

《分子生物学基础》专题讲座之三

遺傳的分子基础

华中农学院水产系生理生化教研室

一九八二年五月编

（中国科学院图书馆）（中国科学院图书馆）

量子力学基础

中国科学院图书馆（中国科学院图书馆）

（中国科学院图书馆）（中国科学院图书馆）

目 录

一、基因的物质本性	1
(一) 核酸	1
(二) DNA分子结构的双螺旋模型	6
(三) 遗传密码	15
(四) 基因和基因组	19
(五) 基因突变	25
(六) 几种RNA病毒	30
二 细胞的基本生命过程	35
(一) DNA复制的生物化学	35
(二) 细胞内DNA复制的机制	40
(三) 限制酶的作用	56
(四) 细胞中的各种RNA	63
(五) 转录	74
(六) 遗传密码的实验研究	83
(七) 细胞内蛋白质合成的机制	93
三 原核基因的调控	105
(一) 大肠杆菌乳糖转录子的调控	105
(二) 细菌中的其它调控体系	113
四 真核生物的基因	117
(一) 染色体和DNA	117
(二) 真核基因 I—rRNA 基因和 tRNA	127
(三) 真核基因 II—为蛋白质编码的基因	142
(四) 内部间隔区和断裂基因	153

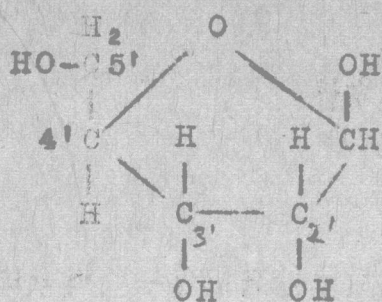
五 重复DNA.....	1 5 7
(一) 真核DNA中的重复顺序和单一顺序.....	1 5 7
(二) 异染色质.....	1 6 6
(三) 卫星DNA.....	1 7 5
(四) Y染色体上的重复DNA.....	1 8 7
六 真核染色体.....	1 9 5
(一) 组蛋白和非组蛋白.....	1 9 5
(二) 染色体的基本结构单位——核体.....	2 0 5
(三) 染色体的复制.....	2 2 1
七 真核的转录与调控.....	2 2 5
(一) 真核的三种RNA多聚酶.....	2 2 5
(二) 真核mRNA.....	2 2 9
(三) 真核转录的调控.....	2 3 5
八 基因工程的基本技术.....	2 4 9
(一) 分离特定的基因.....	2 4 9
(二) 基因的运载体.....	2 5 1
(三) DNA片段同运载体的结合.....	2 5 6
(四) 转化和含重组DNA菌的筛选.....	2 6 2
(五) 重组DNA无性繁殖的分析.....	2 6 2
(六) 基因工程的意义.....	2 6 4
主要参考资料.....	2 6 6

一、基因的物质本性

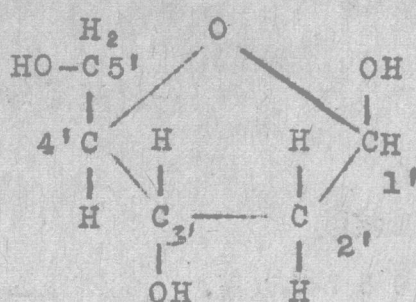
(一) 核酸

在1953年以前，人们对基因的物质本性只能作一些模糊的猜测。经典遗传学早已证明基因在染色体上。把细胞磨碎，用离心方法提取染色体，进行化学分析，发现染色体主要由两种物质组成，一是蛋白质，二是核酸，两者在高等生物（真核生物）染色体中的含量大致各占一半，染色体中除了这两种物质之外几乎没有别的物质。因此当时人们认为基因的物质本性只有三个可能性，或是核酸，或是蛋白质，或是“核酸蛋白质”，即蛋白质与核酸结合所成的复合物。直到1953年，Watson 和 Crick 提出脱氧核糖核酸的分子结构模型，一下子就使大多数生物学家承认基因是核酸。

核酸是在十九世纪就发现的，长期以来，人们不知道核酸在生物体内有什么作用，但对核酸的化学结构则逐渐分析清楚。核酸是一种高分子，这和蛋白质相同。但蛋白质的单体是氨基酸，而核酸的单体则是核武酸(nucleotide)。每个核武酸分子由一个五碳糖分子，一个磷酸分子，和一个杂环化合物（嘧啶或嘌呤）分子构成。核酸分两大类，即核糖核酸(RNA)和脱氧核糖核酸(DNA)，是按其核武酸中五碳糖的不同而区分的。RNA中的五碳糖叫核糖(ribose, $C_5H_{10}O_4$)，后者比前者少一个氧原子。从图1·1·1可见，前者在2'地位的C原子上有个OH基，而后者在这地位是以一个H原子来代替这个OH基。图中注明的1'，2'，3'，4'，5'，是这两种五碳糖中五个C原子的习惯命序。



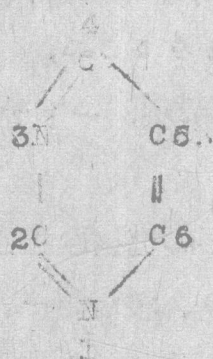
核 糖



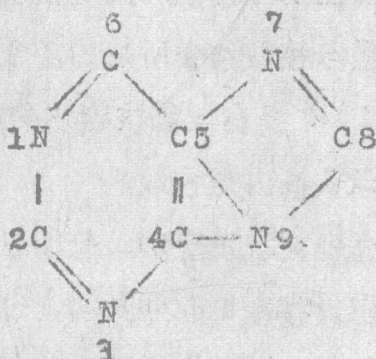
脱氧核糖

图 1. 1. 1 核糖和脱氧核糖的结构

杂环化合物嘧啶或嘌呤总是结合在 1' 地位的 C 上的。这两类杂环化合物的一般结构和原子命名序见图 1. 1. 2。



嘧 定



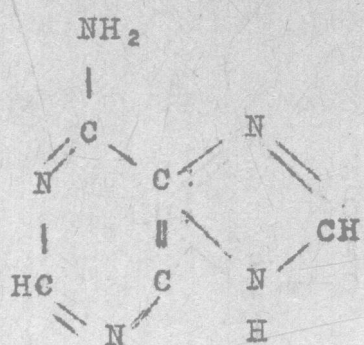
嘌 呤

图 1. 1. 2 嘧啶和嘌呤的一般结构

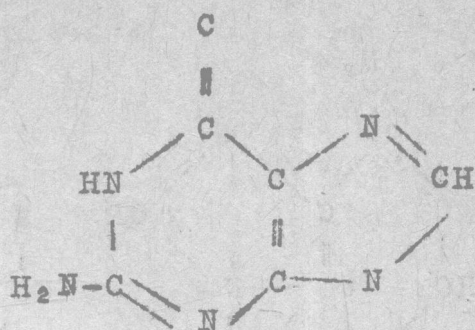
和五碳糖结合时，嘧啶类总是以 3 位的 N 和五碳糖中 1' 位 C 相接，嘌呤类总是以 9 位的 N 和五碳糖中 1' 位 C 相接。

DNA 中最常见的杂环化合物是两种嘌呤（腺嘌呤，adenine，鸟嘌呤 guanine）和两种嘧啶（胞嘧啶 Cytosine，胸腺嘧啶 thymine）。RNA 中最常见的也是四种，即腺嘌呤，鸟嘌呤，胞嘧啶，和尿嘧啶 (uracil)。这些嘌呤和嘧啶分子中因为有 $-NH_2$ 和 $-NH-$ 基团，所以带碱性，因此一般常把他们简称之为碱基 (base)。

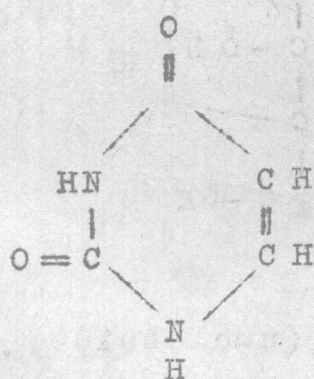
从图 1 · 1 · 3 可见，DNA 中常见的胸腺嘧啶和 RNA 中常见的尿嘧啶是极为相似的，只是前者在 5 位 C 上有个甲基，而后者没有。



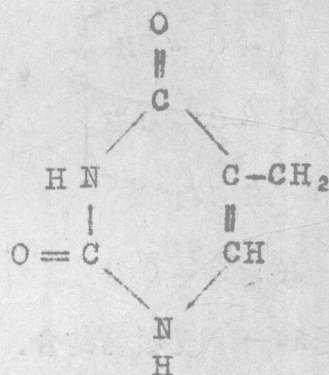
腺嘌呤 adenine



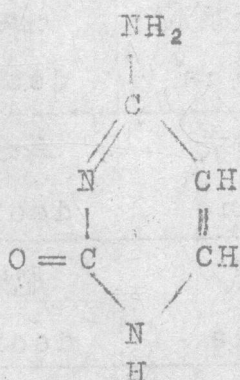
鸟嘌呤 guanine



尿嘧啶 uracil



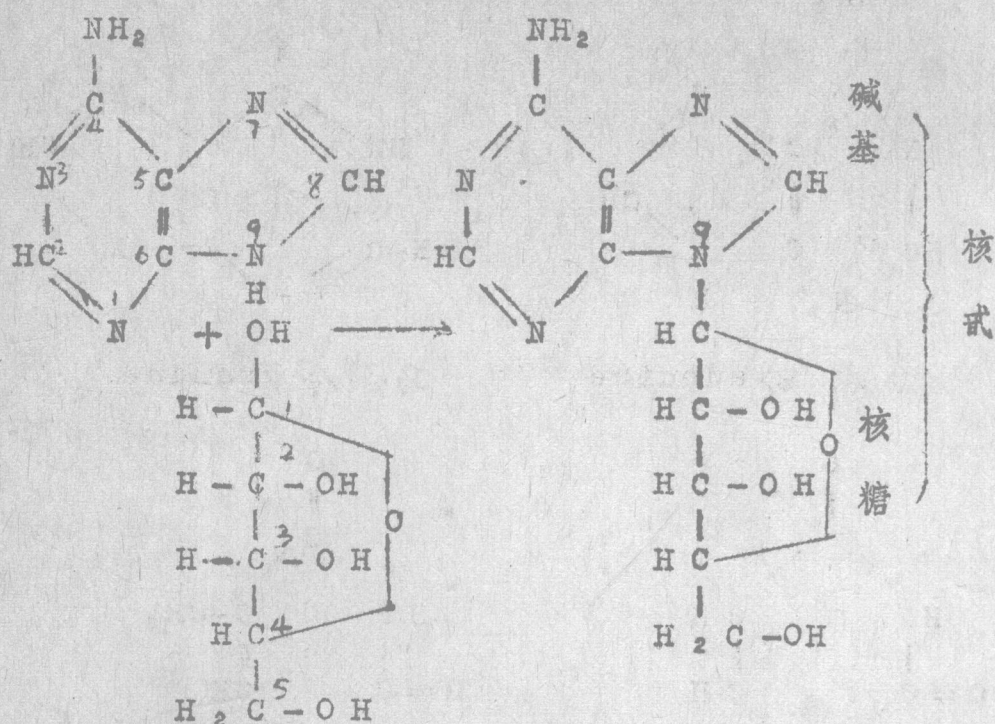
胸腺嘧啶 thymine



胞嘧啶 Cytosine

图 1 · 1 · 3 核酸中常见的碱基

嘌呤的9位N或嘧啶的3位N可以和核酸(或脱氧核糖)的1'位C以N-C糖苷键结合, (脱去一分子H₂O);

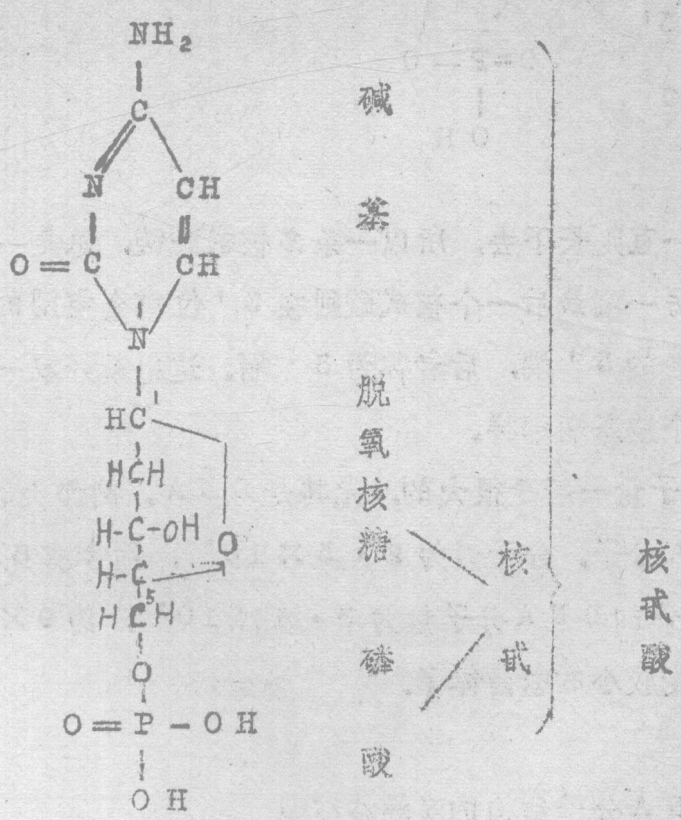


这样一个碱基和一个五碳糖结合, 成为一个核武(nucleoside)。

DNA和RNA中常见的核武各四种。见表1

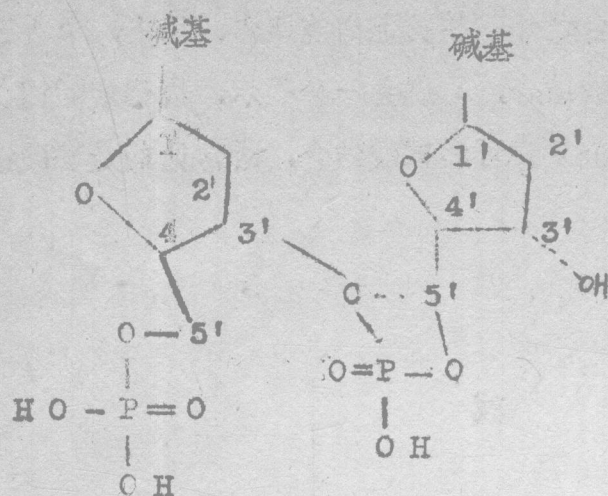
	核 糖	脱 氧 核 糖
腺 嘌 呤 adenine	腺 嘌 呤 核 武 adenosine	腺 嘌 呤 脱 氧 核 武 deoxyadenosine
鸟 嘌 呤 guanine	鸟 嘌 呤 核 武 guanosine	鸟 嘌 呤 脱 氧 核 武 deoxyguanosine
胞 嘧 啶 cytosine	胞 嘧 啶 核 武 cytidine	胞 嘧 啶 脱 氧 核 武 deoxycytidine
尿 嘧 啶 uracil 胸腺嘧啶 thymine	尿 嘧 啶 核 武 uridine	胸腺嘧啶脱氧核武 deoxythmidine

核武再和一个磷酸结合，就成为核武酸(nucleotide)。五碳糖上除了1'位C已和碱基结合之外，核糖上尚有2'，3'，5'三个C上都有OH基，都可和磷酸结合。(脱去一分子水，成磷酸酯键)脱氧核糖上则有3'和5'两个C都可和磷酸结合，最常见的是磷酸接在5'位上。



如上图就是5'-磷酸胞嘧啶脱氧核武，也可叫5'-胞嘧啶脱氧核武酸。

DNA和RNA都是由许多核武酸聚合而成的“多核武酸”(polynucleotide)是链形的分子。一般讲，可以把核酸看作为5'核武酸的多聚物。两个5'核武酸分子结合时，是一个核武酸5'位上的磷酸和另一个核武酸上空着的3'位结合，形成磷酸二酯键，称为3'-5'磷酸二酯键。



这样可以一直延长下去，所以一条多核武酸链，总是一端在 5' 位有个磷酸，而另一端最后一个核武酸则在 3' 位有个空闲的 OH 基；前者称为多核武酸的 5' 端，后者称为 3' 端。这也就好象一条多肽链有个氨基端和一个羧基端那样。

核酸的分子量一般是很大的，尤其是 DNA。例如大肠杆菌的染色体是一个 DNA 分子，分子量为 2.5×10^9 ，约含有 8×10^6 个核武酸。噬菌体的 DNA 分子量为 3.1×10^7 ，约 9×10^4 个核武酸，已经是较小的噬菌体了。

(二) DNA 分子结构的双螺旋模型

在真核细胞中，DNA 主要在细胞核的染色体上，而 RNA 则主要在细胞质内，在 1953 年以前，虽然已有一些试验说明基因是 DNA，但由于人们对 DNA 分子结构还不清楚，不能设想 DNA 怎么能具有遗传物质的功能。J. D. Watson 和 E. H. C. Crick 在 1953 年发表 DNA 分子结构的双螺旋模型，（即 Watson-Crick 模型），就解决了这个问题。他们的模型主要是根据那几年对 DNA 所作的 X 线衍射

研究和化学成分分析和结构研究而提出的。

根据碳原子和氧原子的已知键角，人们早已知道象多核碳酸这样的长链在空间中必是螺旋形。在1953年以前，也有些人提出DNA分子结构的一些模型，也都以螺旋形长链为出发点。但这些模型和化学上的已知事实不很符合，不能令人满意。后来M. H. F. Wilkins, Rosalind Franklin 等用小牛胸腺DNA作纤维衍射，得到较好的照片，(图1·2·1)，为Watson和Crick提出他们的模型打下了基础。

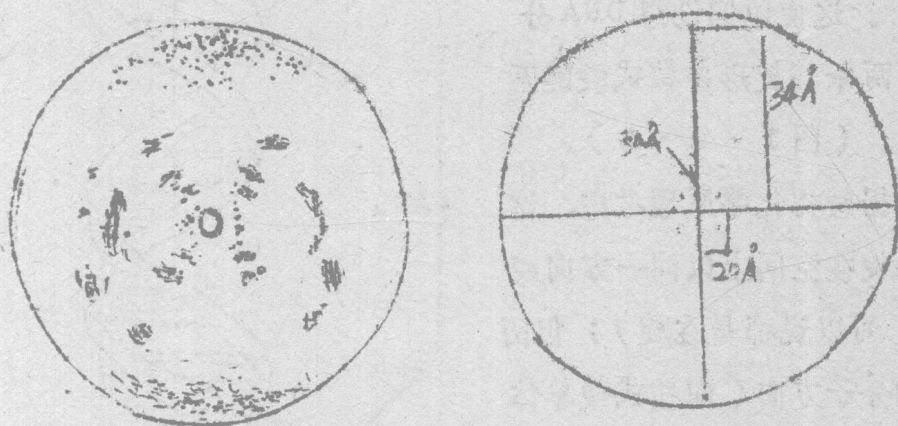


图1·2·1 左 DNA纤维衍射图

右 左图的解释

〔注1〕：分析X光衍射照片所用的Bragg公式是 $2d\sin\theta = n\lambda$ ， θ 是衍射角；衍射点至照片中心的距离/被测物体至照片的距离即为 $\tan\theta$ ， d 是物体中存在的重复间距， λ 是X线波长， n 是1、2、3……各个正整数。

在 $n\lambda$ 恒定时， d 越大则 θ 越小，所以图1·2·1中，相当于 3.4 Å 的点很远，而 20 Å 点较近。

这些照片上，子午线（垂直线）上有个很强的衍射点，相当于

$3.4 \text{ \AA}$ 的重复间距（注1），人们早已设想这是两个邻近核甙酸之间的间距，（也就是邻近两个碱基之间的间距）。赤道线（水平线）上的衍射点相当于 $20 \text{ \AA}$ 间距，Watson 和 Crick 很自然地把这数值想象为螺旋的直径。

在 $20 \text{ \AA} \times 20 \text{ \AA} \times 3.4 \text{ \AA}$ 这样一个单位空间内，测得电子密度相当于两个核甙酸分子所具有的电子。这使他们设想 DNA 分子是由两条螺旋形多核甙酸链互绕而成。（图 1.2.2）。

根据结构化学原理考虑，这两条螺旋在空间上以同一方向旋绕。（可以说都是右旋）；但两条链的分子方向（即核甙酸单体结合方向）则相反，设以一链为 5' 端到 3' 端，则另一链为 3' 端到 5' 端。（图 1.2.3）。

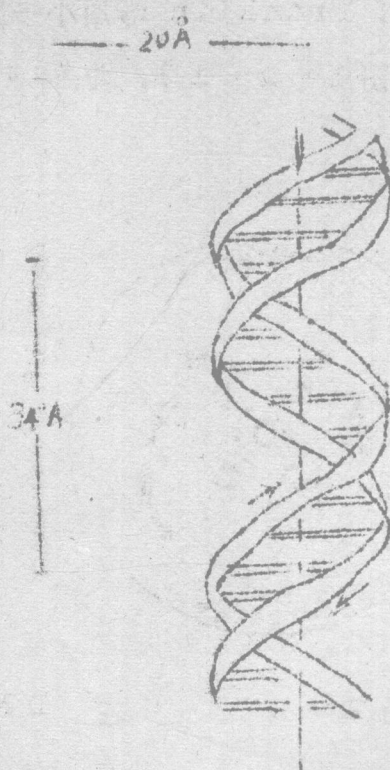


图 1.2.2 DNA 分子
双螺旋模型

Watson-Crick 原图

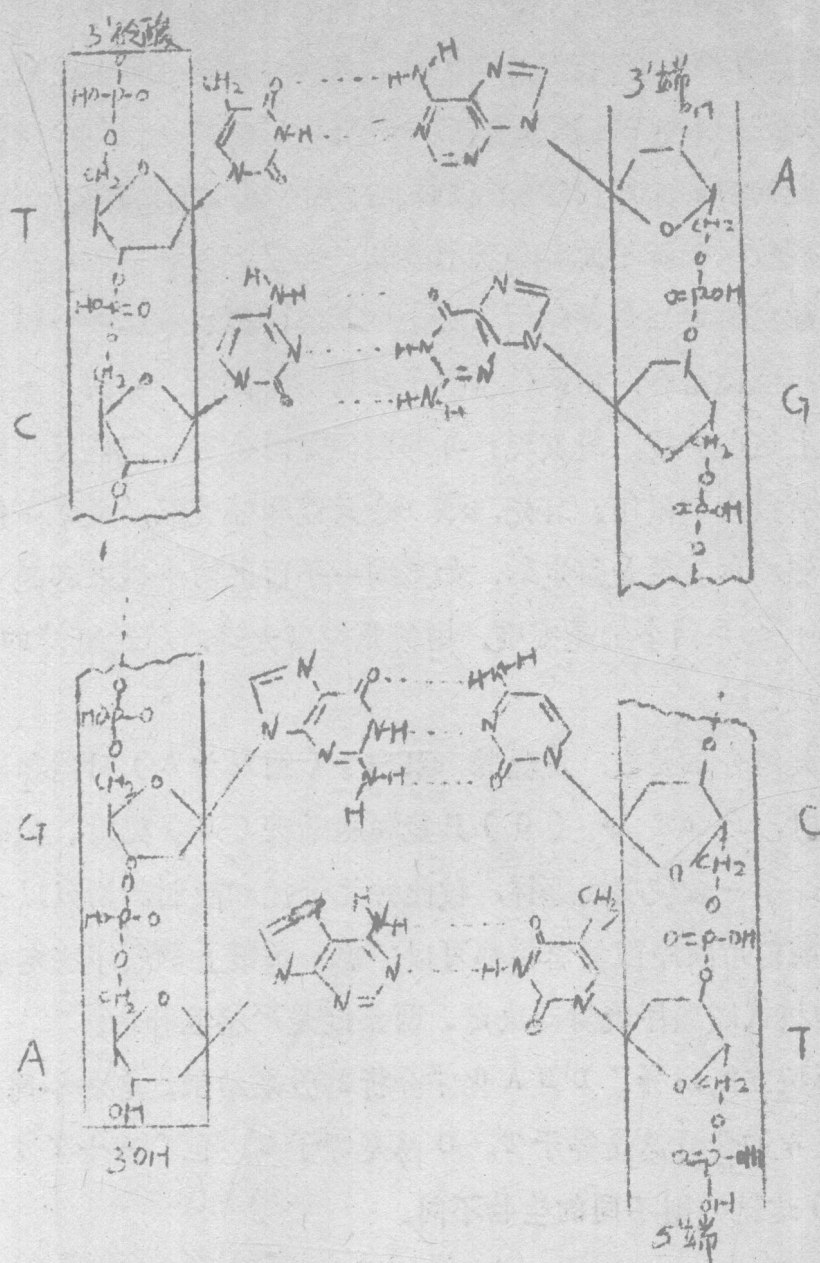


图 1 · 2 · 3 DNA 双链的碱基配对。点线表示氢键，框线部分表示磷酸——脱氧核糖基线

为了解释衍射照片中那一系列相当于 $34\text{\AA}$ 的层线 (图 1 · 2 · 1)，他们设想同一链上两个邻近核武酸之间的旋转角为 36° ，(这和结构化

学理论很符合)，因基连续十个核武酸就旋转 360° ，即一个整圈，这是螺旋的旋绕周期，其长度为 $3.4 \text{ \AA} \times 10 = 34 \text{ \AA}$ 。

这模型是设想多核武酸链的磷酸——五碳糖基线是位于双螺旋的外周，而碱基是向内的，即向着螺旋的轴心。嘌呤和嘧啶本来都是平面的分子，现在就设想碱基平面都和双螺旋长轴垂直。

这模型最主要之点是设想两条链上的碱基两两成对，一个碱基和相对碱基之间靠氢键结合，由此保持整个结构的稳定性。（图 1·2·3）

由于以上这些前提，就发现：并非随便哪两个碱基都能互相配对，碱基配对时有很大的限制。首先，嘌呤只能和嘧啶配，反之亦然。这是因为，双螺旋的直径是固定的，如果在同一平面上两个碱基都是嘌呤，则地位不够；如果两个都是嘧啶，则彼此距离太远，超过氢键的作用距离，不能形成氢键。

由于氢键结合的要求，发现腺嘌呤（简写为 A）只能和胸腺嘧啶（T）配对，鸟嘌呤（G）只能和胞嘧啶（C）配对。碱基对平面上上下相叠，象一叠玻璃板那样，彼此并无干扰和限制。所以以一条链来说，核武酸前后顺序随便怎样都可以；但一条链上的顺序决定后，另一条链上的核武酸顺序就自动决定。两条链是严格互补的。

这个模型立刻解释了 DNA 化学分析的历来结果。各种不同生物的 DNA 中，A 的含量总是等于 T，G 总是等于 C，但 $(A+T)/(C+G)$ 这比数则不同的生物不同。

	A	G	C	T	A+T G+C
大肠杆菌 E. Coll	26.0%	24.9%	25.2%	23.9%	1.00
粘质沙雷氏菌 <i>Serratia marcescens</i>	20.7	27.2	31.9	20.1	1.69
结核杆菌 <i>Mb. tuberculosis</i>	19.3	28.2	34.9	17.5	0.58
面包酵母菌 <i>Sacch cerevisiae</i>	31.7	18.3	17.4	32.6	0.80
海胆 <i>Psammechinus miliaris</i> (精虫)	32.6	17.8	17.8	31.9	1.81
海胆 <i>Arbacia lixula</i> (精虫)	32.6	19.1	19.2	30.5	1.61
蝗虫 <i>Locusta migratoria</i>	29.3	20.5	20.7	29.3	1.41
蛙 (精虫)	29.7	20.8	20.4	29.1	1.43
槽白鱼 (精虫)	27.9	19.5	21.5	28.2	1.28
鸽 (红血球)	28.7	22.0	21.3	27.9	1.32
鸡 (红血球)	28.8	20.5	21.5	29.2	1.38

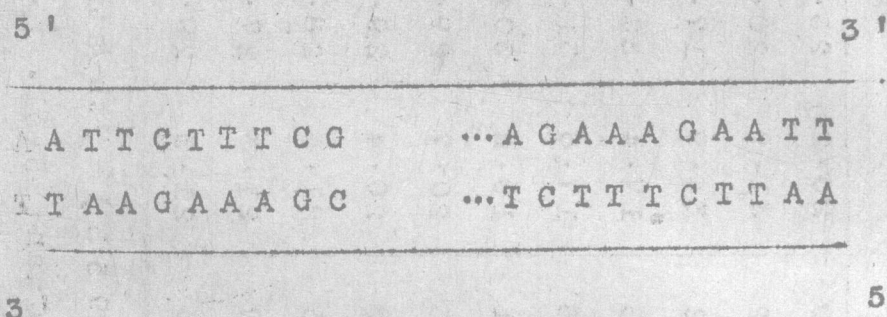
参考文献: Watson, J. D., and Crick, F. H. C. (1953) The structure

of DNA. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 18,

123-131.

所以 Watson-Crick 模型和过去各种实验结果都很符合。最使生物学家高兴的是碱基互补配对原理足以解释基因的复制；多核甾酸链上碱基前后顺序不受限制足以解释基因的极大多样性。基因复制可以这样设想：设原来一个基因，共 207 对核甾酸，如下：

(只写出两端各十对)：



在复制时先是双链拆开，然后附近可得的核甾酸单体一个个按碱基配对原则和原有两条链相配，这样就合成新的链。最后就成为两个基因。

①和②。

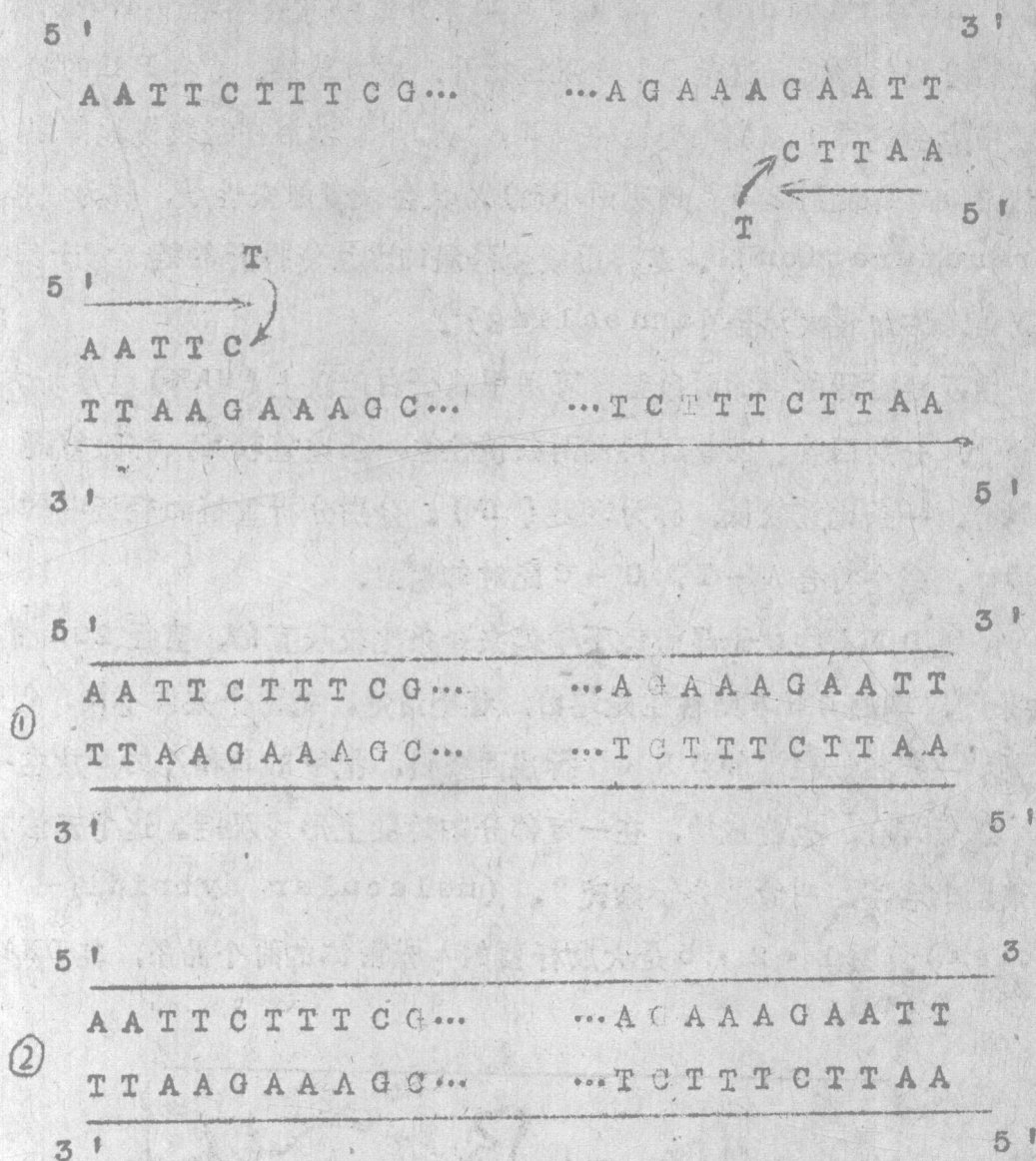


图 1.2.4 DNA 模板复制示意图

原来的链可以说是新链合成的模板 (template)。

DNA 分子靠碱基互补配对形成双链，并能进行模板复制，这些原理为后来的许多实验所完全证实。现在看一些较有兴趣的实验。

在 1960 年的时候，J. Marmur 等发现 DNA 在食盐溶液 (0.15—0.2 M) 中水浴加温到接近 100°C 时，会突然发生变