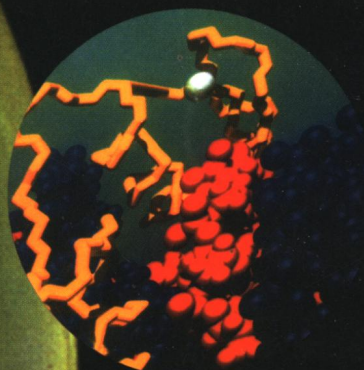


核 酸

与

基因表达调控

张西平 王鄂生 申宗侯 编著



武汉大学出版社

核酸与基因表达调控

张西平 王鄂生 申宗侯 编著

武汉大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

核酸与基因表达调控/张西平,王鄂生,申宗侯编著. —武汉: 武汉大学出版社, 2002. 1

ISBN 7-307-03293-7

I. 核… II. ①张… ②王… ③申… III. ①核酸—分子结构 ②核酸—复制(分子生物学) ③基因表达 IV. Q52

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第 045467 号

责任编辑: 黄汉平 责任校对: 叶效 版式设计: 支笛 绘图: 陈宝联

出版: 武汉大学出版社 (430072 武昌 珞珈山)

(电子邮件: wdp4@whu.edu.cn 网址: www.wdp.whu.edu.cn)

发行: 新华书店湖北发行所

印刷: 武汉理工大学印刷厂

开本: 787×1092 1/16 印张: 23 字数: 553 千字

版次: 2002 年 1 月第 1 版 2002 年 1 月第 1 次印刷

ISBN 7-307-03293-7/Q·71 定价: 29.00 元

版权所有, 不得翻印; 凡购我社的图书, 如有缺页、倒页、脱页等质量问题者, 请与当地图书销售部门联系调换。

前 言

核酸生物化学是研究基因(DNA、RNA)和基因组的结构与功能,以及遗传信息从基因DNA中核苷酸序列经过RNA传递至蛋白质中氨基酸序列(和其他传递方式)的科学。核酸是生物化学、分子生物学、分子遗传学、基因工程研究的重要物质基础。基因功能的体现取决于其结构和基因表达调控的方式和机制。基因表达调控是研究细胞信息代谢中多层次(诸如染色质的激活、转录、转录后加工、翻译、翻译后加工和修饰)调节的科学。基因表达调控是一个极为复杂的核酸-蛋白质(包括酶)、蛋白质-蛋白质相互识别、相互作用,并按时序、空间表达,又彼此协调的运作过程。这一过程既与基因(DNA或RNA)本身一级结构、高级结构、调控元件和蛋白质结构域有关,又与机体内细胞和组织的生理机能、遗传、发育密切联系。研究表明:核酸与基因表达调控已成为分子遗传学、发育生物学、细胞分子生物学等研究的核心内容。

随着20世纪90年代人类基因组计划的实施,人类第22条染色体基因组全序列已测出。基因组的结构及基因、全基因组表达调控的研究是当今新世纪生命科学研究的前沿领域和热点。因为由它推出了许多新思维、新概念、新理论、新研究方法、新技术,它们将更加全面地和进一步阐明基因的功能和许多重要的生命现象,还将揭示遗传疾病、心脑血管疾病、免疫缺陷症、癌症等的发病机理,从而为人类疾病的预防、诊断、治疗(包括基因治疗)、新药的设计等提供可靠的理论依据和新而实用的技术。

基于基因与其表达调控学科领域的发展和现状,以及课程改革的需要,我们将生化专业课中核酸生化与代谢调控两门课的内容合并,重组为《核酸与基因表达调控》一本新教材,本着加强专业基础和分支学科的内在联系与融合、避免重复、紧跟前沿,又考虑到21世纪生命科学“后基因组”时代即将来临,学生需要有坚实而又宽广的专业基础,结合综合性大学生物系高年级学生知识结构(已学过生物化学、生化技术、遗传学、细胞生物学等课程)的特点,着手写出这本教材。其内容分为五大篇共16章(见内容提要)。在内容安排上,①既要照顾全局系统,又要强调基本原理和理论,如第1~8章是认识基因(DNA、RNA)的结构特性的基础。②坚持理论联系实践的原则,并体现在每一篇甚至每一章之中。所以在阐明基本原理的同时,还要介绍主要研究方法和应用的价值。在介绍重要研究成果和发明时,要注重介绍背景和分析成功的因果,以启发学生的思维。③在知识结构上,除了阐明基本原理,还要选择一些成熟的模式,例如原核基因调控选择了*lac*操纵子、*ara*操纵子、*trp*操纵子,它们都各有其特点,从多方面说明转录调控的基本原理。在真核基因调控方面选择RNApol II转录起始复合物分步组装模型说明真核与原核的区别。其他转录调控方式说明多样化。④前沿热点也要选择性地介绍,而且要恰如其分。例如介绍基因组研究成果时从单基因序列分析和末端终止法入手一步步怎样改进测序及其相关的技术,并提高思维,最终用6个月时间测出了80%的基因组序列。在后基因组时代,对于

分析单基因的研究者仍有用武之地。

总之该书侧重基本原理，密切联系实践，抓住新技术，紧跟前沿，力图使本书具有科学性和先进性。该书既可作为生化专业和生物系其他专业本科生的教材，也可供研究生、教师和相关研究人员参考。

本书即将出版之际，我们对武汉大学出版社领导的支持和编辑同志在编辑加工中付出的辛勤劳动表示感谢。陈宝联同志为本书绘制全部插图。此外本实验室研究生黄昆、向筑、田梦楠为本书做了大量细致的工作。在此一并表示衷心谢意。

限于水平和时间，书中错漏之处在所难免，竭诚欢迎读者批评指正。以便日后修改。

编者 2001 年 6 月

目 录

第 1 篇 核酸结构及其分析

第 1 章 核酸的结构	2
1.1 核酸的组成	2
1.2 DNA 的结构	4
1.2.1 DNA 的一级结构	4
1. 单核苷酸之间的连接方式	4
2. 多核苷酸链中核苷酸的序列	4
1.2.2 DNA 的二级结构	5
1. DNA 二级结构的类型	5
2. 维持 DNA 二级结构的稳定性的作用力	9
3. DNA 的变性与复性	10
1.2.3 DNA 的三级结构	13
1. 超螺旋拓扑学	13
2. 超螺旋状态的测定	14
3. 拓扑异构酶与超螺旋	15
1.3 染色体 DNA 的结构	16
1.3.1 细菌染色体 DNA 的结构	16
1.3.2 真核染色体 DNA 的结构	17
1. 染色质与核小体	17
2. 螺线管结构	17
3. 突环和中期支架	17
1.4 RNA 的结构	18
1.4.1 mRNA 的基本结构	18
1.4.2 rRNA 的结构	19
1.4.3 tRNA 的结构	21
1. tRNA 的一、二级结构	21
2. tRNA 的三级结构	22
小 结	24
思考题	24

第 2 章 核酸研究有关工具酶	25
2.1 限制性内切酶	25
2.1.1 限制性内切酶的类型	25
2.1.2 I 型限制性内切酶的特性	25
2.1.3 影响 I 型限制性内切酶活性的因素	26
2.2 核酸连接酶	27
2.3 聚合酶	27
2.3.1 DNA 聚合酶 I 及其 Klenow 片段	27
2.3.2 T ₄ 噬菌体 DNA 聚合酶	28
2.3.3 T ₇ 噬菌体 DNA 聚合酶及测序酶	29
2.3.4 Taq DNA 聚合酶与 PCR 技术	29
2.3.5 SP6 RNA 聚合酶及体外转录	30
2.3.6 逆转录酶	30
2.4 DNA 及 RNA 修饰酶	31
2.4.1 末端脱氧核苷酸转移酶	31
2.4.2 T ₄ 多核苷酸激酶	31
2.4.3 碱性磷酸酶	31
2.5 核酸酶	31
2.5.1 核酸酶 S1	32
2.5.2 核酸外切酶 III	32
2.5.3 RNA 酶 A	32
2.5.4 DNA 酶 I	32
小 结	33
思考题	33
 第 3 章 DNA 物理图谱构建与核酸序列测定	34
3.1 DNA 物理图谱的构建	34
3.1.1 限制酶酶解法	34
3.1.2 单点标记加部分酶解法	35
3.1.3 片段杂交法	36
3.1.4 根据全序列推测法	37
3.1.5 电泳法	37
3.2 DNA 序列的测定	38
3.2.1 化学断裂法	38
3.2.2 末端终止法	39
3.2.3 DNA 序列结果分析	45
3.2.4 人类基因组计划	46
3.3 RNA 序列测定	47
3.3.1 利用逆转录酶将 RNA 转录为 cDNA 的直读法	47

3.3.2 特异 RNA 酶酶解图谱法	47
3.3.3 RNA 链末端终止法	48
3.3.4 RNA 化学断裂法	48
小 结	48
思考题	49
第 4 章 核酸的人工合成	50
4.1 化学合成 DNA 的方法	50
4.1.1 基本原理	50
4.1.2 常用方法	51
1. 磷酸二酯合成法	51
2. 磷酸三酯合成法	51
3. 固相亚磷酸三酯合成法	52
4.2 核酸人工合成的应用	56
4.2.1 全合成或半合成目的基因	56
4.2.2 制备引物和探针	56
4.2.3 制备 DNA 接头	56
4.2.4 制备定点突变体	57
4.3 人工合成基因	57
4.3.1 eglin C 基因的设计	58
4.3.2 寡核苷酸片段的合成与鉴定	59
4.3.3 eglin C 基因的装配	59
4.3.4 eglin C 基因在 M13mp9 上的克隆	60
4.3.5 酶切检测与序列分析	60
小 结	60
思考题	60

第 2 篇 基因信息的保存与稳定

第 5 章 DNA 复制	62
5.1 DNA 的复制方式	62
5.1.1 DNA 的半保留复制	62
5.1.2 DNA 的其他复制方式	63
5.2 参与 DNA 复制的酶和蛋白质	64
5.2.1 DNA 聚合酶	64
5.2.2 DNA 连接酶	69
5.2.3 DNA 解旋酶	69
5.2.4 单链结合蛋白	69
5.2.5 促旋酶	69

5.3 DNA 复制的过程	69
5.3.1 复制的起始	70
1. 复制是从固定复制起始点开始的	70
2. 复制大多数是双向进行的	71
5.3.2 DNA 链的延伸	72
1. DAN 合成按 5' → 3' 方向进行	72
2. 引发体与新生 DNA 链的延伸	73
3. 复制体与前导链和滞后链的合成	74
4. 真核 DNA 复制起始、延伸	74
5.3.3 复制的终止	78
5.3.4 复制的真实性	79
5.4 端粒 DNA 复制与细胞衰老	80
小 结	82
思考题	83
 第 6 章 DNA 遗传重组	84
6.1 异源双链 DNA 的重组	84
6.1.1 从双链切口起始重组	85
6.1.2 双链断裂可起始联会	85
6.2 同源重组	87
6.2.1 同源重组的 Holliday 模型	87
1. Holliday 模型的基本过程	87
2. Holliday 模型的证据	87
3. 重组形成的杂合双链的去向	88
6.2.2 同源重组非交叉 Holliday 模型	89
1. 该模型基本过程	89
2. 细菌同源重组模型的证据	89
6.2.3 同源重组中的重要蛋白质	89
1. RecA 蛋白在三个阶段中的作用	89
2. RecBCD 在同源重组中的作用	90
6.3 非同源重组	90
小 结	92
思考题	93
 第 7 章 DNA 损伤修复	94
7.1 概述	94
7.2 大肠杆菌切除修复系统	94
7.2.1 切除修复的基本过程	94
7.2.2 核苷酸切除修复(NER)的机制	95

7.2.3	NER 选择性修复	97
7.2.4	NER 研究前景	97
7.3	具有修复功能的尿嘧啶糖苷酶	98
7.4	DNA 的错配修复	98
7.5	大肠杆菌的补偿系统	100
7.6	RecA 触发的 SOS 修复系统	101
7.7	真核生物修复系统	102
7.8	DNA 损伤与细胞周期调控	103
	小 结	104
	思考题	105
第 8 章	蛋白质生物合成	106
8.1	遗传密码	106
8.1.1	三联体密码概念的提出	106
8.1.2	遗传密码的破译	106
1.	均聚核苷酸指导多肽链的合成	107
2.	密码子碱基组成的测定	107
3.	核糖体结合法测定密码子中核苷酸的顺序	107
4.	检测特定顺序共聚物指导合成的多肽	107
8.1.3	密码子的主要特性	109
1.	通用性和例外	109
2.	简并性	109
3.	不重叠	110
4.	无逗号	110
8.1.4	tRNA 的反密码子与密码子	110
8.2	蛋白质生物合成中的生物大分子	111
8.2.1	tRNA	111
1.	起始 tRNA	111
2.	校正 tRNA	112
3.	延伸 tRNA	112
8.2.2	氨酰-tRNA 合成酶	112
8.2.3	核糖体	114
1.	核糖体的组成	114
2.	核糖体的结构与功能	114
3.	多核糖体	118
4.	参与蛋白质合成的可溶性因子	118
8.3	蛋白质生物合成机制	121
8.3.1	肽链合成的起始	121
1.	原核生物肽链合成的起始	121

2. 真核生物蛋白质合成的起始	123
3. 不依赖甲硫氨酸的翻译	124
8.3.2 肽链的延伸	126
1. 结合	126
2. 转肽	127
3. 移位	127
8.3.3 肽链合成的终止	127
8.4 蛋白质合成抑制剂	130
8.5 分泌蛋白、线粒体膜蛋白的合成	130
8.5.1 分泌途径	131
1. 信号肽	131
2. 分泌蛋白的合成机制:边翻译边转运	131
3. 内质网中新生肽链糖基化修饰	132
8.5.2 非分泌途径	133
1. 翻译后转运	133
2. 导肽	133
小 结	134
思考题	135

第 3 篇 原核生物基因表达调控

第 9 章 原核基因转录与操纵子控制	137
9.1 原核基因转录	137
9.1.1 转录的基本条件	137
1. RNA 聚合酶	137
2. 启动子顺式作用元件	137
3. 反式作用因子	137
9.1.2 原核基因转录反应	138
1. 模板链的识别与转录泡的形成	138
2. 转录的起始	138
3. 链的延伸	138
4. 转录终止	139
9.2 操纵子控制类型	139
9.2.1 操纵子的转录调控	139
9.2.2 正调控与负调控	140
9.3 操纵子控制的实例	140
9.3.1 <i>lac</i> 操纵子	140
1. 利用突变鉴定调节基因	140

2. <i>lac</i> 阻遏物负调控的分子基础	142
3. 分解代谢物与 <i>lac</i> 正调控	145
9.3.2 <i>ara</i> 操纵子	147
1. <i>ara</i> 操纵子基因组织	147
2. <i>ara</i> 操纵子的调控	148
9.3.3 <i>trp</i> 操纵子受到衰减机制的控制	150
1. <i>trp</i> 操纵子的基因组织	150
2. <i>trp</i> 操纵子的阻遏作用	150
3. <i>trp</i> 操纵子衰减机制	151
9.4 原核生物翻译水平上的调控	154
9.4.1 翻译的自体调控	154
1. RNA 噬菌体 mRNA 翻译的自体调控	154
2. mRNA 二级结构对翻译的调控	154
3. r-蛋白翻译系统的自体调控	155
4. T ₄ 噬菌体基因 32 的自体调控	157
9.4.2 反义 RNA 对翻译的调控	159
9.4.3 切割对 mRNA 翻译的调控	161
9.4.4 严紧控制	162
小 结	164
思考题	165
第 10 章 λ 噬菌体 DNA 和转座子	166
10.1 λ DNA 的基因表达调控	166
10.1.1 λ DNA 基因组及调控	166
10.1.2 λ DNA 的整合与切割	168
10.1.3 裂解途径	168
1. 裂解途径与溶源建立路线的关系	168
2. 裂解途径级联反应依赖于抗终止因子	169
10.1.4 溶源的建立与维持	170
1. 溶源的建立	170
2. 溶源的维持	172
10.1.5 溶源与裂解的选择	176
1. 竞争的胜负决定于 CI/Cro 比值	176
2. 进入溶源的生理条件和措施	177
10.2 转座成分及转座机制	177
10.2.1 细菌转座子	177
1. 转座子的类型	177
2. 转座的基本机制	179
3. 转座依赖基因表达调控	180

10.2.2 玉米转座成分	183
1. 玉米控制因子的遗传学基础	184
2. 玉米转座子的两种类型元件	184
3. <i>Ac/Ds</i> 转座子的基本结构	185
4. <i>Spm</i> 元件影响基因表达	185
小 结	187
思考题	188
第 11 章 逆(转录)病毒与逆转座子	189
11.1 逆病毒基因组的特征	189
11.1.1 逆病毒结构及其生活周期	189
11.1.2 逆病毒基因组结构	189
11.1.3 逆病毒双链 DNA 的合成	191
1. 负链 DNA 的合成	191
2. 正链 DNA 的合成	191
11.1.4 逆病毒 DNA 与转座	192
11.1.5 逆病毒携带癌基因	194
11.2 HIV 的基因表达调控	195
11.2.1 HIV 病毒颗粒	196
11.2.2 HIV 基因组的结构	197
1. HIV 结构基因	197
2. HIV 调节基因	197
11.2.3 HIV 的转录调控	198
1. 上游远端调控区	198
2. 增强子区	199
3. 基本启动子区	199
4. TAR 区	199
11.2.4 HIV 调节系统	199
11.3 逆转座子的两大家族	200
11.3.1 病毒型逆转座子大家族	201
1. 逆病毒转座子	201
2. 酵母 Ty 成分	201
3. 果蝇转座成分	202
11.3.2 非病毒型逆转座子大家族	205
1. RNA 聚合酶 I 转录物与逆转座	205
2. RNA 聚合酶 II 转录物与逆转座	206
小 结	207
思考题	208

第 4 篇 真核生物基因表达调控

第 12 章 真核生物基因组	210
12.1 概述	210
12.2 C 值	210
12.3 复性(杂交)动力学的应用	211
12.3.1 提供基因组序列信息	212
12.3.2 复性动力学参数的应用	213
12.4 重复序列的特征及其功能	214
12.4.1 高度重复序列的特性	214
12.4.2 中度重复序列的类别	214
1. 串联重复序列	215
2. 分散重复序列	216
3. 丛集重复序列	217
4. 中度重复序列的功能	217
12.5 非重复基因	217
12.5.1 非重复基因的表达	217
12.5.2 不同组织之间表达的基因的差异	220
12.6 核外细胞器基因组	220
12.6.1 细胞器基因组是环状 DNA	221
12.6.2 叶绿体基因组编码约 100 种蛋白质和 RNA	222
12.6.3 酵母线粒体基因组比动物的大	222
12.6.4 细胞器 DNA 的重组和重排	224
小 结	225
思考题	226
第 13 章 断裂基因	227
13.1 断裂基因由外显子和内含子构成	227
13.1.1 外显子是保守的,内含子是可变的	227
13.1.2 不同真核断裂基因的大小及分布	229
13.1.3 利用外显子保守性可分离相关基因	230
13.1.4 外显子编码不连续结构的元件	232
1. LDL 受体基因外显子出现在其他蛋白质中	232
2. 丙酮酸激酶基因是编码不连续结构的元件	232
3. 一个 DNA 序列可以编码多个蛋白质	232
13.1.5 内含子的种类和可能功能	232
13.1.6 断裂基因在进化中的作用	234
13.2 血红蛋白基因家族	235

13.2.1	Hb 基因排成两个发育上有序的基因簇	236
13.2.2	Hb 基因成员全部是断裂基因	237
13.2.3	珠蛋白基因表达调节元件	237
1.	顺式调节元件	237
2.	反式作用因子	238
13.2.4	发育阶段珠蛋白基因的正常表达	238
13.2.5	血红蛋白合成遗传紊乱	238
1.	α 地贫	239
2.	β 地贫	239
13.2.6	Hb 基因表达异常的医学治疗	240
13.3	真核基因活性调节和基因重排	241
13.3.1	基因的丢失	241
13.3.2	基因扩增	241
1.	细胞分裂时核糖体扩增	241
2.	绒毛膜激素基因扩增	242
3.	氨甲蝶呤抗癌药物抗性	242
13.3.3	基因重排	242
1.	酵母结合型的转换与基因重排	242
2.	免疫球蛋白(Ig)基因家族成员表达与基因重排	245
小 结		250
思考题		251
第 14 章	真核基因表达转录水平上的调控	252
14.1	真核基因转录的基本条件	252
14.1.1	真核 RNA 聚合酶	252
14.1.2	顺式作用元件	253
14.1.3	反式作用因子	254
14.2	真核基因转录调控	255
14.2.1	RNA 聚合酶 I 的转录调控	256
14.2.2	RNA 聚合酶 II 的转录调控	257
14.2.3	RNA 聚合酶 III 的转录调控	258
1.	启动子区的结构	258
2.	参与转录起始的因子	259
3.	基础转录起始复合物的装配	259
14.2.4	真核基因转录的激活	261
1.	解抑制作用	261
2.	激活作用	261
14.3	转录因子对基因表达调控的分子基础	262
14.3.1	识别 DNA 特异序列的结构域	262

1. Homeo 结构域(HD)	262
2. 锌指结构域(ZFD)	263
3. 亮氨酸拉链结构域(LZ)	263
4. 碱性螺旋-环-螺旋(bHLH)结构域	263
14.3.2 转录激活结构域	263
1. 酸性结构域	263
2. 富含谷氨酰胺的结构域	264
3. 富含脯氨酸的结构域	264
14.3.3 蛋白质-蛋白质、蛋白质-DNA 相互作用对转录激活的调节	266
14.4 转录后调控与信息扩展	267
14.4.1 RNA 前体的加工与剪接	267
1. rRNA 前体的加工	267
2. tRNA 前体的加工	269
14.4.2 snoRNA 参与 RNA 加工	271
14.4.3 mRNA 前体的加工与剪接	273
1. 通过套索结构进行核剪接	273
2. 剪接体与 mRNA 的剪接	273
14.4.4 顺式剪接与反式剪接	275
14.5 其他转录调控机制	277
14.5.1 变换选择转录起始位点	278
14.5.2 变换选择剪接位点	278
14.5.3 mRNA 降解的控制	278
14.6 RNA 编辑	279
14.6.1 碱基的替换	280
14.6.2 碱基的插入	280
14.6.3 向导 RNA(gRNA)	281
小 结	281
思考题	282
 第 15 章 真核基因表达翻译水平上的调控	 283
15.1 真核 mRNA 翻译起始的模式	283
15.2 可逆磷酸化对翻译的调控	283
15.2.1 eIF-2 磷酸化对翻译起始的抑制作用	283
15.2.2 酵母 eIF-2 磷酸化对 GCN4 mRNA 翻译起始的激活作用	285
15.3 mRNA 的结构对翻译的调控	286
15.3.1 5' 非翻译区(5' UTR)结构对翻译起始的调控	286
1. 起始密码子 AUG 与翻译起始调控	286
2. AUG 旁侧序列与翻译起始效率	286
3. 5' UTR 二级结构对翻译起始的影响	286

15.3.2 3'非翻译区结构对翻译的调控	287
1. 终止密码子的选用	287
2. Poly(A)尾巴对翻译的调控	287
3. UA序列的作用	287
15.4 mRNA的稳定性	287
15.5 tmRNA监控缺陷的mRNA	288
15.6 翻译后蛋白质前体的加工	289
15.6.1 前体N端前导肽的切除	290
15.6.2 前体的加工	291
15.6.3 翻译后蛋白质的修饰	291
15.6.4 蛋白质的自剪接	292
15.6.5 新生肽链的卷曲	296
1. Hsp70在蛋白质折叠中的作用	297
2. Hsp70和Hsp60在蛋白质折叠中的协同作用	297
15.6.6 滞留监护与蛋白质分拣	297
小 结	298
思考题	299

第5篇 基因工程原理及基因组研究进展

第16章 基因工程原理及其应用	301
16.1 真核基因的克隆	301
16.1.1 基因组文库的构建	301
1. 染色体DNA大片段的制备	301
2. 外源DNA片段与载体的连接	301
3. 体外包装和转染细胞	302
4. 筛选与鉴定	306
16.1.2 cDNA基因库的构建	307
1. 单链(第一链)cDNA的合成	307
2. 双链(第二链)cDNA的合成	309
3. cDNA的克隆	309
4. 转化	312
16.2 真核基因的表达	313
16.2.1 哺乳类细胞表达外源基因必需的元件	313
16.2.2 外源真核基因导入哺乳动物细胞的方法	313
1. DNA-磷酸钙共沉淀法	313
2. DEAE-葡聚糖转染法	314
3. 脂质体转染法	314
4. 原生质体融合法	314