

当代科技重要著作·农业领域

全国高等农业院校教材

全国高等农业院校教材指导委员会审定

分子生物学

阎隆飞 张玉麟 主编

植物与动物分子生物学

北京农业大学出版社

(京)第164号

图书在版编目 (CIP) 数据

分子生物学/阎隆飞 张玉麟主编. —北京:
北京农业大学出版社, 1993.9

全国高等农业院校教材

ISBN 7-81002-481-7

I. 分…

II. ①阎… ②张…

III. 基因-生物化学-遗传学-微生物学

IV. Q7

北京农业大学出版社发行

(北京市海淀区圆明园西路二号)

北京市海淀区东华印刷厂印刷 新华书店经销

1993年9月第1版 1993年9月第1次印刷

开本: 787×1092毫米1/16 印张: 28.5

字数: 711千字 印数: 0~2000册

定价: 13.10元

前 言

随着现代科学技术的突飞猛进, 生物科学也正经历着激烈的变化。在这一转变中, 最突出的是分子生物学渗入到生物科学的各个学科之中, 如生理学、遗传学、微生物学、细胞生物学、发育生物学等, 几乎无一例外。因此, 在各专业的研究生的教学中开设分子生物学课程, 作为有关专业的必修课或重要选修课, 对提高研究生业务水平, 至关重要。目前许多院校为生物科学及农业科学有关专业的研究生开设了分子生物学课程, 本书即是顺应这一形势而编写的。

作为一本教科书, 尤其是研究生用的教科书, 不仅要求内容新颖正确, 叙述富于启发性, 也要求能为读者指明“登堂入室”的门径。可是问题的另一面是, 分子生物学发展神速, 文献资料浩瀚, 这就增加了在有限的篇幅内全面满足这些要求的难度, 使我们不能不在取材上和体系上有所抉择和取舍。为此我们作了如下尝试: 一是突出基本理论, 使其贯穿在各章内容中, 从而使各章内容在此基础上自然形成体系; 二是理论与实验并重, 并着重介绍由现象到本质的提炼和推理; 三是在介绍分子生物学现状的同时尽可能指出其发展动向。我们这样做的目的在于希冀通过这些方式方法, 在保证基本内容完整性的同时, 能把分子生物学的基本理论、基本观点和方法介绍给读者, 而篇幅又不致过大, 这些固然是我们当初的愿望, 但书成后回顾觉得差距仍然不小。

由于分子生物学的迅猛发展, 故本书采取了专人分章执笔和集体相互审校的方式, 这一方式带来的缺点是, 各章在取材和表述格调上有时不够协调和发生重复或遗漏, 虽经集体审校, 这种痕迹仍然存在。在写作时, 我们感到的一个不易处理的问题是专用名词的翻译, 对此我们采取了三种方式: 已有统一译名的均采用全国自然科学名词审定委员会公布的《生物化学和生物物理学名词》(1990年, 科学出版社); 有译名但不统一的则采用其中较为常见的一种; 尚无译名的就根据我们的理解自拟了暂译名。

本书在取材上虽然已尽力拓展, 但在深度和广度上仍然显得不足, 疏漏也在所难免。我们在书末列出的仅是最重要的一般性参考读物, 对特定内容的参考文献都未列入, 以免挂一漏万。

我们邀请了杨礼锐、王荣臣、龚小松三位同志分别参加第九章和等十五章的编写, 特此致谢。

由于水平有限和成书仓促, 我们恳请读者对书中存在的问题、缺点和错误不吝指出, 随时告知, 以便我们在本书再版时能有机会予以改正、提高。在此, 我们对广大读者表示深切的期望和衷心的感谢。

编 者

1993年6月

目 录

第一章 绪论	(1)
第一节 分子生物学的含义.....	(1)
第二节 分子生物学发展简史.....	(1)
第三节 分子生物学在生命科学中的位置.....	(4)
第四节 分子生物学的现状和展望.....	(6)
第二章 生命的物质基础	(7)
第一节 引言.....	(7)
第二节 活机体的化学组成.....	(7)
第三节 生物分子的结构和弱键.....	(11)
第四节 生物大分子的构象和自装配.....	(15)
第五节 遗传现象.....	(20)
第三章 原核生物的生物学术特征	(27)
第一节 原核生物的特点.....	(27)
第二节 细菌的形态与结构.....	(28)
第三节 细菌的生长和繁殖.....	(32)
第四节 细菌的代谢.....	(39)
第五节 大肠杆菌的特征.....	(45)
第六节 噬菌体.....	(47)
第四章 DNA的结构	(52)
第一节 引言.....	(52)
第二节 DNA的双螺旋结构.....	(52)
第三节 左手性双螺旋DNA——Z-DNA.....	(58)
第四节 DNA的局部构象.....	(61)
第五节 DNA的变性和复性.....	(65)
第六节 超螺旋DNA.....	(67)
第七节 拓扑异构酶.....	(75)
第八节 DNA的限制图谱和序列分析.....	(77)
第五章 DNA的复制	(85)
第一节 引言.....	(85)
第二节 DNA复制的概貌.....	(85)
第三节 DNA复制所需的酶和其它蛋白质.....	(90)
第四节 DNA合成及其机构.....	(96)
第五节 复制的其它形式.....	(102)
第六节 复制的调控.....	(105)
第六章 DNA重组	(107)

第一节	引言	(107)
第二节	同源重组的机制	(108)
第三节	同源重组的模型	(112)
第四节	RecA和RecBC蛋白在同源重组中的作用	(114)
第五节	基因转换	(117)
第六节	重组修复	(118)
第七节	位点专一性重组	(119)
第八节	转座重组	(123)
第七章	DNA的突变和修复	(129)
第一节	引言	(129)
第二节	突变	(130)
第三节	诱变剂与突变	(133)
第四节	修复	(136)
第五节	DNA的突变修复和人类健康	(144)
第八章	RNA的合成	(147)
第一节	引言	(147)
第二节	原核生物 RNA 的结构及种类	(148)
第三节	RNA 酶促合成的特点	(150)
第四节	RNA聚合酶	(153)
第五节	启动子	(157)
第六节	RNA 的酶促合成	(159)
第七节	RNA 转录后的加工	(163)
第八节	真核生物 RNA 的合成	(164)
第九节	RNA 研究的进展	(169)
第九章	蛋白质的生物合成	(171)
第一节	引言	(171)
第二节	核糖体及核糖体核糖核酸结构	(171)
第三节	氨基酸的激活及氨酰 tRNA 合成酶	(183)
第四节	蛋白质合成的起始	(188)
第五节	蛋白质合成的延长	(195)
第六节	蛋白质合成的终止	(198)
第七节	多肽链的折叠	(200)
第八节	GTP 在蛋白质合成中的作用	(200)
第九节	蛋白质的分泌	(201)
第十章	遗传密码	(205)
第一节	引言	(205)
第二节	遗传密码的破译	(205)
第三节	密码的简并性与变偶假说	(211)
第四节	密码子的使用频率	(213)

第五节	起始密码子与终止密码子.....	(214)
第六节	无义与错义突变.....	(216)
第七节	抑制基因突变.....	(216)
第八节	遗传密码的通用性.....	(222)
第九节	重叠基因与重叠密码.....	(224)
第十一章	基因表达的调控	(226)
第一节	引言.....	(226)
第二节	细菌对营养的适应.....	(226)
第三节	组成蛋白与调节蛋白.....	(228)
第四节	操纵子学说.....	(229)
第五节	操纵基因的结构.....	(229)
第六节	乳糖操纵子.....	(233)
第七节	阿拉伯糖操纵子.....	(237)
第八节	热激蛋白基因表达的调节.....	(239)
第九节	氨基酸合成的操纵子.....	(240)
第十节	反义RNA对基因表达的 调 控.....	(242)
第十一节	植物基因表达的调控.....	(245)
第十二章	酵母	(255)
第一节	引言.....	(255)
第二节	酵母细胞学要点和生活周期.....	(256)
第三节	酵母染色体的结构.....	(261)
第四节	酵母的遗传系统.....	(265)
第五节	酵母基因的表达和调控.....	(274)
第六节	酵母增殖.....	(281)
第十三章	病毒	(289)
第一节	引言.....	(289)
第二节	病毒的化学组成、结构及其装配.....	(293)
第三节	病毒的侵染功能.....	(297)
第四节	病毒的复制.....	(300)
第五节	λ 噬菌体.....	(305)
第六节	T7噬菌体.....	(315)
第七节	人类反转录病毒.....	(319)
第八节	肿瘤病毒与癌基因.....	(322)
第九节	植物病毒.....	(325)
第十四章	真核生物基因组的结构和功能	(330)
第一节	引言.....	(330)
第二节	真核生物基因组的大小.....	(331)
第三节	真核生物基因组的组织结构.....	(333)
第四节	断裂基因.....	(336)

第五节	前体 RNA 的剪接机理.....	(347)
第六节	组蛋白, tRNA, rRNA 基因	(356)
第七节	基因家族.....	(359)
第八节	真核生物中的转座子.....	(366)
第九节	线粒体和叶绿体基因组.....	(369)
第十节	染色体中基因的活化.....	(380)
第十一节	真核生物转录的特点.....	(386)
第十二节	真核细胞中蛋白质的合成及输出.....	(403)
第十五章	分子生物学技术.....	(411)
第一节	引言.....	(411)
第二节	放射性同位素技术.....	(412)
第三节	核酸的提取和纯化.....	(414)
第四节	核酸的分子杂交和 DNA 的人工合成.....	(419)
第五节	目的基因的分离.....	(422)
第六节	核酸的序列分析.....	(427)
第七节	多聚酶链式反应技术及其应用.....	(434)
第八节	基因的表达和改造.....	(438)
第九节	RFLP和RAPD及其应用	(444)
	参考文献.....	(447)

第一章 绪 论

第一节 分子生物学的含义

生物学经历了一个漫长的研究历程。最早人们从研究动物和植物的形态、解剖和分类开始,以后进一步研究细胞学、遗传学、微生物学、生理学、生物化学,进入细胞水平的研究。到20世纪中叶以来,生物学以生物大分子为研究目标,分子生物学(molecular biology),开始形成了独立的学科,这是对生物界的认识不断深入的过程。

自从1840年Schleiden和Schwan证明动物和植物都是由细胞组成并提出细胞学说(cell theory)之后,细胞学的研究得到迅速发展,随之遗传学原理也得到揭示。同时生理学和生物化学也随之兴起,以细胞为主要材料,进行深入的研究,使生物学的探索进入了细胞水平。

随着物理学和化学渗入生物学的研究领域,人们对细胞的化学组成的了解日益深化,我们对构成细胞的生物大分子,主要是蛋白质及核酸在生命科学中所起的作用有了深刻的认识。Sanger利用纸层析和纸电泳技术于1953年第一次揭示出胰岛素的一级结构,开创了以后数千种蛋白质序列分析的先声。不久Perutz及Kendrew(1953)利用X-射线衍射技术解析了肌红蛋白(myoglobin)和血红蛋白(hemoglobin)的三维结构,使人们第一次能够洞察生物大分子的空间结构,从而了解这些蛋白质在运送分子氧中的特殊作用。这些研究结果使人们第一次能从分子水平了解生命物质的结构与功能。生物大分子结构与功能的研究乃成为生命科学最重要的课题。

在核酸方面随着核酸化学研究的进展,人们揭示出核酸化学的许多规律之后, Watson和Crick(1953)共同提出了脱氧核糖核酸(DNA)的双螺旋模型(double helix model),这个模型为揭开遗传信息的复制和转录的秘密铺平了道路。随后Crick又提出了中心法则(central dogma),明确了遗传信息传递的规律。从此以后核酸的分子生物学得到了异乎寻常的迅速发展,使分子生物学成为生命科学中活力最强的学科。

从广义来讲,蛋白质及核酸等生物大分子结构和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。例如,蛋白质的结构、运动和功能,酶的作用机理和动力学,膜蛋白结构功能和跨膜运输等都属于分子生物学的研究内容。

不过目前人们通常采用狭义的概念,将分子生物学的范畴偏重于核酸(或基因)的分子生物学,主要研究基因或DNA的复制、转录、表达和调节控制等过程,当然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,本书也采用狭义的概念对分子生物学的基本原理进行讲述。至于专门问题如发育分子生物学、分子免疫学等,则请读者阅读有关专著。

第二节 分子生物学发展简史

随着化学及物理学的渗透,构成生物细胞的生物大分子的结构与功能的研究日益获得突破性的进展。早在1871年Miescher从死的白细胞核中分离出脱氧核糖核酸(DNA),迄今已

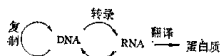
有120年的历史。到了1928年Griffith发现肺炎链球菌(*Pneumococcus*)的无毒菌株与其被杀死的有毒菌株混合,即变成致病菌株。1944年Avery等人发现从致病力强的光滑型(S型)肺炎链球菌提取的DNA能使致病力弱的粗糙型(R型)转化成S型。如果加少量DNA酶,这种转化立即消失,但加入各种蛋白水解酶则不能改变这种转化。他们的实验充分证明引起细菌遗传改变的物质为DNA。

由于核酸化学的研究进展,Chargaff(1949)从不同来源DNA测定出4种核酸碱基,即胸腺嘧啶(thymidine, T)、胞嘧啶(cytosine, C)、腺嘌呤(adenine, A)和鸟嘌呤(guanine, G)。腺嘌呤与胸腺嘧啶的量和鸟嘌呤与胞嘧啶的量并不相等,即 $(A+T)/(G+C)$ 的比值随不同来源的DNA而有所不同。他发现鸟嘌呤的量与胞嘧啶的量总是相等,腺嘌呤与胸腺嘧啶的量相等,即 $G=C, A=T$,这个规律称为Chargaff规律。与此同时Wilkins及Franklin(1950-1952)用X-射线衍射技术测定了DNA纤维的结构,它的衍射图象表明DNA有典型的螺旋结构,并且由2条以上的多核苷酸链组成。当时,Pauling(1953)曾经提出DNA分子具有三股螺旋的设想(见Nature 1953, 171:346-348)。几乎与其同时年青的Watson和Crick于1953年也在Nature杂志上提出了DNA双螺旋模型。DNA以磷酸糖链形成了双股螺旋,脱氧核糖上的碱基按Chargaff规律构成双股磷酸糖链之间的碱基对。这个模型表明DNA具有自身互补的结构,根据碱基对原则,DNA中储存的遗传信息可以精确地进行复制。他们的理论奠定了分子生物学的基础。

DNA双螺旋模型已经预示出DNA复制的规则。Kornberg于1956年在大肠杆菌(*E. coli*)的无细胞提取液中实现了DNA的合成。他从*E. coli*中分离出DNA聚合酶I(DNA polymerase I),能使4种dNTP(即dATP, dGTP, dCTP和dTTP)连接成DNA。DNA的复制需要以一个DNA作为模板。以后证明DNA的复制是一个非常复杂的过程,包含着许多种酶的参与。

DNA复制在分子生物学中是一个异常重要的问题。Meselson与Stahl(1958)用精彩的实验证明,DNA复制时DNA分子的两条链先行分开。他们用 ^{15}N 重同位素及密度梯度超速离心证明DNA复制是一种半保留复制。

Crick于1954年提出了遗传信息传递的规律,称之为中心法则:DNA是合成RNA的模板(template),RNA又是合成蛋白质的模板,即:这个中心法则对以后分子生物学的发展起了极其重要的指导作用。



由于多年的研究编码组成蛋白质的氨基酸的遗传密码得到解决,对分子生物学的发展有重要推动作用。蛋白质由20种氨基酸组成,而DNA仅由4种核苷酸构成,按照中心法则,氨基酸与核苷酸的关系如何?Yanofsky和Brenner(1961)提出了三联体(triplet)的设想,即3个碱基编码一种氨基酸。这个问题经过Nirenberg和Matthai(1963)的努力研究,编码氨基酸的遗传密码终于得到了破译。他们在无细胞系统中加入一定序列的人工合成的多核苷酸,即合成了一定序列的多肽链,充分证明编码20种氨基酸的遗传密码。

Khorana(1966)用实验证实了Nirenberg提出的遗传密码。Khorana用有机化学方法合成了多聚脱氧核糖核苷酸,并以它为模板用DNA聚合酶I合成DNA链,然后他以DNA

为模板用RNA聚合酶合成了RNA链，二者具有互补的关系。

蛋白质合成是分子生物学的重要课题，它的研究经历了很长的过程。早在1953年Zamecnik及其同事就开始在无细胞系统中利用放射性同位素标记的氨基酸研究蛋白质合成过程，发现蛋白质合成的场所为核糖体(ribosome)。他们还证明蛋白质合成需要ATP作为肽链形成的能源。氨基酸参入蛋白质之前首先要与转移RNA(tRNA)结合，它是由氨基酰合成酶(aminoacyl synthetase)催化的。在细胞总RNA中tRNA约占10%，RNA的85%存在于核糖体(rRNA)中，1960年以后利用T4噬菌体感染*E. coli*作为系统，噬菌体侵染细菌后，寄主的RNA合成被中止，只有T4DNA被转录成T4RNA，令人惊奇的是T4RNA的碱基组成与T4DNA非常相似，但它并不与rRNA结合形成核糖体。后来这种RNA携带DNA的信息转移到核糖体上合成蛋白质，故称为信使RNA(messenger RNA, mRNA)。mRNA约占总RNA的4%。继mRNA被发现之后，Hurwitz, Stevens及Weiss等人发现了RNA聚合酶，这种酶以DNA为模板利用ATP, GTP, CTP, UTP等合成RNA，这就是转录(transcription)过程。

在细胞中蛋白质合成是受到控制的，例如，*E. coli*中的 β -半乳糖苷酶(β -galactosidase)的含量就随着对它的需要而变化。当乳糖存在时它的含量就高，将乳糖分解成葡萄糖和半乳糖，而在乳糖不存在时，细菌合成的 β -半乳糖苷酶则极少。Monod和Jacob于50年代末对此问题作了详细研究，提出了操纵子学说(operon theory)，指出在操纵子中存在调节基因(regulatory gene)，它可以产生阻遏蛋白(repressor)，在乳糖不存在时阻遏蛋白就关闭结构基因，使之不能合成半乳糖苷酶。

DNA是一个长链的生物高分子，在研究DNA重组、表达质粒的构造及它的碱基序列分析之前往往需要将DNA分子切割成为较短的片段，这就需要一种酶来完成。Smith于1970年从*E. coli*中分离出第一个能切割DNA的酶。由于它能在DNA核苷酸序列的专一性位点上切割DNA分子，他将这种酶称为限制性酶(restriction enzyme)。以后很多种限制性酶陆续被分离出来，目前已有数百种限制性内切酶作为商品出售，给分子生物学研究带来极大的方便。

按照中心法则信息传递的方向是从DNA到RNA，再从RNA到蛋白质。但是RNA在反转录病毒(retrovirus)中并非如此，它们能以RNA为模板合成单链的DNA，然后再以这条ssDNA为模板合成互补DNA(complementary DNA, cDNA)。以RNA为模板催化DNA合成的酶称为反转录酶(reverse transcriptase)，它是由Temin和Baltimore首次分别发现的。现在我们可以利用反转录酶以分离得到的mRNA为模板合成cDNA，从而进行基因结构及其表达的研究。

限制性内切酶的分离成功使得重组DNA成为可能，在此以前已经发现细菌中存在DNA连接酶(DNA ligase)，它能将被限制性酶切割的DNA片段连接在一起，1972年Berg首次将不同的DNA片段连接起来，并且将这个重组的DNA分子有效地插入到细菌细胞之中，重组的DNA进行繁殖，于是产生了重组DNA的克隆(clone)。Berg是重组DNA或基因工程技术的创始人，于1980年获得了Nobel奖。

在研究分子生物学中了解DNA的核苷酸的排列顺序无疑是非常重要的，Sanger(1977)及Gilbert(1977)分别用与测定蛋白质序列截然不同的方法解决了DNA分子中碱基序列(DNA sequence)的复杂问题，Sanger采用的是酶法，而Gilbert采用化学法，他们都将

DNA分子中碱基的序列准确的测定出来,使我们对基因甚至基因组的结构得到了解。

自Summer(1936)证明酶是蛋白质以来,已有50多年的历史,人们一直认为酶是蛋白质。但是近年有一个惊人的发现,即一些RNA也具有催化功能。Cech于1986年发现四膜虫(*Tetrahymena*)的核糖体RNA能够自我剪切。mRNA中的内含子能被RNA本身的催化作用准确无误地切除。这种内含子衍生出来的RNA在特定位点催化RNA链的剪切和连接,而其自身并不被消耗,完全符合酶的性质。这种催化剂被定名为核酶(ribozyme)。这一发现使人推测在生物进化的早期可能先形成RNA,然后以RNA为模板形成DNA。DNA后来代替RNA作为遗传物质,它的双螺旋结构比RNA单链更稳定,适宜于遗传物质的存贮,而RNA在核糖体中仍保留下催化性质。

表1-1 分子生物学家获得诺贝尔奖一览表

人 名	年 代	获奖内容
Watson, J.D.	1962	DNA双螺旋结构
Crick, F.H.C.		
Wilkins, M.		
Kornberg, A.	1959	DNA的复制
Nirenberg, M.	1968	
		遗传密码的解析
Khorana, H.G.	1965	操纵子学说
Monod, J.		
Jacob, F.		
Holly, R.	1968	tRNA的结构
Temin, H.	1975	反转录酶的发现
Baltimore, D.	1980	DNA重组, DNA 序列分析
Berg, P.		
Gilbert, W.		
Sanger, F.		
Cech, T	1989	核酶(ribozyme) 的发现

由于分子生物学的研究对生命科学的发展起着巨大的推动作用,受到国际科学界的高度重视,许多位分子生物学家获得了诺贝尔化学奖或生理学奖。现在将历年来的分子生物学家获得诺贝尔奖的情况简单介绍于表1-1。

分子生物学从开始到如今只有五十多年的发展历史,在人类文明史中只是短暂的一段,却使生物学发生了巨大变化,其进展可谓极其迅猛。由于无数分子生物学家的刻苦研究,使我们现在不但能从分子水平上了解DNA的结构、复制、转录和表达的详尽过程,而且对某些重要生物如果蝇(*Drosophila*)或拟南芥(*Arabidopsis*)复杂的发展过程有了深入的了解,使生物科学进入了一个新阶段,这在过去是办不到的。上面介绍的只是分子生物学的少数重要成就,我们

不可能作全面详细介绍。关于分子生物学今后的展望,我们将在第四节加以讨论。

第三节 分子生物学在生命科学中的位置

分子生物学是从生物化学发展出来的一门学科。由于蛋白质及核酸生物化学的研究逐渐深入到这些生物大分子结构和功能的研究,物理学家利用X-射线衍射技术使蛋白质及核酸大分子的结构得到了解析,揭露出它们的三维结构,从而提出了脱氧核糖核酸(DNA)双螺旋模型。此后核酸的分子生物学得到了迅速发展,形成分子生物学一门独立的新学科。但是,分子生物学并不能与生物化学相分离,而是关系日益密切。例如,国际生物化学协会(The International Union of Biochemistry)现已改名为国际生物化学与分子生物学协会(The International Union of Biochemistry and Molecular Biology),足以表明二者的关系十分密切。此外,近年来蛋白质与DNA结合的研究日益受到重视,成为晶体学(crystallography)的重要内容,这个问题深入探讨将使分子生物学的重要机理,如复

制、转录、翻译、调控的本质得以充分阐明，亦就是蛋白质和酶究竟是如何使复杂的复制、转录及翻译过程进行的。DNA虽然可以复制，但是DNA本身却不能复制。RNA可以转录，但RNA本身却不能转录。复制和转录都是由蛋白质和酶实现的。翻译过程也是由核酸和蛋白质完成的。由此可见，核酸和蛋白质的关系是相辅相成的。

目前分子生物学的研究虽然仍以DNA重组技术为主要手段，但是愈来愈多的事实表明，蛋白质和酶的研究在分子生物学研究中的重要地位，例如研究基因的表达问题，必然涉及到基因表达的产物，也就是蛋白质和酶。而要想深刻阐明所表达的蛋白质和酶，就必须彻底了解其结构和功能。因此在分子生物学的研究中，蛋白质的纯化、一级结构、晶体的三维结构、溶液构象、光谱性质、酶的动力学等就成为必须研究的内容，这样才能对基因表达的产物作出确切的解释。

分子生物学与微生物学的关系是密不可分的。早期分子生物学研究对象都是原核生物，特别是大肠杆菌(*Escherichia coli*)。大肠杆菌的DNA和RNA及其复制、转录、翻译和调控过程我们已经了解得非常清楚，甚至我们现在用于分子生物学研究的各种质粒(plasmid)和限制性内切酶(restriction endonuclease)大都是*E. coli*中分离出来的。现在研究基因表达也往往是先用*E. coli*作为受体菌。难怪有人认为，目前的分子生物学主要是“*E. coli*的分子生物学”。当然目前分子生物学的研究对象早已不限于微生物，动物和植物的分子生物学也已取得很大进展。由于微生物学与分子生物学的结合，许多重要的微生物学课题已经达到了分子水平，如生物固氮(biological nitrogen fixation)和植物微生物相互关系(plant-microbe interaction)的机理已日渐明朗。

遗传学无疑是与分子生物学关系异常密切的学科。分子生物学的发展极大地丰富了遗传学的内容，产生了分子遗传学(molecular genetics)。分子遗传学与细胞遗传学、生化遗传学、数量遗传学、群体遗传学等，构成遗传学的重要内容，并且成为遗传学的重要部分。分子生物学极大地丰富了基因学说(gene theory)，不但大量基因的序列分析已测定清楚，而且人类基因组(human genome)的结构也作为重大课题开展了研究。

细胞生物学与分子生物学也有密切的关系。现在细胞生物学已经不限于从细胞水平研究细胞的形态结构与功能，而进一步从分子水平探讨构成细胞各种组分的基因及其表达，于是产生了分子细胞生物学(molecular cell biology)的新学科。这个学科正在蓬勃发展，将会改变细胞生物学的面貌。

发育生物学研究动植物的生长发育，是生命科学的重要内容。过去的组织学和胚胎学偏重于动植物结构和发育的形态描述。实验胚胎学虽然对生物的发育进行了细胞水平的研究，但对发育的实质难以揭示。近年来分子生物学渗入到发育生物学以后，发育生物学的面貌大为改观。现在我们已经认识到不论低等真核生物或高等生物，它们的发育都是受基因组中DNA控制的，并且按照特定的时间和空间顺序(temporal and spatial sequence)依次表达出来，从而认识生物发育过程的实质。

目前生理学的研究也与分子生物学密切结合起来，不论动物生理学或植物生理学都是如此。例如，神经系统分子生物学的研究造成神经生物学的革命性变化。乙酰胆碱受体的分离纯化和基因克隆已经完成。神经通道也已得到纯化和基因克隆。分子生物学的渗入神经科学已产生了分子神经生物学。在植物生理学方面光合作用的研究已进入分子水平。一些植物的叶绿体DNA的全序列已经完成。光合作用有关的基因如光系统I，II，电子传递链，Ru-



bisco等基因的表达调控都完成了大量研究,使光合作用进入了一个新阶级。

不仅上述学科与分子生物学有密切关系,生物科学的许多学科也都进入分子生物学的研究领域,如分子免疫学、分子药理学、分子病理学、分子分类学等等,都从分子水平进行探索,使这些学科进入更高的阶段。

第四节 分子生物学的现状和展望

展望未来,分子生物学的发展是非常令人鼓舞和乐观的。首先,分子生物学的若干理论问题,如DNA复制、转录、翻译和调控的分子机理今后将会得到进一步的详细阐明。目前DNA(或RNA)与蛋白质结合的复合物进行晶体衍射的研究正在大力开展,如DNA与阻遏蛋白复合物晶体的三维结构已得到初步解析。随着蛋白质晶体培养技术的改进(如晶体的空间生长),三维结构分辨率的提高,我们相信今后复制体(replisome)、核糖体(ribosome)等三维结构解析的成功将会使分子生物学的基本理论得到彻底阐明。

蛋白质工程技术与分子生物学相结合是使分子生物学前进的另一条途径。目前很多问题采用定点突变(site-directed mutagenesis)方法使基因结构发生改变,从而改变基因表达产物中的氨基酸残基,就有可能使我们认识蛋白质中每个氨基酸乃至每个化学基因所起的作用。

分子生物学渗入到有关学科中必将使这些学科的研究进入新的阶段。首先在发育生物学方面,生活周期短的生物的发育过程将从分子水平得以阐明。例如,果蝇、拟南芥已成为动植物发育的重点研究对象,这些生物分子发育研究进展迅速,其分子机理将会优先得到解决。实验已经证明,果蝇发育成成虫的遗传信息是编写在DNA序列中的,但是如果受精卵中的信息不能按一定顺序表达,也不能发育成成虫。在发育时基因的表达必须在空间和时间上得到控制,才能完成其发育进程,如果蝇不能在幼虫时长出腿,或在蛹期产生卵。植物也是如此,它的生长和开花过程也是在时间和空间上依靠基因依次表达的。这样生物体的各种代谢过程才得以有条不紊地进行。例如植物花的颜色是由次生物质代谢产物决定的,它要在开花期形成,而不会在幼苗时生成。

在分子生物学基础研究方面人类基因组(human genome)的研究已成为国际上的重大课题。全世界将组织大批人力研究人类染色体DNA的全序列。这项庞大工程的完成将会对分子生物学作出巨大贡献,并将对医学研究开辟出新的途径。我国将对水稻的基因组的DNA全序列开展研究,这项工作的完成亦将对植物分子生物学和农业科学作出重大贡献。

今后分子生物学在实际应用方面的发展也是十分乐观的。在农业方面的进展可能更快。在植物基因工程中利用转基因技术将有用基因导入栽培植物中已取得不少成功的先例,如抗虫的棉花等。今后利用抗虫、抗病、抗旱(如osmotin基因)等基因培育转基因植物,育成抗病品种,会有良好的前景。利用反义RNA技术延长果实蔬菜的保鲜期和改变观赏植物的花色,也都是很有前途的研究和有经济效益的工作。

第二章 生命的物质基础

第一节 引言

对生命现象本质的认识,历来存在两种截然不同的看法:生命是一种超自然现象和生命是物质的一种属性。随着物理学和化学对生物学的渗透和融合,作为生物学语言的生物化学出现了。而蛋白质和核酸等生物大分子结构和功能关系的阐明进一步使人们得以从分子水平上来认识生命现象的总体。事实表明,生物机体中物质的转化以及伴随的能量变化,各种化学组分在时空上的相互关系,以及驾驭这一切的遗传信息的传递无一不遵循物理学和化学的基本法则。这些都证明生命不是超越自然的,它的本质即是物质运动的一种状态。

第二节 活机体的化学组成

一、物质的进化

整个物质世界都在不断发展和进化,生命就是物质进化的产物。在这一过程中,先是发生由无机化合物形成有机化合物的化学进化,然后是有机化合物在特定条件下形成原始生物的生物进化。生命的发生是物质进化过程中的重大转折。生物体的各个组分孤立存在时虽无生命,但其整体却表现出了生命现象。生物机体具有其自身的特性:

(1)生物体主要由各种有机分子组成,它们称为生物分子(biomolecule)。机体中,生物分子是有组织的,它们按一定的层次形成一个高度有序的系统。这一系统的组织性不仅表现在各个分子的结构上,也表现在它们的功能上。活机体是一个远离平衡态的开放系统,它的各个组成分子相互间及其与环境间从不建立平衡,平衡的建立意味着生命的终结。

(2)生物为了自身的存活,需要不断地从环境摄取的能量,使之转化成自身可以利用的形式。生物摄取的可以是太阳的辐射能(植物)和有机营养物质中的化学能(动物)。这一过程在活机体体内形成了一个复杂的代谢网络。代谢是一个受到高度调控的系统。

(3)生命现象的另一个特殊的属性是它能进行精确的自我复制,即机体的形状、结构和功能能够代代相传。在这一过程中,遗传信息由亲代流向子代。

生命的这些特性无疑是和组成它的生物分子的结构和组织有关。

二、机体的基本单位——细胞

自17世纪发现以来,人们逐渐认识到细胞即是机体的基本单位,它们本身既可是单细胞生物,又可为多细胞生物的结构和功能单位。对单细胞生物言,细胞即是整体。在多细胞生物中,每一种细胞都表现出自身的功能,细胞的集合体才构成完整的机体。

细胞根据其基因组(genome)是否存在于一个具确定范围的核中而分为原核细胞(prokaryotic cell)和真核细胞(eukaryotic cell)两大类。

(1)原核细胞 原核生物(prokaryote)是最简单的生命形态,它包括细菌和一些蓝绿藻。细菌可以是球形、棒形和螺旋形。细菌细胞的直径约为 $0.01\sim 0.02\mu\text{m}$ 和长 $10\mu\text{m}$ 。细菌的遗传物质为单一的环状DNA分子,它区别于真核细胞的在于其周围没有核膜与细胞的其余

部分分开，在细胞质中含有许多核糖体（ribosome）。细菌的表面常存在着胶状的被膜，在被膜内是细胞壁，再往里就是质膜（图2-1）。

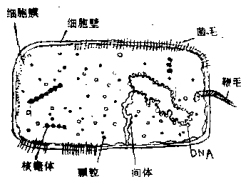


图2-1 细菌细胞示意图

大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 是原核生物中研究得最为透彻的一种，也是分子生物学中最常用的一种实验材料。大肠杆菌的研究结果对分子生物学的发展作出了重大贡献。

(2) 真核细胞 真核生物 (eukaryote) 可以是单细胞或是多细胞的。真核细胞的结构比原核细胞要复杂得多（图2-2）。与原核细胞不同，作为真核细胞遗传物质的DNA为双层的核膜所包围，从而与细胞质分隔开。在核中，DNA与蛋白

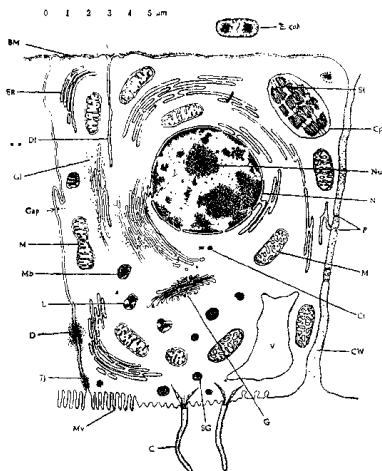


图2-2 真核细胞示意图

这是一张植物和动物细胞主要细胞器的合成图，大致上按实际标尺画成。ER 内质网，DI 质膜的深陷，GI 糖元颗粒；Gap 细胞间约厚10~20mm的间隔；M 线粒体；Mb 微体；L 溶酶体；D 桥粒；SG 分泌颗粒；Tj 紧密连接；Mv 微绒毛；C 纤毛；G 高尔基体；V 液泡；CW 细胞壁；Ct 中心粒；P 胞间连丝；N 核；Nu 核仁；Cp 叶绿体；St 淀粉粒。

质和RNA复合成染色质(chromatin)。染色质或弥散于核中或凝集成染色体(chromosome)。核中存在着核仁(nucleolus)，它的组成类似于染色质，但常存在着大量富含RNA的颗粒，后者是核糖体的前体。真核细胞的细胞质中还含有细胞器(organelle)。不论动物或植物细胞都含有线粒体(mitochondrion)，它是细胞中的能源基地。植物细胞还含有质体，质体又可分化成白色体(leucoplast)，有色体(chromoplast)和叶绿体(chloroplast)等，其中叶绿体是最重要的一种。叶绿体是进行光合作用的场所。虽然真核细胞的遗传物质主要集中于核中，但线粒体和叶绿体都还含有自身的基因组，线粒体和叶绿体的基因组都是环形DNA。线粒体和叶绿体在细胞传代过程中都通过二分裂而传递给子细胞。饶有兴趣的是，线粒体和叶绿体这两种细胞器都是半自主的，即它们的发育受其本身及核基因组的双重控制。真核细胞的外缘亦存在着与环境分隔的质膜，植物细胞的质膜外还有细胞壁。

不论是原核还是真核细胞，它们的内部都有各具功能的结构，而其外缘又都以质膜为边界与环境隔开，但细胞不是孤立的。质膜既是细胞的屏障，又是相互识别、传递信息和与环境进行物质及能量交换的所在。细胞是一个复杂的开放系统。

三、细胞的化学组成

在演化过程中，由于环境与机体的交互作用，细胞无论在大小、形状或功能上都会产生各种差别。各种细胞可说是千差万别，但不同细胞在表现出差别的同时仍具许多共同的特性。细胞表现出这种多样性与统一性的原因即在于其化学组成的多样性和统一性。构成细胞的主要是一些生物大分子(biomacromolecule)，如蛋白质、核酸、多糖、脂类等(表2-1)。这些生物大分子都属高聚物，如蛋白质是由20种氨基酸缩聚而成，核酸由4种核苷酸缩聚而成，多糖由

表2-1 大肠杆菌细胞的分子组成

	总量的百分数	各种分子的约数
水	70	1
蛋白质	16	3000
核酸		
DNA	1	1
RNA	6	>3000
多糖	3	5
脂类	2	20
生物大分子的酶		
构单位和中间体	2	500
无机离子	1	20

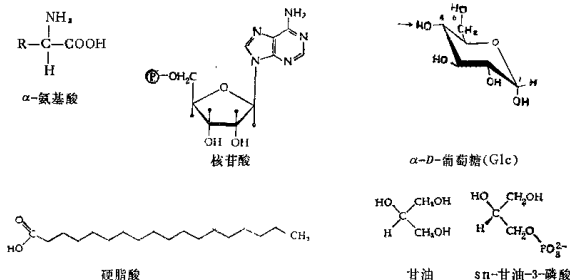


图2-3 生物大分子的结构单位

少数几种单糖缩聚而成。脂类本身虽不属于高聚物，但它们在细胞中可缩合成超分子聚集体（supramolecular aggregate），故亦一并在讨论。脂类亦是少数脂肪酸和甘油等形成的（图2-3）。这说明表2-1中的几千种蛋白质，核酸等只是30~40种小分子（结构单位）经组合形成的。这可称为一种极为巧妙的“设计”。

水是一种应该一提的细胞成分，它约占细胞质量的2/3。水是一种极性介质，它对细胞结构的形成、代谢物的性质都具有重要作用，它也积极参预了许多代谢过程。

四、细胞代谢

生物机体，不论是单细胞或多细胞，都在不断地进行着自我更新，即机体原来的组分不断降解成小分子并排出体外，又不断地从环境摄取养分以合成其组分。细胞组分的降解或合成都按一定的程序精确地进行着，并经受着精密的调节、分解代谢和合成代谢构成了一个复杂而协调的网络。

糖类、脂肪和蛋白质是机体从其获取能量的三类主要物质。这三类物质的降解大致可分为三个阶段表（2-2）。它们首先分解为其结构单位：糖类分解为单糖，脂肪分解为脂

表2-2 糖类、脂肪和蛋白质的大致降解过程

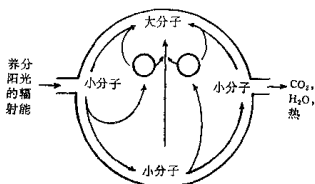
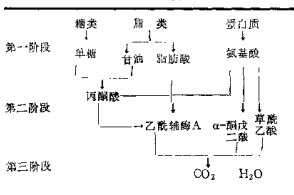


图2-4 细胞代谢示意图

两个圆圈为~P。

肪酸和甘油，蛋白质分解为氨基酸。单糖，脂肪酸和氨基酸然后转化为丙酮酸（C₃），乙酰辅酶A（C₂）， α -酮戊二酸（C₅），和草酰乙酸（C₄）等少数几种简单化合物——代谢中间物。这些代谢中间物最后通过三羧酸循环和呼吸链生成二氧化碳（C₁）和水。三大类物质的降解是一个由复杂分子转变为简单分子的过程，是一个氧化过程，也是一个能量释放的过程。机体组分降解过程中所释放的能，除形成ATP外还以其它形式散失于环境中。相反，机体组分的合成是一个由简单变成复杂分子的过程，是一还原过程，也是一个需能过程。降解代谢和合成代谢是两个相反的过程，两个交叉的过程，但不是可逆的过程，细胞中代谢物的流动是单向的。机体一方面不断地将代谢产物和能量释放进环境，另一方面又不断地从环境摄取养分和能量以维持细胞的有序状态。每一机体的代谢都构成了一种远离平衡态的开放系统（图2-4）。

以上讨论的是细胞代谢的总图景，但不同种生物机体的代谢细节不完全相同，即便在同种机体的不同生长发育阶段也会有别不同。每一种生物的特性是通过具体代谢途径上的差异体现出来的，而代谢上的差异又源于细胞所含蛋白质的不同。蛋白质是基因表达的产物，故是DNA分子所携带的遗传信息主宰了生物体的各个方面。