

FENZI SHENGWUXUE LILUN
JI YINGYONG YANJIU

分子生物学理论 及应用研究

主 编 海 洪 张新永 严 峰
副主编 郝金凤 郭 鹏 曹慕岚 王永刚



中国水利水电出版社
www.waterpub.com.cn

FENZI SHENGWUXUE LILUN
JI YINGYONG YANJIU

分子生物学理论 及应用研究

主 编 海 洪 张新永 严 峰
副主编 郝金凤 郭 鹏 曹慕岚 王永刚



中国水利水电出版社
www.waterpub.com.cn

内 容 提 要

本书重点对分子生物学理论及应用进行研究,主要内容包括绪论,核酸的结构与性质分析,基因、基因组与基因组学,DNA 的复制,DNA 的损伤、修复与突变,DNA 的重组与转座,转录及转录后加工,遗传密码与翻译,原核生物基因表达的调控,真核生物基因表达的调控,分子生物学研究方法,分子生物学的应用研究等。

图书在版编目(CIP)数据

分子生物学理论及应用研究/海洪,张新永,严峰
主编.--北京:中国水利水电出版社,2014.10
ISBN 978-7-5170-2533-7

I. ①分… II. ①海… ②张… ③严… III. ①分子生
物学—研究 IV. ①Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 218863 号

策划编辑:杨庆川 责任编辑:杨元泓 封面设计:崔 蕾

书 名	分子生物学理论及应用研究
作 者	主 编 海 洪 张新永 严 峰 副主编 郝金凤 郭 鹏 曹慕岚 王永刚
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 24.5 印张 627 千字
版 次	2015 年 4 月第 1 版 2015 年 4 月第 1 次印刷
印 数	0001—3000 册
定 价	85.00 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

分子生物学是在分子水平上研究生命现象的一门学科,主要是对遗传信息存储与传递的分子细节进行研究。它自诞生以来取得了一系列巨大的成就,为生命科学的研究提供了更多、更新的思维方式和研究手段,同时它已经渗透到细胞生物学、发育生物学、生理学等众多的学科领域,极大地推进了其他学科的发展。分子生物学随着生命科学的发展不断取得突破,如今已经发展成为生物学领域的一门带头学科。

从表现形式而言,生命体的结构和生活方式千变万化、多种多样,然而从分子水平上观察却都凸显出生命过程内在的统一。正是这种统一使分子生物学发展成为一门独立的学科。分子生物学的起源可以追溯到 19 世纪中叶孟德尔以豌豆为材料进行的杂交实验。后来 DNA 双螺旋模型的提出则将分子生物学推向高速发展的时期。20 世纪 70 年代发展起来的基因工程对分子生物学的发展产生了深远的影响,基因在动植物细胞中的表达和调控机制也逐渐为人们所理解。基因工程还为人们提供了具有重要经济价值和医学价值的工具。20 世纪 90 年代以来,重组 DNA 技术逐渐被用于基因组研究,尤其是受人类基因组计划的影响,分子生物学的研究对象从传统的单个基因转向生物整个基因组。分子生物学的发展速度日新月异,许多的新知识、新技术不断出现。

无论技术如何发展,理论知识永远是掌握一门学问的根本。《分子生物学理论及应用研究》正是在分子生物学内容不断增多、信息量不断增大、知识不断更新这一发展趋势下编写而成的。本书的特点在于既涵盖了分子生物学基本理论、核心内容和主要技术,又能反映本学科最新发展。全书内容涉及广泛、知识架构清晰、叙述深入浅出、图文并茂、条理清楚,可为广大的生物爱好者提供理论指导,也可作为相关领域科研人员的参考用书。

全书共 12 章。第 1 章对分子生物学的概念、发展、研究范畴和主要内容进行了简单介绍;第 2 章分析了核酸的结构与性质;第 3 章为基因、基因组与基因组学相关内容的讨论;第 4~6 章重点阐述了 DNA 的复制、损伤、修复与突变、重组与转座;第 7 章讨论了转录及转录后加工;第 8 章研究了遗传密码与翻译;第 9 章和第 10 章分别对原核生物和真核生物基因表达的调控进行分析阐述;第 11 章探讨了分子生物学研究方法,包括核酸的分离提取和电泳检测、聚合酶链式反应、核酸的体外标记与分子杂交技术、生物芯片技术等;第 12 章研究了分子生物学在基因治疗、转基因动物与植物、DNA 指纹图谱、生物技术制药等方面的应用。

本书的编写借鉴了众多分子生物学领域最新的研究进展,并参考了大量的资料、学术书籍。但分子生物学发展迅速,面对浩如烟海的成果和不断更新的知识,编者自知水平有限,故缺点和错误在所难免,欢迎广大学者、同仁批评指正。

编者

2014 年 7 月

目 录

前言	1
第 1 章 绪论	1
1.1 分子生物学的概念	1
1.2 分子生物学的发展	1
1.3 分子生物学的研究范畴和主要内容	7
第 2 章 核酸的结构与性质分析	13
2.1 DNA 的结构	13
2.2 DNA 的超螺旋结构与多链结构	18
2.3 RNA 的结构	27
2.4 核酸的变性、复性与分子杂交	32
第 3 章 基因、基因组与基因组学	36
3.1 基因	36
3.2 基因组	45
3.3 基因组学	62
第 4 章 DNA 的复制	72
4.1 DNA 复制的一般特征	72
4.2 原核生物的 DNA 复制	78
4.3 真核生物的 DNA 复制	82
4.4 DNA 复制的忠实性	90
4.5 DNA 复制的调控	93
第 5 章 DNA 的损伤、修复与基因突变	96
5.1 DNA 损伤	96
5.2 DNA 损伤的修复	105
5.3 基因突变	119
5.4 定向诱变	128
第 6 章 DNA 的重组与转座	132

6.1	概述	132
6.2	同源重组	132
6.3	位点特异性重组	146
6.4	转座作用	149
第 7 章	转录及转录后加工	162
7.1	概述	162
7.2	原核生物的转录	168
7.3	真核生物的转录	179
7.4	转录后加工	195
7.5	逆转录	215
第 8 章	遗传密码与翻译	217
8.1	遗传密码	217
8.2	tRNA 与核糖体	219
8.3	氨酰-tRNA 的形成	224
8.4	原核生物翻译的起始	228
8.5	真核生物翻译的起始	234
8.6	翻译延伸与终止	240
8.7	翻译的抑制剂	248
8.8	翻译后加工	249
第 9 章	原核生物基因表达的调控	254
9.1	概述	254
9.2	乳糖操纵子	259
9.3	其他原核操纵子的调控	271
9.4	λ 噬菌体基因组的调控	282
9.5	翻译水平的调控	290
第 10 章	真核生物基因表达的调控	297
10.1	概述	297
10.2	DNA 及染色体水平的调控	298
10.3	染色质水平的调控	302
10.4	转录水平的调控	312
10.5	转录后水平的调控	317
10.6	翻译水平的调控	319
第 11 章	分子生物学研究方法	325

11.1	概述.....	325
11.2	核酸的分离提取和电泳检测.....	326
11.3	聚合酶链式反应.....	333
11.4	核酸的体外标记与分子杂交技术.....	342
11.5	生物芯片技术.....	347
第 12 章	分子生物学的应用研究	357
12.1	基因治疗.....	357
12.2	转基因动物与植物.....	363
12.3	DNA 指纹图谱	371
12.4	生物技术制药.....	373
参考文献		383

第 1 章 绪 论

1.1 分子生物学的概念

分子生物学(molecular biology)是指对生物大分子结构与功能的研究,是从分子水平研究生命本质的科学。所谓“从分子水平研究生命的本质”就是说对遗传、生殖、生长和发育等生命基本特征的分子机理的说明。

20 世纪初期,现代科学技术发展极其迅猛。当时的研究者们已经在细胞学、遗传学、生物化学和物理学等领域取得了大量的研究成果。到了 20 世纪中期,科学家们不但研究豌豆、果蝇、玉米等材料,也对一些简单的生物,如:细菌、噬菌体等做了深入的研究。当然,这里所谓的简单只是相对而言的。科学家发现:在大多数生物中,DNA 是主要的遗传信息载体;DNA 的结构使它的复制与修复近乎完美;DNA 的线状结构编码了蛋白质的三维结构。所有的研究成果都说明了一个结论:那些控制简单生物的基本生物学原则对那些复杂的生物同样适用。分子生物学自此开始真正发展起来。

分子生物学是一门新兴的边缘学科,也是当今生命科学中极其有活力的一门学科。从广义的角度讲,蛋白质及核酸等生物大分子的结构与功能的研究都属于分子生物学的范畴,也就是从分子水平阐明生命现象和生物学规律,如蛋白质的结构、功能和运动;酶的作用机理和动力学;膜蛋白的结构、功能和跨膜运输等,都属于分子生物学的内容。

通常而言,代谢中的某些反应如果是由反应物和产物的浓度来调节的则认为是典型的生物化学反应;此外,细胞结构与各种细胞成分的组织则属于细胞生物学。上述两者一般不属于分子生物学内容。

从狭义的角度讲,分子生物学偏重于生物大分子——核酸(或基因),主要研究基因或 DNA 的复制、转录、表达及调节控制等过程,其中也涉及与这些过程有关的蛋白质和酶的结构与功能的研究,尤其是核糖核酸方面。

1.2 分子生物学的发展

分子生物学是生命科学范围内近半个世纪以来发展最为迅速的一个前沿领域,一方面它自身不断地迅速发展着,另一方面,它还推动着整个生命科学领域的向前迈进。

分子生物学的发展经历了一系列重大的事件,并由它们构成分子生物学发展的三个阶段。

1.2.1 分子生物学发展的三个阶段

1. 分子生物学准备和酝酿阶段

19 世纪后期至 20 世纪 50 年代初是分子生物学诞生前的准备和酝酿阶段,这一阶段在认识

生命本质方面取得了两项重大突破。

(1) 确定了蛋白质是生命的主要基础物质

19 世纪末, Buchner 首次提出酶(enzyme)是生物催化剂的论断。自此以后, J. B. Sumner、J. H. Northrop 和 W. M. Stanley 在蛋白酶结晶和制备方面的研究取得了重要成果, 证明了酶的本质是蛋白质, 并获得了 1946 年的诺贝尔化学奖。随后人们陆续发现物质代谢、能量代谢、消化、呼吸、运动等许多生命现象都与酶和蛋白质有关。

E. Fisher 证明蛋白质结构是多肽, 并荣获 1902 年诺贝尔化学奖; A. Harden 和 H. von Euler-Chelpim 因为研究酶在糖和嘌呤衍生物合成中的作用获得 1929 年诺贝尔化学奖; 20 世纪 40 年代末, F. Sanger 创立了用于分析肽链 N 端氨基酸的二硝基氟苯(DNFB)法、P. Edman 发展异硫氰酸苯酯法分析肽链 N 端氨基酸; 由于结晶 X 射线衍射分析技术的发展, 1950 年, L. C. Pauling 和 R. B. Corey 提出了 α -角蛋白的 α 螺旋结构模型。1953 年, F. Sanger 和 K. Thompson 完成了胰岛素 A 链和 B 链的氨基酸全序列分析, 并获得 1958 年诺贝尔化学奖。可见, 在此期间人们对蛋白质一级结构和空间的认识取得明显进步。

(2) 确定了生物遗传的物质基础是 DNA

J. F. Miescher 早在 1868 年就发现核素(nuclein), 但是在当时并没有引起很大反响, 直到 20 世纪二三十年代才确认了自然界有 DNA 和 RNA 两类核酸。但是由于不能够精确地对核苷酸和碱基进行定量分析, 所以长期错误地认为 DNA 结构只是“四核苷酸”单位的重复, 不具有多样性, 不能携带更多的信息。当时对携带遗传信息的候选分子更多的是考虑蛋白质。A. Kossel 关于细胞化学尤其是蛋白质和核酸方面的研究取得重要成果, T. H. Morgan 发现染色体在遗传中的作用, 他们分别获得 1910 年和 1933 年诺贝尔生理学或医学奖。

1944 年, O. T. Avery 等证明了肺炎球菌转化因子是 DNA; 1952 年, S. Furber 等的 X 射线衍射分析阐明了核苷酸并非平面的空间构象, 提出了 DNA 是螺旋结构; 1948—1953 年, E. Chargaff 等用新的层析和电泳技术分析组成 DNA 的碱基和核苷酸量, 提出了 DNA 碱基组成 $A=T$ 、 $G=C$ 的 Chargaff 规则, 为研究 DNA 结构打下了基础。这一项项实验, 使得人们对核酸的功能和结构有了正确的认识。

2. 现代分子生物学的建立和发展阶段

20 世纪 50 年代初至 70 年代初是现代分子生物学的建立和发展阶段。这一阶段的重要标志为: 1953 年, Watson 和 Crick 共同提出了 DNA 双螺旋结构模型(DNA double helix model)。DNA 双螺旋结构发现的深刻意义在于: ①确立了核酸作为信息分子的结构基础; ②提出了碱基配对是核酸复制、遗传信息传递的基本方式; ③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生命中的作用打下了最重要的基础。这个模型的建立是分子生物学学科形成的奠基石。这一重大发现使 Watson 和 Crick 与英国科学家 M. H. F. Wilkins 共同分享了 1962 年的诺贝尔生理学或医学奖。

(1) DNA 复制机理的认识逐步得以完善

Watson 和 Crick 在发现 DNA 双螺旋结构的同时, 就对 DNA 的复制过程进行了预测。W. Gilbert 第一次制备出混合 DNA, P. Berg 和 F. Sanger 建立了 DNA 结构的化学和生物分析法, 他们三人出色的研究工作获得了 1980 年诺贝尔化学奖; 1956 年, A. Kornberg 发现了 DNA 聚合酶; 1958 年, M. Meselson 通过著名的“密度转移”实验证实 DNA 半保留复制(DNA semi-

conservative replication)模型,建立密度梯度离心技术;1959年,S. Ochoa 和 A. Kornberg 发现了 RNA 和 DNA 的生物合成机制;1968年,R. Okazaki(冈崎)提出了 DNA 不连续复制(DNA semi-discontinuous replication)模型;1972年,T. Okazaki 和 R. Okazaki 证实了 DNA 复制开始需要 RNA 作为引物;20世纪70年代初,J. C. Wang 等获得 DNA 拓扑异构酶,并对真核 DNA 聚合酶特性做了分析研究。人们对于 DNA 复制机理的认识随着这些发现和一些模型的建立而逐渐加深,并得以完善。

(2) RNA 在遗传信息传递中发挥的重要作用开始被认识

研究者认为 DNA 复制将遗传信息传给子代,并认为在这其中, RNA 在遗传信息传到蛋白质过程中起着中介作用。1958年, Weiss 及 Hurwitz 等发现了依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶;1961年,B. D. Hall 和 S. Spiegelman 用 RNA-DNA 杂交证明了 mRNA 与 DNA 序列互补, RNA 的合成机制逐步得到验证;这些研究逐步阐明了 RNA 转录合成的机理,并认识到蛋白质是接受 RNA 的遗传信息而合成的。

20世纪50年代初,P. Zamecnik 等在形态学和分离的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;1955年,A. H. T. Theorell 认识到了氧化酶的性质及其作用机制;1957年, Hoagland, Zamecnik 及 Stephenson 等分离出 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, Brenner 及 Gross 等观察了在蛋白质合成过程中 mRNA 与核糖体的结合;1965年,R. W. Holley 首次测出了酵母丙氨酸 tRNA 的一级结构,并提出 tRNA 的“三叶草”结构模型;1965年,诺贝尔生理学或医学奖获得者 F. Jacob、A. Lwoff 和 J. Monod 发现酶和病毒合成的基因调节;1968年,诺贝尔生理学或医学奖获得者 R. W. Holley、H. G. Khorana 和 M. W. Nirenberg 等几组科学家破解了遗传密码,从而揭示了蛋白质合成的基本过程,这一项研究是突破性的;1969年,诺贝尔生理学或医学奖获得者 M. Delbrück、A. D. Hershey 和 S. E. Luria 发现病毒的复制机制和遗传结构,从而认识了蛋白质翻译合成的基本过程。上述一系列的重要发现共同建立了以中心法则为基础的分子生物学基本理论体系。

1970年,H. M. Temin 和 D. Baltimore 又同时从鸡肉瘤病毒颗粒中发现以 RNA 为模板合成 DNA 的逆转录酶(DNA reverse transcriptase),病毒 RNA 分子通过其编码的逆转录酶可以转换成为与其互补的单链 DNA。这一发现使单向不可逆方式传递的中心法则受到挑战。随后, Crick 对中心法则作出补充。在以后的时间里,中心法则不断受到挑战,并不断得以补充与完善。围绕该法则进行的研究不断深入,分子生物学在生命科学中的地位与价值更显重要了。

3. 初步认识生命本质并开始改造生命的深入发展阶段

20世纪70年代后,基因工程技术出现,它是分子生物学发展的一座新的里程碑,标志着人类认识生命本质并能主动改造生命的新时期开始;人类基因组计划的实现和后基因组计划的实施使人类研究生物整个基因组的结构与功能成为可能;端粒酶(telomerase)、RNA 编辑、核酶(ribozyme)、siRNA 和 microRNA 等新型基因表达调控方式的发现,使人类对控制肿瘤、糖尿病等疾病的发生和发展有了新的途径。

(1) 基因工程技术快速发展

分子生物学技术的发展使得基因工程技术的建立成为一种必然。在 D. Baltimore、R. Dulbecco 和 H. M. Temin 发现肿瘤病毒与细胞遗传物质之间的相互作用,以及 W. Arber、D. Nathans、H. O. Smith 发现限制性内切核酸酶并荣获 1978 年诺贝尔生理学或医学奖之后,基因工

程技术得到迅速发展。

1972年, P. Berg等三人建立DNA重组技术, 将SV40病毒DNA与噬菌体P22DNA在体外重组成功, 还建立了含有哺乳动物激素基因的工程菌株, 打破了种属界限, 促进了DNA克隆技术的发展和应用; 1977年, H. W. Boyer等成功地在大肠杆菌中表达促生长素抑制素; 1997年, S. lan Wilmut成功获得克隆羊Dolly; 1998年, J. P. Renard利用体细胞克隆牛获得成功。

许多分子生物学新技术的不断涌现也为基因工程的快速发展起到了积极的推动作用。1975~1977年, F. Sanger、A. M. Maxam和W. Gilbert先后发明了两种DNA序列的快速测定法; 20世纪90年代, 全自动核酸序列测定仪问世; 1985年, Cetus公司的Mullis等发明了聚合酶链反应(PCR)的特定核酸序列扩增技术, 更以其高灵敏度和特异性被广泛应用、对分子生物学的发展起到重大的推动作用; M. Smith则发明了DNA的“寡聚核苷酸定点突变”法, 即基因的“定向诱变”。M. Smith和K. B. Mullis因为提供了基因工程研究的两项重要技术而获得了1993年诺贝尔化学奖; M. R. Capecchi、O. Smithies和M. J. Evans在胚胎干细胞和哺乳动物DNA重组方面获得了一系列突破性发现, 在小鼠胚胎肝细胞“基因打靶”(genetargeting)技术方便作出了卓越的贡献, 获得2007年的诺贝尔生理学或医学奖。

(2)生物整个基因组结构与功能的研究成为可能

随着分子生物学的发展, 生命科学已经从研究单个基因发展到研究生物整个基因组的结构与功能。20世纪60年代后期, 许多科学家共同努力测出了大肠杆菌基因组DNA的全序列长为 4×10^6 bp; 1977年, F. Sanger测定了 Φ X174噬菌体的基因组序列; 1978年, W. Fiers等测出SV40 DNA全部5224对碱基序列; 20世纪80年, 代入噬菌体DNA全部48502碱基对的序列全部测出; 一些小的病毒包括乙型肝炎病毒、艾滋病毒等基因组的全序列也陆续被测定。这些基因组核酸序列的测定对于了解一个生物的遗传信息及功能的重要性不言而喻。

1994年, 日本科学家发表了水稻基因组遗传图, F. A. Wilson完成了线虫3号染色体连续2.2Mb的测定。2000年6月26日, 中国、美国、日本、德国、法国、英国6国, 宣布人类基因组草图发表。2000年12月14日, 英国、美国等国科学家宣布绘出拟南芥基因组的完整图谱。2001年1月12日, 中国、美国、日本、德国、法国、英国等国科学家和美国塞莱拉公司各自公布人类基因组图谱和初步分析结果, 约3万基因。2002年4月5日, 以杨焕明为首的中国科学家在*Science*发表了水稻全基因组框架序列图; 2002年12月12日, 以韩斌为首的中国科学家在*Nature*发表了水稻第4号染色体测序图; 2003年4月14日, 六国科学家完成了人类基因组序列图的绘制, 实现了人类基因组计划的所有目标。随后, 基因组研究进入后基因组时代。

(3)蛋白质结构分析和功能方面的研究取得突破

分子生物学在蛋白质结构分析和功能研究方面获得了一系列重大成果。R. B. Merrifield因在多肽合成方面的卓越成就获得了1984年诺贝尔化学奖; G. Edelman和R. R. Porter发现抗体的化学结构并获得1972年诺贝尔生理学或医学奖; J. Fenn、K. Tanaka和K. W. I. Thrich发明了对生物大分子进行确认和结构分析的质谱分析法和核磁共振技术, 并荣获2002年诺贝尔化学奖; A. Ciechanover、A. Hershko和I. Rose发现了泛素调节的蛋白质降解, 从而揭示了一种蛋白质“死亡”的重要机理, 荣获2004年诺贝尔化学奖; 美国Woods Hole海洋生物学实验室的F村修(O. Shimomura)、哥伦比亚大学的M. Chalfie和加州大学圣地亚哥分校的钱永健(R. Y. Tsien)发现了绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP), 使其在基因工程、基因表达调控和蛋白质化学结构分析等领域获得了广泛应用, 从而分享了2008年诺贝尔化学奖。

(4) 人类对基因表达调控机理的认识更深入

伴随着 G. W. Beadle 和 E. L. Tatum 发现基因受到特定化学过程的调控, J. Lederberg 发现细菌遗传物质及基因重组现象, 以及分子遗传学基本理论建立者 Jacob 和 Monod 提出了操纵元 (operon) 学说, 人类对基因表达调控的机理的认识一步步加深。

20 世纪 60 年代以前, 人们主要认识原核生物基因表达调控的一些规律, 70 年代以后才逐渐认识了真核基因组结构和调控的复杂性。1977 年, 猿猴病毒和腺病毒编码序列的不连续性被人们所发现, 这揭开了认识真核基因组结构和调控的序幕。1981 年, T. Cech 等发现四膜虫 rRNA 的自我剪接, 从而发现核酶 (ribozyme)。1980~1990 年, 真核生物基因的调控序列和调节蛋白得到研究, 人们开始逐步认识到核酸与蛋白质间的分子识别与相互作用是基因表达调控根本所在。1983 年, B. McClintock 发现可移动的基因, 获诺贝尔生理学或医学奖; 1989 年, S. Altman 和 T. R. Cech 因发现 RNA 的生物催化作用而获得诺贝尔化学奖; J. M. Bishop 和 H. E. Varmus 发现逆转录病毒原癌基因 (oncogene) 在细胞中的产生机制, 并获得 1989 年诺贝尔生理学或医学奖。

许多研究者在基因表达调控方面作出了重大贡献, 并以其研究成果获得诺贝尔生理学或医学奖, 如 1992 年, E. H. Fischer 和 E. G. Krebs 阐述的蛋白质可逆磷酸化 (reversible protein phosphorylation) 这一生物调节机制; 1994 年, A. G. Gilman 和 M. Rodbell 发现 G 蛋白 (一种运送 GTP 的蛋白质) 在细胞信号转导 (cell signal transduction) 中的作用; 1995 年, E. B. Lewis、C. Nüsslein-Volhard 和 E. F. Wieschaus 发现早期胚胎发育中的遗传调控机理; 1997 年, S. B. Prusiner 发现新的蛋白致病因子朊蛋白; 1999 年, G. Blobel 发现蛋白质具有内在信号物质控制其运送到细胞内的特定位置; 2001 年, L. H. Hartwell、R. T. Hunt 和 P. M. Nurse 发现细胞周期 (cell cycle) 中的关键调节因子; 2002 年, S. Brenner、H. R. Horvitz 和 J. E. Sulston 发现器官发育和程序性细胞死亡的遗传调控机理; 2006 年, A. Z. Fire 和 C. C. Mello 发现了 RNA 干扰机制; 2009 年, E. H. Blackburn、C. W. Greider 和 J. W. Szostak 发现端粒和端粒酶保护染色体的机理。

综上所述, 不难看出, 分子生物学是生命科学范围发展最为迅速的一个前沿领域, 推动着整个生命科学的发展。

1.2.2 分子生物学的发展趋势

分子生物学的发展速度是惊人的, 这期间伴随着许多新成果、新技术的不断涌现。虽然分子生物学已建立的基本规律给人们认识生命的本质找出了光明的前景, 但是不难发现, 分子生物学的历史还短, 尚处于初级发展的阶段, 并没有积累起强大、丰富的研究资料以供参考, 更多的关于核酸、蛋白质组成生命的许多基本规律还在探索当中。

分子生物学的发展还要经历漫长的道理, 其发展趋势表现为两个方面, 一是纵深求索, 二是横向交叉。以“大学科”态势协同攻关探索生命的深层次奥秘, 在整体水平上系统协调揭示生命的复杂规律。

1. 纵深求索

纵深求索就是不断将本学科的理论与技术引向深入。分子生物学在一个相当长的时期内将会集中于基因组研究、基因表达调控研究、结构分子生物学研究、生物信号传导、生物分子免疫等几个前沿领域开展深入持久的工作, 并由此开拓新的前沿领域和新的生长点。

(1)基因组的深入研究

主要是结构基因的功能与定位。尤其是与人类健康密切相关的遗传性疾病、多基因疾病、多发性疾病与疑难性疾病的基因诊断与临床治疗的分子基础研究。

(2)基因表达调控的深入研究

主要是反式调控因子的相关基因定位与功能。尤其是各种顺式调控序列的定位与空间结构,远距离顺式调控序列的调控机制;siRNA 与 miRNA 的分子结构与调控机制等。

(3)结构分子生物学的深入研究

主要是朝着立体性与动态性方向发展。综合应用计算机技术、X 衍射晶体分析技术、核磁共振技术等获得高清晰度的三维结构图像。有效实现微观形态与解剖形态,大分子与细胞、亚细胞等相互之间的相互联系动态地研究和观察生物大分子在作用过程中的空间结构的连续变化状况,能够在毫秒数量级水平测定分子间作用时的构象变化,测定蛋白质变性和新生肽折叠时以及分子伴侣识别多肽和帮助折叠时的构象变化。生物大分子的瞬时空间结构与动态变化最能客观有效地阐明大分子物质贮存信息、传导信息、表达信息、产生功能的机制。

(4)生物信号传导的深入研究

主要是生物信息自身的相互交流与网络式作用。机体的发生、发展与生存都依赖于细胞信号传导和调控,这一领域的研究已是一个备受关注的国际热点。

过去的研究多是注重于信号传导物质(细胞因子、激素、递质、受体等)与“信号传导通路”的研究。而在以后,研究细胞外各种生物活性物质如细胞因子、激素、递质之间,细胞与细胞之间,受体与受体之间,细胞内信使之间,胞浆内信息与核内信息之间以及核内各因子之间进行“对话”与“联络”以及调控生物的生长、繁殖、分化、凋亡、修复与免疫的方式将成为一种发展的趋势。

(5)生物分子免疫的深入研究

主要是神经内分泌—免疫调节网络的建立。这是生物体对疾病的预防、治疗密切相关的重要研究领域。在神经内分泌—免疫调节网络建立方面,在免疫方法及单克隆抗体广泛应用方面,在新基因发现、信号传导、免疫诊断、免疫治疗等方面的分子基础研究受到特别关注。当前,特别重视开展对重要传染病、寄生虫病、地方性慢性病、职业病及生活方式相关疾病防治的分子生物学与分子免疫基础研究,以及环境、遗传与社会心理因素对重要疾病发生的综合作用及其分子机制研究。人口与健康是分子生物学研究的永恒主题。

2. 横向交叉

横向交叉就是不断地与生命科学的其他学科及其非生物科学的自然学科、文史学科相互融合,综合应用化学、数学、物理学、计算机等学科的理论与技术,形成相关学科群,并以“大学科”的模式研究生命的实质问题。使各种复杂的生命现象与生命本质之间的联系在分子、细胞、整体水平和谐统一,使表现型和基因型的相关性得到客观准确的解释。

在研究中,一方面注重通过单个基因或蛋白质去了解某一生理现象或过程中的作用与功能,另一方面还强调从系统生物学的角度去构建细胞的分子网络。生物膜和生物力学研究是其中的一个重要组成部分。生物膜是由蛋白质、脂质和糖等生物分子组成的一种复合结构,是内外物质交换、能量交换及信息传导的中介体,也是细胞与细胞、细胞内各亚细胞之间沟通的桥梁。膜受体生物信息传导、膜蛋白的结构及其功能研究、膜脂的结构及其功能研究、生物膜糖分子生物学研究等都属于生物膜这一领域的前沿研究热点。糖类是生物体内除蛋白质与核酸外的又一类生

物大分子,具有免疫、信息等多方面的生物功能。

生命过程是一个多层次、多方位、连续的整合过程,通过进行遗传基因和分子水平的研究能够更加深入认识生命过程。这一层次的研究必须与细胞分化、细胞凋亡、生长发育、神经活动、机体衰老、病理生理等生命活动结合起来。因此,会形成分子细胞生物学、发育分子生物学、分子神经科学等新的生长点与新的边缘学科。

(1) 分子细胞生物学

主要是从细胞的角度进行研究,重点包括基因与基因产物如何控制细胞的分化、生长、凋亡与衰老,基因产物与其他生物分子如何构建与装配成细胞的高度组织化的结构并进行有序的细胞生命活动内容。

(2) 分子神经生物学

主要是在分子生物学的基础上,统一神经网络水平、整体水平与行为水平,重点阐明以下问题:

① 阐明神经细胞分化和神经系统发育的分子机制。

② 阐明神经活动基本过程如神经冲动、信息处理、神经递质与神经回路等的离子通道、突触通讯、受体与信号传导的变化及其相关基因表达的变化。

③ 阐明参与学习、记忆、行为过程的基因及其产物。

④ 阐明神经精神疾病的发病与防治的分子基础。

(3) 发育分子生物学

主要是解决发育相关基因如何按一定的时空关系选择性地表达来控制细胞的分化和个体发育。发育程序是如何通过相关的多基因系统逐次展开调控作用。形态发生是如何由细胞间连接、识别、运动、生长的彼此配合控制的。重点研究干细胞增殖、分化和调控,生殖细胞发生、成熟与受精,胚胎发育的调控机制,体细胞去分化和克隆机制,人体生殖功能的衰退性病变的机制,辅助生殖与干细胞技术的安全和伦理等。

在科学技术高速发展的今天,分子生物学理论与技术的更新速度更快,生物学新概念、新成果的产生频率也在急剧增加。从科学发展的规律看,要想科学探索取得更加深入的发展,科学家就必须具备理性的思维、明确的探索目标和良好的实践手段以验证其理论的正确性,还应该不断深入理性认识以促使更新颖技术的建立,并形成反复的良性循环。

作为 21 世纪的热门研究领域之一,生命科学在很长一段时期内引导着人们对生命奥秘的不懈探索,终将将生命之谜一一揭开。

1.3 分子生物学的研究范畴和主要内容

1.3.1 分子生物学的研究范畴

分子生物学具有极为广泛的研究范围和众多的分支学科,几乎涉及生命科学的各个层面以及与生命科学相关的各个领域。就生物体自身而言,生命过程是一个多层次、连续的整合过程,只有深入到基因水平研究结构基因的功能与调控基因的功能,才有可能阐明生命的整合过程;就生物体与周围环境的关系而言,深入分子水平研究生物与环境的相互作用及其机制和规律,才有可能阐明生命进化及其生物多样性的实质。

随着生物的进化,物种的演变以及对生命现象研究的不断深化,基于分子水平的研究范围越来越大。分子生物学与其他学科,尤其是分子遗传学、分子细胞学、分子生态学之间的关系更加密切,甚至很难划分出明确的界线。

1. 分子遗传学

分子遗传学是分子生物学的重点研究范围。分子遗传学是在分子水平上研究生物遗传和变异机制的遗传学分支学科,科学史上最近代、最重要的理论与概念上的突破都发生在遗传学研究领域。

经典遗传学研究的重点在于亲代和子代之间的传递,著名的三大遗传定律也在其研究范围之内^①。而分子遗传学研究的重点在于基因的本质、基因的功能及基因的变化。

DNA 双螺旋模型的建立为分子遗传学的研究开创了新纪元。遗传物质的分子结构因为 DNA 和 RNA 操作与测序技术的发展而变得清晰可辨。从此,人们可以在分子水平上研究脱氧核糖核酸或基因的复制、转录、翻译和基因表达调控的过程。有目的地改变 DNA 的个别碱基并观察其表现型改变,可以合成编码任何感兴趣的氨基酸序列的基因,获得所设计的蛋白质分子。可以给被表达的基因装备相关的顺式调控元件与反式调控元件,进行基因表达的调节研究。人们还可以通过研究正常基因的功能,寻找出产生疾病的突变基因并用正确的基因取代之,进行特效药物的设计用于临床治疗。

分子遗传学研究内容占据了分子生物学的中心位置,这两个学科的知识体系大面积交叉与融合。二者相互依存,共同发展。

2. 分子细胞学

分子细胞学是分子生物学研究的一个扩大的整体范围。在生命结构层次中,细胞是由生物大分子和其他必要的分子和元素构成的具有严整结构的生命单位。任何生物,无论低等还是高等,都是以细胞为基本单位构成的。无论多么复杂的生物,一切活动都首先在细胞中发生。

关于细胞生物学的研究也同步进入了分子细胞生物学研究领域。细胞生物学从显微、亚显微和分子水平三个层次对细胞的结构、功能和各种生命规律进行研究。细胞与亚细胞的结构、细胞的增殖与生长、细胞分化、细胞衰老、细胞死亡(包括凋亡)、细胞迁移、细胞外基质与胞间通讯、细胞信号转导、细胞与组织工程、细胞间相互作用、物质运输以及分子细胞学的新技术与新方法都是研究范围。

分子水平的细胞学研究是分子生物学的一个重要的研究领域,应用分子生物学的理论与技术将更清楚地揭示细胞作为生物基本单位的重要功能和不可替代位置。

3. 分子生态学

分子生态学则是分子生物学研究的一个更大的空间范围。1992 年,Molecular Ecology 在美国创刊,标志着分子生态学已经成为分子生物学的一个更新、更广的重要研究领域。分子生态学这一新兴学科的产生同样是分子生物学、生态学与种群生物学交叉、渗透的结果。利用分子生物学的手段与方法,在分子水平上研究生物系统结构与功能,研究生态系统与环境的相互作用及其

^① 1865 年,孟德尔通过豌豆杂交实验建立的遗传学两大定律——分离定律和自由组合定律,以及 1910 年,摩尔根通过果蝇遗传实验,建立的遗传学连锁交换定律。

机制和规律,使分子生物学的研究范围更为扩大。

分子生态学所采用的研究技术包括探针、序列分析、DNA 分子标记等分子生物学技术。其最终达到的目的是从分子水平揭示生物与环境的相互作用及其机制和规律。用于识别物种、分析群体进化、地理起源等方面问题。通过分析种群的遗传变异,确定种内或种间的系统发生和进化;确定生物多样性保护和管理上的价值和规模,鉴别迁移物种中个体的起源,研究种群迁移与有效种群大小的关系等,具有十分重要的科学价值。

综上所述,分子生物学的研究范围包括了自然界的整个空间和生物圈中的一切生物,以及各种生物的所有生命现象。

另外,诸如植物学、动物学、微生物学、免疫学、医学、药学、农学、林学等其他的生命学科,都渗透了分子水平的研究成果,并将分子生物学的研究范围扩大了。

1.3.2 分子生物学研究的主要内容

1. 分子生物学研究的内容

一切生物体都是分子生物学的研究对象,一切生物学现象与生命活动的基础都是分子生物学研究的主要内容。

分子生物学研究具有微观性、定量性的特点。通过进行微观、定量研究能够最终在整体上阐明生命现象与生命活动的本质,实现“表型—基因—表型”生物学研究模式的良性循环。从这一方面讲,分子基础的研究离不开细胞水平的研究,更离不开整体水平的研究。科学家预言,分子生物学的概念将会随着时间的推移慢慢淡化,而“生物学”则包括了各个层次的研究内容。

在分子生物学研究的初期,只是在寻找与确定控制生物遗传的物质基础,所涉及的研究内容只是局限于对核酸、蛋白质等生物大分子的化学和物理结构的研究,并未将其复杂的空间结构与功能联系起来,更没有将其生物信息的产生、传递与调控作用联系起来。生物化学家已经发现并证实了细胞内各种重要组成物质的代谢反应,以及参与这些基本化学反应与特殊化学反应的多种催化蛋白酶。同时,也已经基本清楚了某些化学反应的紊乱所导致的生命机能的缺陷。但是,对于一系列基于分子水平的问题尚且存在诸多疑惑,例如,上述化学反应的机制是什么?反应过程的内在调控规律如何?为什么会产生诸多的遗传性疾病?等等。

后来,科学家对细菌和噬菌体等简单生物系统的遗传背景进行了详细深入的分析探究,并且在生物大分子核酸的研究方面取得了最富有成果的进展之后,分子生物学的研究内容才得以丰富,并引起分子生物学研究的又一个时期的热潮。

概括来讲,分子生物学的主要研究内容包括以下几个方面:生物遗传信息携带者——核酸的化学、生物信息传递相关生物大分子——蛋白质的化学、生物遗传信息的传递规律(传递的中心法则、复制、转录、翻译等)、生物基因的突变与修复、生物基因的重组与转移、生物遗传信息表达与调控的功能单位与调控规律、生物性状遗传过程与生物进化原动力的分子基础等。

2. 分子生物学研究的常用生物系统

通常,分子生物学研究将病毒、细菌、酵母菌作为常用的生物系统,此外,真核生物中的果蝇、四膜虫、线虫、拟南芥,转基因动物、转基因植物等都是可作为研究的理想的模式生物,并且也取得了重大的突破性进展。以遗传背景清楚的模式生物为对象,进行生长、发育、行为、疾病等多方

面多层次的分子遗传背景研究,对探索与诠释高等生命的本质已经发挥了重大的引导、推论与验证的作用。显然,这一模式的研究开辟了一条更为有效、更为便捷的途径。

(1)病毒

阐明基因调控原理是分子生物学的一个重要命题,而病毒对于研究基因表达调控而言显然是一种最为简便理想的模式生物。

通过对病毒基因结构和表达的研究,能够获得有关真核基因组结构与调控原理;RNA 肿瘤病毒逆转录酶的发现,使得生物遗传中心法则得以重新修改;基因重叠、内含子的发现、转录后剪修、重复序列和增强子的存在等,使得分子生物学的内容得到了极大的丰富;多种病毒载体的出现,还为研究真核细胞基因表达提供了一个重要手段。

(2)细菌

细菌是一种个体小、生长快、易培养、易操作的自由生活的单细胞生物,具有单个染色体,无核,其物理结构简单,基因组受到完善、高效的调节。它是研究基本生物学过程的合适的模式生物。

E. coli 是分子生物学领域中最常用的一种细菌。在最适条件下,*E. coli* 每 20 分钟分裂一次,实验周期短,易于取得数据,所得数据的统计学可靠性较大。细菌具有如下许多特性,这使得它可用于分子生物学的研究。

①细菌能够在流体培养基或固体培养基上生长,对培养基的成分要求简单,代谢作用旺盛,在短时间内可积累大量代谢产物。

②细胞很容易获得营养缺陷型细菌,作为研究基因精细结构、基因作用及基因突变等的复杂体系的简单模型材料。

③细菌具有不同类型的质粒,在基因工程中被广泛用作遗传工程菌。

④细菌具有转座子,对研究重组和基因表达提供了简单方便的模型。

⑤细菌易受噬菌体的侵袭。

⑥用细菌作材料能提供细菌中大分子和调节过程的重要信息。

(3)酵母菌

酵母是一种低等真核生物,具有许多特殊的性质。无论是在理论研究还是在实际应用方面它都有着广泛的应用前景。在分子生物学领域中,对酵母研究的深度、广度与系统性仅次于原核生物中的大肠杆菌。酵母还与细菌有许多相似之处。

酵母菌具有如下特点:

①酵母的遗传基因结构比较清楚,相关信息库十分丰富。

②酵母菌具有自身的转座子与游离的质粒,具有翻译后糖基化等加工系统,是基因工程的理想受体细胞。

③酵母菌具有真核生物中最明显的有性现象——减数分裂,可通过四分子分析考察一次减数分裂的四个产物的情况,通过四分子的不同类型的相对频率计算研究一系列遗传学规律。

④许多高等真核 DNA 片段在酵母中可以自由复制。

⑤含着丝粒、端粒、复制起点三要素的酵母人工染色体(YAC)已构建成功,为研究高等生物的染色体结构打下了基础。法国遗传研究中心构建的“兆 YAC”,可存储上万个碱基,大大加快了人类基因组的研究速度。

⑥酵母中有多个分泌系统,其中 α 基因在改造后接上外源片段就可使产物分泌到细胞外。

⑦许多高等动植物的分泌信号可在酵母中发挥作用。