

21世纪高等院校教材

生·物·工·程·系·列

贺淹才 编著

(第二版)

# 简明基因工程原理

**P**  
RINCIPLES  
OF GENE  
ENGINEERING



科学出版社  
[www.sciencep.com](http://www.sciencep.com)

21 世纪高等院校教材——生物工程系列

# 简明基因工程原理

(第二版)

贺淹才 编著

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

本书介绍了基因工程的基本原理与过程及其最新成就。全书共分16章,主要有基因工程载体、酶切与连接、重组DNA导入受体细胞与重组体转化子的鉴定、基因文库的构建方法、目的基因的表达与检测、分子克隆的主要策略、转座子的应用、基因打靶和反义技术与核酶技术等内容。书后附有名词索引。

本书可作为生物工程和生物科学本科生教材,亦可作农业、医药等专业教材,并可供相关专业科研人员、研究生参考。

### 图书在版编目(CIP)数据

简明基因工程原理/贺淹才编著. —2版. —北京:科学出版社,2005  
21世纪高等院校教材——生物工程系列  
ISBN 7-03-015464-9

I. 简… II. 贺… III. 基因-遗传工程-高等学校-教材 IV. Q78

中国版本图书馆CIP数据核字(2005)第044012号

责任编辑:冯广平 周 辉 / 责任校对:张怡君  
责任印制:安春生 / 封面设计:耕者设计工作室

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>

铁 成 印 刷 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

1998年4月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2005年8月第 二 版 印张:30

2005年8月第一次印刷 字数:571 000

印数:1—3 000

定价:36.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈路通〉)

# 目 录

第一章 绪论	1
第一节 基因与工程的概念	1
一、基因	1
二、人类基因组计划	7
三、基因工程的概念	8
第二节 基因工程发展史	9
第三节 基因工程的巨大意义	13
第四节 生物技术与基因工程	15
第五节 我国的基因工程	16
第六节 基因工程的安全性问题	19
第七节 我国的《基因工程安全管理办法》	22
第八节 基因工程的基本过程	23
第九节 基因工程上游和下游	23
第十节 基因工程的上游工程——基因克隆	24
第十一节 基因工程的流程	25
第二章 各种工具酶	27
第一节 基因工程工具酶的概念	27
第二节 限制性内切核酸酶	28
一、寄主细胞控制的限制与修饰	28
二、限制性内切核酸酶的种类	29
三、影响限制性内切酶活性的因素	31
四、限制性内切酶命名法	32
五、限制性内切酶的作用特点与应用	33
六、DNA 的限制酶分析及物理图谱	33
第三节 DNA 聚合酶	36
一、大肠杆菌 DNA 聚合酶 I	36
二、DNA 聚合酶 I 大片段	39
三、大肠杆菌的 DNA 聚合酶 II	40
四、大肠杆菌的 DNA 聚合酶 III	40
五、T4-DNA 聚合酶	41

六、T7 噬菌体 DNA 聚合酶及测序酶 .....	42
七、耐热 DNA 聚合酶 (Taq DNA 聚合酶) .....	43
八、末端转移酶 .....	44
九、反转录酶 .....	45
十、真核生物的 DNA 聚合酶 .....	47
第四节 DNA 连接酶 .....	47
一、DNA 连接酶的一般性质 .....	47
二、DNA 连接酶的作用机制 .....	48
三、真核生物的 DNA 连接酶 .....	49
第五节 S1 核酸酶 .....	50
第六节 Bal 31 核酸酶 .....	51
第七节 碱性磷酸酶 .....	51
第八节 T4 多聚核苷酸激酶 .....	52
<b>第三章 基因载体的选择与构建</b> .....	<b>53</b>
第一节 报告基因与载体的致死效应 .....	53
一、基因载体的概念 .....	53
二、载体的报告基因 (标记基因) .....	54
三、载体的致死效应 .....	55
第二节 细菌质粒载体 .....	55
一、质粒的概念 .....	55
二、质粒的复制和遗传 .....	57
三、质粒的种类 .....	58
四、质粒的相容性 .....	59
五、质粒的报告基因 .....	60
六、质粒的改造 .....	61
七、质粒载体的多克隆位点 .....	62
八、质粒 DNA 的提取 .....	63
九、常用的质粒载体 .....	65
十、质粒的用途与发展的质粒克隆载体 .....	69
第三节 噬菌体载体 .....	74
一、噬菌体和噬菌体载体 .....	74
二、 $\lambda$ 噬菌体的生物学 .....	74
三、野生型 $\lambda$ 噬菌体的改造 .....	80
四、 $\lambda$ 噬菌体的包装与克隆 .....	82
五、单链噬菌体载体和噬菌粒 .....	83

六、黏性质粒载体 .....	86
第四节 酵母细胞克隆载体与酵母人工染色体 .....	89
一、酵母附加体型质粒 (YEps) .....	90
二、酵母整合型质粒 (YIps) .....	90
三、酵母复制型质粒 (YRps) 与酵母着丝粒质粒 (Ycps) .....	92
四、酵母人工染色体 (YAC) .....	92
五、细菌人工染色体 (BAC) 和噬菌体人工染色体 (PAC) .....	94
六、穿梭质粒 .....	97
第五节 动物病毒载体 .....	99
一、动物病毒载体的特点 .....	99
二、杆状病毒载体 .....	99
三、SV40 载体 .....	103
四、痘苗病毒载体 .....	105
五、反转录病毒载体 .....	106
六、其他动物病毒载体 .....	108
第六节 植物病毒载体 .....	108
第四章 目的基因的制取 .....	110
第一节 目的基因制取的策略 .....	110
一、外源基因与目的基因 .....	110
二、目的基因制取的策略 .....	110
第二节 “鸟枪法”制取目的基因 .....	112
一、“鸟枪法”的概念 .....	112
二、“鸟枪法”制取目的基因的特点 .....	112
三、“鸟枪法”的主要步骤 .....	113
四、枯草杆菌鸟枪法基因克隆 .....	114
第三节 物理化学法分离目的基因 .....	115
第四节 化学合成基因 .....	116
一、聚核苷酸化学合成的历史 .....	116
二、磷酸二酯法合成 DNA .....	117
三、固相亚磷酸法 .....	119
四、寡核苷酸的标记 .....	121
五、DNA 合成在基因工程和分子生物学研究中的应用 .....	121
第五节 反转录合成 DNA .....	124
第五章 基因与载体的连接 (体外重组) .....	127
第一节 基因重组克隆与亚克隆 .....	127

第二节	基因重组对载体的要求与载体类型	128
第三节	连接前的处理	129
第四节	黏性末端连接	130
第五节	平端连接	137
第六节	人工接头连接	139
第七节	同聚寡核苷酸末端连接 (同聚物加尾连接)	142
<b>第六章</b>	<b>重组 DNA 导入受体细胞</b>	<b>144</b>
第一节	克隆与导入方法	144
第二节	转化	145
一、	转化的概念	145
二、	大肠杆菌宿主菌	146
三、	受体细菌的感受态	146
四、	转化反应	147
五、	枯草芽孢杆菌的转化反应	148
第三节	转染	149
一、	感染与转染	149
二、	磷酸钙沉淀法	149
三、	体外包装转染法	150
第四节	共转化	151
第五节	电转化	152
第六节	基因枪法 (微弹技术)	154
第七节	微注射技术	155
第八节	脂质体导入法	156
第九节	转化酵母菌	158
第十节	植物细胞的基因转移方法	159
第十一节	哺乳动物细胞基因导入法	159
第十二节	反转录病毒载体的转染	161
<b>第七章</b>	<b>聚合酶链反应</b>	<b>163</b>
第一节	PCR 技术基本原理	163
第二节	PCR 反应体系与引物设计	168
第三节	PCR 一般循环参数	171
第四节	影响 PCR 反应结果的因素	172
第五节	PCR 技术用于基因克隆	174
一、	目的基因的直接克隆	174
二、	目的基因的 cDNA 的克隆	175

三、PCR 技术用于基因克隆其他方式	175
第六节 发展中的各种 PCR 应用技术	175
一、反转录 PCR	175
二、反向 PCR	178
三、复合 PCR	179
四、定量 PCR	183
五、cDNA 末端快速克隆 (RACE 技术)	183
六、不对称 PCR	188
七、嵌套 PCR	189
八、免疫 PCR	190
九、长 PCR	190
十、热启动 PCR	191
十一、标记 PCR (彩色 PCR)	191
十二、重组 PCR	192
十三、差向显示 PCR	192
十四、降落 PCR	192
十五、兼并引物 PCR	193
十六、原位 PCR	193
十七、玻片 PCR	194
十八、连接酶链反应 (LCR)	195
第七节 各种 PCR 突变检测技术	197
第八节 关于 PCR 技术应用的小结	199
第八章 基因文库的构建	201
第一节 基因文库的概念与文库的类别	201
一、基因文库的概念	201
二、基因文库的类别	201
三、基因文库的大小	204
第二节 基因文库的构建	205
一、基因组文库的构建	207
二、cDNA 文库的构建	211
第三节 全长 cDNA 文库的构建 (SMART 技术)	216
第四节 差文库与消减文库	220
第五节 利用 PCR 技术构建 cDNA 文库	226
第六节 RACE cDNA 文库	229
第七节 cDNA 文库固相构建法	230



第八节	Oligo-capping 法构建 cDNA 文库 .....	232
第九节	标准化 cDNA 文库 .....	233
第十节	染色体或区域特异性 cDNA 文库 .....	234
第十一节	反转录病毒 cDNA 表达文库构建 .....	235
第十二节	人工染色体文库 .....	236
一、	酵母人工染色体 (YAC) 文库 .....	236
二、	细菌人工染色体 (BAC) 文库 .....	238
<b>第九章</b>	<b>重组体的鉴定与文库筛选</b> .....	<b>242</b>
第一节	重组体转化子的鉴定与筛选 .....	242
第二节	遗传检测筛选法 .....	243
一、	根据载体表型特征的直接选择法 .....	243
二、	根据插入序列表型特征的直接选择法 .....	244
第三节	物理检测法 .....	245
一、	凝胶电泳检测法 .....	245
二、	限制酶切分析法 .....	248
三、	R-环检测法 .....	248
第四节	核酸杂交法 .....	249
一、	以寡核苷酸探针筛选目的基因 .....	250
二、	原位杂交 .....	253
三、	Southern 印迹杂交 .....	254
四、	Northern 印迹杂交 .....	256
第五节	免疫化学检测法 .....	256
一、	放射性抗体检测法 .....	257
二、	免疫沉淀检测法 .....	257
三、	以单克隆抗体探针筛选目的基因 .....	258
四、	表达载体产物免疫化学检测法 .....	259
第六节	DNA-蛋白质筛选法 .....	259
第七节	蛋白截短试验 .....	261
第八节	体外表达筛选技术 (表达检测系统) .....	262
第九节	cDNA 文库筛选的方法 .....	266
第十节	cDNA 文库的复性式均一化技术 .....	269
第十一节	BAC 文库鉴定和筛选 .....	272
<b>第十章</b>	<b>目的基因的表达</b> .....	<b>274</b>
第一节	原核生物基因表达调控的生物学 .....	274
一、	原核细胞表达的特点 .....	274

二、原核生物的转录调控 .....	274
三、原核生物基因的转录后调控 .....	277
第二节 真核生物基因表达的调控 .....	277
一、DNA 染色质结构的调控与顺反子的概念 .....	277
二、转录调控 .....	278
三、RNA 对基因表达的调控 .....	279
四、翻译过程的调控 .....	279
第三节 基因工程中的基因表达 .....	280
一、制约目的基因表达的因素 .....	280
二、阅读框架 .....	280
三、启动子及其保守序列的影响 .....	281
四、终止子和衰减子的影响 .....	282
五、翻译过程对表达的影响 .....	282
第四节 融合基因与融合蛋白的表达 .....	284
第五节 大肠杆菌为代表的原核表达体系 .....	285
一、大肠杆菌表达系统的特点 .....	285
二、大肠杆菌表达融合蛋白 .....	285
三、大肠杆菌细胞包含体 .....	287
四、提高克隆基因在大肠杆菌表达效率的途径 .....	287
第六节 表达型载体 .....	290
第七节 真核表达体系的特点与外源基因在真核细胞表达 .....	295
第八节 酵母表达体系 .....	295
第九节 昆虫或昆虫细胞表达体系 .....	299
第十节 哺乳动物细胞表达体系 .....	302
第十一节 新型的胞浆表达体系 .....	303
<b>第十一章 转座子在基因工程中的应用 .....</b>	<b>304</b>
一、DNA 的转座现象 .....	304
二、转座子 .....	304
三、质粒的转座子 .....	307
四、转座作用的机制 .....	307
五、转座的遗传学效应 .....	308
六、控制转座与监测转座子 .....	309
七、转座子基因标签法 .....	309
八、标签的策略 .....	313
九、标签基因的分离和克隆 .....	314

十、转座子技术的发展与应用前景	318
<b>第十二章 核苷酸序列测定</b>	319
一、Sanger 酶法 (双脱氧链终止法)	319
二、Maxam-Gilbert DNA 化学降解法	323
三、定向测序法	325
四、鸟枪法测序	328
五、人工转座子法	332
六、杂交测序技术	333
七、PCR 测序	336
八、自动化测序法	338
九、几种正在发展的测序方法	339
十、DNA 序列测定的策略与发展方向	344
<b>第十三章 基因克隆的策略和技术</b>	347
第一节 基因克隆方法的种类	347
第二节 经典文库克隆与特异抗体克隆技术	348
第三节 定位克隆策略	349
一、定位克隆的基本原理	349
二、定位克隆的三个主要步骤	351
三、定位克隆的主要操作过程	353
四、定位克隆的主要策略	358
五、大片段 DNA 克隆文库的载体	361
六、功能互作研究与定位克隆的应用与发展	362
第四节 表型克隆的策略	364
一、消减杂交法与差异消减显示	365
二、基因组错配筛选 (GMS)	369
三、随机引物 PCR	370
四、mRNA 差别显示	371
五、代表性差异显示 (RDA)	375
六、外显子扩增技术 (exon-PCR)	377
七、抑制消减杂交	377
八、表型克隆与定位克隆策略的比较	381
第五节 cDNA 克隆策略	382
第六节 生物信息基因克隆技术	383
一、通过 DNA 全序列分析确定基因	383
二、表达序列标签技术 (EST)	384

三、RT-PCR 克隆技术 .....	385
四、基因表达的序列分析 .....	385
五、cDNA 芯片技术 .....	388
<b>第十四章 基因打靶、反义技术与核酶技术</b> .....	<b>389</b>
<b>第一节 基因打靶技术</b> .....	<b>389</b>
一、基因打靶的主要实验系统 .....	389
二、基因打靶的主要步骤 .....	390
三、筛选基因打靶命中的细胞株 .....	391
四、基因打靶技术的策略与技术 .....	392
五、大规模随机基因剔除——基因捕获 .....	395
六、基因敲入法研制转基因小鼠 .....	397
七、基因打靶技术的特点 .....	398
八、基因打靶技术的应用 .....	398
<b>第二节 反义技术</b> .....	<b>399</b>
一、反义链与反义寡核苷酸 .....	399
二、反义技术的原理 .....	401
三、人工设计反义 RNA 的策略 .....	402
四、反义技术的特点 .....	403
五、ASON 的改造与反义药物 .....	404
<b>第三节 核酶技术</b> .....	<b>404</b>
一、核酶 .....	404
二、核酶的设计 .....	405
三、核酶的克隆 .....	406
<b>第四节 反义技术与核酶技术的应用</b> .....	<b>407</b>
<b>第十五章 蛋白质工程</b> .....	<b>411</b>
<b>第一节 蛋白质工程与基因工程</b> .....	<b>411</b>
<b>第二节 蛋白质结构分析、功能的设计与改造</b> .....	<b>411</b>
一、蛋白质结构分析 .....	411
二、蛋白质结构、功能的设计 .....	412
三、蛋白质结构改造 .....	412
<b>第三节 蛋白质工程的一般流程</b> .....	<b>415</b>
<b>第四节 功能克隆策略——噬菌体展示技术</b> .....	<b>416</b>
一、丝状噬菌体展示系统 .....	417
二、T4 噬菌体展示系统 .....	418
三、 $\lambda$ 噬菌体展示系统 .....	419

四、噬菌体展示基本操作过程 .....	422
五、抗体表面展示 .....	426
第五节 细菌表面展示生物技术 .....	428
一、革兰阴性菌表面展示 .....	429
二、革兰阳性菌表面展示 .....	429
第六节 酵母表面展示系统 .....	430
第七节 体外展示技术 .....	430
第八节 蛋白质工程的新策略——分子定向进化 .....	431
一、易错 PCR .....	431
二、DNA 改组技术 .....	432
三、交错延伸技术 .....	434
四、体外随机引发重组 .....	435
五、杂合酶技术 .....	436
六、蛋白质分子定向进化技术的发展 .....	436
第九节 蛋白质工程的应用与发展前景 .....	437
<b>第十六章 基因工程下游工程的分化 .....</b>	<b>439</b>
第一节 下游常用的分离、纯化、分析鉴定技术 .....	439
一、DNA 合成粗产物的提纯 .....	439
二、蛋白质产品常用的分离提取技术 .....	440
第二节 原核细胞表达系统与发酵工程 .....	442
第三节 植物基因工程 .....	442
第四节 昆虫或动物细胞表达系统 .....	444
第五节 动物基因工程 .....	444
第六节 基因工程与产业化 .....	446
第七节 基因工程药物与疫苗 .....	446
第八节 基因治疗 .....	447
<b>主要参考文献 .....</b>	<b>449</b>
<b>索引 .....</b>	<b>453</b>

# 第一章 绪 论

## 第一节 基因与工程的概念

### 一、基 因

基因是 DNA 分子中含有特定遗传信息的一段核苷酸序列，是遗传物质的最小功能单位。对于编码蛋白质的结构基因来说，基因是决定一条多肽链的 DNA 片段。根据其是否具有转录和翻译功能可以把基因分为三类。第一类是编码蛋白质的基因，它具有转录和翻译功能，包括编码酶和结构蛋白的结构基因以及编码阻遏蛋白的调节基因；第二类是只有转录功能而没有翻译功能的基因，包括 tRNA 基因和 rRNA 基因；第三类是不转录的基因，它对基因表达起调节控制作用，包括启动基因和操纵基因。启动基因和操纵基因有时被统称为控制基因。

基因是表现其遗传性状的物质基础。研究基因组的所有基因，就有可能揭开生命的所有奥秘。人的一切外观和行为都是基因的外在表现。不同人种之间长相、头发、肤色、眼睛、鼻子、声音等不同，是基因差异所在，即使孪生子，也是如此。法国科学家发现了长寿基因。他们研究了三万名长寿人，发现不少研究对象体内均带有两种基因的特定变体。这两种基因能帮助他们对抗致命的老年疾病，特别是心脏病和老年性痴呆症。带有这两种特定基因的人，无疾而终的机会比普通人高两倍。离婚问题也不完全是感情问题，还有基因起作用，英国科学家发现，离婚原因的一大半取决于配偶的性格，而女人的性格比男人更有决定因素。他们发现，父母离婚的孩子结婚后，离婚的危险要比常人高出十倍。

利用基因，人们可以改良果蔬品种，提高农作物的品质，更多的转基因植物和动物、食品将问世，人类可能在新世纪里培育出超级作物。通过控制人体的生化特性，人类将能够恢复或修复人体细胞和器官的功能，甚至改变人类的进化过程（图 1.1）。

随着分子生物学研究的深入，人们能够在分子水平认识基因的结构与功能，发现了基因结构中存在有“移动基因”、“断裂基因”、“重叠基因”、“假基因”等，提出了有关基因结构与功能的新概念。

**移动基因**（movable gene）又叫跳跃基因（jumping gene）或转座子（transposon），详见第十一章转座子部分的内容。

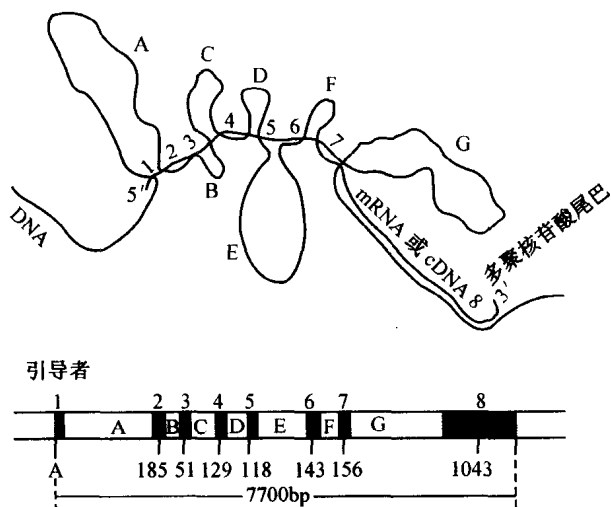


图 1.1 卵清蛋白基因及其与 cDNA 的杂交图

**断裂基因** 20 世纪 70 年代中期，法国生物化学 Chamobon 和 Berget 在研究鸡卵清蛋白基因的表达中发现，细胞内的结构基因并非全部由编码序列组成，而是在编码序列中间插入无编码作用的碱基序列，这类基因被称为间隔或断裂基因。这一发现于 1977 年被人们在研究兔  $\beta$  球蛋白结构时所证实。真核生物无操纵子，基因是不连续的，同一基因的编码序列被数量不等的非编码间隔隔成多个较小的片段，编码蛋白的片段叫外显子 (exon)，非编码蛋白的片段叫内含子 (intron)。近年来的研究发现，原核生物的基因一般是连续的，在一个基因的内部没有非遗传密码的序列 (即不含“内含子”)，而真核生物的绝大多数基因都是不连续的断裂基因。断裂基因的表达程序是：整个基因先转录成一条长 RNA 前体，其中的非编码序列被一种称为“剪接”的酶切除，两端再相互连接成一条连续的密码顺序，以形成成熟的 mRNA。DNA 分子断裂基因的存在为基因功能的发展赋予了更大的潜力 (图 1.2)。

**重叠基因 (overlapping gene)** 长期以来，人们一直认为在同一段 DNA 序列内是不可能存在重叠的读码结构的。但是，1977 年，Weiner 在研究病毒的基因结构时，首先发现了基因的重叠现象。以后在噬菌体  $G_4$ 、 $MS_2$  和  $SV_{40}$  中都发现了重叠基因。基因的重叠性使有限的 DNA 序列包含了更多的遗传信息，是生物对它的遗传物质经济而合理的利用，使较小的基因组能够携带较多的遗传信息。重叠基因是在同一部分的 DNA 序列具有合成两种不同蛋白质的信息，即同一段 DNA 片段能够编码两种甚至多种蛋白质分子。只要读码移动一个或两个核苷酸，有可能改变两种不同蛋白质的转录和翻译的过程。这种现象在其他的生物细胞中仅见于线粒体和质粒 DNA，所以也可以认为是病毒基因组的结构特点。

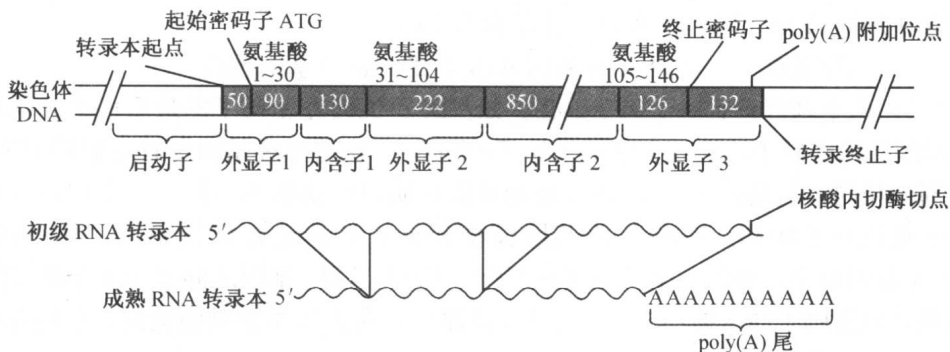


图 1.2 人  $\beta$ -珠球蛋白基因的结构

它编码成熟形式  $\beta$ -珠球蛋白的  $\beta$ -多肽链，所有哺乳动物的  $\beta$ -珠球蛋白基因都是由 2 个内含子隔开的 3 个外显子构成，黑框中数字表示每个外显子或内含子的核苷酸数。初级转录本含有外显子和内含子，由剪接酶剪除内含子后形成成熟 mRNA。靠近初级转录本 3' 端的 AAUAAA 序列指导外显子核酸内切酶将 RNA 切去 15~30 个核苷酸，并沿着 RNA 分子继续切割，产生的末端具有附加的 poly(A) 尾

细菌 mRNA (多顺反子 mRNA) 能编码区起始，例如 *E. coli* 的 *trpE* 和 *D* 基因。

1978 年，Feir 和 Sanger 在研究分析  $\Phi$ X174 噬菌体基因组的核苷酸序列时，发现由 5375 个核苷酸组成的单链 DNA 构成 11 个基因中，有几个基因具有不同程度的重叠 (图 1.3)，但是这些重叠的基因具有不同的读码框架；其中 A 基因与 B、K 基因重叠，或者 B 基因 (涉及单股 DNA 合成) 埋藏在 A 基因内。另一基因 K 基因 (与溶菌有关) 与 A 和 C 基因交界处重叠，重叠基因的编码区往往与 16SrRNA 有短序列互补而且互补区靠近起始密码子 AUG 处。 $\Phi$ X174 是一种单链 DNA 病毒，宿主为大肠杆菌，因此，又是噬菌体。它感染大肠杆菌后共合成

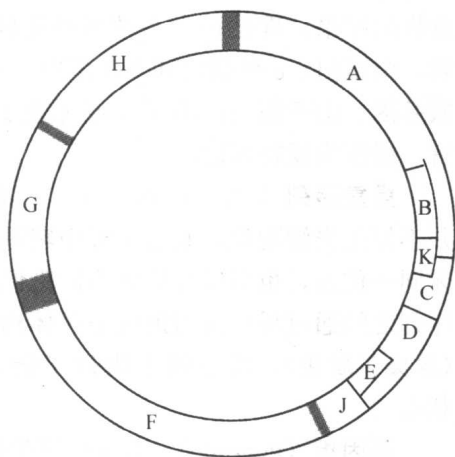


图 1.3 噬菌体  $\Phi$ X174 的基因组 (重叠基因)

11 个蛋白质分子，总相对分子质量为 25 万左右，相当于 6078 个核苷酸所容纳的信息量。而该病毒 DNA 本身只有 5375 个核苷酸，最多能编码总分子量为 20 万的蛋白质分子，Sanger 在弄清  $\Phi$ X174 的 11 个基因中有些是重叠的之前，这样一个矛盾长时间无法解决。重叠基因有以下几种情况：

- 1) 一个基因完全在另一个基因里面。如基因 A 和 B 是两个不同基因，而 B



包含在基因 A 内。同样, 基因 E 在基因 D 内。

2) 部分重叠。如基因 K 和基因 A 及 C 的一部分基因重叠。

3) 两个基因只有一个碱基重叠。如基因 D 的终止密码子的最后一个碱基是 J 基因起始密码子的第一个碱基 (如 TAATG)。这些重叠基因尽管它们的 DNA 大部分相同, 但是由于将 mRNA 翻译成蛋白质时的读框不一样, 产生的蛋白质分子往往并不相同。有些重叠基因读框相同, 只是起始部位不同, 如 SV40 DNA 基因组中, 编码三个外壳蛋白 VP1、VP2、VP3 基因之间有 122 个碱基的重叠, 但密码子的读框不一样。而小 t 抗原完全在大 T 抗原基因里面, 它们有共同的起始密码子。

**假基因 (pseudogene)** 有人称它伪基因, 它是基因家族在进化过程中形成的无功能的残余物。在对非洲爪蟾 5SrRNA 基因簇的研究时有人提出了假基因的概念, 它是与结构基因序列相类似的但不表现转录的一种 DNA 序列 (它有类似 mRNA、无内含子、有多聚 A 的基因)。至今所发现的这种基因都是没有功能的或者是失活的假基因。它可能是 mRNA 反转录后重新整合进基因组的结果, 这个过程可能有某些 DNA 序列参与, 例如 Alu 重复序列、核内小分子 RNA 基因和某些病毒 DNA 序列。假基因的发现是真核生物应用重组 DNA 技术和序列分析的结果。现已在大多数真核生物中发现了假基因, 如 Hb 的假基因、干扰素、组蛋白、 $\alpha$  球蛋白和  $\beta$  球蛋白、肌动蛋白及人的 rRNA 和 tRNA 基因均含有假基因。由于假基因不工作或无效工作, 故有人认为假基因, 相当人的痕迹器官, 或作为候补基因。

**重复序列 (repeat sequence)** 基因序列的多拷贝。自然状态下, 重复序列并不发生失活现象, 基因工程中转基因失活与多拷贝有关, 它可串联排列在染色体同一位点, 也可以分散在不同染色体位置, 都能造成转基因失活。可能是重复序列之间通过异位配对形成染色体构型的变化, 使重复序列位点染色体发生收缩 (异染色质化), 从空间上阻碍了转录因子与转基因的接触, 使基因处于关闭状态。

**基因组 (genome)** 有关特定生物全部染色体的遗传物质的总和, 其大小通常以其全部的 DNA 碱基对总数来表示。对单倍体而言基因组表示这种生物的总 DNA; 对于二倍体的高等生物, 其配子的 DNA 总和即为一组基因组。二倍体有两份同源的基因组, 真核生物细胞中有几个染色体, 故有几个基因组。细菌的基因组是惟一的染色体。现在, 基因组指自主复制的单位所应有的一套基因, 因而有“质粒基因组”和“病毒基因组”的名称, 这和“质粒和病毒的染色体”一词相同。基因组中不同区域具有不同的功能, 有些是属于编码蛋白质的结构基因, 有些属于参与结构基因的复制、转录及其蛋白质表达调控的调节基因, 有些功能目前还尚不清楚。