R 型菌转变成 S 型菌的因子。他们把这种现象称为**转化** (transformation)。Griffith 下结论说是热杀死的 S 型菌的存在导致那些活的 R 型菌恢复了合成荚膜的能力。三年后这一观点得到了验证,因为只要把 S 型菌加热杀死后加入到体外培养的 R 型菌培养物中,也可使 R 型转化为 S 型。两年后又证明仅把 S 型菌的细胞提取液加到生长着的 R 型菌培养物中也发生 $R \rightarrow S$ 的转化。

为了弄清楚这种转化因子的化学本质, Avery、Macleod 和 McCarty 着手于 S 型细菌细胞提取液的分离工作。他们发现用一系列的化学和酶学方法把提取液中的蛋白质、类脂、多糖、核糖核酸 (RNA) 去掉,并不影响 $R \rightarrow S$ 型的转化。最后他们对提取液进一步纯化,只要把纯化的 S 型菌 DNA 6×10^{-9} 的剂量加到 R 型菌细胞培养物中就足以导致 $R \rightarrow S$ 的转化,因此他们下结论认为这种转化因子就是 DNA。

Avery 还发现:①从转化了的细菌中可以提取到比原来多许多倍的转化因子,说明转化因子具有自我复制能力。②能指导细菌合成多糖。这也正是基因所具备的特点。因此, Avery 的转化实验实际上证明了 DNA 是遗传物质。

关于 DNA 遗传学特性的最有力证据来源于大肠杆菌噬菌体 T2 的实验。美国科学家 Hershey 和 Chase 证实噬菌体粒子注入到细菌中的 DNA 含有全部合成子代噬菌体所需要的遗传信息。

用 ^{32}P 、 ^{35}S 标记的噬菌体的核酸和蛋白质外壳分别去感染细菌就可以根据其放射活性将噬菌体的 DNA 和蛋白质在被感染的细胞上定位。Hershey 和 Chase 证明了这些噬菌体注入细菌细胞内的是 ^{32}P 标记物而不是 ^{35}S 标记物 (图 1-2)。

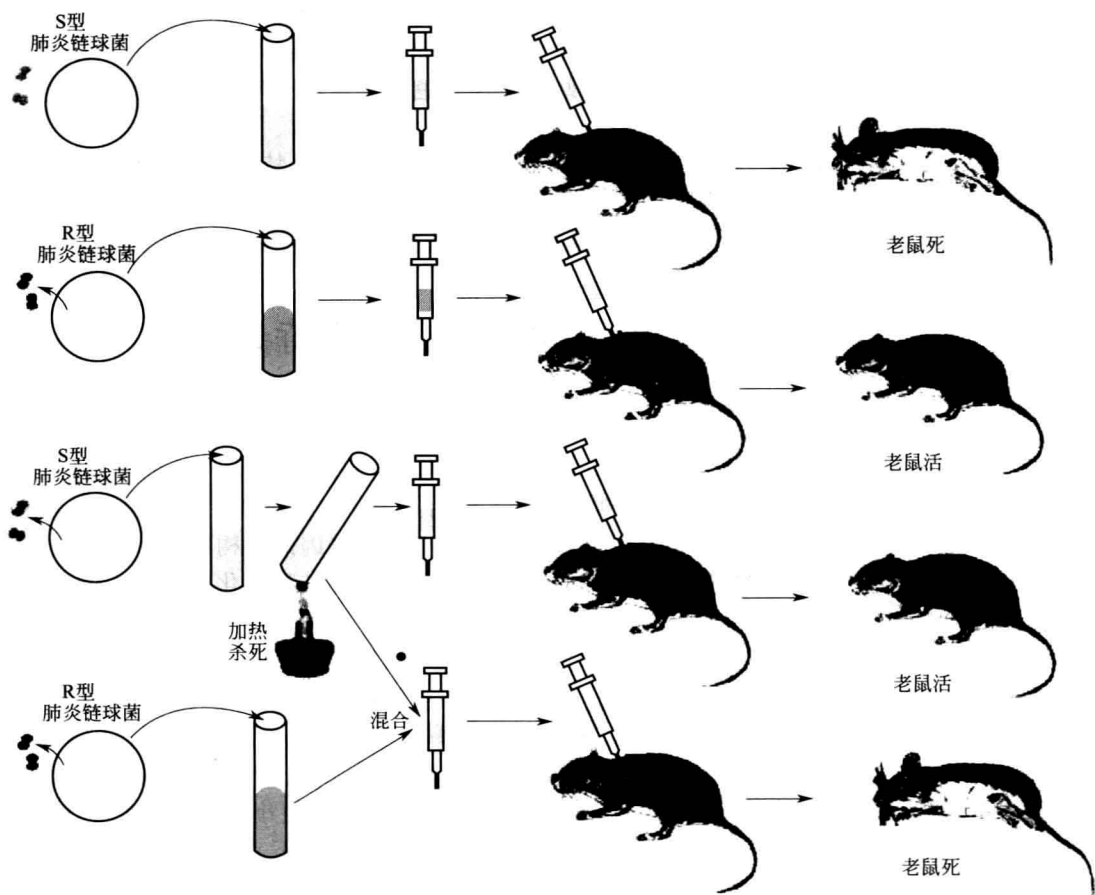


图 1-1 肺炎双球菌转化实验

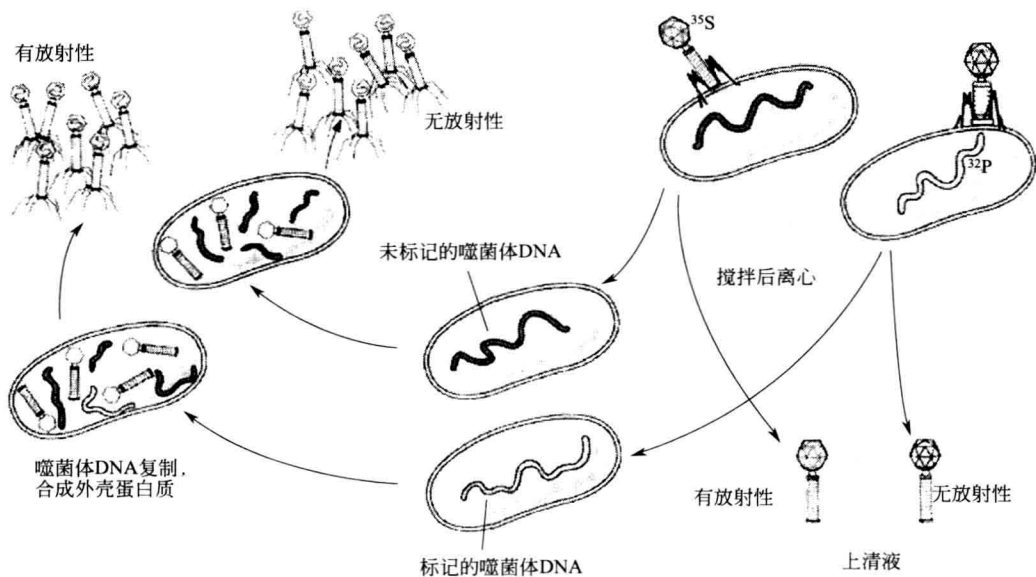


图 1-2 同位素标记噬菌体侵染细菌的实验证实 DNA 是遗传物质

二、基因的组成

基因是指表达一种蛋白质或功能 RNA 的遗传物质的基本单位，基因是遗传物质的最小功能单位。一个基因相当于 DNA 分子上的特定区段，含有特定的遗传信息。这类信息或者被转录为 RNA 或者被翻译成多肽链或者对其他基因的活动起调控作用。

基因根据执行功能和性质可分为：rRNA 基因 (ribosomal RNA gene)，tRNA 基因 (transfer RNA gene)，**结构基因** (structural gene)，**调节基因** (regulatory gene)，**操纵基因** (operator gene)，启动基因 (promoter gene) 等。

1. 原核生物的基因

1910 年，摩尔根通过用果蝇作为材料对生物的遗传规律进行研究，提出遗传因子定位于染色体上，之后，又发现了多个伴性基因，并发现了基因的连锁和交换规律。

1941 年，Beadle 和 Tatum 根据研究粗糙链孢霉的试验结果，提出了“一个基因一个酶”的假说。从此，人们对基因的认识初步有了以下的轮廓：基因是遗传的基本单位；基因是遗传突变的基本单位；基因是功能单位；基因位于染色体上，染色体在细胞分裂过程中所表现出的行为有利于等位基因的分离及非等位基因之间的重新组合。

1957 年，Benzer 通过对 T4 噬菌体 *rII* 基因的突变进行分析发现，重组或交换可以发生在基因内。他发现同一基因内部的不同突变位点之间可发生重新组合，进一步证实了基因还可以细分出更小结构单位的现象。基因含有线性分布的亚单位，亚单位之间可发生改变，由此提出了顺反子的概念。

1960 年，Jacob 和 Monod 等人通过大肠杆菌对乳糖的利用实验提出了原核生物基因的操纵子学说，建立了原核生物基因的操纵子模型，进一步证实了原核生物基因是以有组织的 DNA 片段存在。

2. 近代基因概念的转变

真核生物的基因结构和功能远比原核生物基因的结构和功能复杂。真核生物细胞内的 DNA 需要和组蛋白形成核小体完成 DNA 的初级包装，再经过包装形成染色质纤维形式或更为致密的染色体形式。这些染色质可以进一步允许在 DNA 序列和（或）组蛋白 N 端尾部结构域上发生诸多形式的共价修饰，包括甲基化/去甲基化、乙酰基化和去乙酰基化等在内的一系列共价修饰，或者以较为松散的常染色质形式用于基因转录，或者再经过上述共价修饰后，进一步和其他非组蛋白及 RNA 分子（在染色质水平上的 RNA 干扰）等结合形成更为致密的异染色质；与此同时，位于真核生物基因 DNA 序列 5' 端的 CpG 二核苷酸，以及可以长达 1kb 的 CpG 二核苷酸所形成的“CpG 岛” (CpG island) 之中的胞嘧啶甲基化和去甲基化修饰等也会对基因的功能实体具有重要贡献。因此，对于真核生物的功能基因而言，单纯 DNA 序列并不能充分满足基因的功能实体的需要。但是在原核生物细胞中，由于这些细胞不具典型的细胞核结构，遗传物质在很大程度上呈裸露状态，在这种情况下，参与基因转录的**反式作用因子** (trans-acting element) 可以更容易地和特定的 DNA 结合。简而言之，在自然界中，尽管不同的生物都可能在共享由 DNA 所组成的遗传物质载体的基因库，但是涉及原核生物和真核生物的基因实体和功能实体而言，可能两者的差别会非常显著。

基因表达的操纵子模式可能更适合原核生物的基因结构及其功能控制，真核细胞中的基因表达更适合于用**基因表达模式** (gene expression pattern) 来描述。真核生物基因组上的几个单独的基因区或一簇相关基因通常被组织成一个个的“域” (domain)，每个域内的基因或基因簇体现不同的表达模式。真核生物的基因表达模式是指真核生物基因是由一个由 RNA 干扰、组蛋白结构修饰和 DNA 甲基化系统组成的一个表观遗传修饰网络。

三、基因与蛋白质之间的关系

检查某个基因的改变会影响细胞中的哪一个蛋白质，是发现基因和蛋白质相互关系的最

有成效的早期努力。最初这些研究相当困难，但不久人们就意识到研究简单的具有代谢功能的基因应该比研究影响整体结构的基因更容易，一个早期有效的例子来自影响某种氨基酸代谢的一种遗传病的研究。在人类中，会发生影响苯丙氨酸代谢能力的自发突变，当一个带有纯合的突变性状的个体食用了含苯丙氨酸的食物时，由于他不能将苯丙氨酸转化为酪氨酸，就会造成苯基喹啉酸在血液中增加至毒性水平，这些疾病称为“先天代谢错误”。早在 1909 年，英国物理学家 Garrod 就认为其（“先天代谢错误”）野生型基因是负责某种特定酶的表达，在纯合的突变体中，这种酶将先天缺乏。

Garrod 提出的关于基因与蛋白质相互关系的一般假说在 1930 年通过下列工作而得到进一步拓展：Haldane 和 Rose、Scott-Moncrieff、Wright、Kuhn 以及 Ephrussi 和 George Beadle 等人关于花、豚鼠的毛发、昆虫眼睛色素工作，实验证据都表明特定的基因影响色素形成的特定的步骤，基因的缺失就会造成颜色的改变。

早在 1936 年，孟德尔学派的遗传学家就清楚地意识到，如何用简单的霉菌、细菌和病毒进行遗传实验，是获得关于基因是如何发挥作用的信息的有效方法。

多少年来，基因的结构及其控制细胞特征的化学途径是神秘的。随着大量的自发突变体的研究，人们越来越清楚，一个基因控制一个性状的关系是不存在的，所有复杂性状都受控于许多基因。最合理的观点是由 Garrod 在 1909 年提出的“基因控制酶的合成”。

第三节 分子生物学的诞生、发展及展望

一、分子生物学的定义

分子生物学是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。分子生物学是以从分子水平研究生命本质为目的的一门新兴边缘学科，它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与其他学科广泛交叉与渗透的重要前沿领域。

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、细胞间通讯过程中发挥着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以及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、综合融汇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、分子生物学的发展简述

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，证实可使部分子代恢复成野生型，但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 在著名的搅拌试验中分别用³²P 和³⁵S 标记 T2 噬菌体的核酸和蛋白质，证明在感染细胞时 T2 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題立即就被提了出来，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 DNA→RNA→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，因而其于 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。

1961 年，美国科学家 Watson 和英国科学家 Crick 由于 1953 年提出 DNA 双螺旋模型而与 Wilkins 共享诺贝尔奖。

1965 年，Jacob 和 Monod 经 10 余年研究后于 1965 年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，同时还预言了 mRNA 的存在。他们获得诺贝尔奖。

1966 年，M. W. Nirenberg 和 H. G. Khorana 完成全部遗传密码的破译。

1968 年，M. Gellert 等的 5 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。

1972 年，P. Berg 等三人建立 DNA 重组技术，建立了第一个体外 DNA 重组分子（ λ dvgal DNA 片段克隆到 SV40），并建立了含有哺乳动物激素基因的工程菌株，促进了 DNA 克隆技术的发展和应。用。

1977 年，P. Sharp 和 P. Leder 分别从腺病毒 II 型和鸡卵白蛋白基因中发现真核基因内部含有内含子。

1977 年，Gilbert 和 F. Sanger 分别发明了不同的 DNA 测序技术，前者发明了化学断裂法，后者发明了加碱法和聚合酶链式反应终止技术（即双脱氧终止技术），帮助人们研究基因的精细结构和排列乃至对人类基因组的研究。Sanger 因此第二次获诺贝尔奖（第一次因首次测定蛋白质——牛胰岛素的氨基酸顺序）。

1979 年，J. A. Shapiro 提出了描述转座子转座过程的 DNA 转座重组模型，即 Shapiro 模型。

1987 年，利根川进（日本）发现抗体多样性的遗传学原理。

1989 年，Sidney Altman、Thomas R. Cech 因发现催化活性 RNA 获诺贝尔化学奖。

1993 年，Michael Smith 因建立寡核苷酸诱导的定点突变方法而获诺贝尔化学奖。

1993 年，Kary B. Mullis 因建立聚合酶链式反应（PCR）方法获诺贝尔化学奖。

1994 年，Gilman 和 Rodball 因发现细胞中信号转导分子 G-蛋白获诺贝尔化学奖。

2002 年，Sydney Brenner（英国）、H. Robert Horvitz（美国）、John E. Sulston（英国），发现器官发育和细胞程序性死亡（细胞程序化凋亡）的遗传调控机理。

2006 年，美国科学家 Andrew Fire 和 Craig C. Mello，他们发现了 RNA（核糖核酸）干扰机制。RNA 干扰已被广泛用作研究基因功能的一种手段，并有望在未来帮助科学家开发出治疗疾病的新方法。

2007 年，美国 Mario R. Capecchi、Oliver Smithies 与英国 Martin J. Evans 因干细胞研究获得此奖项。别名“小鼠中的基因打靶”。

2009 年，三位美国科学家 Elizabeth H. Blackburn、Carol W. Greider 以及 Jack W. Szostak，他们发现了由染色体根冠制造的端粒酶（telomerase），这种染色体的自然脱落物将引发衰老和癌症。

到了 20 世纪 80 年代后，基因工程产业诞生，分子生物学发展到实用阶段，特别是 20 世纪 90 年代后，基因工程产业发展很快，已经可以用工程细胞株或菌株表达生产多种产品医药，包括疫苗、抗体、生长因子、细胞因子、激素、治疗用蛋白质或肽以及基因治疗产品等。与此同时，转基因农作物、转基因动物技术也被用于动植物品种改良，使之具有抗虫、抗病、耐旱、耐盐、高产等更优良的品质，如抗虫转基因棉花、番茄、大豆等多种作物大面积的推广种植。克隆牛、羊的成功已成为家喻户晓的新闻。到 20 世纪末，产业的年利润增长速度已超过电子和信息产业，正在创造巨大的经济效益。生物技术行业将成为 21 世纪竞争最激烈的社会支柱产业。

除产业的形成和应用的发展外，20 世纪 80 年代后的基础研究发展，有人用“知识爆炸”来形容，这段时间的发展太快，重大成果太多而难以一一举出，例如 DNA 复制起始位点结构及参与复制的蛋白质功能、相互作用；转录的起始及其调控；核酸发现及 RNA 的加工；mRNA 的翻译过程及调控；蛋白质的修饰、折叠和分子伴侣的发现；蛋白质结构与功能关系、蛋白质大分子相互作用；细胞表面受体及信号转导；细胞分化；癌基因与病变；DNA 定点突变技术、PCR 技术、单克隆抗体和人源抗体技术以及 30×10^8 bp 的人类基因组全序列测定的完成等。这些研究成果，大大丰富了分子生物学的内容、加速了分子生物学的发展，特别是人类基因组计划将会使人类更清楚地了解自身，对今后的医学及生命科学的发展必将产生极其深远的影响。今后分子生物学的研究方向，仍然会以蛋白质的功能研究为中心。蛋白质通过修饰、构象改变以及通过大分子间相互作用（蛋白质与核酸和蛋白质之间）形成大分子复合物而行使各种生物学功能，如基因表达的调控、发育和分化的控制等都是不同蛋白质的功能在时间和空间上的具体表现，而信号也是通过蛋白质修饰（如磷酸化或去磷酸化、与核苷酸或小分子如金属离子、NO 等的结合）、变构和相互作用来转导的。只有深刻了解蛋白质的功能，才能读懂基因组所包含的全部信息。

三、分子生物学的主要内容

分子生物学与生物学其他学科的交叉和渗透范围日益广泛，尤其是与生物化学、遗传学和细胞学之间的关系更加密切，以至于很难划分出明确的分界线，尽管它包括的范围很广，但它绝不能包括或代替其他生物学学科，就像细胞学不能包括遗传学和生物化学一样。有人认为生物化学已包括了分子生物学，把分子生物学看成是生物化学的一部分，这种观点也不正确。生物化学的本质是“化学”，是生物体内通过酶催化及电子传递进行的化学反应（分解和合成反应）而促使机体内的新陈代谢，能量的产生和消耗等，它的表示形式常常类似于化学反应式，涉及物质的转变，而且常发生质的变化，如淀粉被水解成葡萄糖、糖的氧化反应等。而分子生物学涉及的是构象改变和大分子的相互作用，根本无法用化学反应式来表示，如调控蛋白识别结合于某基因启动子序列而激活该基因表达，细胞表面受体的外部分与

配体结合后引起细胞内部分变构而进行信号传递等，所以分子生物学有它自己的内容和范围，它的主要内容如下。①基因的精细结构及其表达形式；②信号转导；③蛋白质的结构、相互作用及功能；④遗传变异、进化的分子机制；⑤分子生物学技术及其应用。

四、展望

分子生物学已建立的基本规律为人们认识生命的本质提供了光明的前景，但分子生物学的历史还比较短，积累的资料还远远不够，例如在地球上千姿百态的生物携带庞大的生命信息，迄今人类所了解的只是其中极少的一部分，还未认识核酸、蛋白质组成生命的许多基本规律；又如即使在 2005 年我们已经获得了人类基因组 DNA 3×10^9 bp 的全序列，确定了人的 $(5 \sim 10) \times 10^4$ 个基因的一级结构，但是要彻底搞清楚这些基因产物的功能、调控、基因间的相互关系和协调，要理解 80% 以上不编码蛋白质的序列的作用等，都还要经历漫长的研究道路。可以说分子生物学的发展前景光辉灿烂，但道路依然会艰难曲折。

本章小结

简单回顾孟德尔的分离规律、独立分配规律和 Morgan 的连锁遗传规律，并简单描述了 DNA 的发现及基因概念的发展过程。重点介绍了分子生物学的诞生，分子生物学的发展简史，分子生物学的概念及与相邻学科的关系，以及分子生物学的主要内容、进展和展望。

思考及练习题

1. 简述遗传学三大基本规律及其概念。
2. 列出两种以上证明 DNA 是遗传物质的试验证据。
3. 你认为分子生物学的发展将在哪些方面对国民经济产生巨大影响？

启迪、思考、探索、进展

背景故事

诺贝尔奖获得者薛定格 (Erwin Schrödinger) 的“什么是生命” (What is Life?) 一书是 20 世纪最伟大的科学名著之一，一个杰出的物理学家对生物学的核心问题的探究，促进了分子生物学的诞生，及随后的 DNA 结构的发现。

20 世纪 40 年代初期，有一批学者，他们在阵营上和动机上与经典的遗传学家有相当差别，在这批人中，有许多人对过去几十年中所积累的遗传学知识还不大了解，甚至连一般的生物学都不大熟悉，他们受到的训练主要是物理学方面的，因此他们的兴趣主要是解决遗传信息的物理基础。当时著名的量子物理学家 N. Bohr 认为，某种生物学现象最终也许是不能完全用正规的物理学概念为依据来说明它们的。这正像不能用经典的物理学范畴去描述那些起作用的量子一样的道理。

