

重組 DNA

簡明篇

李國鏞 游若箴 編譯



華香園出版社

重組 DNA

簡明篇

James D. Watson

冷泉灣實驗室

John Tooze

歐洲分子生物學組織 合著

David T. Kurtz

冷泉灣實驗室

李國鏞

編譯

國立中興大學微生物學教授

游若萩

鳳山熱帶園藝試驗分所助理研究員

華香園出版社

Recombinant DNA

A Short Course

James D. Watson

COLD SPRING HARBOR LABORATORY

John Tooze

EUROPEAN MOLECULAR BIOLOGY ORGANIZATION

David T. Kurtz

COLD SPRING HARBOR LABORATORY

SCIENTIFIC
AMERICAN
BOOKS

版 權 所 有

不 准 翻 印

中華民國七十四年四月

重 組 DNA

簡明篇



譯著者：李國鏞・游若箴

發行人 施 弘 國

發行所 華香園出版社 (761-1001
763-3000)

地 址 台北市松山路287巷11號四樓

特 價 國內新台幣 400 元

劃 撥 0111000-0 華香園出版社帳戶

(前後爲“0”，中間三個“1”三個“0”)

目 錄

第一章 確定基因在細胞中的功能	19
1 細胞是生命基礎的建材	20
2 細胞是有擴充性的小工廠其能同時合成數千種不同的分子	20
3 細胞中的分子可分為大小兩種	20
4 專一性的細胞觸媒稱為酶類有效地決定細胞中的化學反應	21
5 特定蛋白質的聚肽鏈係由特殊的胺基酸排列而成	22
6 有功能的酶類係由聚肽鏈依照精確的摺疊而成	23
7 促使分子至高能狀態以增進其化學反應能力	24
8 細胞的代謝作用可經由代謝圖說明	25
9 酶類不能決定聚肽鏈中胺基酸的順序	25
10 孟德爾的豌豆育種試驗最先發現基因的分離性	26
11 染色體攜帶細胞的遺傳物質	26
12 一基因一蛋白假說	30
第二章 DNA 是基本的遺傳物質	32
1 僅染色體上有 DNA	32
2 細胞含有 DNA 及 RNA	33
3 發現能測定遺傳分子的生物分析方法	34
4 病毒是一種能夠從一個細胞移至另一個細胞的一包遺傳因子	36
5 在形體上能夠互相配合的分子相互吸引	36
6 DNA 直徑的確定	38
7 DNA 及 RNA 上的核苷酸由規則的 5' → 3' 磷酸二脂鍵連結在一起	38
8 不同生物體 DNA 的氮基組成有很大的差異	39

9.	DNA 具有高度規則的形狀.....	40
10.	DNA 的基本單位為二條互相纏繞的聚核苷酸鏈（雙螺旋）.....	41
11.	雙螺旋藉氮基對間的氫鍵結合在一起.....	41
12.	DNA 兩股的配對性成為其自行複製的核心.....	43
13.	DNA 於複製時分成兩股的證據.....	45
14.	DNA 分子不僅可變性也可復原.....	45
15.	G-C 氮基對較 A-T 對不易分開.....	46
16.	倒置重複段落可促進單股 DNA 上氮基間的氫鍵.....	46
17.	5- 甲基胞嘧啶可取代 DNA 中的胞嘧啶.....	46
18.	含單一 DNA 分子的染色體.....	47
19.	病毒為均一性 DNA 分子的來源.....	48
20.	λ 噬菌體 DNA 能併入大腸菌染色體的特定位置.....	49
21.	不正常轉運噬菌體能提供細菌染色體的獨特段落.....	50
22.	質體為能自行複製的迷你染色體.....	51
23.	環狀 DNA 分子可能為超螺旋形態.....	52
24.	大部份雙螺旋結構為右轉的狀態，但在特殊情況某些 DNA 的核苷酸序列使 DNA 變為左轉.....	54
第三章 遺傳密碼的闡釋.....		59
1.	鑑定突變血紅蛋白分子中胺基酸的取代現象.....	59
2.	精密結構遺傳學的發展.....	60
3.	基因及其聚肽產物有一對一的排列順序.....	61
4.	RNA 攜帶 DNA 的訊息至細胞質中供蛋白質的合成.....	61
5.	胺基酸在 RNA 模版上如何排列？.....	62
6.	酶類及模版在核酸及蛋白質合成時的功用.....	63
7.	蛋白質合成的順序係自 N- 末端到 C- 末端.....	64
8.	參與蛋白質合成的 RNA 有三種.....	64
9.	遺傳學證明譯碼由三個氮基組合而成.....	68
10.	RNA 鏈以 5' $\rightarrow$ 3' 方向合成及轉譯.....	68
11.	人工合成的携訊 RNA 可用以測定譯碼的性質.....	68

12.	基因密碼的性質至 1966 年 6 月已完全明瞭·····	69
13.	「搖擺」經常使單一的轉運 RNA 認識多個的譯碼·····	70
14.	基因密碼的普遍性如何?·····	70
15.	一般基因至少含有 1,200 個氮基對·····	71
16.	阻遏性的轉運 RNA 會誤譯遺傳密碼·····	71
17.	DNA 含有合成特定 RNA 分子的起始及終止信號·····	73
18.	利用外來 mRNA 從事活體外的轉譯作用已有更精確的系統·····	73
第四章 控制基因表現的遺傳因子 ·····		78
1.	壓抑體控制誘致性酶類的合成·····	78
2.	具有相關功能的細菌基因組成操縱基因群·····	80
3.	促進因子為 RNA 合成的開始信號·····	80
4.	固定性地合成壓抑體分子·····	81
5.	壓抑體已獲得分離及鑑定·····	81
6.	基因轉錄的積極節制·····	83
7.	衰減作用·····	83
8.	轉譯的控制·····	85
9.	早期探測高等動植物中基因節制作用的困難·····	86
10.	<i>Xenopus</i> 核糖體 RNA 基因的純化·····	87
11.	真核細胞的 mRNA 有頭蓋及尾部·····	88
12.	真核生物有三種不同的 RNA 聚合酶·····	89
13.	真核細胞的 DNA 組織成為核仁小體·····	90
14.	動物的病毒為高等細胞中基因表現的模式系統·····	90
15.	RNA 腫瘤病毒藉雙股 DNA 中間產物複製·····	91
第五章 製造重組 DNA 分子的方法 ·····		95
1.	核酸序列分析方法的確定·····	95
2.	限制酶剪切 DNA 上特定的位置·····	96
3.	限制座分佈圖十分地專一性·····	97
4.	限制酶分解產生的片段導致 DNA 序列分析新方法的產生·····	100

5.	小段聚核苷酸可用化學法合成	102
6.	<i>EcoRI</i> 分解產生的段落含有黏尾 (凝聚末端)	104
7.	許多酶類參與 DNA 的複製	106
8.	黏尾可利用酶類添加於齊平末端的 DNA 分子上	106
9.	小質體為選殖外來基因的媒介	108
10.	高等生物的 DNA 也可作分子階層的分析	110
11.	科學家們認為無限制的基因選殖具有危險性	110
12.	Asilomar 會議制定重組 DNA 的方針	112
第六章 選殖基因的分離		114
1.	發展「安全的」細菌及質體媒介	114
2.	為何利用抗藥性質體?	115
3.	選殖基因的探測核酸	116
4.	反訊息 DNA 的合成及選殖	117
5.	鑑定含有特定反訊息 DNA 的純系	120
6.	選殖基因組段落於 λ 噬菌體中	122
7.	凝聚質體能選殖較大的外來 DNA 片段	124
8.	染色體拼接法用於長段真核 DNA 的分析	124
9.	選殖外來 DNA 於 M13 噬菌體中便利於以 Sanger 法作序列的分析	127
10.	Southern 及 Northern 斑迹雜合法	127
11.	製造稀少蛋白質的基因之選殖法	130
12.	利用小段聚核苷酸為探測核酸以篩選基因集合庫	132
13.	利用電腦組合反訊息 DNA 的種類	132
14.	利用表現媒介分離特定的真核反訊息 DNA	133
15.	利用免疫篩選法測定表現媒介的產物	136
第七章 真核基因料想不到的複雜現象		140
1.	發現分裂基因	140
2.	釋出段與干擾段的邊界含有特定的氮基序列	143
3.	自主疊接現象的發現	145

4.	第一個經過完全序列分析的哺乳類基因.....	145
5.	DNA 中無終止信息的轉錄架構代表蛋白質的密碼區域.....	146
6.	領導序列在分泌蛋白質的氨基端.....	147
7.	干擾段有時標明有功能性蛋白質的範圍.....	147
8.	一基因經過不同的疊接途徑會產生不同的 mRNA.....	149
9.	一基因的管制區域在基因的 5' 及 3' 末端.....	150
10.	一串基因群中可能含有在演化中發生退化的遺跡.....	151
11.	基因族可藉 mRNA 分子的逆轉錄作用而擴大.....	152
12.	真核 DNA 中散佈有重複的序列.....	152
13.	前驅聚肽產生蛋白質賀爾蒙.....	154
第八章 活體外的致變作用		159
1.	缺失作用.....	159
2.	插入作用.....	162
3.	取代作用：胞嘧啶的脫氨基反應.....	164
4.	取代作用：核苷酸類似物的併入.....	166
5.	取代作用：核苷酸錯誤的併入.....	166
6.	利用已確定序列的小段聚核苷酸製造突變種.....	168
第九章 抗體基因係由生殖細胞的 DNA 段落重排而形成		173
1.	確定抗體分子的基本構造.....	173
2.	V 及 C 段落被懷疑係由不同的基因轉錄而成.....	174
3.	利用 mRNA 探測核酸證實 V 及 C 基因接合之理論.....	174
4.	自骨髓癌細胞分離具有功能的抗體基因.....	175
5.	胚胎細胞為未接合 V 及 C 基因的來源.....	176
6.	許多 J（連接）段落附着在基因組 C（固定）段落上.....	177
7.	DNA 上三個不連續的區域控制抗體重鏈上胺基酸的組合.....	177
8.	一個 DNA 消除事件造成一個 V _H 基因與兩個不同的 C _H 基因的結 合.....	178

9. 交替的疊接使單一的細胞能夠製造含有相同的 V_H 段落的 μ 及 δ 級重鏈 179
10. 體細胞的突變為形成免疫血球素種類益為繁多的因素 179
11. 利用基因選殖法確定主要的組織一致性複合蛋白質基因及其抗體蛋白質的基因 181

第十章 致瘤病毒 185

1. 致瘤病毒 DNA 合併於寄主染色體內後的選殖方法 186
2. SV 40 及多性瘤病毒的瘤蛋白質 186
3. 包被 SV 40 及多性瘤病毒染色質的結構蛋白質係由重疊基因製成 188
4. 合成 SV 40 與多性瘤病毒早期及晚期基因的 mRNA 時係使用不同的控制信號 190
5. SV 40 及多性瘤病毒的 DNA 複製始點涵蓋大約 100 個氮基對的區域 190
6. RNA 致瘤病毒 (逆轉錄病毒) 的複雜結構 191
7. 高度致瘤性的逆轉錄病毒含有特殊的致瘤序列 192
8. 前驅病毒與其 RNA 基因組有相同的基因順序 193
9. 前驅病毒的 LTR 含有合成 RNA 的促進因子 193
10. 逆轉錄病毒的致瘤基因經常為製造蛋白質激酶的基因 194
11. 細胞中的正常基因是逆轉錄病毒致瘤基因的來源 195
12. 逆轉錄病毒的致瘤基因係正常細胞基因的過份表現抑是錯誤表現尚待證明 196
13. 弱致瘤性的逆轉錄病毒能誘致癌症 197
14. 致癌一般性的理論 197

第十一章 移動基因 202

1. 移位因子在移位時需產生另一個移位因子 203
2. 移動遺傳因子可能是所有生物皆備的物體 205
3. 利用移位因子從事果蠅胚胎的遺傳工程 206
4. 分離玉米的 Ds 移位因子 209

5. RNA 致瘤病毒的基因組是否由移動遺傳因子演變而來？.....	209
6. 移位因子在功能上是否可分為兩類？.....	210
7. 基因取代為酵母菌改變性別的機制：卡帶夾模式.....	211
8. 基因的更換導致錐形蟲抗原的改變.....	212
9. 基因重排導致淋病奈瑟菌抗原的改變.....	215
第十二章 在控制的狀態下傳遞外來 DNA 於酵母菌體內	218
1. 酵母菌的球形體能攝取外來的 DNA	219
2. 酵母菌基因在大腸菌體內的表現.....	219
3. 往返媒介.....	220
4. 酵母菌也含有質體.....	220
5. 添加複製始點於 DNA 上以增進轉化的效果.....	221
6. 利用酵母菌的中節 DNA 穩定酵母菌的質體.....	222
7. 酵母菌染色體的末端（端粒）有髮夾狀的圓弧.....	223
8. 選殖的 DNA 直接合併入酵母菌染色體中的方法.....	225
9. 回收媒介（retriever vectors）.....	227
10. 基因的組織.....	228
11. 管制酵母菌基因的表現.....	231
第十三章 利用冠狀樹瘿質體從事植物的遺傳工程.....	235
1. 傳統的植物育種法.....	235
2. 組織培養的植物細胞.....	235
3. 從組織培養的植物細胞再分化而產生完全的植物.....	236
4. 植物的原細胞能夠再分化為完全的植物.....	236
5. 利用原細胞融合的方法製造雜種植物.....	237
6. 遺傳工程製造的植物.....	239
7. 冠狀樹瘿.....	240
8. 致瘤（Ti）質體.....	240
9. Ti 質體突變的菌株.....	241
10. T DNA 併入植物染色體.....	242

11. T DNA 是否為一種移位因子？	243
12. T DNA 孟德爾式的遺傳	243
13. Ti 質體 DNA 可作為傳遞基因的媒介	244
14. 轉化植物細胞及其原細胞	244
15. Ti 質體上的 <i>vir</i> 段落能啟動 T DNA	246
16. 衰減狀態的 T DNA 能使轉化的細胞生成完全的植物	246
17. T DNA 插入植物細胞 DNA 的現象可做為篩選植物基因的用途	247
18. Ti 質體在植物遺傳工程上的實際用途	249

第十四章 轉移基因於哺乳動物細胞之內 252

1. 鈣離子能促進有脊椎動物細胞對 DNA 的攝取	252
2. 胸腺定激酶 (TK) 為轉運感染實驗的標準篩選標誌	253
3. 轉化正常真核細胞所需的顯性作用媒介	253
4. DNA 在真核細胞內接合及共同轉化	256
5. 利用微量注射法移轉 DNA 於哺乳動物細胞中	256
6. 甲基化 DNA 傳入細胞後的半穩定遺傳現象	257
7. 傳遞於細胞中的基因的分離方法	259
8. 基因於傳遞後的管制	262
9. 利用 DNA 轉移實驗確定人體特定癌症基因的存在	264
10. 人體致瘤基因的選殖	266

第十五章 病毒媒介 271

1. SV 40 媒介	271
2. 利用 SV 40 病毒原為媒介	272
3. 置換 SV 40 的晚期基因區域	272
4. 置換 SV 40 的早期基因區域	273
5. 表面抗原基因於選殖後的分析	275
6. SV 40 媒介在 COS 細胞中以類似質體的方式複製 DNA	277
7. 利用 COS 細胞與含有 SV 40 DNA 細胞的融合技術救助 SV 40 DNA 的複製	278

8. 從 SV 40 媒介的研究發現增效序列	278
9. 乳頭狀瘤病毒 DNA 在白鼠細胞中能像質體般地複製	281
10. RNA 致瘤病毒可作為傳遞基因的媒介	282
第十六章 轉移外來基因於受精的白鼠卵中的方法	285
1. 外來基因併入染色體	285
2. 外來基因並不併入特定的染色體	286
3. 外來 DNA 能穩定地併入生殖細胞中	287
4. 外來 DNA 在白鼠體內的表現	288
5. 微量注射後 MK 融合基因的表現	288
6. MK 基因的表現與組織的種類有關	289
7. MK 基因在子代白鼠中表現性能的改變	290
8. MGH 融合基因的功能表現	290
9. MuLV DNA 的併入	291
10. 利用 MuLV 病毒感染早期的胚胎	292
11. 利用微量注射法傳遞前驅病毒 DNA 於生殖細胞中	294
12. 移殖基因至受精卵實驗所得的初步暗示	294
13. 「純系」動物	295
第十七章 重組 DNA 與遺傳疾病	300
1. 孟德爾遺傳方式	300
2. 先天性的代謝疾病	301
3. 先天性代謝疾病的醫治	302
4. 早期鑑定及實施流產	302
5. 利用 DNA 分析法鑑定遺傳疾病	303
6. β - 兒童母紅血球性貧血	304
7. 無意義突變及架構移改突變	305
8. 轉錄階層的突變	305
9. RNA 處理過程的突變	306
10. 鐮狀細胞性貧血	306

11.	利用人造小段聚核苷酸鑑定 α_1 -抗胰凝乳酶的缺乏	307
12.	西瓜胺基酸缺乏症與精胺酸琥珀酸鹽合成酶的 mRNA 變異有關	309
13.	利用鄰接的基因鑑別遺傳基因的突變	310
14.	找尋突變基因	312
15.	人類染色體的圖譜	312
16.	體細胞遺傳學	313
17.	人鼠雜合細胞	313
18.	基因在染色體上的位置	314
19.	染色體移位與癌症的關係	317
20.	原位雜合	318
21.	染色體的個別選殖	319
22.	為細胞遺傳學及分子遺傳學搭橋	321
23.	基因治療法的遠景	321
24.	誘致兒童母紅血球性貧血患者的胎兒血紅蛋白	322
第十八章 應用於重組 DNA 工業的科技		328
1.	重組 DNA 在商業上的潛力	328
2.	基因選殖在商業上應用的方法	329
3.	利用細菌製造人類胰島素	329
4.	人類胰島素的構造	329
5.	人工製造的胰島素「基因」	330
6.	製造前驅胰島素的反訊息 DNA	331
7.	分泌前驅胰島素的細菌	332
8.	利用基因選殖的方法製造人類生長賀爾蒙	334
9.	製造生長賀爾蒙「基因」	335
10.	蛋胺酸問題	336
11.	不同種類的干擾素	336
12.	人類 α -干擾素在大腸菌體內高效率地製造	338
13.	γ -(免疫)干擾素基因的選殖	339
14.	利用病毒蛋白質製造疫苗	339

15. 口蹄疾病毒 DNA 的選殖.....	340
16. 利用人工製造的肽爲疫苗.....	340
17. 人類肝炎 B 病毒的疫苗.....	341
18. 利用基因選殖法製造肝炎 B 病毒的抗原.....	341
重組 DNA 發展的歷史	344
附錄 A 限制酶.....	350
附錄 B 使用於重組 DNA 研究的其他酶類.....	356
索 引	358

重組 DNA

簡明篇

James D. Watson

冷泉灣實驗室

John Tooze

歐洲分子生物學組織

合著

David T. Kurtz

冷泉灣實驗室

李國鏞

編譯

國立中興大學微生物學教授

游若箬

鳳山熱帶園藝試驗分所助理研究員

華香園出版社

