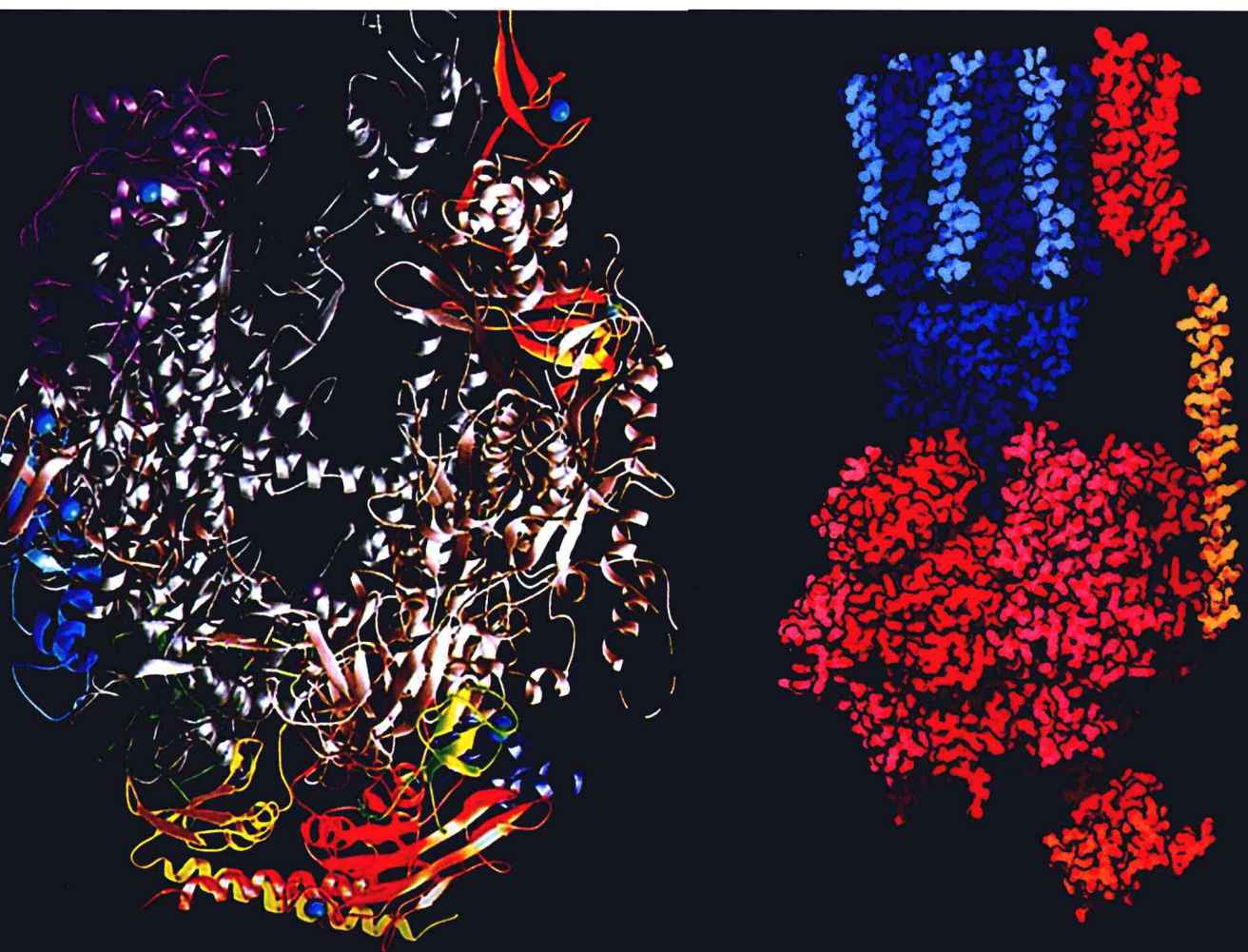


21世纪生物技术丛书

蛋白质理论与技术

(第二版)

主编 王廷华 邢如新 游 潮



科学出版社

www.sciencep.com

21 世纪生物技术丛书

蛋白质理论与技术

(第二版)

主 编 王廷华 邢如新 游 潮

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

蛋白质理论与技术是 21 世纪生物技术发展的一项重要基础实验性科学,是科学研究的重要理论和工具。《蛋白质理论与技术》是《21 世纪生物技术丛书》的一个分册。该书的第一版于 2005 年出版,随着当今生物技术的迅速发展和需求的日益扩大,现予以再版。第二版在第一版基础上,补充了蛋白质组考马斯亮蓝染色和银染色技术及差异蛋白的质谱鉴定技术,内容由第一版的 14 章增至第二版的 17 章,从而使该书更全面和更具实用价值。

本书分上、下篇。上篇系统介绍了蛋白质的合成、转运、加工与修饰、结构和功能,阐述了蛋白质分离纯化的基本理论,蛋白质定性、定量检测的基本理论,并对蛋白质的生物信息学、蛋白质组学和蛋白质芯片理论与进展做了介绍。下篇介绍了蛋白质样品的准备、蛋白质电泳技术、层析技术、蛋白质活性及定性和定量检测的方法与应用,并在生物信息学预测蛋白质序列技术方面进行了实验性阐述。此外,对最近较为热门的蛋白质组技术包括考马斯亮蓝染色、银染色及质谱分析技术进行了实例介绍。

本书可供生物医学专业研究生、本科生及从事蛋白质研究的科研人员阅读和实验时参考。

图书在版编目(CIP)数据

蛋白质理论与技术 / 王廷华等主编. —2 版. —北京:科学出版社,2009
(21 世纪生物技术丛书)
ISBN 978-7-03-023355-4

I. 蛋… II. 王… III. 蛋白质-生物化学-研究 IV. Q51

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 173410 号

策划编辑:沈红芬 吴茵杰 / 责任编辑:王 红 / 责任校对:陈玉凤

责任印制:刘士平 / 封面设计:黄 超

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 蕾 印 刷 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2005 年 3 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2009 年 3 月第 二 版 印张:15 1/2 插页:2

2009 年 3 月第三次印刷 字数:354 000

印数:5 001—8 000

定价:44.80 元

如有印装质量问题,我社负责调换

《21 世纪生物技术丛书》编审委员会

主 审 李云庆 蔡文琴
委 员 (按姓氏笔画为序)

王廷华	四川大学	特聘教授
方秀斌	中国医科大学基础医学院	教授
冯 华	第三军医大学西南医院	教授
冯忠堂	昆明医学院神经科学研究所	教授
齐建国	四川大学华西医学中心	教授
李云庆	第四军医大学基础医学院	教授
李成云	云南农业大学植物病理国家重点实验室	教授
李官成	中南大学湘雅医学院	教授
李建国	上海交通大学医学院	教授
吴良芳	四川大学华西医学中心	教授
吴承远	山东大学医学院	教授
应大君	第三军医大学	教授
沈馨亚	上海交通大学医学院	教授
周 东	四川大学华西医院	教授
赵春华	协和医科大学	教授
胡长林	重庆医科大学	教授
施 静	华中科技大学同济医学院	教授
姜保国	北京大学医学部	教授
顾晓松	南通大学医学院	教授
曾园山	中山大学中山医学院	教授
游 潮	四川大学华西医院	教授
蔡文琴	第三军医大学	教授
Jean Philippe Merlio	法国波尔多第二大学	教授
John W. McDonald	美国霍普金斯大学医学院	教授
Leong Seng Kee	新加坡国立大学	教授
Pierre Dubus	法国波尔多第二大学	教授
Xin-Fu Zhou	澳大利亚阿德莱德大学	教授
Xiong-Zhong Ruan	英国伦敦大学	教授

《蛋白质理论与技术》(第二版)编写人员

主 编 王廷华 邢如新 游 潮

副主编 周 雪 曾园山 杨金伟

编 委 (按姓氏笔画为序)

王廷华 王昭君 王特为 王熙才

江之泉 邢如新 杨向东 杨金伟

杨桂枝 李力燕 李咏梅 邹晓莉

张 丽 金立德 周 健 周 雪

赵 伟 赵 琪 洪孙权 夏 阳

倪 炜 高志宇 章 为 阎 凌

曾园山 游 潮

第二版总序

21 世纪是生命科学飞速发展的时代。如果说 20 世纪后半叶是信息时代,那么 21 世纪上半叶,生命科学将成为主宰。随着我国加入 WTO 后与世界科技日益接轨,技术的竞争已呈现出其核心地位和作用。正是在此背景下,为适应我国 21 世纪生物技术和需求,科学出版社组织编写了这套融基础理论和实践技术为一体、独具特色、主要面向一线科技人员的学术著作——《21 世纪生物技术丛书》。本套丛书共有八本,包括《组织细胞化学理论与技术》、《神经细胞培养理论与技术》、《蛋白质理论与技术》、《分子杂交理论与技术》、《PCR 理论与技术》、《基因克隆理论与技术》、《抗体理论与技术》、《干细胞理论与技术》。自 2005 年 3 月本套丛书问世以来,即得到了广大生物技术科技工作者的喜爱,2006 年 1 月即进行了重印。本套丛书对满足日益扩大的研究生实践需求,以及我国 21 世纪生物技术的普及和发展起到了积极的促进作用。

由于生物技术发展迅速和需求日益扩大,本套丛书于 2009 年再版。第二版在第一版的基础上,主要对实验技术进行了全面增补和修订,新增内容 20 余章。补充了神经形态示踪、肿瘤干细胞培养、神经干细胞移植、转基因干细胞构建、抗体封闭、细胞凋亡染色、免疫荧光染色、蛋白质组和基因组等实用技术,并对各技术的相关实践经验进行了更全面的总结。丛书从形态、细胞、分子生物学三个层面介绍了目前常用生物技术的基本理论、进展及其相关技术与应用。从培养科学思维能力和科研工作能力的目标出发,以实用性和可操作性为目的,面向我国日益增多的研究生和广大的一线科研人员。在编写方式和风格方面,力求强调基本概念和理论的阐述,注重基本技术的实践,并提供了大量原版彩图及实验经验体会,使丛书更具实用价值。

本套丛书由我国神经科学青年专家王廷华教授牵头,邀请国内外一批知名专家教授参加编写和审阅。本套丛书是全体参编人员实践经验的总结,对从事科研的研究生和一线研究人员有很好的参考价值。由于时间有限,加之科学技术发展迅速,错误和不足之处在所难免,恳请各位读者批评指正。

值本套丛书出版之际,感谢为我国生物技术及科学发展孜孜不倦、奉献一生的老一辈科学家,是他们的指导、培养和杰出工作为我国中青年一代的发展奠定了基础。感谢国内外一批知名专家教授组成的编审委员会对丛书的认真审阅,感谢编者们的辛勤劳动。感谢中国解剖学会对本套丛书的组织工作给予的支持。感谢各位同道给予的鼓励 and 关心。

《21 世纪生物技术丛书》编审委员会

2009 年 1 月

第一版总序

21 世纪是生命科学取得革命性进展和医学飞速发展的时代。如果说 20 世纪后半叶是信息时代,那么 21 世纪上半叶生命科学将成为主宰。随着我国加入 WTO 和与世界科技日益接轨,生命科学领域里生物技术的竞争已日益呈现出其核心地位和作用。正是在此背景之下,科学出版社组织编写了这套《21 世纪生物技术丛书》。该套丛书共八本,包括《组织细胞化学理论与技术》、《神经细胞培养理论与技术》、《蛋白质理论与技术》、《分子杂交理论与技术》、《PCR 理论与技术》、《基因克隆理论与技术》、《抗体理论与技术》、《干细胞理论与技术》。

本套丛书从形态、细胞、分子生物学三个层面介绍了目前常用生物技术的基本理论、进展及其相关技术与应用。从培养科学思维能力和科研工作能力的目标出发,以实用性和可操作性为目的,面向我国日益增多的研究生和广大的一线科研人员。在技术章节提供了大量原版彩图及实验经验体会,使丛书更具实用价值。在编写方式和风格方面,力求强调科学史的沿革及基本概念、基本技术和理论的阐述,基本反映了现阶段常用生物技术和理论的现状与进展。

丛书由我国青年神经科学专家王廷华教授牵头,邀请国内外一批知名专家、教授参加编写和审阅。丛书是全体参编人员实践经验的总结,对一线从事科研的研究生和科研人员有较好的参考价值。由于时间有限,加之科学技术发展迅猛,错误、不足之处在所难免,恳请各位前辈、老师、同道及广大读者批评指正。

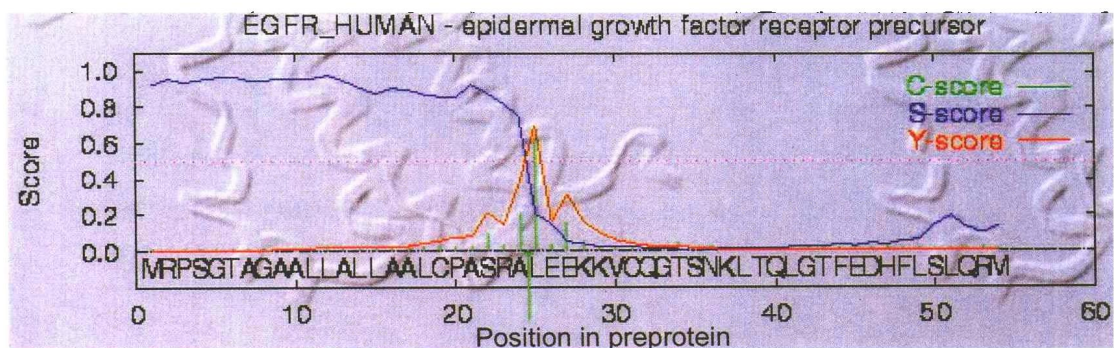
值本套丛书出版之际,感谢为我国生物技术与科学发展孜孜不倦、奉献一生的老一辈科学家,是他们的指导、培养和杰出工作为我国中青年一代的发展奠定了基础,并为本套丛书提供了参考。感谢国内外一批知名专家、教授组成的编审委员会对丛书的认真审阅和编者们的辛勤劳动。感谢科学出版社的同志们对丛书出版所付出的辛勤劳动和支持。感谢各位同道给予的鼓励 and 关心。

《21 世纪生物技术丛书》

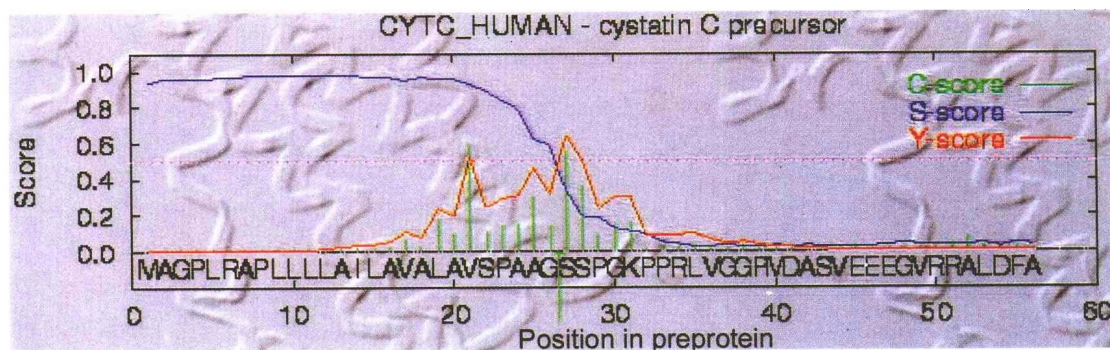
编审委员会

2004 年 12 月 8 日

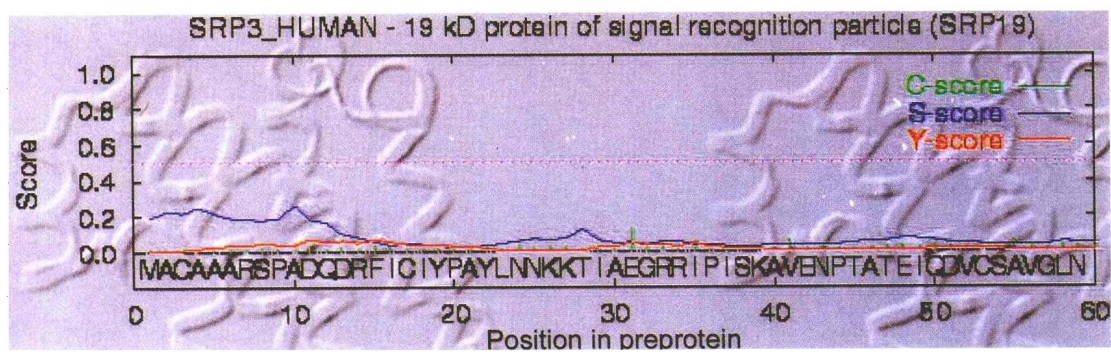
彩图



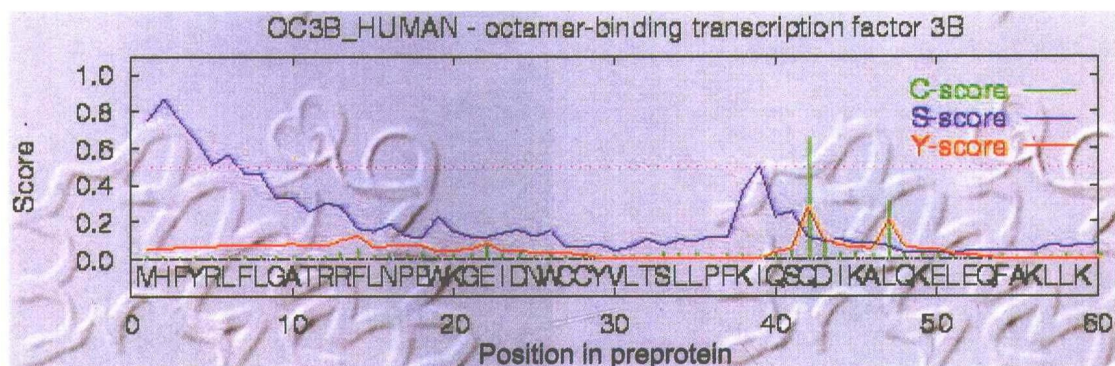
彩图 13-1 典型信号肽的 SignalP 预测曲线图



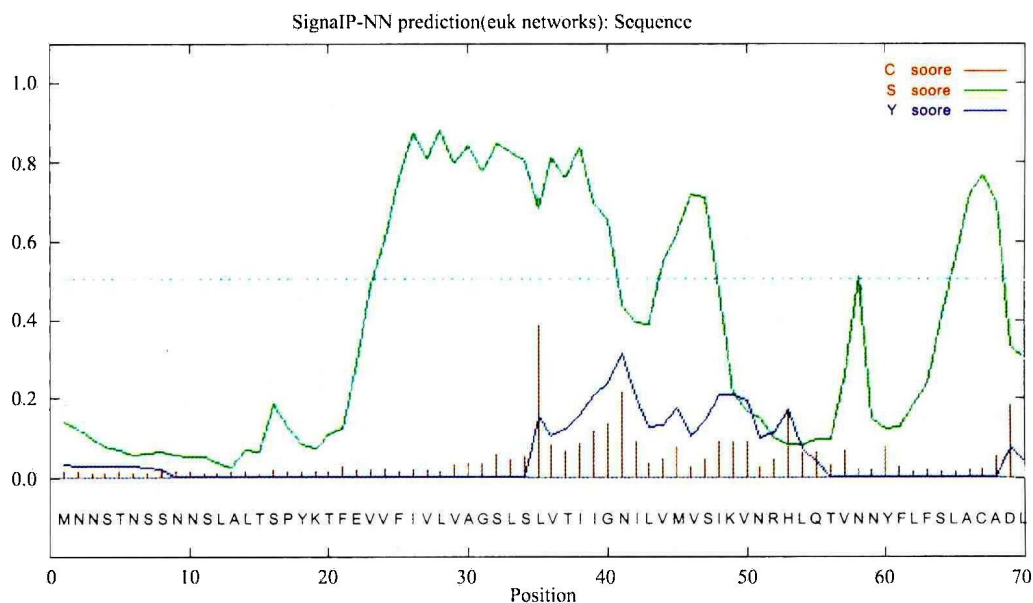
彩图 13-2. SignalP 对剪切位点预测的曲线图



彩图 13-3 典型非分泌性蛋白 SignalP 预测曲线图



彩图 13-4 C 值和 S 值均高于域值的非分泌性蛋白 SignalP 预测曲线图

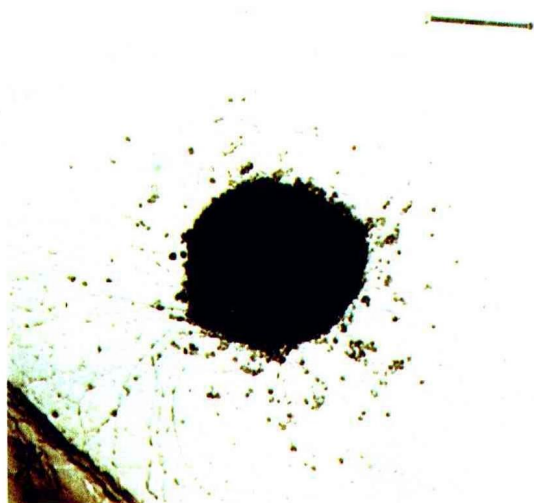


>Sequence length=70

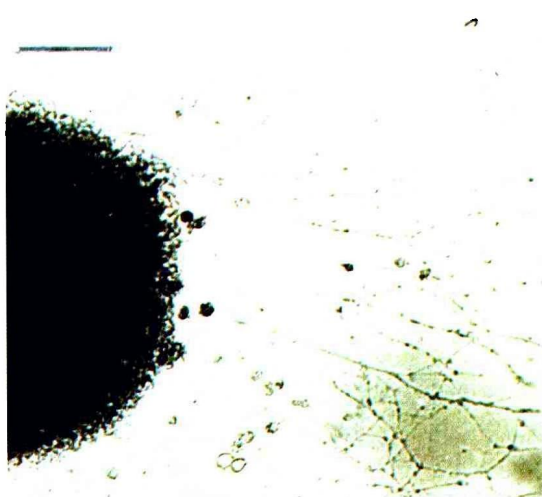
# Measure	Position	Value	Cutoff	signal peptide?
max. C	35	0.384	0.33	YES
max. Y	41	0.312	0.32	NO
max. S	28	0.879	0.82	YES
mean S	1-40	0.393	0.47	NO

Most likely cleavage site between pos. 40 and 41: IIG-NI

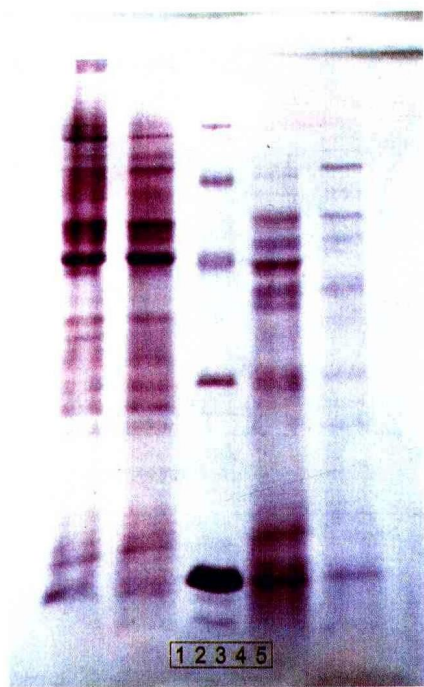
彩图 13-5 胆碱能受体 M2 的信号肽预测结果



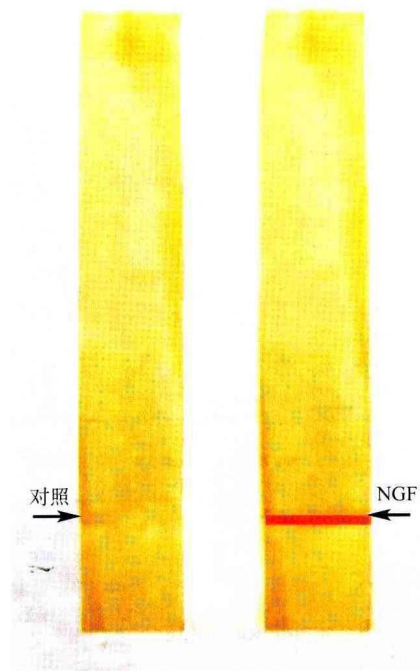
彩图 14-1 DRG 与凝胶小块 (*) 联合培养 (40 ×)



彩图 14-2 DRG 神经突起 (100 ×)



彩图 14-3 考马斯亮蓝染色结果 1、2、4、5 为鸡胚脊髓组织的蛋白带，3 为蛋白质分子质量标准区带



彩图 14-4 Western 印迹结果可见有 NGF 阳性染色条带

目 录

上篇 蛋白质理论

第一章 蛋白质研究历史回顾	(1)
第一节 蛋白质研究的初级阶段	(1)
第二节 蛋白质研究的发展阶段	(2)
第三节 蛋白质研究的分子生物学阶段	(3)
第二章 蛋白质的合成、转运、加工与修饰	(6)
第一节 蛋白质的合成	(6)
第二节 蛋白质合成后的定向输送	(14)
第三节 蛋白质合成后的加工与修饰	(15)
第三章 蛋白质的结构与功能	(19)
第一节 蛋白质结构概念的提出	(19)
第二节 蛋白质的结构生物学	(20)
第三节 蛋白质的基本结构单位	(21)
第四节 蛋白质的一级结构	(25)
第五节 蛋白质的二级结构	(25)
第六节 蛋白质超二级结构和结构域	(29)
第七节 蛋白质的三级结构和四级结构	(31)
第八节 蛋白质的生物学功能	(33)
第四章 蛋白质分离纯化的基本理论	(36)
第一节 蛋白质的理化性质	(36)
第二节 利用溶解度差别分离蛋白质的方法	(38)
第三节 利用分子大小不同的分离纯化方法	(40)
第四节 电泳技术	(41)
第五节 蛋白质化学中的层析技术	(46)
第五章 蛋白质定性定量检测的基本理论	(51)
第一节 免疫组织化学的基本原理	(51)
第二节 蛋白质定量检测原理	(53)
第三节 免疫印迹法分析特定蛋白质的相对含量	(55)
第六章 蛋白质的生物信息学理论	(57)
第一节 蛋白质生物信息学的概念及内容	(57)
第二节 Internet 网上的生物信息学资源	(57)

第三节 序列对比和数据库搜索	(61)
第七章 蛋白质组学理论与进展	(69)
第一节 蛋白质组学的基本概念及历史回顾	(69)
第二节 蛋白质组学研究的技术平台	(71)
第三节 蛋白质组学在医学中的应用与展望	(76)
第八章 蛋白质芯片理论与进展	(80)

下篇 蛋白质技术

第九章 蛋白质样品的准备	(87)
第一节 分离纯化蛋白质样品的方法	(87)
第二节 蛋白质样品的储存与运输	(91)
第十章 蛋白质电泳技术	(95)
第一节 概述	(95)
第二节 电泳的基本原理	(95)
第三节 聚丙烯酰胺凝胶电泳	(96)
第四节 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳	(107)
第五节 聚丙烯酰胺凝胶双相电泳——2D 电泳	(110)
第六节 毛细管电泳	(114)
第十一章 蛋白质层析技术	(121)
第一节 层析技术的基本原理及分类	(121)
第二节 柱层析	(121)
第三节 高效液相色谱法	(128)
第十二章 蛋白质的定量检测	(138)
第一节 紫外可见分光光度法	(138)
第二节 荧光分光光度法	(148)
第三节 HPLC、CE 分离定量	(152)
第四节 酶联免疫吸附试验	(153)
第十三章 生物信息学预测蛋白质序列技术	(160)
第一节 概述	(160)
第二节 蛋白质识别与描述	(161)
第三节 蛋白质序列的物理性质计算	(168)
第四节 蛋白质二级结构和折叠类型分析	(171)
第五节 特殊结构或特征性结构的预测	(178)
第六节 三级结构的预测	(184)
第七节 蛋白质的质谱鉴定	(186)
第十四章 蛋白质技术的应用	(193)
第一节 蛋白质生物活性检测方法之一——用细胞钓蛋白技术检测备用根猫脊髓 背角内神经营养因子的生物活性	(193)

第二节	蛋白质生物活性检测方法之二——凝胶小块与背根节联合培养法	(195)
第三节	Western 印迹技术在检测鸡胚脊髓内神经营养因子中的应用	(196)
第四节	牛脑 S-100 蛋白的纯化与鉴定	(200)
第十五章	大鼠皮质额叶双相电泳实验条件的建立	(205)
第一节	实验原理	(205)
第二节	实验所需设备、试剂及其配制	(205)
第三节	实验步骤	(207)
第四节	实验结果	(209)
第五节	实验体会	(211)
第十六章	快速老化小鼠额叶皮质蛋白质组学的考马斯亮蓝染色技术	(213)
第一节	实验原理	(213)
第二节	实验所需设备、试剂及其配制	(214)
第三节	实验步骤	(216)
第四节	实验结果	(219)
第五节	实验体会	(222)
第十七章	针刺促进脊髓可塑性的蛋白质组银染色技术与差异蛋白的质谱鉴定 ...	(225)
第一节	实验原理	(225)
第二节	实验所需设备、试剂及其配制	(225)
第三节	实验步骤	(227)
第四节	实验结果	(229)
第五节	实验结果分析	(230)

彩图

上 篇 蛋白质理论

第一章 蛋白质研究历史回顾

生物学是研究生命现象、生命本质、生命活动及其规律的科学。生物学发展到今天,已经在分子水平、细胞水平和整体水平三个层次上研究生命活动及其规律。生命科学发生巨变,起于 20 世纪之初。由于化学、物理和数学领域的广泛渗透,给现代生命科学奠定了坚实的基础。特别是 1953 年, Watson 和 Crick 借助几个实验室的研究成就,根据 DNA 的 X 线衍射图谱,由 A、T、G、C 的物理化学数据,建立了 DNA 双螺旋模型。之后,从 20 世纪 70 年代开始,分子生物学逐步形成,使生命科学进入了崭新的阶段,从而在本质上揭示生命活动的真谛。

构成生命活动最重要的物质无疑是蛋白质和核酸,每一生命活动都是由基因表达产物——蛋白质的特定群体来执行。在生命科学探索的长征途中,“蛋白质组”研究的时代已经到来。此外,蛋白质是生物体的基本组成成分之一,也是含量最丰富的高分子物质,约占人体固体成分的 45%。生物体内蛋白质的分布较为广泛,几乎所有组织、器官都含有蛋白质。

第一节 蛋白质研究的初级阶段

18 世纪中叶至 20 世纪初是生物化学的初级阶段,主要研究了生物体的化学组成,特别是对氨基酸、糖类及脂类的性质进行了较为系统的研究。化学合成简单的多肽、酵母发酵过程、生物体内的各种化学反应等,几乎都是在特异的生物酶的催化下完成的。

18 世纪中期,瑞典化学家 Scheele 研究了生物体各种组织的化学组成。德国著名化学家 Fischer 应用有机化学的方法对生物体内的糖类、脂类、蛋白质和氨基酸等进行了比较详尽的研究,确定了蛋白质是氨基酸通过肽键连接起来的。后来,又成功地用化学方法合成了由 18 个氨基酸组成的肽。在酶与底物的相互作用上提出了“锁钥”学说,证明了酶催化的高度特异性。德国生理学家 Seyler 成功地从血液中分离出血红蛋白,并制备成结晶。

18 世纪中后期,对酶的研究也有了一些进展。酶学知识来源于生产实践,酶的系统研究始于 19 世纪中叶对发酵本质的探讨。法国著名科学家巴斯德(Pasteur)认为发酵是完整酵母细胞生命活动的结晶。而 1897 年,德国科学家 Hans Buchner 和 Eduard Buchner 兄弟首次用不含细胞的酵母提取液实现了发酵,从而证实发酵过程并不需要完整的细胞,这一贡

献打开了通向现代酶学与现代生物化学的大门。这一阶段主要是客观地描述生物体的化学组成,习惯上称为叙述性生物化学阶段。

值得一提的是,1859年,Charles Darwin在《On the Origin of Species》一书中创立了物种进化的自然选择学说,这就是著名的达尔文进化论。该学说认为世界上复杂的植物和动物都是由最初的原始生物经过可持续的进化过程衍生出来的,第一次指出了生物性状的可遗传性,在自然选择压力下的可变性以及不同物种之间的相关性。1865年,Mendel在分析豌豆性状的杂交实验结果时认为,生物体内有某种遗传颗粒或遗传单位,能够从亲代传到子代,这种遗传单位控制着特定的生物性状。1879年,Walter Flemming在研究细胞分裂时发现染色体。1900年,人们开始把这种控制遗传性状的遗传单位称为基因(gene)。

在我国,古代劳动人民在饮食、营养和医药等方面的创造和发明,也在实践上为生物化学的诞生和萌芽做出了贡献。早在公元前23世纪夏禹时期,仪狄已能做酒,以曲为媒使五谷为酒,就是利用酒母作为媒介物,促进谷物中的糖类转化为酒。公元前12世纪,运用发酵原理制造酱、醋等食品。公元前2世纪汉淮南王刘安会制作豆腐,这说明我们祖先在当时已经会从豆类中提取蛋白质。公元4世纪的晋代,用海藻酒作为医治地方性甲状腺肿的特效药,因为海藻酒含碘比较丰富。公元7世纪,唐代孙思邈则首先用富含维生素A的猪肝治雀目,用富含维生素B₁的车前子、防风、杏仁、大豆、槟榔等治疗维生素B₁缺乏病(脚气病)。公元10世纪起,我国开始用动物的脏器治疗疾病,例如,用紫河车做强壮剂、用蟾蜍治创伤、羚羊角治脑卒中等,可见古人对含内分泌物质的脏器在临床上的应用,已有一定的感性认识。综上所述,我国古代在生物化学的发展上也做出过积极的贡献。

第二节 蛋白质研究的发展阶段

从20世纪初期开始,生物化学进入了蓬勃发展阶段。在物质代谢方面,由于化学分析及同位素示踪技术的发展与应用,对生物体内主要物质的代谢途径已经基本确定,包括糖代谢的酶促反应过程、脂肪酸 β 氧化、尿素合成途径及三羧酸循环等;在内分泌学方面,发现了多种激素,并将其分离、合成;在酶学方面,脲酶结晶获得成功;在营养学方面,发现了人类必需氨基酸、必需脂肪酸及多种维生素。20世纪上半叶,体内各种主要物质的代谢途径均已基本研究清楚,人们将这个时期称为动态生物化学阶段。

1926年,Sumner从刀豆提纯了脲酶,制成结晶纯品,首次证明酶的化学本质是蛋白质。1932年,英国化学家Krebs等提出合成尿素的鸟氨酸循环的多酶反应途径。1937年,Krebs公布了三羧酸循环的研究成果,这是糖、脂类和氨基酸彻底氧化的多酶反应途径。1940年,德国生物化学家Embelen和Megerbof公布了糖酵解途径。随后,脂肪酸氧化和核苷酸代谢等途径也相继被阐明。在这一时期,我国生物化学家吴宪等提出蛋白质变性学说,这是当时最完备的学说。其基本论点,至今为止仍然是正确的。他在血液化学方面创立的无蛋白血清液的制备方法 & 血糖的测定等方法,迄今还为人们所采用。

1902年,Sutton提出了染色体遗传学说,即细胞核内的染色体一般是二倍体。最使人感兴趣的是生殖细胞在减数分裂时,每个配子得到其中一套染色体(单倍体),该学说认为基因是染色体的一部分。1910年,Morgan证实了基因的确存在于染色体上。1944年,Avery

和他的同事们通过实验证实 DNA 是携带遗传信息、构成染色体的生物大分子。

第三节 蛋白质研究的分子生物学阶段

1953 ~ 1970 年,是分子生物学的理论和技术体系逐步形成的时期, Watson 和 Crick 于 1953 年提出的 DNA 双螺旋结构模型,为揭示遗传信息传递规律奠定了基础,是生物化学发展进入分子生物学时期的重要标志。它用分子结构的特征,解释了生命现象最基本问题之一的基因复制规律,从而真正开始了从分子水平研究生命活动。

在这个时期内,先后发现了 mRNA、DNA 聚合酶和 RNA 聚合酶;DNA 半保留复制机制,操纵子学说等先后被提出;遗传密码被发现,其通用性被证明,并于 1966 年破译了全部 64 个密码子。密码子的发现和破译证实了遗传信息的流动方向是 DNA→RNA→蛋白质,这就是生物遗传学的中心法则。中心法则的建立,使分子生物学作为一门科学初步形成了它的理论体系。

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* 中分离出的能使四种 dNTP 连接成 DNA 的 DNA 聚合酶 I, DNA 的复制需要以一个 DNA 作为模板来进行。1958 年, Meselson 和 Stahl 用精彩的实验证明, DNA 复制时 DNA 分子的两股链要先行分开,他们用 ^{15}N 重同位素及密度梯度超速离心证实 DNA 复制是一种半保留复制。

1954 年,物理专家 Gamow 认为遗传信息是由 DNA 分子以含氮碱基非重叠三联体密码来携带的。1961 年, Crick 及其同事用 T_4 噬菌体的实验确认遗传信息是以非重叠的碱基三联体线性顺序的形式而存在的,三联体之间不存在间隔物。Nirenberg 和 Matthaei 以及 Knorand 等以后的工作最终破译了遗传密码。

早在 1953 年, Zamecnik 及其同事在无细胞系统中发现蛋白质的合成场所为核糖体 (ribosome), 他们还证明蛋白质的合成还需要 ATP 作为肽链形成的能源。1960 年以后,他们利用 T_4 噬菌体感染 *E. Coli* 作为系统,发现一种 RNA 能携带 DNA 信息并将其转移到核糖体上合成蛋白质,故称其为信使 RNA (mRNA)。Hurwitz 等发现 RNA 聚合酶,这种酶以 DNA 为模板利用 ATP、GTP、CTP 和 UTP 等合成 RNA,这个过程称为 DNA 转录。

在遗传信息决定蛋白质结构方面,是 DNA 的碱基序列决定 mRNA 核苷酸信息顺序 (转录),而 mRNA 的核苷酸顺序又决定多肽的氨基酸序列 (翻译),这一学说称之为中心法则。同时, Temin 和 Baltimore 还发现反转录酶,证实了从 RNA 到 DNA 的相对于中心法则的逆向信息流的存在,从而补充了中心法则的完整性。

不同的体细胞有相同的基因组,但它们所合成的蛋白质种类并不一定相同。从受精卵增殖而来的高等动物细胞,它们的发育、生长和分化过程受到遗传信息的调控。1961 年, Jacob 和 Monod 提出的 *E. Coli* 乳糖操纵子学说为人们理解动物细胞基因表达调控提供了理想的模型。Sanger 发现胰岛素中氨基酸的排列序列,显示多肽链中氨基酸残基的特定序列与蛋白质分子的空间结构的关系。1965 年,我国王应睐等用化学方法合成有生物活性的牛胰岛素,实现了世界上首次人工合成蛋白质的梦想。

总之, DNA 双螺旋模型的建立,遗传密码的破译和乳糖操纵子学说的提出是 20 世纪生