

刘恩岐 主编

实验动物遗传育种学



103

甘肃民族出版社

图书在版编目(CIP)数据

实验动物遗传育种学/刘恩岐主编,一兰州:甘肃民族出版社

ISBN 7-5421-0831-X

I. 实... II. 刘... III. 实验动物—培养(育种)
IV. Q95.331

中国版本图书馆CIP数据核字(2001)第091236号

实验动物遗传育种学

刘恩岐 主编

甘肃民族出版社出版发行

(730000 兰州市滨河东路296号)

西宁民族印刷厂印刷

开本 787×1092毫米 1/16 印张 16.5 插页 2 字数 380千

2002年6月第1版 2002年6月第1次印刷

印数:1—1 000

ISBN7-5421-0831-X/Q·3 定价:25.00元

ISBN 7-5421-0831-X
Q·3 25.00元

主 编 刘恩岐

编 委 王忠东 宁 磊 朱德生 刘恩岐 仓林让

编著者 日本冈山大学 仓林让

兰州生物制品研究所 宁 磊 王春燕

西安交通大学 刘恩岐 程彦斌 薛 超 杨鹏辉 张 薇

陈正兰

青海省地方病防治研究所 王忠东

第四军医大学 朱德生 姚文柱 谢松涛 杨贵忠 李 秦

宝鸡市中心医院 任炜

宁夏医学院 杨卫东

主 审 西北农林科技大学 杨公社

目 录

第一篇 实验动物遗传学基础	
第一章 染色体和DNA	(1)
第一节 染色体	(1)
第二节 DNA的结构与功能	(7)
第三节 RNA的主要类型和功能	(11)
第四节 突变与疾病	(13)
第五节 DNA的复制与重组	(16)
第二章 DNA重组技术	(20)
第一节 核酸杂交	(20)
第二节 DNA克隆	(23)
第三节 聚合酶链反应	(30)
第四节 DNA测序	(33)
第三章 基因和基因表达的调控	(37)
第一节 基因	(37)
第二节 真核基因表达的调控	(39)
第三节 基因组	(43)
第四节 大鼠和小鼠基因的命名	(47)
第四章 遗传定律	(57)
第一节 孟德尔遗传定律	(57)
第二节 孟德尔遗传定律扩展	(60)
第三节 连锁	(63)
第四节 性别和遗传	(66)
第五节 数量性状的遗传	(69)
第六节 群体遗传	(74)
第七节 生化遗传和免疫遗传	(83)
第二篇 实验动物育种学	
第一章 育种学概论	(91)
第一节 实验动物的分类	(91)
第二节 实验动物育种学简介	(95)
第三节 选种原理和方法	(97)
第四节 测交的应用	(101)
第五节 动物的交配方式	(104)
第二章 近交系实验动物的培育	(109)

第一节	近交系动物的发展	(109)
第二节	近交系的几个基本概念	(109)
第三节	近交系小鼠培育和维持	(112)
第四节	近交系小鼠和大鼠品系	(120)
第五节	小鼠毛色的遗传	(122)
第六节	近交系动物的生产	(127)
第三章	同源导入近交系、突变近交系	(130)
第一节	同源近交系	(130)
第二节	突变近交系	(135)
第四章	重组近交系和分离近交系	(137)
第一节	重组近交系	(137)
第二节	分离近交系	(141)
第三节	同源近交系、突变近交系和分离近交系的异同点	(142)
第五章	封闭群和杂交一代	(143)
第一节	封闭群	(143)
第二节	杂交一代	(144)
第六章	各种实验动物的特征及应用	(147)
第一节	近交系的共同特性	(147)
第二节	影响品系特性稳定性的因素	(151)
第七章	野生动物的实验动物化	(154)
第一节	野生动物实验动物化概说	(154)
第二节	野生动物实验动物化的技术路线	(156)
第八章	实验动物遗传资源的保存和利用	(158)
第一节	保种理论	(158)
第二节	近交系的保种	(161)
第三节	突变系的保种	(163)
第四节	封闭群的保种	(166)
第五节	配子和胚胎的冷冻保存	(168)
第六节	品种资源的利用	(170)
第三篇	实验动物育种新技术	
第一章	遗传标记和遗传监测	(172)
第一节	遗传监测	(172)
第二节	分子标记的种类及其发展	(178)
第二章	实验动物育种新技术	(184)
第一节	卵巢移植和体外受精	(184)
第二节	实验动物胚胎工程	(185)
第三节	动物克隆技术进展	(190)
第四节	数量性状基因定位	(195)

第三章 转基因动物(197)

第一节 目的基因的准备(197)

第二节 用显微注射法制作转基因小鼠(198)

第三节 利用胚胎干细胞制作转基因小鼠(203)

第四节 其它制作方法(208)

第五节 转基因动物应用(211)

参考文献(213)

附录一 索引(214)

附录二 科学研究使用的实验动物种类(220)

附录三 小鼠基因诱发突变分类表(235)

第一篇 实验动物遗传学基础

第一章 染色体和DNA

第一节 染色体

真核和原核细胞染色体

所有基于细胞组成的生物体均含有携带基因的结构,即我们所称的染色体(Chromosome)。然而,即便是在最简单的真核生物与原核生物之间,其染色体也存在着很大差异。在原核生物中,染色体仅由单一的双螺旋体DNA组成,通常呈环状,含有极少的蛋白质,DNA复制起始于单一的复制起点;在大多数情况下,真核生物包含有许多不同的染色体,呈现为线状结构,由生物膜包裹在一起,构成细胞核。DNA分子与大量的特异性蛋白质紧密地结合在一起,对染色体的结构和功能具有重要意义。在真核生物细胞的每一染色体中均含有大量DNA,所以,每一染色体均含有多个复制起点。

染色体形态

真核细胞染色体通常只有在细胞分裂时期才能观察到,此时的染色体经过复制后变成了含有两套染色单体(Chromatids, or daughter chromosomes)的结构。根据着丝粒的不同位置可将染色体分为四类。表1.1.1示4种典型的染色体形态。着丝粒(Centromere)位于染色体的中央,将染色体分为两个部分,分别称之为染色体的臂,长臂以q表示,短臂以p表示,表示染色体着丝粒位置特征的指数有两个:着丝粒指数c和臂指数a。

$$c=q/(q+p) \times 100\%, a=q/p$$

细胞有丝分裂的中期,根据着丝粒的位置不同,可将染色体分为以下四种类型:两臂等长

者为中央着丝粒染色体(Metacentric chromosome,M),臂指数 $a=1.0\sim1.7$;着丝粒靠近中央者为亚中央着丝粒染色体(Submetacentric chromosome,SM),臂指数 $a=1.7\sim3.0$;着丝粒靠近顶端者为近端着丝粒染色体(Subtelocentric chromosomc,ST),臂指数 $a=3.0\sim7.0$;端粒染色体(Telocentric chromosome,T),臂指数 $a>7.0$ 。有人经常混淆亚中央着丝粒染色体和近端着丝粒染色体,其实在人类的染色体中,二者很容易识别。

表1.1.1 人整倍体系列

染色体数目	倍数	正常细胞
23	单倍体	配子
46	双倍体	体细胞
69	三倍体	
96	四倍体	

表1.1.2 人非整倍体系列

条件	涉及染色体	发生概率
常染色体增加		
Edward综合症	18	1/5 000
Patau 综合症	13	1/5 000
Down 综合症	21	1/750
性染色体非整倍体		
Turner综合症	XO	1/10 000
Klinefelter综合症	XXX	1/2 000
Triple X综合症	XXX	1/2 000

所有物种的全套二倍体染色体的表型,我们称之为核型(Caryogram)或染色体组型,指用显微摄影法,把处于细胞分裂中期的体细胞中标准分裂相的全部染色体,根据每对同源染色体的着色粒类型、相对长度、臂指数大小,依照国际分群、排列所形成的形态排列系统图形。每一个生物种的核型在染色体的数量和形态、排列结构上都是特异的,代表着一个个体或生物种体细胞特有的构型。核型是一个个体或物种重要的遗传标记。如,人类标准核型,分A、B、C、D、E、F、G 7群:A群3M,B群2SM,C群7SM及X染色体,D群3ST,E群1M和2SM,F群2M,G群2ST和Y染色体;猪分A、B、C、D 4群。此外,在光学显微镜下通过染色的方法也可以对其形态进行观察,如C一带和G一带。

图1.1.1和图1.1.2反映了人和小鼠G一带模式图。

染色体的分子结构

染色体由DNA和蛋白质构成,部分染色体还有RNA参与,但仅在向胞质转运过程中出现。DNA和蛋白质的混合体叫染色体。组成染色体的蛋白质又被分为两类:组蛋白(Histone)和非组蛋白(Nonhistone)或酸性蛋白。两类蛋白质对染色质的结构和功能均有重要作用。组蛋白是

一组小分子量蛋白质,其分子量一般不超过23KDd,它的干重与构成染色质的DNA基本相同。由于富含赖氨酸和精氨酸,它的pH较高。较高的PH呈碱性带负电荷,有助于启动与富含阴离子的DNA反应。现已发现5种组蛋白:H1、H2a、H2b、H3、H4。几乎所有物种都与H1有关。不同的进化阶段,每种组蛋白的氨基酸序列都高度保守。说明这些分子对于真核生物的生存来说非常重要。这一点通过确认构建蛋白质的核小体即可得以解释。

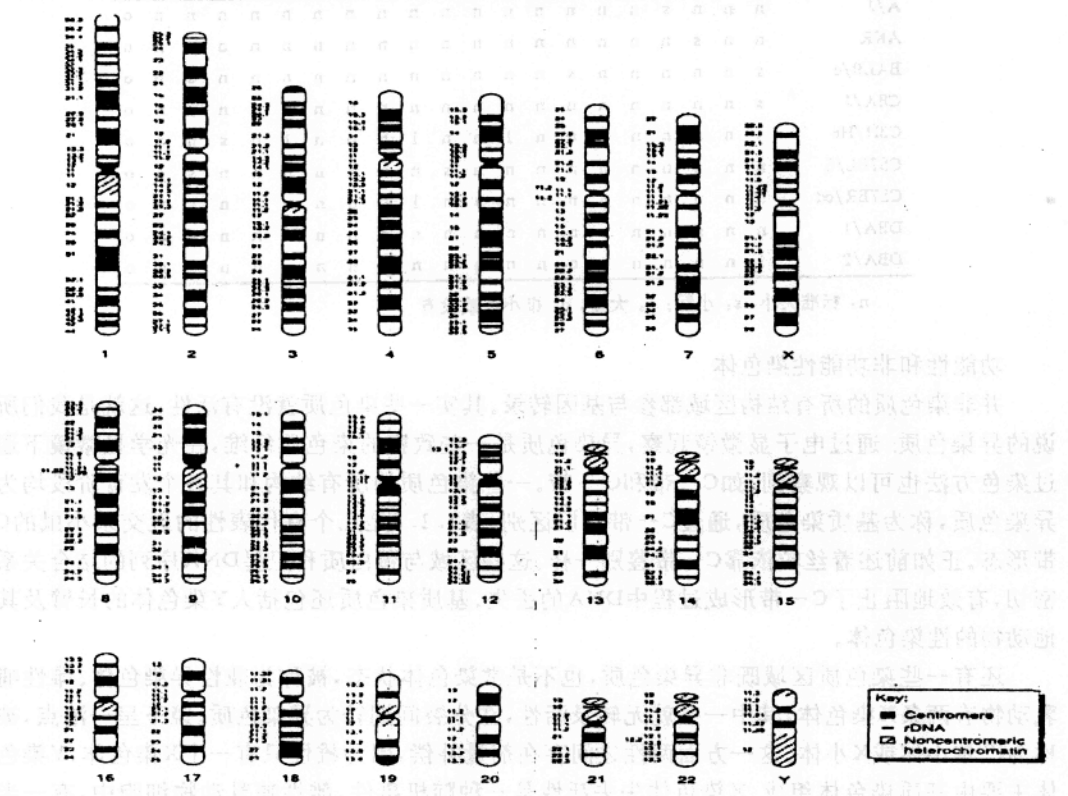


图1. 1. 1 人染色体结构图(G一带)

核小体(Nucleosome)由组蛋白和DNA组成。组蛋白位于结构中央,DNA缠绕在外周,分别由H2a、H2b、H3、H4组的两个组蛋白复合体(八聚体)碟形排列。DNA分子排列在八聚体的周边,组蛋白H1分子像一个封签一样位于核小体复合体的周边。146个碱基的DNA与核小体关系密切。核小体之间的DNA长度依物种不同而异。

人类200个碱基的核小体之间的DNA长度为60bp。这就是DNA在染色质中包绕的基本水平。进一步的包装相当程度上依赖于H1,在直径为30nm的螺线管内H1相互反应,支撑着螺旋结构内部的每一个核小体。电子显微镜下观察染色质时看到的30nm的纤维就是该螺旋管。DNA在核内进一步包装,在细胞分裂中期达到包装的最后水平。该结构与染色质纤维结合染色体脚手架有关,染色体脚手架主要由酸性核蛋白——拓扑异构酶 I 组成。DNA结构内富含腺嘌呤和胸腺嘧啶的几百个碱基,通常被称为脚手架结合区,连接DNA和染色体脚手架,涉及到的物质环状排列。电镜下观察组蛋白被剥离的细胞分裂中期的染色体,大量的染色质纤维辐

射样的由中央脚手架向周围射出。非组蛋白与染色体的功能的许多方面有关,譬如基因表达的调控等。

表1. 1. 3 几个近交系小鼠的C带形态

品系名称	染色体号码																					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	X	Y	
A/J	n	n	n	s	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	o	
AKR	n	n	s	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	s	n	o	
BALB/c	s	n	n	n	n	n	s	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	s	n	o	
CBA/J	s	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	s	n	o	
C3H/He	s	n	n	n	n	n	n	n	l	n	n	l	n	o	n	l	n	s	n	n	o	
C57BL/6	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	s	n	n	n	n	n	n	n	s	n	o	
C57BR/cd	n	n	n	n	n	n	n	n	n	s	n	l	s	n	n	n	n	n	s	n	o	
DBA/1	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	s	n	n	n	n	n	s	n	o	
DBA/2	l	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	s	n	n	n	n	n	s	n	o	

n: 标准大小, s: 小型; l: 大型, o: 极小型或没有

功能性和非功能性染色体

并非染色质的所有结构区域都参与基因转录。其实一些染色质就没有活性,这就是我们所说的异染色质。通过电子显微镜观察,异染色质是一些致密的染色质纤维,在光学显微镜下通过染色方法也可以观察到,如C一带和G一带。一些染色质的所有结构和其各个发育阶段均为异染色质,称为基质染色质,通过C一带可以区别。表1. 1. 3是几个有代表性的近交系小鼠的C带形态。正如前述着丝粒依靠C一带鉴别一样。这些区域与蛋白质和卫星DNA序列的结合关系密切,有效地阻止了C一带形成过程中DNA的丢失。基质染色质还包括人Y染色体的长臂及其他动物的性染色体。

还有一些染色质区域既非异染色质,也不是常染色体状态,被称为兼性异染色体。雌性哺乳动物有两条X染色体,其中一条就无转录活性,在分裂间期转为异染色质。镜下呈一浓点,被称为巴尔小体或X小体。这一方面两性之间存在剂量补偿,因为雄性只有一个X染色体,Y染色体主要由基质染色体组成。X染色体失去活性是一种随机事件,雌性哺乳动物细胞中,有一半父本遗传的X染色体是无活性的,另一半母本遗传的X染色体是无活性的,失去活性的X染色体在配子形成过程中又获活性。

染色体数目异常

每一物种的染色体的数目是恒定的,表1. 1. 4显示了几种实验动物的染色体数。减数分裂时染色体数目可能发生错误改变,其分裂过程与配子形成有关,最终导致配子的遗传物质增加或减少。若该配子活性足以产生子代,那么子代的每一个细胞将呈现相同异常的染色质成分;若体细胞有丝分裂过程中染色质分配错误,那将导致不止一种核型的个体细胞出现,这种细胞个体被称为“嵌合体”。

当染色体数目增加时或几个单倍染色体融合就产生多倍体。不同倍体水平反映为染色体整倍体系列。表1. 1. 1为人多倍体系列。尽管三倍体和四倍体差不多占流产胎婴的10%,但在存活的婴儿当中并无发现。在动物界,多倍体很少见,在植物界经常可以遇到。对进化而言,这一

点非常重要。

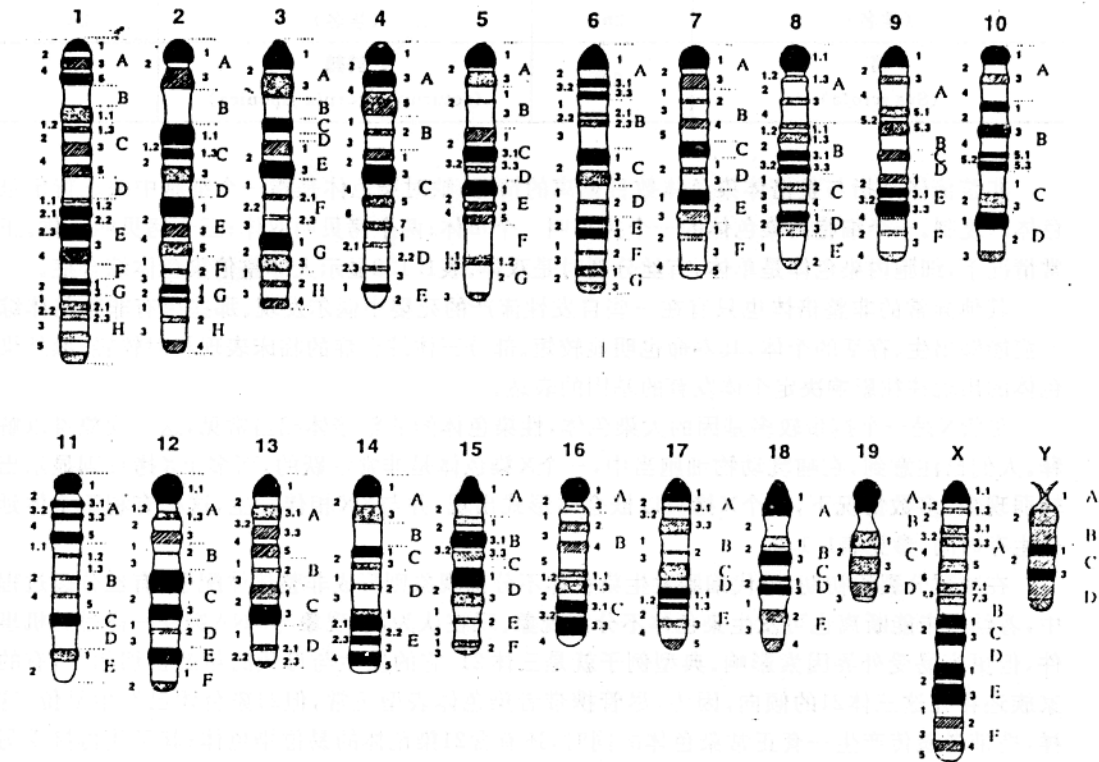


图1.1.2 小鼠染色体G一带模型图

表1.1.4 主要实验动物的染色体数

动物名 (学名)	染色体数 2n	动物名 (学名)	染色体数 2n
小鼠 (<i>Mus musculus</i>)	40	狗 (<i>canis familiaris</i>)	78
大鼠 (<i>Rattus norvegicus</i>)	42	猫 (<i>Felis catus</i>)	38
豚鼠 (<i>Cavia porcellus</i>)	64	山羊 (<i>Capra hircus</i>)	60
兔 (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	44	绵羊 (<i>Ovis aries</i>)	54
叙利亚地鼠 (<i>Mescricricetus auratus</i>)	44	恒河猴 (<i>Macaca mulatta</i>)	42
中国地鼠 (<i>Cricetulus barabensis</i>)	22	鸡 (<i>Gallus comesticus</i>)	78

动物名 (学名)	染色体数 $2n$	动物名 (学名)	染色体数 $2n$
猪 (<i>Sus scrofa</i>)	38	鹌鹑 (<i>coturnix coturnix japonica</i>)	78

非整倍体是指与整倍体染色体数目偏离的情况。缺对染色体是指一个细胞中缺乏特定染色体的复制。一个细胞内染色体的一个拷贝叫一个单体；两个拷贝叫双体；三个拷贝叫三体。正常情况下，细胞内染色体是单体，有丝分裂时是双体。表1. 1. 2显示人非整倍染色体综合症。

其他异常的非整倍体也只有在一些自发性流产的死婴中偶尔发现。那些患有非整倍体综合症能够出生、存活的个体，其寿命也明显较短。部分三体综合症的临床表现相对较轻。额外染色体的出现往往影响决定个体发育的基因的表达。

尽管X是一个携带较多基因的大染色体，性染色体的非整倍体相当常见，这一现象难以解释。人们已注意到，在哺乳动物细胞当中，一个X染色体是非常活跃的，而多个X拷贝则显示出较弱现象。多数情况下，多个X拷贝以嵌合体形式出现，并与XX相伴发生，这样有利于个体延长生存时间。参见表1. 1. 2。

在减数分裂的初期，子代细胞发生染色体不分离现象则形成非整倍体配子。有丝分裂过程中，着丝点未能断离也可发生染色体不分离现象。现在认为，该现象与DNA突变一样是随机事件，但更容易受外界因素影响。典型例子就是三体21，它的发生与母代的年龄密切相关，有的家族还存在这三体21的倾向。因为，尽管携带者染色体表型正常，但21染色体已发生易位，这样，携带者遗传产生一套正常染色体的同时，还有含21染色体的易位染色体；其子代再接受另一母代的一套染色体，就产生了三体染色体。

上述提及的综合症中，除Turner综合症(XO)外，均涉及到额外染色体的形成。常染色体或单染色体缺失的个体一般少见，且生存时间很短暂。人类缺对染色体个体从未有存活。

特殊染色体结构

所有真核细胞的染色体都包括有两种特殊结构：中央粒和端粒(telomere)。另外，有一些染色体还包括核仁组成区。中央粒是细胞分裂过程中纺锤体相互连结的地方，对于细胞分裂具有重要意义。任何与中央粒未能联接的染色体片段在细胞分裂结束时都无法分离到子代细胞。目前研究最多的是酵母中央粒，它仅有200bp大小。一般情况下中央粒都比较大，由高度重复的卫星DNA组成。人不同染色体可以藉其中央粒内特殊结构的卫星DNA进行鉴别。连结到中央粒上的蛋白质的形成层状结构，被称为动粒或着丝粒，通过动粒实现染色体与微管纺锤体纤维连结。

端粒并非简单的染色体主端或DNA分子，它们有许多短小DNA的重复序列。在人类该重复序列为TTAGGG，原核生物的重叠序列与此变化不大。在植物界与原生物界也发现有同样序列。端粒区结合的特异蛋白被认为是用来防止染色体间的粘结。端粒的重复次数在胚胎细胞中是很高的，但在体细胞中随着年龄增加逐渐减少，故端粒也是生命延续的分子标志。

端粒酶(Telomerase)是一种含与端粒重复DNA序列互补的RNA的蛋白质，它维持着端粒的长度，而重复的DNA序列是DNA延伸的模板。一般情况下，体细胞缺乏端粒酶，而在肿瘤细

胞内端粒酶又再次出现,决定了肿瘤细胞的端粒长度是较稳定的。

核仁组成区一般发生在次级缢痕(Secondary constriction),由重复的5S、8S、18S和28S rRNA基因相继排列而成。大多数物种的基因组中,5S rRNA基因都是群簇分布。除Y染色体外,人的核仁组成区分布在具近端着丝粒的染色体的短臂上。每一个核仁组成区由大约80到100个重复序列组成。在细胞分裂间期,核仁组成区解凝,围绕它生成新的细胞核。当细胞进入有丝分裂中期后,染色体有可能仍结合在短臂上,这种现象被称为“卫星缔合”。

次级缢痕可以是特别显著的,以致于染色体末端看起来与染色体主体未能联结。现已将此末端称为“染色体卫星”。在人13、14、15、21和22号染色体上均可以观察到此现象,注意不能将此名词与卫星DNA序列混淆。

第二节 DNA的结构与功能

DNA是十分巨大的生物高分子。它是由四种脱氧核苷酸通过磷酸二酯键聚合而成的。最小的天然DNA分子也包含了几千碱基对,分子量在 10^6 以上,而人的细胞染色体中有 3×10^9 碱基对。DNA分子能以线状或环状的形式存在。绝大多数DNA分子是由两条碱基互补的链构成的。只有少数天然DNA是单链的,如 ϕ X174, M13等。

DNA的一级结构(Primary structure)

生物信息绝大部分都贮存在DNA分子中,这些信息以核酸不同的排列顺序编码在DNA分子上,如果核苷酸排列顺序变化,它的生物学含义也就改变。DNA的一级结构是指核苷酸(Nucleotide)在DNA分子中的排列顺序。DNA主要由四种脱氧核苷酸组成,即脱氧腺苷酸、脱氧鸟苷酸、脱氧胞苷酸和脱氧胸苷酸。它们的连接方式是各个核苷酸中核糖的第5位碳原子(C-5')上的磷酸以酯键与另一个核苷酸中核糖的第3位碳原子(C-3')相连,形成3', 5' -磷酸二酯键连接起来的直线形或环形多聚体。由于脱氧核糖中C-2'上不含羟基, C-1'又与碱基相连接,所以唯一可以形成的键是3', 5' -磷酸二酯键。

DNA的二级结构(Secondary structure)

DNA的二级结构是双螺旋结构,该模型的建立主要依据两方面的研究,一是碱基组成的定量分析,通过进行大量不同来源的DNA的碱基组成的分析,发现不像原来假定的那样,DNA是由等量的A、G、C、T组成。相反,不同来源的DNA其碱基比例是不同的,但是有一个共同的规律,即胸腺嘧啶的摩尔含量等于腺嘌呤的摩尔含量,胞嘧啶的摩尔含量总是等于鸟嘌呤的摩尔含量,即 $[A] = [T]$ 和 $[G] = [C]$ 。二是对DNA纤维和DNA晶体的X光衍射分析。Watson和Crick两人在1953年提出的DNA双螺旋结构模型,在分子生物学发展上具有划时代的贡献,为分子生物学和分子遗传学的发展奠定了基础。但由于当时还不可能获得DNA分子结晶,所有的资料来自相对湿度为92%时的DNA钠盐纤维的研究结果,这种DNA称为B型DNA。当水合的B-DNA脱水,或由于加入乙醇、盐使水的活度降低时,DNA的结构有所不同,称为A-DNA。此外还有C-DNA、Z-DNA。

根据Watson和Crick提出的DNA双螺旋结构(图1.1.3),具有如下的特征:

- 1) A分子为二条脱氧多核苷酸链,以一共同轴为中心,盘绕成右手双螺旋结构。
- 2) 二条脱氧多核苷酸链的走向相反,通常取左侧链从上到下为,5'→3'端,右侧链从下向上为5'→3'端,这样二条链构成反平行排列的双螺旋。
- 3) 二条多核苷酸链核苷酸借氢键而连系在一起,氢键是由一链碱基上-NH₂的氢与另一链上碱基的氧或氮形成。碱基间形成氢键总是发生在A与T、G与C之间,A与T间有二个氢键,G与C之间有三个氢键。这种相配关系称为碱基互补或碱基配对。配对的碱基处于同一平面,此平面与双螺旋的中心轴垂直。
- 4) 双螺旋的平均直径为2nm,两个相邻的碱基对之间相距的高度,即碱基堆积距离为0.34nm,两个核苷酸之间的平夹角为36°。因此,沿中心轴每旋转一周有10个碱基对。每一转的高度(即螺旋)为3.4nm。在生物体内天然状态的DNA几乎都以B-DNA形式存在。

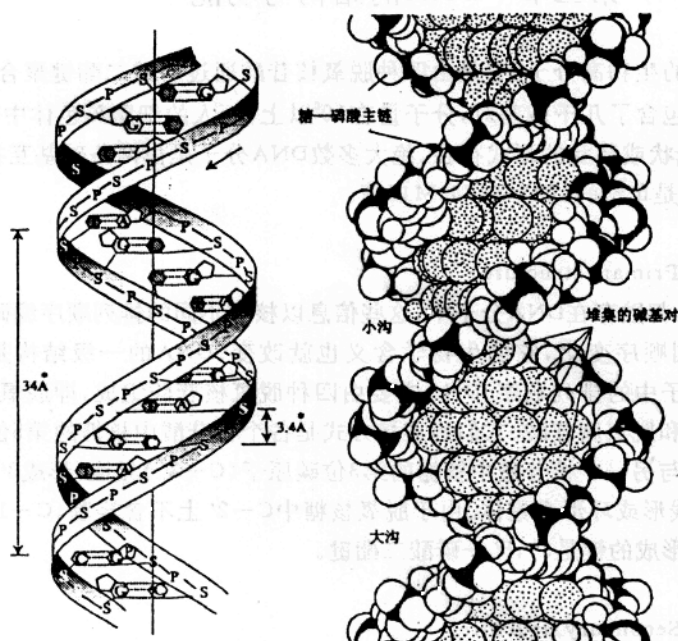


图1.1.3 DNA双螺旋(左)及其空间一填充模型(右)

DNA的高级结构(Higher order)

DNA的高级结构指双螺旋的扭曲。超螺旋是DNA高级结构的一种形式,DNA在核小体结构中的扭转方式也是一种超螺旋结构。核小体可以组成更高层次的结构,DNA分子也将进一步扭转,因此,DNA高级结构可以分为若干层次。

DNA的高级结构是指DNA双螺旋链的扭转。超螺旋结构是DNA高级结构的一种形式。超螺旋结构也包括核小体中DNA的超螺旋。

DNA的二级结构不是一成不变的,其不同构象间可相互转变,如右手螺旋DNA中存在B型、C型与A型的相互转变,左手螺旋DNA(Z-DNA)又可与右手螺旋DNA间相互转变。DNA

的高级结构也并非固定不变,如超螺旋结构中双链本来是线状的,当双链中个别地方受到破坏时,则可形成环结构;当两条链同时在一处断裂,则又可形成线性结构。

在DNA双螺旋中,每10个核苷酸长度旋转一圈,这时双螺旋处于能量最低的状态。如果将这种正常的双螺旋DNA额外地多转几圈或少转几圈,由于在这种双螺旋中存在额外的张力,就会使其分子内的原子偏离正常位置。如果双螺旋链的末端是自由的,这种张力可以通过链的转动而释放出来,从而可保持原来双螺旋的结构;如果DNA分子的二端是以某种方式固定或者双螺旋是环状分子,则额外的张力就不能释放到分子外,而导致DNA分子内部原子空间位置的重排,这样DNA分子本身就会扭曲,即出现超螺旋结构。

原核生物的DNA多数以双链环形的DNA形式存在,如某些病毒DNA,某些噬菌体DNA,细菌质粒DNA,许多细菌染色体DNA也是环形的。在真核细胞中线粒体DNA、叶绿体DNA也是环形的。

大肠杆菌的DNA分子,约由四百万个碱基对组成,构成环状双链分子。环状DNA扭曲成超螺旋时,需要一个特定的酶催化,这类酶称为拓扑异构酶(Topoisomerase)。如拓扑异构酶 I, 又称DNA旋转酶(DNA gyrase),其作用的特点是:在没有ATP存在时,可使超螺旋DNA变为松弛态;它又可以在有ATP参与时,使松弛状DNA转变为超螺旋DNA。拓扑异构酶 I 的催化作用是每次使DNA的两条链同时切断,让另一条双链DNA穿过断口,再将已切断的末端重新封接起来。经反复的作用,使分子获得额外的张力,促使DNA内部原子的位置重排,这样DNA分子本身就会扭转,形成超螺旋。超螺旋DNA具有更为致密的结构,可以将很长的DNA分子压缩在一个极小的体积内,就这样使大肠杆菌长达1mm多的DNA环状双链分子,在体内压缩成1μm小体。在生物体内,绝大多数DNA确是以超螺旋的形式存在的。

图1. 1. 4反映了由DNA分子到染色体的构型变化。

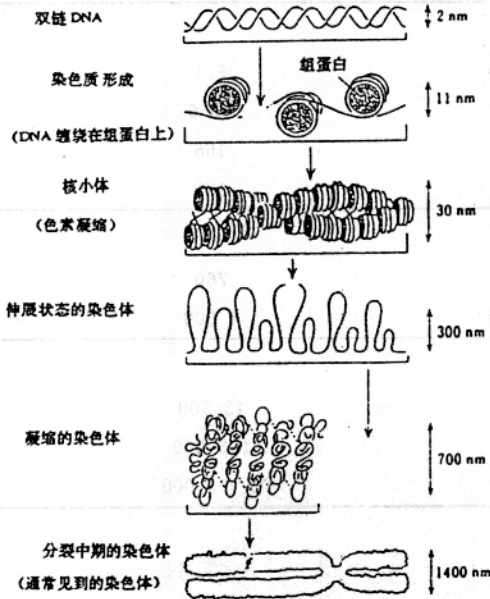


图1. 1. 4 由DNA到染色体的构造变化

DNA的生物学功能

DNA是遗传物质,是遗传信息的载体。真核生物的DNA绝大部分在于细胞核内任何一种生物的体细胞,其DNA含量是恒定的,不受外界环境、营养条件和细胞本身代谢状态的影响,这是符合遗传物质的特性的。

此外,每个细胞中DNA含量与生物体的复杂性有近似的平行关系。生物体越复杂,遗传信息量越大。如大肠杆菌染色体DNA分子量为 2.6×10^9 ,或由 4×10^6 碱基对组成,长度为 $1.4 \times 10^6 \text{ nm}$ 。人的一个体细胞含46个染色体,约含 2.9×10^9 碱基对,因而蕴藏着极其丰富的遗传信息。表1.1.5列出一些生物DNA的长度。

生物体内的DNA绝大部分均是构成超螺旋的结构存在,而超螺旋的结构不仅有结构上的意义,还有功能上的意义。例如很多病毒DNA的复制都要经过具有超螺旋的环状DNA阶段。如噬菌体 ΦX174 的DNA是一个单链环状分子,在复制过程中需先复制成双链状DNA,然后病毒本身编码的A蛋白在双链环状DNA的特定位点上切开,使得滚环复制能够进行。但A蛋白作用的底物必须是具有超螺旋的闭环双链DNA,同样的闭环双链DNA如果不具有超螺旋,A蛋白也不起作用。 λ 噬菌体的复制也是这样, λ -DNA带有黏性末端的双链DNA, λ -DNA进入宿主后,封闭成双链环状DNA,只有DNA引入超螺旋后, λ -DNA的复制才能进行下去。

1986年有人曾用重组有增强子片段的表达做研究,证明了超螺旋型明显比线型有较高的基因表达量,试验工作是在动物细胞中完成的。他们还提出了这种影响完全是由于拓扑学结构的改变加强了某些转录因子与启动基因部位的结合能力。

表1.1.5 部分生物DNA分子的长度

生物学	千碱基对(kb)	长度(nm)
病毒		
多瘤病毒或SV40	5.1	1.7
λ 噬菌体	48.6	17
T ₂ 噬菌体	166	56
牛痘病毒	190	65
细菌		
支原体	760	260
大肠杆菌(E. coli)	4 000	1 360
真核生物		
酵母	13 500	4 600
果蝇	165 000	56 000
人	2 900 000	990 000

第三节 RNA的主要类型和功能

概念

参与基因表达的RNA主要有mRNA、tRNA和rRNA。mRNA占细胞总RNA的5%左右,是蛋白质合成的直接模板。1分子mRNA可被翻译成1种或1组蛋白质,其大小相差很多。大肠杆菌mRNA的分子平均长度为1.2kb。tRNA约占细胞总RNA的15%,主要功能是运送氨基酸到核糖体参与多肽合成。20种合成多肽所需的氨基酸,多数都有1种以上的特异tRNA与之对应。tRNA分子还具有其他功能,例如作为病毒逆转录的引物及校正mRNA的突变等。rRNA约占细胞中总RNA的80%,是核糖体的主要组成成分。它不但与蛋白质一起构成了翻译的场所,并可在翻译过程中起重要的催化作用。rRNA是按照其沉降行为进行分类的,如大肠杆菌中的3种rRNA分别被称为23S、16S和5SRNA。

在真核细胞中,还有其他许多小RNA与遗传信息的表达密切相关。例如细胞核中的snRNA (small nuclear RNA) 参与mRNA前体的剪接。细胞质中也有小分子scRNA (small cytoplasmic RNA),如7SRNA,在运输新合成的分泌蛋白方面起作用。

此外,人们还发现有的RNA分子也有催化功能。例如四膜虫rRNA前体中的内含子序列可催化其自我剪接(Self splicing)。

有些病毒的基因组由RNA组成,以RNA为遗传物质进行自我复制。这些RNA只有个别是双链,绝大多数都是单链。但单链的RNA经自身回折,会形成局部双链区。由于其戊糖2'-OH造成的空间位阻,使RNA不可能形成DNA那样的B构象双螺旋结构。而采取类似A-DNA的结构。

烟草花叶病毒是1种典型的RNA病毒。在由2130个相同亚单位组成的蛋白外壳内,有一条6.4kb长的单链RNA,用酚处理即可将RNA和蛋白分开。游离的RNA具有感染性。这种病毒在其侵袭的细胞内进行复制的过程为:首先按照病毒颗粒中的RNA正链合成一条互补的RNA负链,作为蛋白质合成模板的那条RNA链称作正链,再由负链作为模板,合成大量的RNA正链,并被包装入新的病毒颗粒中,最后从细胞中释放。合成反应由RNA指导下的RNA聚合酶催化。

转移RNA (tRNA)

转移RNA (transfer RNA, tRNA) 分子长度约70~90个核苷酸,是3种主要的RNA类型中最小的。tRNA分子中约20多个位置上的核苷酸是保守的,其中的10个核苷酸是恒定不变的。tRNA分子上有一个氨基酸连接位点和一个mRNA三联密码识别位点(即反密码子),转运各种氨基酸。tRNA的转录子是一条较大的分子,其两端或中间还有一些额外的核苷酸,在转录后加工过程中,这些额外的核苷酸由RNA酶以一种特殊的方式除掉。成熟的tRNA分子含多种稀有或修饰碱基,它们是某种酶对初级转录因子中4种正常碱基加以修饰后形成的。

各种tRNA都有相似的特征,都能形成次级结构,并且具有3个碱基配对的主干和3到4个未配对的环。其二级结构为三叶草叶形,三级结构呈“L”形。每一种tRNA都有一段由3个碱基组成的,叫反义密码子(Anticodon)的序列,它位于tRNA分子一端一个未配对的环的中央。所有tRNA分子的3'末端都具有—CCA序列,它位于反密码子相对的一端。在某种特殊的氨酰