

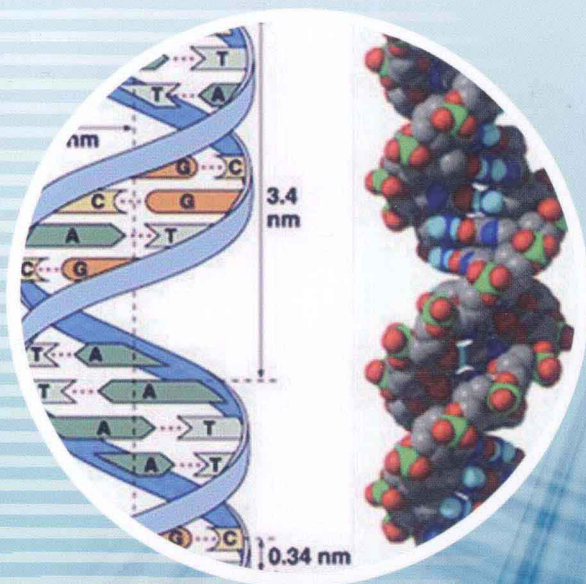


中国科学院教材建设专家委员会规划教材
全国高等医药院校规划教材

供长学制（7、8年）学生和研究生使用

医学分子生物学

田余祥 秦宜德 主编



科学出版社

中国科学院教材建设专家委员会规划教材
全国高等医药院校规划教材

供长学制(7、8年)学生和研究生使用

医学分子生物学

主 编 田余祥 秦宜德
副主编 肖建英 喻 红 库热西·玉努斯 何凤田 林德馨
编 者 (以姓氏笔画为序)

孔 英(大连医科大学)

王 杰(沈阳医学院)

王晓华(广州医科大学)

田余祥(大连医科大学)

李 红(辽宁医学院)

刘淑清(大连医科大学)

杜 芬(武汉大学医学院)

杨 帆(大连医科大学)

杨成君(吉林大学白求恩医学部)

肖建英(辽宁医学院)

何凤田(第三军医大学)

库热西·玉努斯(新疆医科大学)

沈 勤(南通大学医学院)

张志珍(广东医学院)

陈 瑜(福建医科大学)

林德馨(福建医科大学)

秦宜德(安徽医科大学)

倪菊华(北京大学医学部)

唐彦萍(遵义医学院)

喻 红(武汉大学医学院)

科学出版社

· 版权所有 侵权必究 ·

举报电话:010-64030229;010-64034315;13501151303(打假办)

内 容 简 介

全书分为四篇,共十九章。第一篇主要介绍遗传物质的结构基础,包括核酸的结构与功能和DNA重组与转座;第二篇集中介绍遗传信息的传递及其调控,包括基因组的复制、DNA损伤与修复、基因转录和翻译;第三篇为分子生物学常用的方法与技术,着重介绍这些方法与技术的原理,包括核酸的研究方法与原理、蛋白质的研究方法与原理、基因工程原理,以及基因结构与功能的分析方法与原理;第四篇为专题篇,撷取了几个人们普遍关注的重要专题,较详细地阐述了这些专题的分子机制,如细胞间与细胞信号转导的分子机制、细胞增殖与分化的分子机制、细胞凋亡的分子机制、衰老的分子机制、肿瘤发生发展与转移的分子机制。鉴于“组学”和生物信息学在生命研究领域的重要性,因此也在第四篇中一并讨论。全书语言流畅、图文并茂、层次分明、循序渐进、跟踪新进展。

本教材适用于长学制和研究生教育,也可作为本科生的参考教材。

图书在版编目(CIP)数据

医学分子生物学 / 田余祥, 秦宜德主编. —北京: 科学出版社, 2013. 6
中国科学院教材建设专家委员会规划教材 · 全国高等医药院校规划教材
ISBN 978-7-03-037955-9

I. 医… II. ①田… ②秦… III. 医学-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(2013)第 135980 号

责任编辑:周万灏 杨鹏远 / 责任校对:陈玉凤

责任印制:肖 兴 / 封面设计:范璧合

版权所有, 违者必究。未经本社许可, 数字图书馆不得使用

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>

新科印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2013 年 6 月第 一 版 开本:850×1168 1/16

2013 年 6 月第一次印刷 印张:22

字数:669 000

定价:59.80 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前 言

分子生物学是生命科学发展中最重要的前沿领域,它是一门发展十分迅猛的学科,从其诞生到现在的数十年里,分子生物学研究已经取得了诸多令人振奋和瞩目的巨大成就,分子生物学理论和技术已经深入到生命科学研究的各个领域和各个层面,成为带动其他学科发展的动力。医学分子生物学是分子生物学的一个重要分支,它是在分子水平上研究人体在正常及疾病状态下生命活动及其规律的一门学科。因此,对于相关领域的研究工作者来说,掌握足够的分子生物学知识与技术是开展好科学研究工作不可或缺的基础。

为培养创新型人才的需要,适应和满足我国长学制和研究生教育,同时也兼顾本科生教育,我们特邀请了14所院校的19位富有教学经验和研究成果的教授和副教授参加了本教材的编写工作。为了便于学生自学,全书力求语言流畅、图文并茂。本教材参考了部分国内外相关教材和研究文献,在坚持“基础理论、基本知识和基本技能”的基础上,突出新进展,希望通过对基本理论、技术原理的介绍、机体正常和异常状态下细胞活动的分子机制的探讨,为学生及从事相关研究的工作者提供一个有效的知识平台。

本教材分为四篇,共十九章。第一篇主要介绍遗传物质的结构基础,包括核酸的结构与功能和DNA重组与转座;第二篇集中介绍遗传信息的传递及其调控,包括基因组的复制、DNA损伤与修复、基因转录和翻译;第三篇为分子生物学常用的方法与技术,着重介绍这些方法与技术的原理,包括核酸的研究方法与原理、蛋白质的研究方法与原理、基因工程原理,以及基因结构与功能的分析方法与原理;第四篇为专题篇,撷取了几个人们普遍关注的重要专题,较详细地阐述这些专题的分子机制,如细胞间与细胞信号转导的分子机制、细胞增殖与分化的分子机制、细胞凋亡的分子机制、衰老的分子机制、肿瘤发生发展与转移的分子机制。鉴于“组学”和生物信息学在生命研究领域的重要性,因此也在第四篇中一并讨论。

本书编写过程中,得到了科学出版社的关心和鼎力支持,得到了各参编院校的支持与鼓励,以及武汉大学和新疆医科大学在本教材召开编委会和定稿会过程中给予的大力支持,在此一并表示衷心感谢。

鉴于分子生物学的进展十分迅速,所涉及的文献浩如烟海,限于本书的篇幅和编者的水平,难免有不足之处,热切希望专家、使用本书的师生和其他读者指正。

田余祥 秦宜德
2012年10月

目 录

绪论	(1)	第八章 基因表达调控	(115)
第一篇 遗传物质的结构基础		第一节 概述	(115)
第一章 核酸的结构与功能	(7)	第二节 原核生物的基因表达调控	(117)
第一节 核酸的化学组成	(7)	第三节 真核生物的基因表达调控	(125)
第二节 DNA 的空间结构与功能	(10)	第三篇 分子生物学常用方法与技术	
第三节 RNA 的结构与功能	(13)	第九章 核酸的研究方法与原理	(137)
第四节 核酸的理化性质	(16)	第一节 核酸的制备及质量鉴定	(137)
第二章 基因与基因组	(19)	第二节 核酸电泳技术	(140)
第一节 基因	(19)	第三节 核酸分子杂交技术	(141)
第二节 基因组	(26)	第四节 聚合酶链反应	(146)
第三章 DNA 重组与转座	(31)	第五节 DNA 测序技术	(154)
第一节 同源重组	(31)	第六节 基因失活技术	(159)
第二节 位点特异性重组	(35)	第十章 蛋白质的研究方法与原理	(165)
第三节 DNA 转座	(37)	第一节 概述	(165)
第二篇 遗传信息的传递及其调控		第二节 蛋白质的分离与纯化技术	(165)
第四章 基因组的复制	(43)	第三节 蛋白质含量的测定方法	(173)
第一节 DNA 复制的基本特征	(43)	第四节 蛋白质结构分析方法	(174)
第二节 参与 DNA 复制的酶和蛋白因子	(45)	第五节 蛋白质功能分析方法	(181)
第三节 原核生物基因组的复制	(49)	第十一章 基因工程原理	(185)
第四节 真核生物基因组的复制	(51)	第一节 概述	(185)
第五节 病毒基因组的复制	(55)	第二节 基因工程中常用的工具酶	(185)
第五章 DNA 损伤与修复	(60)	第三节 基因工程中常用的载体	(189)
第一节 DNA 损伤	(60)	第四节 基因工程的基本过程	(195)
第二节 DNA 损伤的修复	(63)	第五节 克隆基因的表达	(200)
第三节 DNA 损伤应答或修复缺陷与疾病	(68)	第十二章 基因结构与功能分析的方法与原理	(203)
第六章 基因表达(I)——转录	(71)	第一节 基因结构与功能的生物信息学分析原理	(203)
第一节 RNA 聚合酶和转录模板	(71)	第二节 基因启动子及调控序列的结构分析方法	(206)
第二节 原核生物的转录过程	(75)	第三节 基因编码区结构分析方法	(211)
第三节 真核生物的转录过程	(78)	第四节 基因功能分析方法	(213)
第四节 初级转录产物的加工修饰	(80)	第四篇 专题篇	
第五节 RNA 复制	(89)	第十三章 细胞间通讯与细胞信号转导的分子机制	(223)
第七章 基因表达(II)——翻译	(92)	第一节 细胞间通讯概述	(223)
第一节 翻译的体系	(92)	第二节 细胞信号转导分子	(225)
第二节 原核生物的翻译过程	(96)	第三节 细胞信号转导通路	(234)
第三节 真核生物的翻译过程	(100)		
第四节 翻译后产物的加工和靶向输送	(102)		
第五节 蛋白质结构及定位异常与疾病	(111)		

第四节	细胞信号转导与医学	(239)	第二节	衰老与长寿相关基因	(271)
第十四章	细胞增殖与分化的分子机制	(242)	第三节	端粒 DNA 与衰老	(275)
第一节	细胞增殖的分子机制	(242)	第四节	线粒体 DNA 与衰老	(278)
第二节	细胞分化的分子机制	(249)	第十七章	肿瘤发生与转移的分子机制	(282)
第三节	干细胞分化的分子机制	(252)	第一节	癌基因、抑癌基因和生长因子	(282)
第十五章	细胞凋亡的分子机制	(256)	第二节	肿瘤发生的分子机制	(292)
第一节	概述	(256)	第三节	肿瘤侵袭与转移的分子机制	(295)
第二节	细胞凋亡相关蛋白	(258)	第十八章	基因诊断与基因治疗	(301)
第三节	细胞凋亡途径	(261)	第一节	基因诊断	(301)
第四节	细胞凋亡与疾病	(265)	第二节	基因治疗	(308)
第五节	细胞死亡的其他方式	(266)	第十九章	组学与生物信息学	(315)
第十六章	衰老的分子机制	(268)	第一节	组学	(315)
第一节	概述	(268)	第二节	生物信息学	(328)
参考文献		(337)			
中英对照名词索引		(339)			

3. 细胞信号转导的分子机制 细胞以多种方式感受内、外环境信号的刺激,并对这些信号进行加工、放大和整合,使细胞的代谢、基因表达、细胞分裂与分化等发生改变,随时适应个体与环境的统一。1957年,美国生理学家 Sutherland 在肝匀浆中首先发现 cAMP,又于 1965 年首先创立第二信使学说。20 世纪 70 年代后期,美国科学家 Gilman 和 Ross 证实和纯化了激活腺苷酸环化酶的 G 蛋白,深化了 G 蛋白偶联信号转导的认识。后来人们发现细胞内有着多种信号转导通路,这些通路形成交互对话的网络系统。因此,细胞信号转导的分子机制研究是分子生物学研究的最热点领域之一。

4. 细胞增殖与分化的分子机制 细胞增殖是由于细胞生长和分裂而导致的细胞数目的增加,是个体生长发育的重要过程之一。细胞周期是细胞增殖的必经之路。细胞分化是指同一起来源的细胞逐渐发生各自特有的形态结构、生理功能和蛋白质合成等的过程。细胞增殖与分化涉及许多基因的表达变化和信号转导途径。

5. 细胞凋亡的分子机制 细胞凋亡是机体为维持内环境稳定,由基因控制的细胞自主的有序死亡。细胞凋亡大多为生理性死亡,是细胞衰老过程中细胞功能逐渐减退的结果。1972 年,英国病理学教授 Kerr 第一次提出细胞凋亡的概念。细胞凋亡也涉及不同信号转导途径的调控。随着人们对于促进凋亡和抗凋亡基因的不断发现及其功能的研究,使得在认识凋亡发生和调控机制方面更加深入。

6. 衰老的分子机制 衰老是生物体达到生殖成熟后在各个水平表现出来的随机的全身性的紊乱状态。目前,研究者们对于衰老的机制提出了多种学说,如程序衰老学说、错误成灾学说、自由基学说、细胞凋亡学说和端粒(与端粒酶)学说等。一些研究已经揭示,衰老过程受特定基因的控制。从古至今,人们都希望健康长寿,因此从分子水平上探讨衰老的分子机制无疑对于延缓人们的寿命有着重大的实际意义。

7. 肿瘤发生与转移的分子机制 肿瘤是单细胞起源的一种体细胞遗传病,从分子水平上来看,是由于致癌因子对细胞 DNA 造成损伤,使细胞基因的结构、表达或表达产物的功能发生改变。

8. 分子生物学技术 分子生物学是一门实验科学,它的一切研究成果都是建立在运用各种分子生物学技术的实验基础之上。这些技术包括核酸和蛋白质的分离纯化技术、杂交技术、序列分析和体外合成技术、基因重组技术、基因打靶技术、生物芯片、基因结构与功能以及蛋白质结构与功能分析技术等。正是这些技术的建立与发展和新型仪器的不断涌现,在加快分子生物学领域发展的同时,也带动了其他学科的发展。分子生物学已成为生命科学与医学的“共同语言”,而分子生物学技术也成为生命科学与医学研究的“通用技术”。

三、分子生物学发展简史

分子生物学的发展大致可分为三个阶段:孕育阶段、创立阶段和发展阶段。

1. 孕育阶段 分子生物学的孕育阶段大约从 1864 年至 1952 年。这一阶段在对生命本质认识上的重大突破之一是确定了生物遗传的物质基础是 DNA。

被誉为现代遗传学之父的 Gregor Johann Mendel 在 1856~1864 通过 8 年的豌豆杂交实验,揭示出遗传学的两个基本规律——基因的分离定律和自由组合定律,并于 1865 年发表了《植物杂交试验》的论文,提出了遗传单位是遗传因子(现代遗传学称为基因)的论点,为遗传学的诞生和发展奠定了坚实的基础。1868 年,瑞士年轻科学家 Friedrich Miescher 从脓细胞中分离出一种含磷量高达 30% 的酸性物质,并称其为“核素”(nuclein),即现在的脱氧核糖核蛋白。1902 年美国哥伦比亚大学的 Walter Stanborough Sutton 在研究蚱蜢的精子发生时,发现染色体在减数分裂时的行为与孟德尔遗传因子的分离、组合之间存在平行关系,提出染色体遗传学说,认为基因是染色体的一部分。1909 年丹麦生物学家 Wilhelm Ludwig Johannsen 将这种遗传单位命名为基因,提出基因型和表型的概念。1910 年美国生物学家 Thomas Hunt Morgan 用果蝇做了大量试验,提出了遗传因子位于染色体上的染色体遗传学说,证明基因存在于染色体上,创立了基因学说。1926 年, Morgan 在《基因论》中提出:①基因是携带遗传信息的基本单位;②基因又是控制特定性状的功能单位;③基因也是突变和交换的单位。1944 年美国细菌学家 Oswald Theodore Avery 及其同事通过肺炎球菌转化实验证明了 DNA 是遗传物质。1950 年前后,美国生物化学 Erwin Chargaff 等人采用纸层析及紫外吸收技术测定了多种生物体 DNA 的碱基组成,总结出 Erwin Chargaff 原则,预示着碱基互补配对的可能性,即 A 与 T 配对, G 与 C 配对。1951 年英国女物理学家 Rosalind Franklin 拍到 DNA 的 X 衍射照片,显示 DNA 是螺旋形分子。DNA 从密度上也提示为双链分子。

2. 创立阶段 分子生物学的创立阶段大致是从 1953 年至 70 年代初。1953 年美国科学家 James Watson 和英国科学家 Francis Crick 提出了 DNA 的双螺旋结构模型。该模型的提出是 20 世纪自然科学的重大突破之一,是核酸研究的里程碑,从此揭开了现代分子生物学的序幕。

在提出 DNA 双螺旋结构模型的同时, Watson 和 Crick 就提出 DNA 复制的半保留方式。其后在 1956 年, A. Kornberg 首先发现 DNA 聚合酶; 1958 年 Meselson 和 Stahl 利用¹⁵N 标记大肠埃希菌 DNA, 证明了 DNA 半保留复制方式。1968 年 Okazaki 提出 DNA 不连续复制模型; 1972 年证实了 DNA 复制开始需要 RNA 作为引物; 20 世纪 70 年代初获得 DNA 拓扑异构酶, 并对真核 DNA 聚合酶特性做了分析研究; 这些都逐渐完善了对 DNA 复制机制的认识。

1958 年 Crick 建立遗传信息传递的中心法则, Weiss 及 Hurwitz 等发现依赖于 DNA 的 RNA 聚合酶; 1961 年 Hall 和 Spiegelman 用 RNA-DNA 杂交证明 mRNA 与 DNA 序列互补, 逐步阐明了 RNA 转录合成的机制。

1957 年 Hoagland、Zamecnik 及 Stephenson 等分离出 tRNA, 并对它们在蛋白质合成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 与核蛋白体的结合。特别是在 20 世纪 60 年代 Nirenberg、Ochoa 以及 Khorana 等几组科学家的共同努力下破译了 mRNA 上编码合成蛋白质的遗传密码, 随后研究表明这套遗传密码在生物界具有通用性, 从而认识了蛋白质翻译合成的基本过程。

1970 年 Temin 和 Baltimore 又同时从致癌的 RNA 病毒颗粒中发现了以 RNA 为模板合成 DNA 的反转录酶, 进一步补充和完善了遗传信息传递的中心法则。

3. 发展阶段 这一阶段开始于 20 世纪 70 年代初。1972 年美国的分子生物学家 Paul Berg 等将动物病毒 SV40 的 DNA 与噬菌体 P22 的 DNA 连接在一起, 首次构建了重组体 DNA 分子。1973 年美国分子生物学家 Stanley Norman Cohen 等又将几种不同的外源 DNA 插入质粒 pSC101 的 DNA 中, 并进一步将它们引入大肠埃希菌中, 从而开创了遗传工程的研究。DNA 重组技术的建立与发展, 使人们进入了改造物种的新时代。

1976 年 Boyer 等成功地利用 DNA 重组生产出人的生长激素, 1978 年美国科学家 Ullrich 等报道了胰岛素在大肠埃希菌中表达成功, 成为最早在微生物中被表达的哺乳动物蛋白质之一。人胰岛素是第一个被投放市场的生物工程蛋白质药物。1980 年美国 and 瑞士科学家利用 DNA 重组技术生产出干扰素, 从此引发了基因工程的工业化热潮, 现代生物工程由此崛起, 如细胞工程、酶工程、发酵工程、蛋白质工程等。

1981 年美国科学家 Palmiter 等将克隆的生长激素基因注射到小鼠受精卵细胞核内, 培育出比原小鼠个体大几倍的“超级鼠”, 激起了人们创造优良品系家畜的热情。1983 年美国生物化学家 Kary B. Mullis 发明了聚合酶链反应 (PCR), 使得从极微量的样品中大量扩增出 DNA 分子, 广泛应用于基因工程中, 并成为疾病基因诊断的一种重要手段。1997 年 2 月, 克隆羊多莉诞生于英国英格兰首府爱丁堡市罗斯林生物研究所, 克隆羊的诞生打破了传统的两性生殖的传统观念, 无疑是对人类生殖的重大冲击。2003 年 4 月 15 日, 历经 13 年的人类基因组计划完成了人类基因组序列图, 揭示着人类生、老、病、死的遗传信息, 推动了医学的发展, 使人们对疾病的发生、发展、诊断、治疗及预防等提出了全新的诠释, 同时也推动了生物界的革命, 产生了基因经济。随之有了基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学、RNA 组学、生物信息学等。Craig Venter 等人在 2010 成功将人工合成的一种名为蕈状支原体的 DNA 植入另一个内部被掏空的、名为山羊支原体体内, 使植入人造 DNA 的支原体重新获得生命。

分子生物学理论和技术的迅猛发展, 给现代医学带来了日新月异的变化。分子生物学、生物技术和生物医学工程相结合, 推动了医学各个领域的全面发展, 使医学在一个更高的水平——分子水平来探讨生命现象和认识疾病的本质, 并使医学进入了一个崭新的“分子医学”(molecular medicine)时代。因此, 无论是基础研究还是临床研究与应用, 医学的各个学科都迫不及待的从分子生物学的发展中汲取养料、借鉴方法, 谋求自我发展。

(田余祥 秦宜德)

第一篇 遗传物质的结构基础

生物性状和生命特征为什么能代代相传？相传的生物性状为什么可以改变？控制生物性状的物质基础是什么？为此，阐释遗传物质的结构基础就成为本篇的主要内容，包括核酸的结构与功能、基因与基因组、DNA 转座与重组的相关知识。这些知识不仅是分子生物学的最基本内容，更是揭示遗传信息复制、传递的物质基础。

核酸是生物体内重要的生物大分子之一。天然存在的核酸有两类，一类是脱氧核糖核酸(DNA)，另一类是核糖核酸(RNA)，它们均是由核苷酸通过3',5'磷酸二酯键连接而成。因此，核苷酸的排列顺序就构成了它们的一级结构，而遗传信息就蕴藏在核苷酸的排列顺序中。在一级结构的基础上，核酸分子进一步形成其特有的空间结构，因而也就决定了其各自的理化性质与功能。

基因是储存在核酸分子中的遗传单位，是控制生物性状的实体。因此了解基因的组构有助于理解基因的表达调控机制。原核生物中功能相关的结构基因多以操纵子形式存在，真核生物的结构基因中存在着间隔排列的内含子与外显子。基因组是指一个细胞或病毒颗粒所含 DNA 的全部序列(包括编码序列和非编码序列)，即遗传物质的总量。从遗传学角度来看，对于二倍体的生物来说，能维持配子体(生殖细胞)正常功能的最低数目的一套染色体即构成一个基因组。当然，原核生物、真核生物及病毒基因组各有不同的结构特点。

在自然界，生物广泛存在着 DNA 的转座与重组。基因重组是遗传的基本现象，普遍存在于病毒、原核生物和真核生物。基因重组会产生新的基因型。随着人们对于 DNA 结构与功能、基因的组构、自然重组现象研究的深入，人们能在实验室中构建 DNA 重组体，出现了基因工程。

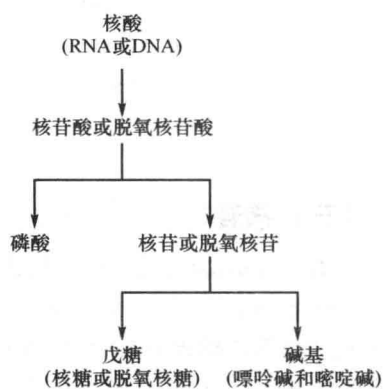
本篇围绕核酸的结构与功能、基因与基因组和 DNA 重组与转座等 3 章内容进行学习，为深入学习后续章节奠定坚实的基础。

第一章 核酸的结构与功能

核酸(nucleic acid)是一类含磷的生物信息大分子,为生命的最基本物质之一。依据化学组成的不同可将核酸分为核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)和脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)。DNA 是遗传信息的载体,是保持物种进化和世代繁衍的物质基础,也是个体生命活动的信息基础。RNA 是遗传信息的传递者,主要功能是参与蛋白质的合成。无论动物、植物还是微生物细胞中都含有 DNA 和 RNA,它们约占细胞干重的 5%~15%。人类 DNA 分子的大小约 30 亿个碱基对,而 RNA 分子比 DNA 小得多,一般由数十至数千个单核苷酸相连而成。核酸常与蛋白质结合形成核蛋白。核酸不仅决定生物体遗传特征,担负着生命信息的储存和传递,而且在生长、遗传、变异等一系列重大生命现象中起决定性的作用。

第一节 核酸的化学组成

核酸分子的元素组成为 C、H、O、N 和 P,其中 P 元素的含量较恒定,约占 9%~10%。因此,核酸定量测定的经典方法,是以测定 P 含量来代表核酸量。核酸由多个核苷酸连接而成,所以核酸又称多聚核苷酸(polynucleotide)。为区别多、寡核苷酸,核苷酸也称为单核苷酸。核酸完全水解可释放出等摩尔量的含氮碱基、戊糖(脱氧戊糖)和磷酸,三种成分以共价键依次连接而成。



一、核苷酸

组成 DNA 的基本单位是四种脱氧核苷酸(deoxy nucleotide),而组成 RNA 的基本单位是四种核苷酸(nucleotide)。

(一) 碱基

核酸中的碱基分别属于嘌呤(purine)和嘧啶(pyrimidine)两类含氮杂环化合物(图 1-1)。常见的嘌呤包括腺嘌呤(adenine, A)和鸟嘌呤(guanine, G),为 DNA、RNA 共有成分。常见的嘧啶包括胞嘧啶(cytosine, C)、尿嘧啶(uracil, U)和胸腺嘧啶(thymine, T),其中 C 存在于 DNA 和 RNA 分子中, T 存在于 DNA 分子中,而 U 仅存在于 RNA 分子中,为其特有的碱基。即 DNA 分子中的碱基成分为 A、G、C 和 T;而 RNA 分子则主要由 A、G、C 和 U 四种碱基组成。

核酸中除了这五种基本的碱基外,还有一些含量甚少的碱基,称为稀有碱基(rare base)。稀有碱基种类繁多,大多数都是上述碱基甲基化的衍生物。tRNA 中含有较多的稀有碱基,可高达 10%。部分稀有碱基的种类与结构见表 1-1 和图 1-2。

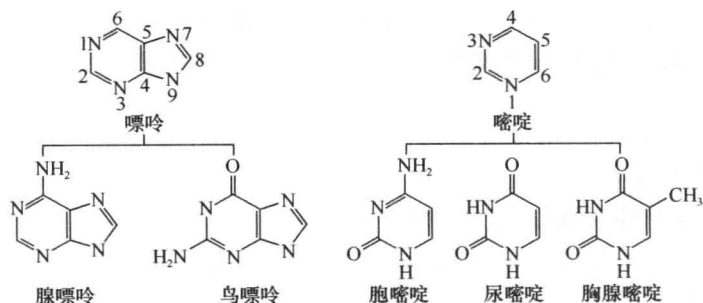


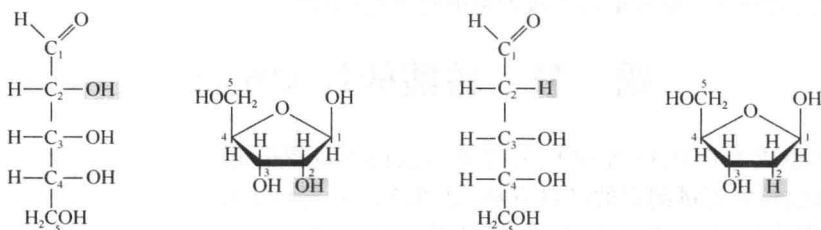
图 1-1 组成核酸的主要碱基的结构

表 1-1 核酸中部分稀有碱基

DNA	RNA
嘌呤 7-甲基鸟嘌呤(m^7G)	N^6, N^6 -二甲基腺嘌呤(N^6, N^6 -2 m^6A)
N^6 -甲基腺嘌呤(N^6 - m^6A)	N^6 -甲基腺嘌呤(N^6 - m^6A)
	7-甲基鸟嘌呤(m^7G)
嘧啶 5-甲基胞嘧啶(m^5C)	二氢尿嘧啶(DHU)
5-羟甲基胞嘧啶(hm^5C)	胸腺嘧啶(T)



图 1-2 部分稀有碱基结构

图 1-3 β -D-核糖和 β -D-2'-脱氧核糖的结构

(二) 戊糖

参与组成核酸分子骨架的戊糖有两种,即 β -D-核糖(ribose)与 β -D-2'-脱氧核糖(deoxyribose)。为有别于碱基的编号,戊糖的碳原子标以 C-1'、C-2'、...C-5' (图 1-3)。核酸按其分子中所含戊糖的不同,分为核糖核酸(β -D-核糖)和脱氧核糖核酸(β -D-2'-脱氧核糖)两大类,它们的差别仅在于 C-2' 原子所连接的基团不同。RNA 分子中的戊糖在 C-2' 连有 1 个羟基,正是这种结构差异使得 RNA 分子较 DNA 更易产生自发水解,化学性质不如 DNA 分子稳定。

(三) 核苷

核苷(nucleoside)是由戊糖和碱基通过 β -N-糖苷键(N -glycosidic bond)连接而成,即嘌呤碱的第 9 位氮原子(N-9)或嘧啶碱的第 1 位氮原子(N-1)与核糖或脱氧核糖的 C-1' 脱水缩合相连(图 1-4)。由核糖与碱基形成的核苷称为核糖核苷,简称核苷;由脱氧核糖与碱基形成的核苷称为脱氧核糖核苷,简称脱氧核苷(deoxy nucleoside)。核苷的命名是在其前面加上相应碱基的名字,如腺嘌呤核苷(简称腺苷)、胸腺嘧啶脱氧核苷(简称脱氧胸苷)等。另外核酸中还含有少数稀有碱基构成的核苷,如 tRNA 中的假尿嘧啶核苷(Ψ),它的核糖 C-1' 与尿嘧啶的 C-5' 相连,而不是与通常的 N-1 相连。

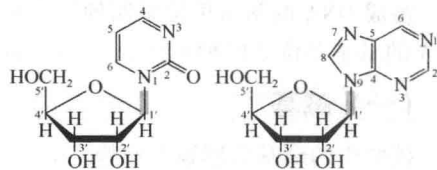


图 1-4 核苷的结构

(四) 核苷酸

核苷酸由核苷和磷酸通过磷酸酯键连接形成,是核苷的磷酸酯。整个分子的酸性源自磷酸基团。酯化可以发生在核苷的任意游离羟基上,核糖核苷的糖基上有三个自由羟基,故磷酸能分别与之形成 2'、3' 或 5'-三种核苷酸;脱氧核糖核苷的糖基上只有两个自由羟基,所以只能形成 3' 或 5'-脱氧核苷酸,生物体内游离存在的多是 5'-核苷酸。结合一个磷酸基的核苷酸称为核苷一磷酸(NMP),如腺苷一磷酸(简称腺苷酸,AMP)、鸟苷一磷酸(简称鸟苷酸,GMP)、胞苷一磷酸(简称胞苷酸,CMP)和尿苷一磷酸(简称尿苷酸,UMP)。在脱氧核苷酸的前面加“d”代表脱氧,如脱氧腺苷酸(dAMP)、脱氧鸟苷酸(dGMP)、脱氧胞苷酸(dCMP)和脱氧胸苷酸(dTMP)。

在体内,腺苷一磷酸还可与二个甚至三个磷酸基结合,形成游离的核苷二磷酸(NDP)或核苷三磷酸(NTP)。从核苷最近的位置开始,三个磷原子分别以 α 、 β 和 γ 标记。

核苷酸在体内除构成核酸外,还具有多种生物学功能,如常见的三磷酸腺苷(ATP),它作为能量的通用载体在生物体的能量转换中起核心作用;UTP、GTP 和 CTP 则在某些专门的生化反应中起传递能量的作用。另外,各种三磷酸核苷及脱氧三磷酸核苷是合成 RNA 与 DNA 的活性物质。核苷酸还可环化形成 3',5'-环腺苷酸(cAMP)或 3',5'-环鸟苷酸(cGMP),它们作为第二信使,在细胞信号转导过程中发挥重要的调控作用。核苷酸亦是某些重要辅酶的组成成分,如辅酶 A 含腺苷-3',5'-二磷酸,辅酶 I 含有 AMP,辅酶 II 含腺苷-2',5'-二磷酸等。图 1-5 为几种核苷酸的化学结构。

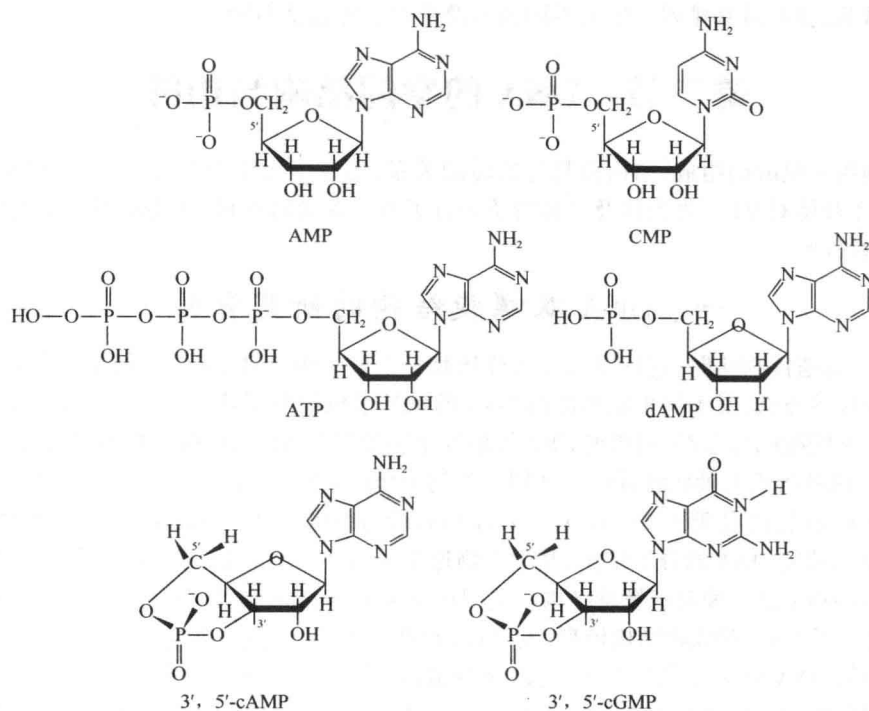


图 1-5 不同类型核苷酸的化学结构

二、核酸的一级结构

核酸是由数量众多的核苷酸通过 3',5'-磷酸二酯键连接而成的生物大分子,无分支结构。核酸的一级结构(primary structure)是指核苷酸或脱氧核苷酸的排列顺序,由于四种核苷酸间的差异主要是碱基不同,因此也称为碱基序列。DNA 是由脱氧核苷酸为基本单位聚合而成,脱氧核糖分子中 3'和 5'有两个自由羟基,由此相邻的两个脱氧核苷酸形成 3',5'-磷酸二酯键,RNA 分子中核糖虽然有 2',3'和 5'三个自由羟基,但是相邻的两个核苷酸也是以 3',5'-磷酸二酯键连接。线性多聚核苷酸链有两个游离的末端,分别称为 5'末端(磷酸基)和 3'末端(羟基)。可见,多聚核苷酸链具有方向性,即 5'→3'。

多聚核苷酸的结构书写采用自左至右按碱基顺序排列的方式,通常左侧标记为 5'末端,右侧为 3'末端,或更简化为仅写出自左至右的碱基顺序,核苷酸连接的方向性及书写方式从繁到简(图 1-6)。

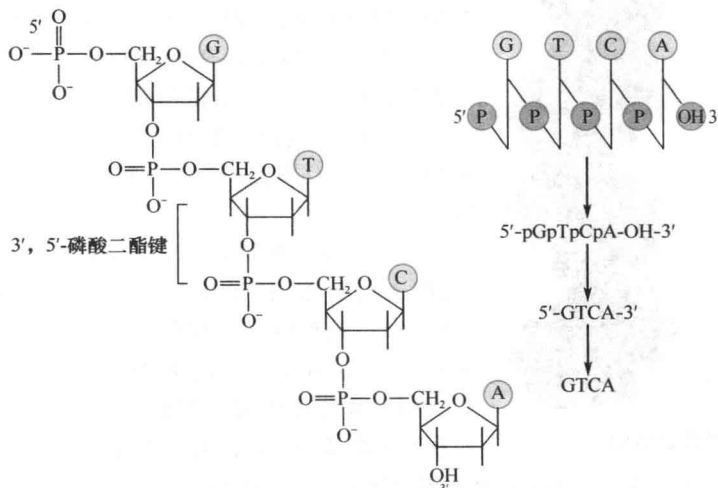


图 1-6 核酸一级结构及其书写方式

核酸分子的大小常用碱基数目(base, kilobase, 用于单链 DNA 和 RNA)或碱基对数目(base pair, bp 或 kilobase pair, kb, 用于双链 DNA)表示。小的核酸片段(<50bp)常被称为寡核苷酸。自然界 DNA 和 RNA 的长度

在几十至几万个碱基之间,碱基排列顺序的不同表示携带的遗传信息不同。

第二节 DNA 的空间结构与功能

从发现核酸到揭示核酸的组成、结构及其与遗传的关系,历经了大半个世纪。直到 1953 年,DNA 双螺旋结构被阐明,人们才开始对基因、染色体及遗传物质等有了真正意义的理解,并逐步揭示了它们在控制遗传性状中的重要作用与机制。

一、DNA 双螺旋结构的研究背景

当发现 DNA 就是遗传物质时,它的结构怎么样还是一个谜。1952 年,美国生物化学家 E. Chargaff 等人采用纸层析和紫外吸收等方法,对不同生物来源的 DNA 的碱基组成进行了测定分析。总结出如下规律:①腺嘌呤的摩尔数等于胸腺嘧啶的摩尔数,鸟嘌呤的摩尔数等于胞嘧啶的摩尔数,即嘌呤碱的摩尔数等于嘧啶碱的摩尔数。②DNA 的碱基组成有种属特异性。③同一生物个体的 DNA 碱基组成没有组织器官特异性。以上规律被称之为 Chargaff 规则,该规则已预示着 A 与 T、G 与 C 配对的可能性。与此同时,英国物理学家 M. Wilkins 等人用 X 线衍射技术研究 DNA 的分子结构,其中女物理学家 R. Franklin 拍摄到了一张十分清晰的 DNA 的 X 线衍射照片,预示着 DNA 是一种双链螺旋结构。美国科学家 J. Watson 和英国科学家 F. Crick 在上述研究的基础上,于 1953 年提出了 DNA 双螺旋结构模型,发表在《自然》杂志上。同一期的《自然》杂志还发表了 Franklin 拍摄到的非常清晰的 DNA 的 X 射线衍射图像,以及 Wilkins 的 DNA 的 X 射线衍射数据。这个划时代的发现是生物学研究的里程碑,是 20 世纪最伟大的发现之一。为此,Watson、Crick 和 Wilkins 分享了 1962 年的诺贝尔生理学/医学奖。

DNA 双螺旋结构模型的建立宣告了分子生物学的诞生,标志着人类对生命的研究进入了崭新阶段。正是破译了 DNA 的结构,生物学各个领域的研究都随之发生了巨大的变化,人类开始真正具备了驾驭生命的本领。1989 年,美国科学家用“扫描隧道显微镜”直接观察到了脱氧核糖核酸的双螺旋结构。1990 年,我国青年科学家白春礼用自己研制的“扫描隧道显微镜”首次观察到人们尚未认知的三链脱氧核糖核酸,为生命信息研究又辟新途。

二、DNA 的二级结构—双螺旋结构

1. DNA 双螺旋结构的特点

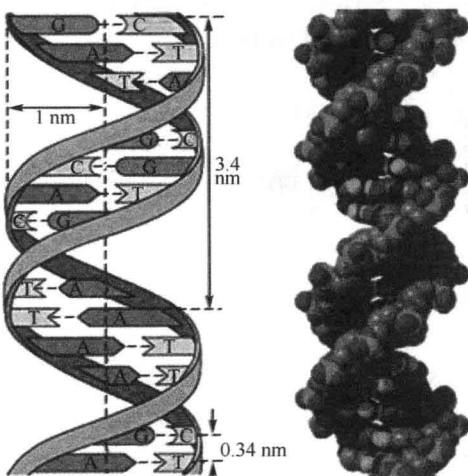


图 1-7 DNA 双螺旋结构

(1) DNA 分子是由两条多聚脱氧核苷酸链围绕同一中心轴盘曲而成的右手双螺旋(right-handed double helix)结构(图 1-7),两条链呈反向平行,即一条链 5'→3'的走向与另一条链 5'→3'的走向相对而行,这是由于脱氧核苷酸连接过程中严格的方向性和碱基结构对氢键形成的限制共同决定的。

(2) DNA 链的骨架由交替出现的亲水性脱氧核糖基和磷酸基构成,位于双螺旋结构的外侧,而疏水性碱基配对位于双螺旋的内侧。

(3) 两条多聚脱氧核苷酸链以碱基之间形成氢键配对而相连,即 A 与 T 配对,形成 2 个氢键,G 与 C 配对,形成 3 个氢键(图 1-8)。这种碱基之间的关系称为碱基配对(base pairing)或碱基互补,DNA 分子中两条链则互为互补链。

(4) 碱基对平面与螺旋轴几乎垂直,相邻碱基对平面之间的垂直距离为 0.34nm,每个螺旋结构含有 10 对碱基,双螺旋结构的

直径为 2.0nm。DNA 两股链之间的螺旋形成凹槽:一条浅的叫小沟(minor groove),一条深的叫大沟(major groove)。大沟是蛋白质识别 DNA 的碱基序列而且发生相互作用的基础。

(5) DNA 双螺旋结构的稳定主要由互补碱基对之间的氢键和碱基堆积力来维持。横向稳定依靠两条链互补碱基间的氢键维系,纵向则靠碱基平面间的疏水性堆积力维持。碱基堆积力主要指疏水作用力,即同一条链中相邻碱基之间的非特异性作用力。疏水作用是不溶于水或难溶于水的分子,在水中具有相互靠近、成

串地结合在一起的趋势,可以使 DNA 分子层层堆积,分子内部形成疏水核心,这对 DNA 结构的稳定非常有利。

2. DNA 双螺旋结构的多样性 DNA 双螺旋结构并非刚性的,DNA 双螺旋具有结构多样性。当溶液的相对湿度和离子强度发生变化时,会出现不同构象的 DNA 双螺旋(图 1-9)。

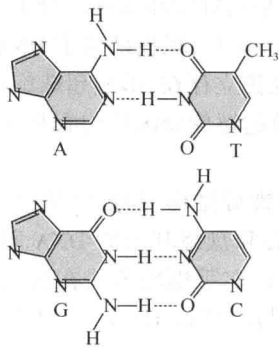


图 1-8 DNA 分子碱基配对模式

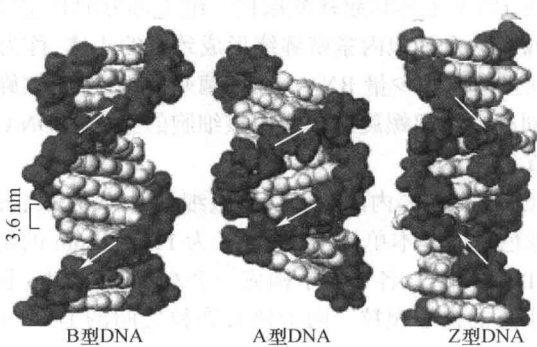


图 1-9 不同类型 DNA 双螺旋模型

Watson 和 Crick 提出的 DNA 右手双螺旋结构是相对湿度为 92% 时的 DNA 构象,即 B 型 DNA。生物体内的 DNA 几乎都是 B-DNA,它是 DNA 分子在生理条件下最稳定和最普遍的构象形式。当相对湿度为 75% 时,出现 A 型 DNA,其结构参数不同于 B-DNA。1979 年,A. Rich 等人采用 X-射线衍射方法分析了人工合成的 d (CGCGCG) 双链的晶体结构,发现该片段呈左手双螺旋结构,主链的走向呈锯齿形(zigzag),称之为 Z 型 DNA。后来证明,天然 DNA 分子中也存在 Z-DNA 区域。Z 型 DNA 可增强某些基因的转录,还有助于负超螺旋结构的打开,一些特异的调节蛋白可与之结合,因此 Z 型 DNA 可能与基因的调控有关。此外,人们还发现有 C 型 DNA 的存在。各型 DNA 双螺旋结构特征见表 1-2。

表 1-2 各型 DNA 双螺旋结构特征

构象型	A 型		B 型		C 型	Z 型
外形	晶体	线性	晶体	线性	线性	晶体
双螺旋转向	右手	右手	右手	右手	右手	左手
直径(nm)		2.6		2.0		1.8
螺旋每旋转 1 周含有的碱基对数目	10.7	11	9.7	10	9.33	12(6 个二聚体)
碱基对的螺旋度		33°		36°		60°(每个二聚体)
螺旋每旋转 1 周的长度(nm)		2.8		3.4	3.09	4.5
相邻碱基平面间的距离(nm)	0.26	0.26	0.33	0.34	0.331	0.37
碱基对平面共同轴的倾斜度		20°		6°	-8°	7°
大沟		窄且深		宽且深		平展(无大沟)
小沟		宽且浅		窄且深		窄且深

三、DNA 的高级结构

1. DNA 超螺旋结构 DNA 高级结构是指 DNA 在双螺旋结构基础上通过扭曲、折叠或压缩所形成的特定三维构象,常见的是超螺旋结构。两端开放的 DNA 双螺旋分子在溶液中以处于能量最低的状态存在,此为松弛态 DNA (relaxed DNA)。如果 DNA 分子的两端是固定的,或者是环状分子,当双螺旋缠绕过分或缠绕不足时,双螺旋由于旋转产生的额外张力就会使 DNA 分子发生扭曲以抵消张力,这种扭曲称为超螺旋(supercoil)结构(图 1-10)。如果形成超螺旋时,旋转方向与 DNA 双螺旋方向相反,旋转结果使 DNA 分子内部张力减小,称为负超螺旋结构。在自然条件下共价封闭环状 DNA 呈负超螺旋结构,反之则为正超螺旋。超螺旋的意义在于:①生物体内 DNA 结构是处于动态之中。超螺旋的引入提高了 DNA 的

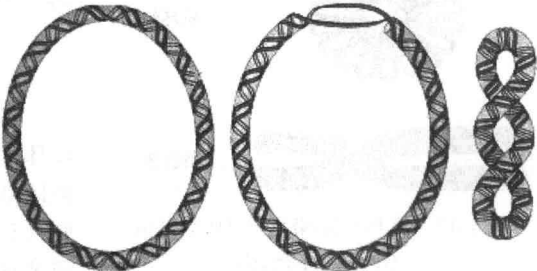


图 1-10 环状结构和 DNA 超螺旋结构

能量水平,而超螺旋程度的改变介导了 DNA 结构的变化,即超螺旋多余的能量可能使 DNA 双股链分开或局部熔解。这种结构上的变化对 DNA 分子复制和转录等的启动很重要;②超螺旋可使 DNA 分子形成高度致密的状态从而得以容纳于有限的空间。

2. 原核生物 DNA 是环状超螺旋结构 绝大部分原核生物 DNA 都是共价闭环双螺旋分子,如大肠埃希菌的 DNA 是 4639kb,它在细胞内紧密缠绕形成致密的小体,称为拟核(nucleoid),拟核结构中 DNA 约占 80%,其余为结合的碱性蛋白质和少量 RNA。在细菌基因组中,超螺旋可以相互独立存在,形成超螺旋区,各区域间的 DNA 可以有不同程度的超螺旋结构。原核细胞的染色体 DNA 形成的负超螺旋分区结构有利于基因表达时操纵子的协同调节。

3. 真核生物 DNA 在核内的组装 真核细胞 DNA 是很长的线形双螺旋结构,与蛋白质结合组成染色质。核小体是构成染色质的基本单位,它是直径为 $11\text{nm} \times 6\text{nm}$ 的组蛋白核心和盘绕其上的 DNA 所构成。核心由组蛋白 H_2A 、 H_2B 、 H_3 和 H_4 各 2 分子构成一个八聚体,146bp 长的 DNA 以左手螺旋方式在组蛋白核心上盘绕 1.75 圈形成核小体的核心颗粒。两个核心颗粒之间的 DNA(约 50bp)与组蛋白 H_1 结合,使核小体一个挨一个,彼此靠拢,犹如一串念珠(beads-on-a-string)(图 1-11)。

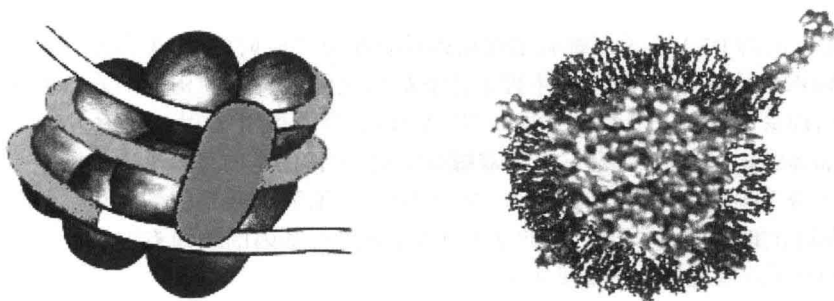


图 1-11 核小体的结构

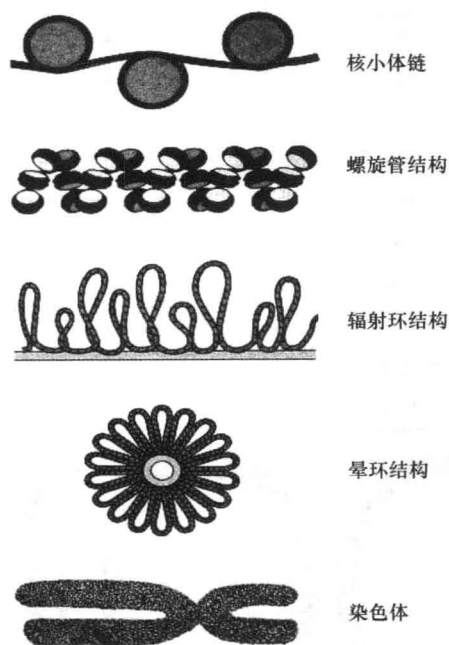


图 1-12 真核生物染色体 DNA 组装不同层次的结构

核小体链可进一步盘绕成 30nm 的染色质纤丝(chromatin fiber),每圈 6 个核小体。组蛋白 H_1 是维系这种高级结构的重要成分。纤丝并不是染色质的最终结构,在细胞分裂的中期,纤丝就像一个大的晕圈一样环绕在中心纤维蛋白质周围,此即称为辐射状结构。30nm 纤丝是染色质第二级组织,它使 DNA 压缩大约 100 倍。真核生物染色体还存在更高层次的组织,使 DNA 进一步被压缩。图 1-12 所示为一种目前比较广泛接受的组装模型,由染色质纤丝组成突环,再由突环形成玫瑰花结形状的结构,进而组装成螺旋圈,由螺旋圈再组装成染色单体(chromatid)。简言之,染色体是由 DNA 和蛋白质以及 RNA 构成的不同层次缠绕线和螺旋管结构。很可能不同物种的染色体,或是同一物种不同状态下的染色体,或是同一染色体的不同区域,其高级结构均有所不同。

四、线粒体 DNA 的结构与功能

线粒体 DNA 可为少数几个线粒体蛋白质编码,这对于维持线粒体的正常功能具有十分重要的意义。除少数低等真核生物的线粒体基因组是线状 DNA 分子(如纤毛原生动物以及绿藻等)外,一般线粒体 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)为环状双链 DNA 分子。哺乳动物的线粒体基因 DNA 排列非常紧凑,无内含子序列。人线

粒体基因组全序列长 16 569bp。现已确定线粒体 DNA 有 37 个基因。mtDNA 可以独立编码线粒体中的一些蛋白质,它是核外遗传物质。但是线粒体合成蛋白质能力有限。线粒体 1000 多种蛋白质中,自身合成的仅十余种。线粒体的核蛋白体蛋白、氨酰 tRNA 合成酶、许多结构蛋白都由核基因编码,在细胞质中合成后,定向转运到线粒体内,因此线粒体为半自主性细胞器。