



普通高等教育“十五”国家级规划教材

基础分子生物学

Fundamental Molecular Biology

主编 郑用琰



高等教育出版社
Higher Education Press



普通高等教育“十五”国家级规划教材

基础分子生物学

Fundamental Molecular Biology

主 编 郑用琰

参编人员 (按姓氏拼音顺序排列)

刘曼西 汪世华 张祖新



高等教育出版社

Higher Education Press

普通高等教育“十五”国家级规划教材



基础分子生物学

Fundamental

Molecular

Biology

图书在版编目(CIP)数据

基础分子生物学 / 郑用琰主编. —北京: 高等教育出版社, 2007.6
ISBN 978-7-04-020629-6

I.基… II.郑… III.分子生物学—高等学校—教材
IV.Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 047994 号

策划编辑 王 莉 责任编辑 张晓晶 特约编辑 孙晓洁 封面设计 张 楠
责任绘图 朱 静 版式设计 王 莹 责任校对 朱惠芳 责任印制 宋克学

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街 4 号
邮政编码 100011
总 机 010-58581000

经 销 蓝色畅想图书发行有限公司
印 刷 蓝马彩色印刷中心

开 本 889 × 1194 1/16
印 张 22.5
字 数 560 000

购书热线 010-58581118
免费咨询 800-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
畅想教育 <http://www.widedu.com>

版 次 2007 年 6 月第 1 版
印 次 2007 年 6 月第 1 次印刷
定 价 32.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题, 请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

物料号 20629-00

Higher Education Press

前言

从 1859 年达尔文《物种起源》巨著的出版,到 21 世纪生物“基因组计划”的实施,人类在解码生命奥秘的过程中,创建了以阐明基因的结构、基因的复制、基因的表达以及基因的突变等生物共性规律和基本理论为主要内容的分子生物学,它使传统的观察性和验证性的生命科学迅速发展成为现代的干涉性和创造性的科学,在人类解决人口与粮食,健康与疾病,环境与生态,能源与资源等自然、社会的矛盾中发挥了其他自然科学不可替代的作用。自 DNA 双螺旋结构被揭示的半个世纪以来,分子生物学不仅进入了自身迅速发展的时期,而且不断向生物学各学科领域渗透,成为现代生物学的核心学科。生命科学与生物技术已成为我国赶超世界发达国家生产力水平,实现国力后发优势和经济跨越式发展最有前途和希望的领域。

进入新世纪后,分子生物学学科的迅速发展已使国内外有关分子生物学的各类教材有“修订不及、应接不暇”的感觉。作者在种类众多并不断翻新的优秀教材的书库中,定位编写《基础分子生物学》一书,其宗旨顾名思义,突出“基础”二字,作者在 20 多年的教学过程中,面对来自不同专业,具有不同学科背景的学生,深切地感受到他们渴望掌握分子生物学的基本理论与研究方法,急盼跟踪分子生物学的最新进展,但查阅“文献、资料”,阅读“专著、精要”又感到缺东少西,难以系统把握,研究过程中遇到问题又不知如何联想分析。其实关键在于“基础”。什么是分子生物学的基础?作者在《基础分子生物学》教材中,以“基因”为主线,贯穿全书,围绕基因的复制、基因控制性状表达与基因的突变等“基础”理论而逐步展开。

面对不断产生新理论,新概念,新方法的分子生物学,任何一本教材都不可能包罗所有,作者试图通过对《基础分子生物学》教材的系统讲授,培养学生们扎实的分子生物学基础和严谨的逻辑思维方法,教会他们“自养型”的本领。哈佛大学校长在谈及哈佛学生特点时说:学生从教师,从课堂中学到的知识只有其总体的 40%,而 60% 的知识来自于学生自学和同学间的讨论、启发与帮助,基于这一“教渔与授鱼”的教学理念,作者力求在基本概念与逻辑分析上做到清晰明了,富于启迪,形成特色。使同学们通过对《基础分子生物学》一书的学习,掌握分子生物学的基本概念,理解分子生物学的重要理论,了解生物技术的分子生物学基础。帮助同学们获得并拓展对其他分子生物学专著和科学论文的自学与阅读能力。

本书的第一章、第二章、第三章、第七章由郑用琰编写,第四章、第五章由刘曼西、汪世华、郑用琰编写,第六章由张祖新、郑用琰编写。作者感谢高友军、肖海林、王毅、汪航、邹锡玲对全书进行文字编排和插图整理。

全书内容没有揽其所有,但其核心和基本内容是作者凝练了 20 多年教学经验与体会的总结,《基础分子生物学》课程两次得到“国家生物学理科基地创建名牌课程项目”的资助,并两次在教育部举办的“全国分子生物学骨干教师培训班”上进行讲授,得到国内许多同行

目 录

1 绪论	1	的因素	28
1.1 分子生物学的基本概念	1	2.3.5 DNA 的变性与复性	29
1.2 分子生物学的发展简史	2	2.4 核酸分子的空间结构	36
1.2.1 分子生物学的第一个重要发现	3	2.4.1 DNA 的一级结构	37
1.2.2 奥斯瓦德·埃弗里的历史贡献	4	2.4.2 DNA 的二级结构	37
1.2.3 DNA 双螺旋结构的揭示	5	2.4.3 DNA 的三级结构	45
1.2.4 遗传密码的破译	8	2.5 基因概念的多样性	49
1.2.5 信使 RNA 的发现	9	2.5.1 生物进化的 C 值矛盾	49
1.2.6 操纵子模型开辟了分子生物学的新天地	10	2.5.2 重叠基因	50
1.2.7 遗传工程促进了分子生物学的发展	11	2.5.3 重复基因	52
1.2.8 加速分子生物学发展进程的一项“简单而晚熟”技术	13	2.5.4 间隔基因	57
1.3 现代分子生物学的发展	14	2.5.5 跳跃基因或转座子	65
2 基因概念的演变与发展	16	2.5.6 假基因	88
2.1 早期的“基因”概念	16	3 DNA 的复制	91
2.2 经典的基因概念	18	3.1 DNA 复制的基本特征	91
2.2.1 经典基因概念的重要修正	18	3.1.1 DNA 的半保留复制	91
2.2.2 拟等位基因概念的提出	19	3.1.2 DNA 复制按 5'→3'延伸方向	93
2.2.3 顺反子理论	20	3.1.3 DNA 的半不连续复制	93
2.2.4 DNA 是主要的遗传物质	22	3.1.4 DNA 复制的起点、方向	96
2.3 基因的分子结构	23	3.1.5 DNA 复制的引物	100
2.3.1 核酸的分子结构	23	3.1.6 DNA 复制的转录激活	103
2.3.2 核苷的分子构象	23	3.1.7 DNA 复制的模式	104
2.3.3 DNA 双螺旋结构模型	25	3.1.8 DNA 复制体的结构与复制的回环模型	107
2.3.4 影响双螺旋结构稳定性		3.1.9 线形 DNA 复制避免 5'端短缩的方式	107
		3.2 真核生物 DNA 复制的特点	111
		3.2.1 染色体 DNA 为多复制子	111
		3.2.2 染色体多复制子复制的非一致性	112
		3.2.3 真核生物避免 5'端	

短缩的机制	113	6 基因表达的调控	214
3.3 DNA 复制的终止	116	6.1 原核生物基因表达调控	
3.4 DNA 复制的调控	117	的理论与模式	216
4 RNA 的转录	120	6.1.1 操纵子调控模型	216
4.1 转录的基本概念	120	6.1.2 分解代谢产物阻遏启动	
4.1.1 模板	120	子的正控制系统	223
4.1.2 不对称转录	121	6.1.3 组氨酸利用操纵子的	
4.1.3 极性	122	正控制诱导模型	225
4.2 转录起始	122	6.1.4 衰减子的发现与衰减子	
4.2.1 原核生物的启动子	122	调控	227
4.2.2 真核生物的启动子	125	6.2 不利生长条件下的应急	
4.2.3 RNA 聚合酶	128	反应	231
4.2.4 转录的相关因子及功能		6.2.1 严紧反应相关因子	231
.....	136	6.2.2 严紧因子反应的调控	
4.3 转录延伸	151	机制	232
4.4 转录过程的终止	152	6.3 操纵子调控的综合实例	232
4.4.1 不依赖 ρ 因子的终止子		6.3.1 λ 噬菌体的繁殖	232
的结构与功能	152	6.3.2 λ 噬菌体基因组	234
4.4.2 依赖 ρ 因子的终止子		6.3.3 λ 噬菌体溶原途径	
的结构与功能	152	的建立	236
4.4.3 抗终止作用	155	6.3.4 λ 噬菌体裂解途径	
4.5 RNA 的加工	156	的建立	240
4.5.1 加工的概念	156	6.3.5 决定 λ 噬菌体发育途径	
4.5.2 加工的目的	157	选择的其他因素	240
4.5.3 加工的过程	158	6.4 DNA 重排与基因表达	241
5 蛋白质的翻译	176	6.4.1 沙门氏菌鞭毛的 H1 -	
5.1 蛋白质合成的装备	176	H2 抗原相的转变	242
5.1.1 mRNA 的结构和功能	176	6.4.2 酵母交配型的转变	242
5.1.2 tRNA 的结构与功能	177	6.4.3 免疫球蛋白的多样性	247
5.1.3 rRNA 与核糖体的结构		6.5 转录后水平的调控	253
与功能	180	6.5.1 真核生物转录后	
5.2 遗传密码及其简并	186	mRNA 的加工	253
5.2.1 三联体遗传密码的破译		6.5.2 RNA 干涉	253
.....	186	6.5.3 反义 RNA	257
5.2.2 遗传密码的简并	189	6.6 翻译水平上的调控	260
5.3 蛋白质的翻译	198	6.6.1 同一操纵子内各基因	
5.3.1 蛋白质翻译的若干基本		翻译量的差异	260
概念	198	6.6.2 信息体与蛋白质合成	262
5.3.2 多肽链的合成	199	6.6.3 核糖体蛋白质合成的	
5.3.3 保证蛋白质翻译准确		自体调控	262
起始的机制	209	6.6.4 mRNA 的寿命对翻译	

的调节	263		300
6.6.5 终止密码解读的移码	264	7 基因突变和遗传重组的分子机制	307
与通读调节	264	7.1 基因突变	307
6.6.6 翻译中的弱化子调控	266	7.1.1 基因突变的种类	307
6.7 翻译后的基因表达调控	267	7.1.2 基因突变的表达类型	308
6.7.1 蛋白质前体的加工	267	7.1.3 基因的诱发突变	308
6.7.2 蛋白质的转运(或分泌)	269	7.1.4 基因的自发突变	319
.....	269	7.1.5 基因的突变热点	322
6.7.3 蛋白质降解	273	7.2 生物体保证稳定遗传的机制	322
6.7.4 蛋白质的折叠	275		322
6.8 真核生物基因表达调控的	277	7.2.1 DNA 复制过程中的	322
特殊类型	277	错配修复	322
6.8.1 原核和真核生物基因	277	7.2.2 尿嘧啶 - N - 糖苷酶	323
结构和表达调控的	277	系统	323
差异	277	7.2.3 基因的回复突变	328
6.8.2 真核生物 DNA 水平的	280	7.3 基因重组交换的分子机制	332
调控	280	7.3.1 同源重组的分子机制	332
6.8.3 转录因子可逆性磷酸化	290	7.3.2 异常分离现象——基因	335
对翻译的调节	290	转换	335
6.8.4 mRNA 的结构对翻译	291	7.3.3 同源重组的分子机制	335
水平的调控	291	7.3.4 同源重组的酶类及	339
6.8.5 真核生物发育的基因	294	交换热点	339
调控	294	主要参考文献	341
6.8.6 细胞程序性死亡与发育	294	索引	342

绪 论

史尚秉文论

1.1 分子生物学的基本概念

人类进入 21 世纪后,世界各国政府高度关注生命科学的发展,生命科学各领域的科学家纷纷联合抢占学科发展的制高点,具有远见卓识的企业家投以巨资发展生物技术的核心技术,新闻媒体几乎每天都把焦点集中到基因治疗、人类基因组计划、动植物甚至包括人类克隆的报道,民众也更为广泛的关心和谈论转基因食品,环境保护等生命科学话题。这些决策的改变,观念的更新都是由 20 世纪中叶以 DNA 双螺旋结构模型和“中心法则”为先导与核心所诞生的分子生物学所引发的。1953 年 Sanger 采用层析与电泳技术揭示了胰岛素分子的一级结构,开创了蛋白质序列分析的先河,1953 年 Perutz 和 Kendrew 利用 X 射线解析了肌红蛋白和血红蛋白的三维结构与运送分子氧功能的统一,还是在 1953 年 Watson 和 Crick 根据 Wilkins 和 Franklin 对小牛胸腺脱氧核糖核酸(DNA)纤丝的 X 射线衍射图,划时代地提出了 DNA 双螺旋结构模型的理论,奠定了以研究核酸分子结构与功能为核心的分子生物学。

在广义水平上定义的“分子生物学”概念,即在分子水平上研究生命现象,或用分子的术语描述生物现象的学科。然而这种广义的分子生物学概念,似乎无法区分“生物化学”与“生理学”。因此人们通常将分子生物学定义在狭义的水平上,即在核酸与蛋白质水平上研究基因的复制,基因的表达(包括 RNA 转录、蛋白质翻译),基因表达的调控以及基因的突变与交换的分子机制。Watson 将这种狭义的分子生物学也称为“基因的分子生物学”。

Crick 在论及分子生物学概念时说:“我本人的思想是基于两个基本原理,我称之为序列假说和中心法则”。所谓序列假说(sequence hypothesis)是指核酸片段的特异性完全由其碱基序列决定,而且这种序列是某一蛋白质氨基酸的密码。所谓中心法则(central dogma)是指 DNA 的遗传信息经 RNA 一旦进入蛋白质,也就不可能再行输出。

依据这两个基本原理,分子生物学作为所有生命物质的共性学科遵循 3 大原则。其一,构成生物大分子的单体是相同的。在动物、植物、微生物 3 大系统的所有生物物种间都具有共同的核酸语言,即构成核酸大分子的单体均是 A、T(U)、C、G。所有生物物种间都具有共同的蛋白质语言,即构成蛋白质大分子的单体均是 20 种基本氨基酸。其二,生物大分子单体的排列决定了不同生物性状的差异和个性特征。其三,所有生物遗传信息表达的中心法则是相同的。

人类在“还原论”思想指导下,将复杂的生命现象,丰富的生物多样性还原到核酸和蛋白质的单体及其排列差异的同时,还必须按“整体论”的策略,研究并回答生物大分子如何控制细胞的分化,组织的特化,个体的发育,物种的进化等科学问题。从生命科学的发展趋势看,分子生物学的研究目的就是能在不同的大分子水平上阐明细胞的生长、分裂、特化、运动及互作等5大特性的科学,也就是说分子生物学是研究细胞内大分子的结构、功能和相互作用特点和规律,并通过这些规律认识生命现象的一门科学。

1.2 分子生物学的发展简史

几乎所有教科书的“绪论”部分都要罗列本学科发展的简要历史,以让读者通过了解学科发展的过去历程,把握学科发展的现在前沿,预测学科发展的未来趋向。

分子生物学是一门发展历史虽短但发展速度极快的现代生命科学。在仅仅半个世纪的历程中,分子生物学每一个前进的历程都有一块 Nobel 大奖的丰碑。可以说 Nobel 基金委员会的授奖名录就是分子生物学的发展历史,然而我们在阐述分子生物学重要理论和伟大成就,赞美 Nobel 金质奖章的同时,应该用同样的分析方法和逻辑思维去对待其中一次次失败的研究经历,一个个遗憾的不幸人生。因为那些成功的发现与发明是在失败的基础上建立起来的,是在不断分析失败原因,获得新的启迪的过程中逐渐积累的。正如科学史学家米歇尔·莫朗热所说:“失败的实验结果也同样具有重要的参考价值,科学的理论是被‘构建’起来的。”

正是基于这一科学发展史的观点,本章在介绍分子生物学发展简史时,既不单纯地罗列对分子生物学的发展做出重要贡献的 Nobel 奖获得者,也不仅仅简单地评论 Nobel 奖得主的丰功伟绩。而是希望通过回顾和总结这一辉煌而又艰辛的科学历程,使我们从中领悟到有益的科学启迪。

1859 年伟大的英国科学家 Charles Darwin《物种起源》巨著的出版,以大量的考证资料和科学分析提出了“物竞天择,适者生存”的物种“进化论”,其重要的科学意义是从根基上动摇了上帝创造万物的“创世说”。

1847 年由背景不同却志同道合的两位德国科学家 Matthias Schleiden 和 Theodor Schwann 共同创建了 19 世纪三大发现之一的细胞学说,强调了所有生物的不同组织都是由形状非常相似而又高度分化的细胞组成,细胞的发生、形成、分化与活动是生物界普遍和永久的规律。从科学发展史的观点看,“进化论”与“细胞学”的结合,使生物学从此由一门只能进行观察、比较、鉴定的描述性学科,发展成为数理化多学科渗透,实验技术不断发展的实验性极强的现代生命科学。

由 Mendel(1868)和 Morgan(1910)创立的以研究基因的遗传与变异规律为主要内容的遗传学,与以研究细胞内活性物质代谢规律为主要目标的生物化学是分子生物学的两大支撑学科。早期的遗传学家们研究基因时,往往是在不知基因化学本质的前提下,仅依靠表型突变体在世代间的传递规律来研究基因的特性和在染色体上的位置,描述基因突变和染色体的改变,分析它们对生物形态和生理特征所产生的效应(正向遗传学, Forward Genetics)。由于遗传学所采取的这种独特的研究思路,所以许多生物学家把遗传学看做是一门依靠逻辑分析的推理性科学。20 世纪中叶的遗传学家们开始认识到仅仅依靠抽象的基因概念是难以揭示生命的遗传规律的,他们也开始将研究的前沿聚焦到探求基因的本质和它们的作

用机制上。

19 世纪末到 20 世纪的上半叶是生物化学发展的盛世,生物化学家们发现了糖酵解途径、尿素循环、三羧酸循环等主要的生化代谢途径,提出了“pH”概念、研制了模拟细胞内环境特性的“缓冲溶液”系统,提出了“胶体”的理论,均为酶学研究奠定了基础。生物大分子之间以氢键和离子键发生相互作用的重要性的揭示,成为我们现在理解生物大分子之间相互作用的基石。生物化学的这些原理支配着我们对所有生命形式的结构和功能的理解。生物化学家们为了阐明决定个体特异性的蛋白质和酶是怎样合成的,基因是如何指导与控制这一过程的等重要的分子生物学现象进行了不懈的努力。Sumner, Northrop 和 Stanley 因在酶学和纯化病毒蛋白质方面的成就获得 1946 年 Nobel 奖, Sanger 因在胰岛素结构方面的研究成果与年仅 33 岁的 J. Lederberg 分享了 1958 年的 Nobel 奖, Ochoa 因提出 ATP 的磷酸酯键是生物能源的理论与因成功地分离出 DNA 聚合酶 I 的 Kornberg 同时成为 1959 年 Nobel 奖的得主。

从这个观点来看,分子生物学是遗传学和生物化学这两门学科融合的结果,而遗传学和生物化学是分子生物学这一新学科的根基。

1.2.1 分子生物学的第一个重要发现

1941 年, George Beadle 和 Edward Tatum (图 1-1) 以红色面包霉为研究对象, 提出“一个基因一个酶”的假说 (获得 1958 年 Nobel 奖), 说明了基因的生化作用本质是控制着酶的合成, 对应每个不同的酶都有一个不同的基因。这一科学发现促使了生物化学和遗传学之间的联合, 也是分子生物学史上的第一个重要发现。但是如果不按年代顺序对这一理论重新评价, “一个基因控制一个代谢酶”的事实并不意味着“一个基因就足以能够指导合成一个酶”。因为酶是由众多的氨基酸连接在一起形成的肽链, 合成一个酶需要若干酶的作用, 需要若干基因的参与, Beadle 和 Tatum 所揭示的基因仅是合成这个酶分子的众多反应或复杂过程中的一个终端反应基因。



George Beadle



Edward Tatum

图 1-1 George Beadle 和 Edward Tatum

1.2.2 奥斯瓦德·埃弗里的历史贡献

尽管 Nobel 基金委员会最终仍未能授予 Avery (图 1-2) Nobel 奖,但从历史的角度来看,第一个以令人信服的实验证明基因是由 DNA 构成的应是美国科学家 Avery。他花费了其科学生涯大部分时间,从 1928 年开始围绕肺炎链球菌的遗传转化进行了长达 16 年的研究,其重要的论文于 1944 年发表在《实验医学杂志》上。

Avery 的科学论文发表之后,引起了一些重要的生物化学家、遗传学家以及正处于成长阶段的分子生物学家们的广泛注意,都认为 Avery 是一名科学天才。Avery 的终身遗憾主要在于科学发展时代的局限。这种局限表现在当时科学家们对核酸的了解知之甚少,核苷酸的化学结构和它们连接成聚合物的化学本质在当时都仍在争议之中,DNA 分子的功能也就更不为人知。时代的另一个局限在于,当时广泛被科学界接受的是“蛋白质最有可能是遗传专一性的决定分子,蛋白质是基因的主要组分”的假说。也正是基于这种时代的局限,连 Avery 本人在他的论文题目和摘要中,所阐述的主要内容也基本上是以“转化”为中心的,并没有强调其最终结果的重要性。在讨论部分 Avery 也是十分谨慎地提出了“转化因子(核酸)可能是与基因,或者与基因的本质是一样的‘假说’”。他只是评述了这两者之间的一种可能的关系,并没有使这一“结论”或“推论”更加大胆和明确一些。但无论这些局限是如何掩埋了 Avery 的丰功伟绩,他的成就仍然可以在分子生物学发展史上被记录为第一个动摇了“基因是蛋白质”的理念,为“DNA 是遗传物质”的理论建立奠定了基础。

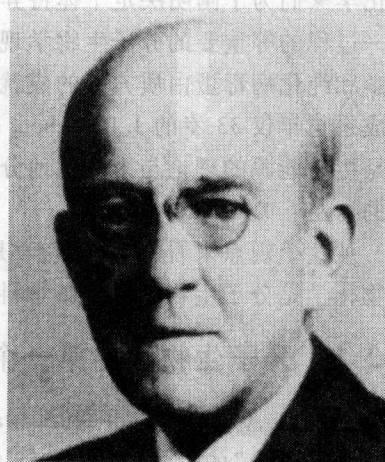


图 1-2 Avery O. T

虽然 Avery 的实验并没有引起一场概念上的革命,但他的研究工作引起了美国生物学家 Erwin Chargaff 的极大兴趣。以 Avery 论文为理论基础,Chargaff 更加坚信在他所有研究过的 DNA 样品中,腺嘌呤(A)与鸟嘌呤(G)的含量分别和胸腺嘧啶(T)与胞嘧啶(C)的含量相等,这是一项重要的发现。这个结果被人们称为 Chargaff 法则,并为 Watson 和 Crick 提出 DNA 双螺旋结构模型起到了非常重要的作用。

事隔 8 年后,1952 年以 Delbruck, Luria 和 Alfred Hershey 为创始人的非正式机构“噬菌体研究组”,对噬菌体繁殖过程的深入研究,证明了 DNA 是主要的遗传物质,获得了与 Avery 相似但更为明确的结论。Delbruck, Luria 和 Hershey 也因此获得 1969 年度的 Nobel 奖。显然他们的成功,不仅是因为科学的发展使人们已经认识到 DNA 可能在遗传过程中起重要作用,而且他们的科学论文几乎与 Watson 和 Crick 的 DNA 双螺旋结构的发现同时发表,从而得到了媒体的广泛宣传,加上 Avery 是一个孤立的研究者,也较少参加学术交流与讨论,而 Hershey 的结果却是通过“噬菌体研究组”的学术网络得到了迅速的传播和广泛的理解。其实,科学史学家在书写分子生物学这段历史时,没有忽视 Avery 工作的重要贡献,没有忽略这两个实验的结果相差 8 年之久的事实,而是将 Avery 誉为分子生物学领域里的孟德尔。

1.2.3 DNA 双螺旋结构的揭示

之所以选用“揭示”，而不用“发现”，不仅因为 DNA 分子作为主要的遗传物质，其固有的双螺旋结构的“面纱”终将被人类所揭开，而且是由于对这一结构的认识既是两位伟大科学家智慧的结晶，更是众多科学家为揭示这一科学真谛一次次去伪存真不懈努力的结果。了解这一历史过程的细节，品味双螺旋结构的共同发现者的科学生涯更具有启迪意义。

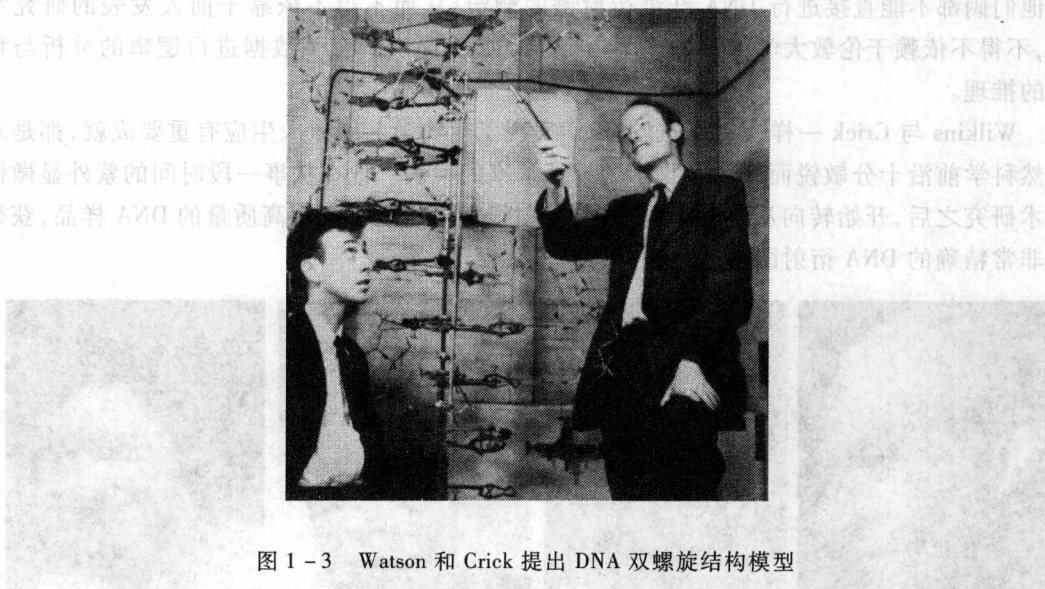


图 1-3 Watson 和 Crick 提出 DNA 双螺旋结构模型

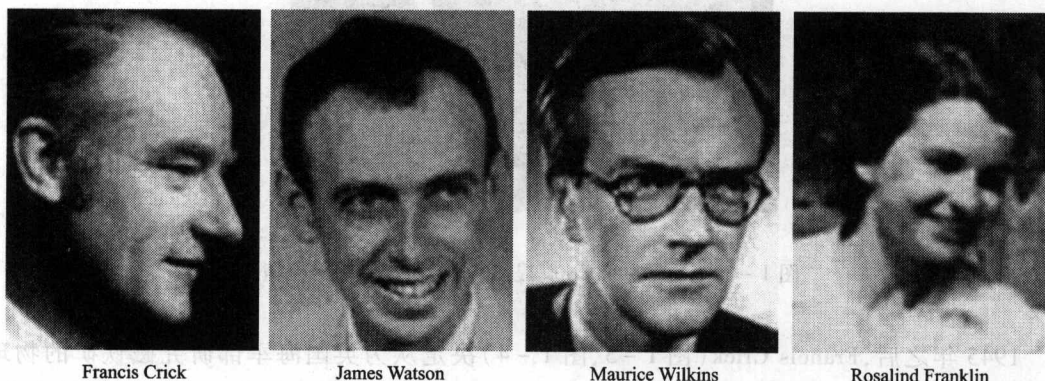
1945 年之后，Francis Crick(图 1-3, 图 1-4)决定从为英国海军部研究磁铁矿的物理领域转向生物学。当他听说剑桥大学的 Cavendish 实验室正在组建一个新的课题小组，开展利用 X 射线衍射技术进行蛋白质分子结构的研究时，凭借对衍射图案复杂性的分析工作十分熟悉的优势，Crick 请求到 Cavendish 实验室工作，并完成血红蛋白晶体衍射图案分析的博士论文，虽然如愿以偿，但他很快就意识到专业背景、辅助技术对开展深入研究的制约。

Watson(图 1-3, 图 1-4)是一位才华横溢的学生。生物学本科毕业之后，他成为 Luria 的第一个研究生。在攻读博士期间，他主要研究 X 射线对噬菌体繁殖与发育的影响。但仅依据获得的实验数据他却很难得出重要的科学结论，Watson 开始意识到在没有弄清楚噬菌体各组成部分的化学本质和结构，尤其是 DNA 的化学组成的前提下，想要回答噬菌体的复制机制几乎是不可能的(这种极为敏锐的预见，成为他转向核酸领域研究的重要原动力)。Luria 不仅对这一点也有着十分清醒的认识，而且认为欧洲的科研人员比他们的美国同行更富于科学想象力，因此他鼓励 Watson 在获得博士学位后从事有关核酸的生物化学研究，并决定将 Watson 送到哥本哈根，在 Herman Kalckar 实验室进行博士后研究，并同时进行噬菌体的研究。这种对学科发展动向的判断力和洞察力是他们成功的重要前提。

一次重要的学术报告会成为 Watson 走向成功的关键转折。一次访问意大利那不勒斯动物研究所时，Watson 和 Kalckar 参加了一个生物大分子方面的学术研讨会。他被 Maurice Wilkins(图 1-4)所作的关于 DNA 纤维的 X 射线衍射方面的报告所深深吸引。他十分敏锐地意识到揭示 DNA 分子的结构，既可获得证明 DNA 在噬菌体繁殖过程中如何发挥作用的依据，更是理解 DNA 作为遗传物质的关键所在。这一领域既有严峻的挑战，又孕育着

重大突破的机遇。Watson 决定延长他的欧洲之行。在得到 Luria 的支持和推荐后, Watson 加入到 Cavendish 实验室的研究队伍之中。这一重要的机遇使 Watson 与 Crick 这两位性格迥然不同但专业明显互补的科学家开展了紧密的合作, 并将目标锁定在揭示 DNA 的结构上。Crick 可以为 Watson 理解晶体学的原理解释其结果提供必需的信息, Watson 可以为 Crick 提供细菌遗传学的发展动态和噬菌体研究组的最新结果。期间, Crick 还必须花相当多的时间来完成他的博士论文, Watson 还要把时间投入到对肌红蛋白的结晶工作中去。而且他们俩都不能直接进行 DNA 纤维衍射谱的测定, 从而不得不依赖于前人发表的研究结果, 不得不依赖于伦敦大学 King's 学院的 Wilkins 所提供的有关数据进行逻辑的分析与科学的推理。

Wilkins 与 Crick 一样, 都是通过遗传学发现了生物学并期望人生应有重要成就, 都是对自然科学前沿十分敏锐而转攻生物学的物理学家的代表。他在从事一段时间的紫外显微镜技术研究之后, 开始转向从事 DNA 纤维的 X 射线衍射研究。利用高质量的 DNA 样品, 获得了非常精确的 DNA 衍射图谱。



Francis Crick

James Watson

Maurice Wilkins

Rosalind Franklin

图 1-4 为双螺旋结构模型做出重要贡献的主要科学家

“在讲述人类揭示 DNA 双螺旋结构的故事中, 如果缺少了对于 Rosalind Franklin (图 1-4) 的悲剧命运的描述, 那么这个故事将是不完整的”。Franklin (在双螺旋结构发现几年后, 因癌症而病逝) 是一位对揭示 DNA 双螺旋结构做出过重要贡献, 但却受到歧视和不公待遇的优秀女科学家。她是学物理化学出身的, 对 X 射线衍射的使用与研究有十分深入的了解和深厚的功底, 她曾经将这项技术成功的应用到对碳结构的研究之中。当她加入到 Wilkins 的研究组后, 很快就获得了质量远远优于任何前人的高质量 X 衍射图谱, 成为 Wilkins 的得力助手, 也使 Wilkins 研究组具备了在 DNA 结构研究方面取得快速进展的一切条件。但是, 从 Franklin 进入实验室开始, 她一直以为自己已经有了独立的研究课题, 然而 Wilkins 却认为 Franklin 只是为自己的研究提供准确的实验数据而已, 甚至没有资格参加教授们的咖啡会。这个严重的误会与歧视限制了他们之间的信息交流, 影响了对研究方案与策略的精心设计, 局限了对衍射图谱结果的科学分析。

以 Wilkins 研究小组在各种正式和非正式学术研讨会上所提供的数据为基础, 认真总结分析前人关于“蛋白质结构中具有基本‘元件’的概念”, 蛋白质的第一张 X 射线衍射图谱显示出“蛋白质分子中含有重复的规则结构”, “多肽链具有规则的螺旋构象的模型”, “DNA 的碱基是通过氢键而发生相互作用的观点”, “腺嘌呤与鸟嘌呤的含量分别和胸腺嘧啶与胞

嘧啶含量相等的 Chargaff 法则”等大量的科学结论,特别是 Linus Pauling 关于“只有在严格地满足分子的空间化学限制条件的前提下,才可能对大分子的空间结构做出正确预测”研究思路的启发下, Watson 制作了第一个 DNA 的双螺旋模型。在汲取 J. Donohue 的建议后, Watson 发现 A-T 和 G-C 之间进行的碱基配对具有相同的空间结构,并可完满地解释 Chargaff 法则。一个精确完美的 DNA 双螺旋结构模型诞生于大量实验数据和科学论文基础上的研究与讨论,分析与推论。

Watson 和 Crick 关于 DNA 双螺旋结构模型的文章,在 1953 年 4 月 25 日的 Nature 杂志上发表。同期发表的还有 Stokes 和 Wilson 所著的文章,由 Gosling 等关于 DNA 结晶 X 射线衍射的实验数据,这些数据从结构生物学的角度进一步证实了 Watson 和 Crick 模型的合理性。时隔一个月, Watson 和 Crick 的第二篇文章于 1953 年 5 月 30 日又在 Nature 杂志上发表,文章从 DNA 双螺旋结构遗传学意义的角度,提出了一个非常简单的 DNA 自我复制模型,合理的“解释”了基因自我复制的过程,指出了突变是源于 DNA 中稀有的、短暂存在的碱基形式,进而导致复制过程中的错误配对。这一结构模型解释了一直吸引众多生物学家在近半个世纪的历史中为之努力探索的“基因的自我复制与基因的突变”现象,即基因的基本属性问题。

Watson 于 1953 年夏天在冷泉港召开的第 18 次定量生物学大会上报道了这个结构和它的遗传含义。Delbruck 向每一位与会者发送他们在 Nature 上发表的论文复印件,大力宣传了 Watson 和 Crick 的研究结果。DNA 双螺旋结构模型很快得到了科学界的广泛接受。大量的访问者慕名前来参观学习。年轻的分子生物学从此翻开了历史崭新的一页。有的史学家也称 DNA 双螺旋结构的揭示标志着分子生物学的诞生。

了解这段历史故事,从中能获取有益的启迪。可以说当时英国聚集了世界上最优秀的晶体学家,但是由于没有注意不同学科间的互补与启迪,这种优势也变成了他们的劣势。晶体学家们只是单纯片面地坚信他们采用 X 射线衍射技术完全可以确定生物大分子 DNA 和蛋白质的结构,却没有意识到这些大分子的结构对分子生物学家而言,意味着是回答基因本质的关键性问题。Watson 和 Crick 的成功也再次忠告了科学研究中的理论基础和交流讨论在某种程度上比实验和观察更为重要。Watson 和 Crick 在确定 DNA 分子的双螺旋结构的过程中并没有用 DNA 分子做任何一个实验,但他们继承了 Delbruck 倡导的研究风格,“对文章和实验进行讨论与交流是重中之重”。他们的研究与讨论,分析与推论是建立在他人大量实验数据和科学论文的基础上的,他们的成功是运气和科学智慧共同作用的结果。Franklin 的晶体学数据毫无疑问对于 DNA 的双螺旋结构的发现是非常重要的,但她的遗憾不仅在于与 Wilkins 之间的矛盾和误会,从科学的角度看还在于 Franklin 受到专业背景的局限,既没有像 Watson 和 Crick 那样意识到 DNA 分子结构的重要意义,也没有认识到这个结构对于进一步解释基因自我复制能力的必要性。

科学家和史学家一向反对将一个的重要的科学发现带上一些神话的色彩而无限夸大,就分子生物学来说,这种神话的色彩试图将其整个历史集中于“DNA 双螺旋结构”这一个重要的发现上。似乎所有前人的努力仅仅是“双螺旋”之路的铺路石子,而所有后人的成果都是从“双螺旋”大道驶出的彩车。这种史学观不仅不能正确的评价科学发明的历史作用,而且会造成对科学史的扭曲。尽管双螺旋结构得到了空前的认同,虽然碱基互补配对的概念被广泛地接受,事实上 DNA 双螺旋结构在复制过程中螺旋解开所引出的生物化学和拓扑学的问题、DNA 三螺旋、四螺旋、向左旋转的 Z 型 DNA 分子等多种结构模型是 Watson 和 Crick 未能涉及的问题,尽管它串联的碱基对于 DNA 的遗传功能和 DNA 的自身复制起着根本性

作用,但 RNA 在蛋白质合成过程中的关键性作用、RNA 分子的结构以及 RNA 的反转录过程是 Watson 和 Crick 不可能想到的问题,尽管 Watson 和 Crick 在他们的第二篇发表于 Nature 的论文中写到“碱基的精确顺序就是携带有遗传信息的密码。”但是,这种阐述仅仅反映了“密码”和“信息”的概念,并不意味着他们对遗传密码的存在已经有了清晰的认识。

1.2.4 遗传密码的破译

蛋白质是一切性状的体现(包括直接的体现和间接的体现),证明“DNA 是遗传物质”,必须回答 DNA 是如何控制性状表达的。阐明蛋白质合成过程中 DNA 所发挥的作用,破译蛋白质合成的密码已成为 DNA 双螺旋结构揭示之后的又一研究热点。而探讨这一问题有两种可能的途径。遗传学家可以根据 DNA 的分子结构和基因在细胞中的作用来推断蛋白质合成过程中 DNA 的作用。生物化学家则通过建立体外的蛋白质合成系统。正是采用后一种研究体系,生物化学家获得了成功,他们在破解遗传密码中所做出的贡献成为分子生物学中最卓越的发现之一。

第一个提出关于遗传密码具体见解的是出生于俄国的物理学家 George Gamow, Crick 采纳了他关于遗传密码是核苷酸与氨基酸之间的“连接者”的概念。当人们在发现不同生物,同种蛋白质中的氨基酸组成表现极高相似性的同时,又发现这些不同的生物的核苷酸组成却表现出相当大的差异。如何寻找不同核苷酸序列与相同氨基酸序列间的“连接者”制约了研究的进展。“遗传密码”的破译一度走进了死胡同,1959 年在一次学术报告会上,Crick 详细列出了破译密码中所遇到的所有困难,并已经准备放弃这方面的研究工作了。

同在美国工作的德国生物学家 Johann Heinrich Matthaei 和 Marshall Nirenberg(图 1-5)仅在一周之内破解了第一个遗传密码。从方法和策略上为遗传密码的全部破译找到了突破口。生物化学家们经过 6 年的努力,获得了继 DNA 双螺旋模型之后的重大突破。尽管在分子生物学领域里一直存在一种奇异的谣言,认为两位名不经传的生物化学家的成功完全是靠运气!但他们的贡献得到了科学界的肯定,他们的成功得到 Nobel 基金会的奖励。

1961 年 5 月 22 日,星期一,Matthaei 将经过离心分离的细菌提取物(含有各种酶类)、可溶性 RNA 组分(含有必需的 tRNA)、20 种氨基酸(其中 16 种经过放射性标记)、ATP、盐和 pH 恒定的缓冲液等混合于一支试管中,加入人工合成的由 UMP 简单重复而成的“多聚尿嘧啶”核酸分子,并置混合物于 35℃ 条件下,温育 1 h 后,用三氯乙酸沉淀混合物中的蛋白质、清洗沉淀物,进行放射性测定。结果表明:在“多聚尿嘧啶”核酸存在时,被放射性标记的氨基酸掺入沉淀物中,即进入到蛋白质中。而在混合物中没有加入“多聚尿嘧啶”核酸的对照反应中,这种掺入反应没有发生。在这一周的时间里,Matthaei 夜以继日地工作,以确定在有“多聚尿嘧啶”核酸存在时,它到底指导了哪种氨基酸掺入到蛋白质中?直到 5 月 27 日,星期六,他终于得了答案:多聚尿嘧啶核酸(UUUUUU...)只编码合成一种多聚苯丙氨酸(Phe-Phe-Phe...)的肽链。在不到一个星期的时间内,Matthaei 鉴定了遗传密码的第一个“单词”。由于 Matthaei 需外出参加



图 1-5 Marshall Nirenberg

“细菌遗传学”方面两周的课程学习, Nirenberg 继续完成了对实验产物的鉴定工作, 并很快对体外蛋白质合成的系统方法进行了重要的改进, 同时撰写了利用不同多聚核苷酸的 RNA 分子指导蛋白质合成的两篇文章。于 1961 年 8 月 3 日投向 PNAS 杂志, 于同年的 11 月发表。

其实在文章发表之前, Nirenberg 和 Matthaei 的研究结果就已经广为人知, 他们的工作成为 1961 年 8 月在莫斯科举行的第五届国际生物化学大会的学术焦点。Nirenberg 和 Matthaei 两位不出名年轻的学者有幸参加那次大会, 而且 Nirenberg 被安排有 15 min 的时间在分组会上报道研究结果, 尽管听他报告的人寥寥无几, 但报告内容却被传向 Crick, 组委会意识到 Nirenberg 和 Matthaei 的工作与发现可能具有重要的潜在价值, 便随即邀请 Nirenberg 到主会议厅向全体代表再次报告, 所有的与会者都被他们的结果所震惊。Nirenberg 和 Matthaei 出名了。这个成功不仅在于他们的努力和才智, 而且也得益于机遇和对机遇的把握。

在随后的 5 年时间里, 美国主要报纸几乎天天要报道其进展, 遗传密码的破译激发了人们极大的热情, 就连在核苷酸研究方面已经处于领先地位, 获得 1959 年 Nobel 奖的 Severo Ochoa 也投入到这场竞赛之中。Nirenberg 在已建立的体系上, 进一步发现仅含有三个核苷酸的核酸分子就足以被固定到核糖体上(当时称为“微粒体”), 并且能使负载有特异氨基酸的 tRNA 也结合到核糖体上。Gobind Khorana(图 1-6)在 Nirenberg 重要发现的基础上又建立了一种能合成出具有特定碱基序列的多核苷酸分子的有效方法。这一简便快速的生物化学方法加速了余下所有密码的逐一破译。Khorana 与 Nirenberg 也共享了 1968 年的 Nobel 奖。



图 1-6 Gobind Khorana

1.2.5 信使 RNA 的发现

尽管 Crick 早在 1953 年就声称: 在发现 DNA 双螺旋时, 就对“从 DNA 序列到 RNA 序列, 然后再到蛋白质”的概念已经有了相对清楚的认识, 而且强调了微粒体中的 RNA 在蛋白质合成中的重要性。并于 1957 年在英国实验生物学学会的演讲中, 第一次论述了这一分子生物学的“中心法则”, 强调了遗传信息可以从核酸传到核酸、从核酸传到蛋白质, 但不能从蛋白质传到蛋白质或者从蛋白质传到核酸。同时还提出了“序列假说”, 即一个核酸分子的专一性只存在于其碱基序列中。然而, 直到 1960 年, 关于 DNA - 蛋白质 - RNA 3 种大分子之间的分子生物学关系仍未获得有力的实验证据, 仍未提出明确的科学阐明, 而回答这一问题的关键在于证明“遗传密码的携带者——信使 RNA 的存在”。

法国科学家 Francois Jacob 和 Jacques Monod(图 1-7)成为这一领域的成功者。

1960 年由 Jacob 和 Monod 在对大肠杆菌乳糖代谢的研究中发现了 β -半乳糖苷酶在有乳糖存在的条件下才表达的一种“诱导酶”。并鉴定出了两种影响 β -半乳糖苷酶合成的突变体: 一类是抑制活性酶合成的突变体, 而另一类是酶的组成型合成突变体(即无论有无乳糖存在, 酶均表现出永久性合成特点)。为了阐明组成型突变的遗传机制, Jacob 和 Monod 采用细菌的“接合式”杂交实验, 将含有 β -半乳糖苷酶组成型突变基因的染色体片段转移给具有诱导型 β -半乳糖苷酶基因的正常受体菌。实验结果表明, 在供体菌未将具有 RNA