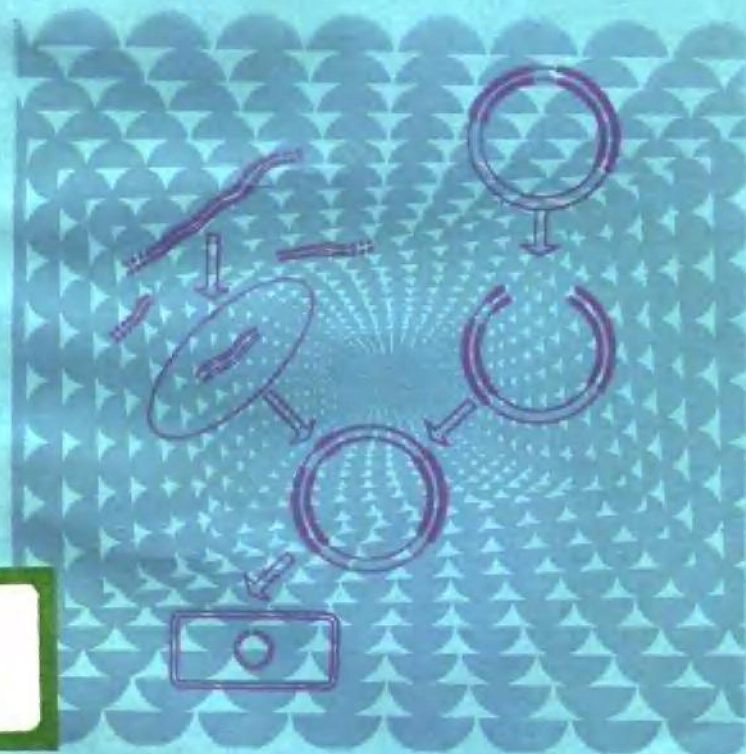


基因工程学入门

赵奕 朱平 编著
史元元 金宇一



农业出版社

基因工程学入门

赵 奕 朱 平 编著
史元元 金宁一

* * *

责任编辑 刘振生

农业出版社出版(北京朝阳区枣营路)

新华书店北京发行所发行 通县向阳印刷厂印刷

787×1092mm32开本 4.625印张 96千字

1990年5月第1版 1990年5月北京第1次印刷

印数 1—1,520册 定价 2.50元

ISBN 7-109-01498-3/Q·73

代 序

基因工程是生物工程的核心。作为新型的高技术，已经显示了极大的潜力，具有广泛的应用价值和深远的发展前景，而且可能在近年内成为一项普及的科技手段。

国内读者，特别是生物学、医学以及农业和畜牧业等领域中的广大教学和专业人员，迫切需要了解基因工程的知识，而国内现有的这方面书刊，包括译本和专著，却难以满足这样的要求，它们大多起点较高，专业性太强，仅仅适于从事基因工程研究和有一定基础的读者，对于大量的初学者以及未曾涉及这个研究领域的读者，阅读比较困难。

有鉴于此，农学博士赵奕等同志在多年来从事基因工程研究的基础上，参阅了大量国内外书刊，慎重选材，认真编撰，从最基础的自然现象谈起，深入浅出地阐述遗传学基本知识、基因工程的概念、基本路线和方法，以及基因工程的应用和发展前景等内容，并附名词解释。

这是一本既新颖全面、又简明易懂的科普读物。它的出版必将有助于我国基因工程知识的普及和基因工程研究的开展，产生良好的社会效益。阅后欣喜，乐以为之写序也。

殷 震

一九八九年一月于长春市

目 录

代 序

第一章 遗传学基本知识	1
一、从遗传现象说起	1
二、核酸是遗传物质	7
三、蛋白质是表现形式	12
四、变异	16
第二章 基因工程概论	20
一、定义与原理	20
二、工具酶	23
三、目的基因	32
四、载体	35
五、DNA的连接和转化(染)	49
第三章 基因工程的基本路线和方法	56
一、基因分离	56
二、基因重组	70
三、重组DNA导入	80
四、基因表达	87
第四章 基因工程中的常用技术	93
一、限制性内切酶图谱绘制	93
二、核苷酸序列分析	95

三、核酸探针·····	99
四、Southern吸印杂交试验·····	103
五、Northern吸印杂交试验·····	104
六、Western吸印免疫检测试验·····	105
七、免疫血清学技术·····	106
第五章 转基因动物·····	108
一、概述·····	108
二、转基因动物的培育过程·····	111
三、转基因动物培育研究的前景和任务·····	118
第六章 基因工程的应用和发展前景·····	122
一、基因工程的潜力和效益·····	122
二、基因工程的安全问题·····	127
名词解释·····	129

第一章 遗传学基本知识

一、从遗传现象说起

遗传是生物界最重要的标志之一。只要留心观察,就可以在我们周围看到许许多多的遗传现象。种瓜得瓜,种豆得豆,孩子象父母,子代象亲代,这样的例子比比皆是,已经是人们司空见惯的现象了。但是如果你问为什么种瓜只能得瓜?为什么人的后代必然是人,而细菌的后代还是细菌?为什么自然界中一切生物体的后代恰恰就是这个生物物种本身?那就牵涉到深奥的遗传学实质上去了。如果仅仅以单细胞生物简单的细胞分裂繁殖为例,那还比较容易解释,因为子细胞就是由母细胞一分为二地分裂产生的嘛!当然象它们的母细胞了。但是又如何解释复杂的多细胞生物繁殖以及哺乳动物受精卵发育繁殖所形成的各种遗传现象呢?究竟是什么因素如此精确地保证着各种生物在世代间的延续,同时又调节和制约着不同生物种类和同一生物种类中不同个体的遗传特性呢?为什么动植物一个精子或卵子内能够分别包含着双亲如此之多的遗传特性?千百年来,这一直是一个难以回答的谜。

那末谜底是怎样揭开的呢?

19世纪中叶,在达尔文进化论的基础上,奥地利学者孟德

尔通过著名的豌豆杂交试验，首先发现和证明了遗传的基本规律，为探索生命遗传的奥秘拉开了帷幕。

孟德尔选择了具有相对性状的豌豆，如高和矮、红花和白花、黄叶和绿叶等品种，进行了纯系品种之间的互相授粉杂交，以研究亲代性状在子代中的分布。孟德尔发现，纯系红花豌豆之间或纯系白花豌豆之间进行授粉时，其子代分别全部都是红花和白花，但将红花豌豆和白花豌豆（亲代）杂交授粉后，由豆荚中的种子（子一代）再长成的植株（子一代植株）却全部开红花。继续将子一代的红花植株自花授粉，所得种子（子二代）长成的植株（子二代植株）中， $3/4$ 开红花， $1/4$ 开白花。

由此，孟德尔提出了一个假说：在每一植株中，一对遗传因子决定一个性状。当产生生殖细胞时，每个细胞只能得到每对遗传因子中的一个，当两个生殖细胞结合时，所携带的遗传因子相加，由新形成的一对遗传因子决定子一代的性状。这一假说经过后人的反复验证，被命名为“遗传分离定律”。孟德尔在实验中还发现，遗传因子分为显性遗传因子和隐性遗传因子，当一对遗传因子中包括一个显性因子和一个隐性因子时，由显性因子决定子一代的性状，只有当一对遗传因子都是隐性因子时，方可表现出隐性因子的性状。在上述实验中，决定红花的遗传因子为显性，决定白花的遗传因子为隐性，如图 1 所示。

由于每一植株都具有许多种遗传性状，因此在一个植株中就存在着许多对遗传因子。孟德尔接着又进行了两对以上不同性状豌豆的杂交试验。他选用两对性状不同的纯系豌豆，

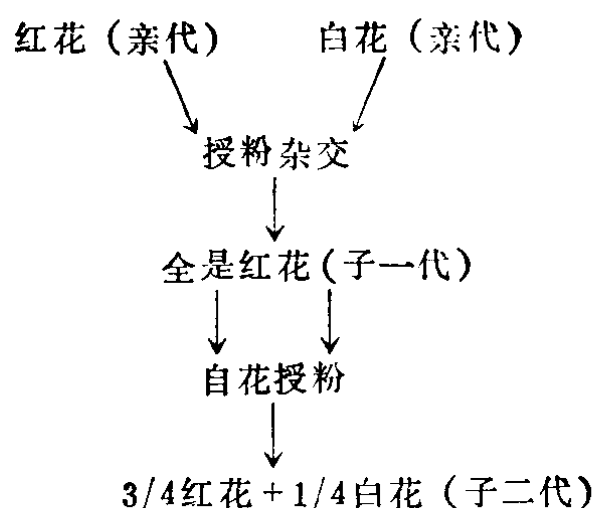


图1 豌豆红花与白花遗传实验

即子叶黄色饱满(黄满)的豌豆和子叶绿色皱瘪(绿皱)的豌豆进行杂交，子一代全部为黄满。但给子一代自花授粉，可在子二代中出现 4 种表现型，即黄满、黄皱、绿满和绿皱，其在数量上的比例为 9 : 3 : 3 : 1。孟德尔认为，在形成生殖细胞时，同对的两个相对遗传因子相互分离，与另对的遗传因子自由组合，而且机会相等，这就是“遗传自由组合定律”。

孟德尔对遗传学的贡献不仅在于发现了遗传的两大基本规律，更重要的是，他首先提出了“遗传因子”这一概念，从

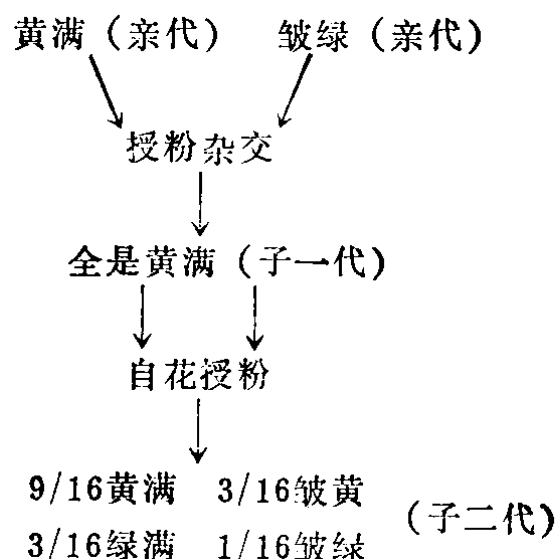


图2 豌豆两对相对性状杂交实验

而把遗传现象与生物本身的组成物质联系起来，提示人们：遗传因子蕴育于生物细胞中。至20世纪初，丹麦遗传学家约翰森将孟德尔提出的“遗传因子”正式命名为“基因”，这一术语一直延用至今。

1910年，美国科学家摩尔根在孟德尔重大发现的基础上，继续用果蝇进行遗传学研究，进一步证实了孟德尔的遗传定律，并又提出了“遗传连锁规律”。他在用黑身和灰身、长翅和残翅两对相对性状的果蝇进行杂交实验时发现，用灰身残翅和黑身長翅的果蝇杂交，得到的子一代全部是灰身長翅。用子一代继续与黑身長翅的果蝇交配，只能产生两种子代——灰身残翅和黑身長翅。这说明灰身和长翅是显性基因，但灰身基因与残翅基因、黑身基因与长翅基因是分别连锁在一起传递给下一代的，如图3所示。

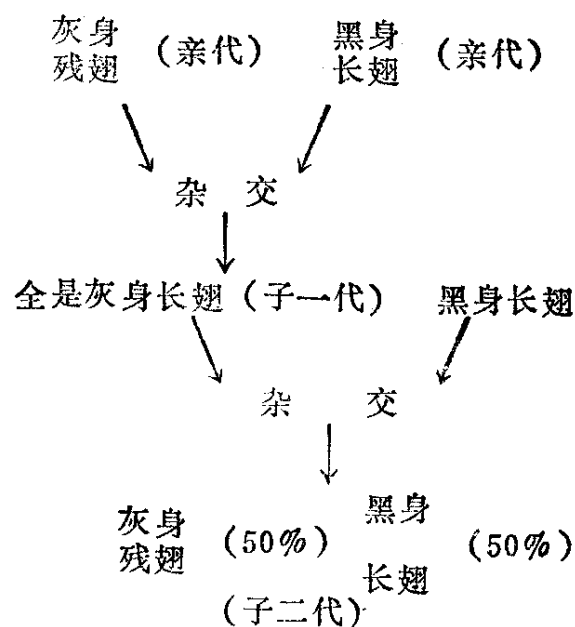


图3 果蝇遗传连锁实验

孟德尔和摩尔根发现的三个规律形成了遗传的基本定律，并且成为遗传学发展的里程碑。

遗传学发展至此已经初具规模了，可以部分地解释生命遗传之谜。人们已经确信，决定遗传性状的基因存在于组成生物的细胞中，但是还不能十分肯定究竟细胞中的哪一种成分是遗传物质。正如大家知道的那样，组成生物细胞的成分是十分复杂的，除三大营养物质糖、脂类和蛋白质外，还有水、无机盐和核酸等。但是人们发现，仅仅具有蛋白质和核酸的最简单的生物体如病毒，也具有遗传现象，于是将研究焦点集中在对蛋白质和核酸的分析研究上。

最终证明遗传物质本质的证据，来自微生物方面的实验，

(1) 细菌转化实验 带有荚膜的肺炎双球菌具有致病性，培养时形成光滑的菌落；无荚膜的肺炎双球菌没有致病性，培养时形成粗糙的菌落。将无荚膜的粗糙型菌和加热杀死的有荚膜的光滑型菌分别注射小鼠，两者均不致病。但如将两者混合注射小鼠，则可使小鼠发生肺炎死亡，而且可从死亡小鼠的组织内分离到具有荚膜的光滑型菌。将粗糙型菌和加热杀死的光滑型菌混合培养，也可产生具有荚膜的光滑型菌。因此，光滑型菌中似乎存在着一种耐热的“转化因子”，并在肺炎双球菌的遗传中起着作用。进一步的深入研究发现，这种耐热的“转化因子”就是存在于细菌菌体内的核酸物质——脱氧核糖核酸(DNA)。只要提取光滑型菌的DNA，将其与粗糙型菌混合培养，就能产生出子代光滑型菌，如图4所示。

以上实验结果提供了无可辩驳的事实：DNA是使肺炎双球菌形成荚膜从而产生光滑型菌的遗传物质。

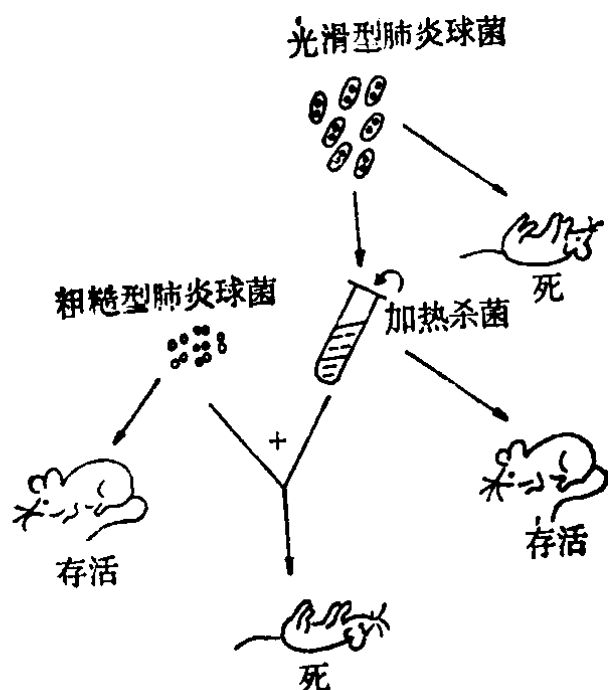


图4 肺炎球菌转化实验

(2) 噬菌体感染实验 噬菌体是一种寄生在细菌中的病毒，故又称为细菌病毒。多数噬菌体的形状象蝌蚪，由蛋白质构成的六角形头部和中空尾部组成。在其头部的蛋白外壳中含有DNA。噬菌体感染细菌时，先是其尾部吸附在细菌表面，随后象注射器那样由尾部将头部内的DNA注入细菌体内，蛋白外壳并不侵入。进入菌体的噬菌体DNA借助宿主细菌的原料和能量，增殖出新的子代噬菌体。细菌细胞因噬菌体的大量增殖而破裂，结果释放出几十甚至几百个既有蛋白外壳又有头部DNA的完整结构的噬菌体，如图5所示。这个例子令人信服地说明，注入细菌体内的噬菌体DNA中包含着产生子代噬菌体结构和功能的全部遗传信息，DNA就是遗传物质。

通过以上以及其他一系列研究，最终得出结论：决定生物特性的全部信息存在于DNA分子中。在生物繁殖过程中，通过DNA的传递，将亲代的遗传信息交给子代。但是应当指出，一部分病毒不含有DNA，而只含有另一种核酸，即核糖核酸

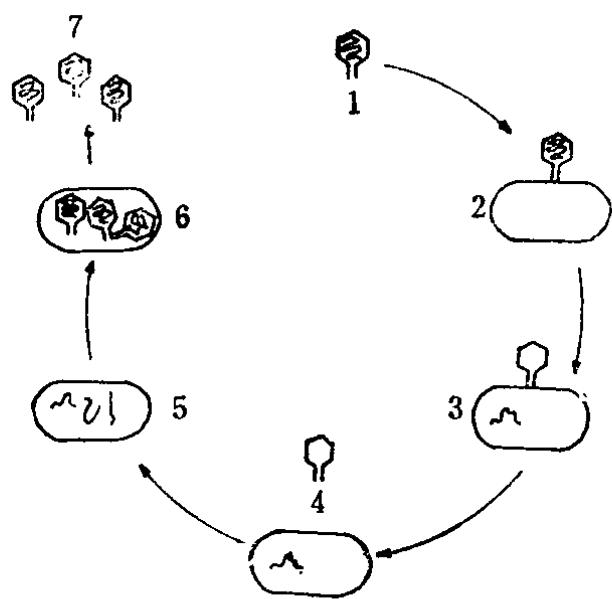


图5 噬菌体感染细菌实验

(RNA)，由RNA代替DNA行使遗传物质的功能。

二、核酸是遗传物质

DNA是一种高分子结构，分子量从几万到几百万，甚至可达 10^{14} 道尔顿*。尽管自然界中无数生物具有千姿百态的遗传特性，但是它们的DNA分子的组成和结构却十分相似。1953年，英国科学家威尔斯首先拍摄了哺乳动物细胞DNA的X线衍射图。根据这一摄象，美国科学家沃森和克里克提出了DNA分子双螺旋的空间构象模型。这一发现不仅使沃森和克里克获得了诺贝尔奖，也为生命遗传的深入探索

* 相等于氢原子质量 (1.67×10^{-24} 克) 的单位，简写为d。

以及基因工程学的创立开辟了成功之路。

根据沃森-克里克的DNA结构模型（图6），生物细胞的DNA分子大都是由两条巨大的链状分子借氢键平行相连形成的，仅某些病毒的DNA为单链分子。组成DNA分子双螺旋结构的两条链为多核苷酸链，是由许多单核苷酸分子连接



图6 DNA分子的双螺旋结构

而成，也就是说，DNA的基本结构单位为单核苷酸。单核苷酸又是由一个脱氧核糖、一个磷酸和一个含氮的碱基组成。数个单核苷酸分子连接成多核苷酸链时，除了在糖、磷酸骨架上形成酯键连接外，在两条多核苷酸链之间还存在着侧翼碱基形成的氢键连接。

氢键连接严格遵守着碱基配对原则。组成DNA分子的碱基是含氮的有机碱，包括嘌呤和嘧啶两大类，共4种。所谓碱基配对原则，是指两条多核苷酸链之间的碱基连接，必须是一个嘌呤对一个嘧啶，而且腺嘌呤（A）必须与胸腺嘧啶（T）（RNA时为尿嘧啶）相连，形成二条氢键；鸟嘌呤（G）必须与胞嘧啶（C）相连，形成三条氢键。这样，既有多核苷酸链纵向的酯键连接，又有两条多核苷酸链间横向的氢键连接，从而维系着DNA分子结构的稳定性（图7）。

碱基配对原则在DNA复制和基因工程操作中都有重要作用。

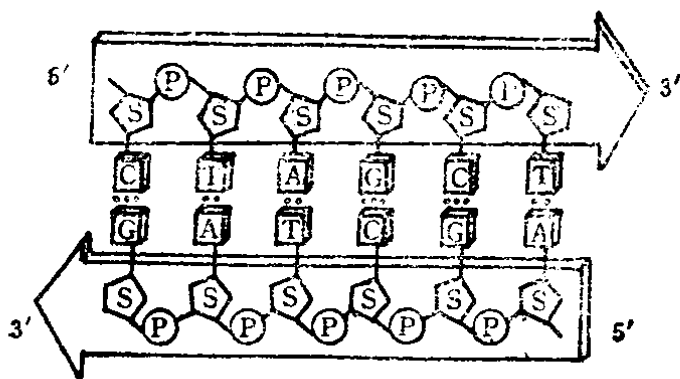


图7 DNA分子平面结构

P——磷酸 S——脱氧核糖 A、C、G、T——含氮碱基

在对DNA分子的组成和结构都已十分了解的基础上，人们在进一步的研究中发现，DNA作为一种遗传物质，它的遗传功能主要是通过自我复制来实现的。

DNA复制时，双螺旋间的氢键在解链蛋白的作用下发生断裂，DNA分子分解为两条单股多核苷酸链。每一条多核苷酸链都作为合成子代DNA的模板。在细胞内通过一系列的反应过程，特别是DNA聚合酶的催化作用，以细胞内游离的单核苷酸为原料，依照碱基互补的原则，在亲代单股DNA的模板链上，借助于互补碱基间形成的氢键及相邻单核苷酸间形成的磷酸二酯键，合成一条新的互补链。如此形成的DNA分子必然与亲代DNA分子的排列组成完全相同，而且每个双链DNA分子中都保留着一条亲代的多核苷酸链。DNA的这种复制过程称为“半保留复制”（图8）。

某些病毒只含单链的DNA或RNA，复制时就以这条单链DNA或RNA作为模板，合成一条相应的新链。新链DNA常以氢键与老链联接，形成所谓的双链DNA中间体，然后再按

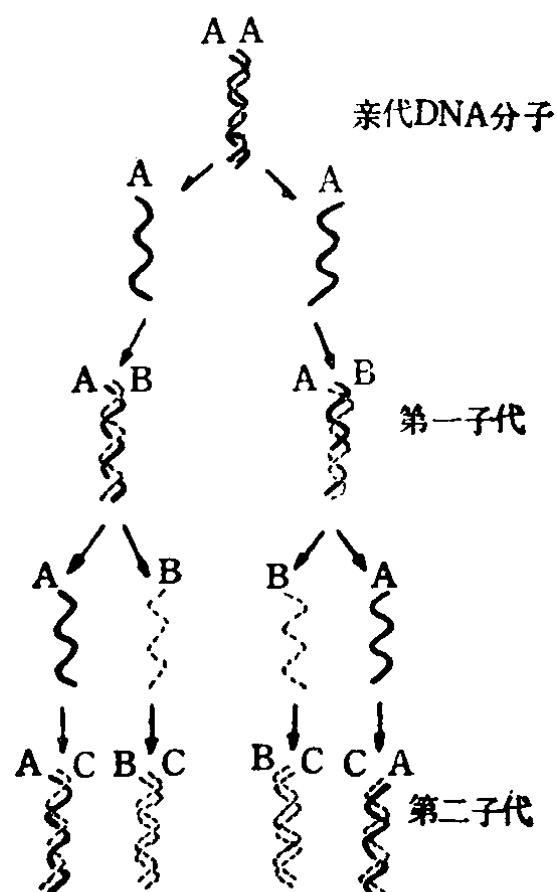


图8 DNA的半保留复制

半保留复制的方式由其中一条链复制出新的单链子代DNA。新链RNA则以负链的形式反过来复制出单链的子代RNA，如图9所示。

RNA的分子组成与DNA相似，也是由核苷酸组成的多核苷酸链，但RNA通常为单链，而且单核苷酸中的戊糖是核糖而不是DNA中的脱氧核糖。在组成RNA核苷酸的四种碱基中，腺嘌呤、鸟嘌呤和胞嘧啶三种碱基与DNA相同，只是以尿嘧啶（U）替换了DNA中的胸腺嘧啶（T）。碱基配对时，C仍与G互补（C—G），但A则与U而不是与T互补。

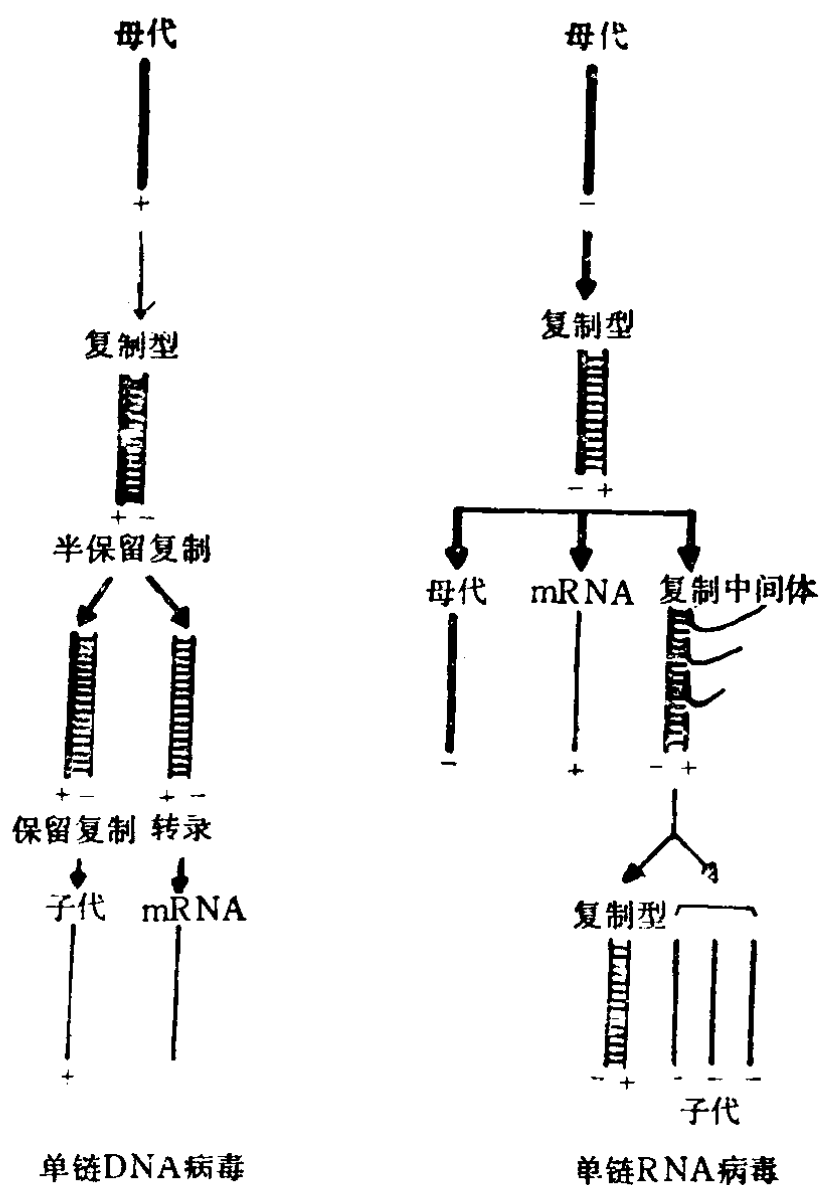


图9 单链病毒的核酸复制

综上所述，子代的DNA或RNA分子都是与亲代分子通过碱基互补而合成的，亲代和子代两者DNA或RNA的核苷酸排列分毫不差，从而实现了遗传的准确性和稳定性。但是在环境因素中某些因子的作用下，碱基可能错误配对，造成核苷

酸的缺失和颠倒等变化，从而改变生物遗传特性，发生所谓的突变，这是生物变异的一个重要的发生机理。关于变异，我们还将在下节作进一步的讨论。

三、蛋白质是表现形式

核酸是遗传物质，但是必须通过蛋白质才能表现出其生命活性。也就是说，一定结构的核酸产生一定结构的蛋白质，一定结构的蛋白质表现出生物体一定的形态和生理特征。

蛋白质是生物体最重要的组成成分，其结构功能单位是氨基酸。尽管不同种类的生物有着不同的生物组成和生物活性，但是作为其主要组成成分的蛋白质都是由共同的20多个氨基酸构成。几个、十几个甚至几百、几千个氨基酸按照不同的顺序连接成为多肽链，再进一步加工成为具有高级结构的蛋白质。由于氨基酸的组成和排列不同，蛋白质也就呈现不同的生物活性。

蛋白质中氨基酸的排列和组合决定于核酸序列，也就是说，决定氨基酸组成的遗传信息贮存在DNA四种含氮碱基的排列之中。DNA四种碱基可以呈不同的排列组合，一般是每个氨基酸由三个固定的碱基排列所决定。以四种碱基组成的不同三联体代表着所有的二十余种氨基酸，例如GAA代表谷氨酸，AGA代表精氨酸，AAA代表赖氨酸等等。因此，DNA分子的碱基排列决定着蛋白质中氨基酸的组成序列。人们将DNA的碱基序列称为蛋白质的遗传密码，代表每个氨基酸的三个特定的碱基称为“三联体密码”，又