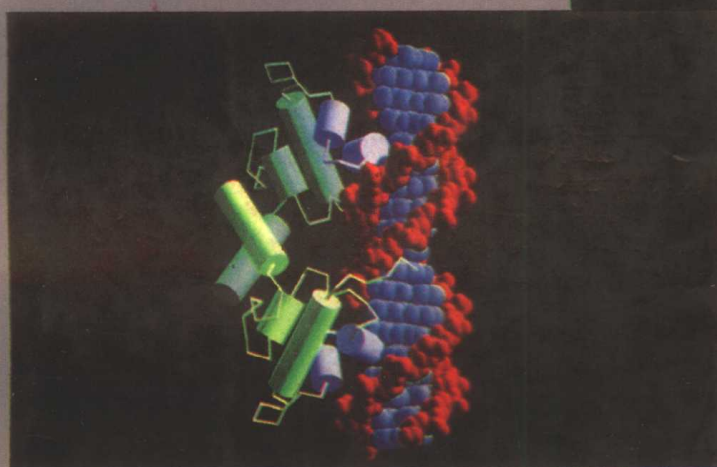


高等学校试用教材

Molecular Genetics

分子遗传学

- 孙乃恩
- 孙东旭 编著
- 朱德煦



南京大学出版社

高等学校试用教材

分子遗传学

孙乃恩 孙东旭 朱德煦 编著

南京大学出版社

1995·南京

(苏)新登字 011 号

内 容 提 要

本书内容丰富、新颖、文字流畅,可读性强,包括 DNA 的结构,基因组和染色体, DNA 复制,修复,突变,转录,翻译,原核调控,真核调控,调控的分子机制,遗传重组,基因工程等12章。每章后附有参考文献(全书共700余篇)。

该书已由国家教委遗传学教材编审组正式审定通过,并推荐为高等院校有关专业作为试用教材。可供综合性大学、师范、农林、医药院校有关专业本科生、研究生及教师使用,对于从事生命科学的研究人员也是一本有益的参考书。

分 子 遗 传 学

孙乃恩 孙东旭 朱德煦 编著

*

南京大学出版社出版

(南京大学校内)

江苏省新华书店发行 丹阳新华印刷厂印刷

*

开本: 787×1092 1/16 印张: 33.25 字数: 826 千

1990 年 8 月第 1 版 1995 年 1 月第 4 次印刷

印数: 5501—9500

ISBN 7-305-00692-0/Q·5

定价: 21.00 元

责任编辑 荣翠琴

序

分子遗传学是在分子水平上研究生物遗传和变异的遗传学分支学科。它经历了近40年的突飞猛进的发展,已成为生命科学的前沿学科之一;它的基本理论已渗透到生命科学的几乎所有领域,促进了一大批新学科和新技术的兴起和发展,令人瞩目。

我国从八十年代开始,许多高等学校相继开设了分子遗传学课程,并积极进行教材建设,编写了一批各有侧重和特色的教材。1988年6月在杭州召开的全国理科遗传学教材评审会议上,大家认为孙乃恩等同志编著的《分子遗传学》内容翔实而系统,反映了当前国际上分子遗传学的新进展,比较适合于我国目前多数学校的教学需要。

该书作者严谨认真,结合自己的教学和科研,阅读了大量的文献资料。他们不断地追踪国际上最新进展,为该书增添新的血液,书中竟引用了1990年的国外新资料。该书注重分子遗传学的基本内容,阐发其基本原理,并以此为中心将收集的资料去粗取精。作者强调生物大分子结构和功能的关系,刻意安排了“遗传的物质基础——DNA”作为第一章。其内容和分量恰到好处,既弥补了一般生物学教科书的不足之处,又不令人望而生畏。全书内容大体上按照遗传信息的传递过程进行安排,顺其自然。最后,以天然的遗传重组和人工遗传重组(基因工程)结束全书,让读者认识到,遗传信息并不是僵硬地和一成不变地排列在各个独立的染色体上,而是处于某种程度的流动状态。这样既扩展了读者对生命起源和进化过程的认识,又概括地向读者展现了人类改造生命与创造新生命的伟大业绩。

该书内容新颖,语言流畅。因此,我很乐意向读者推荐这本好书,希望它能有助于我国分子遗传学教学水平的进一步提高,并对生命科学研究工作者有所裨益。

陈 士 怡

1990年7月2日于杭州

前 言

在我们居住的地球上,有大约 1000 万种生物。有的生物只是一个单细胞,如大肠杆菌和酵母菌;有的则有复杂的器官和组织,包含着大量的具有不同的结构、形态和功能的细胞,像人体就有 10^{14} 个细胞。如果就生物大分子而言,人体有大约 50 000 种以上的蛋白质,同时含有数以万计的核酸及其它大分子种类。地球上的全部生物,估计包含 10^{11} 种蛋白质和差不多相同数量的核酸种类。即使是极为简单的大肠杆菌(其体积约为 $2 \times 10^{-12} \text{cm}^3$),也含有 3 000 多种蛋白质,1 000 多种核酸,还有 1 000 多种其他生物大分子和低分子量的有机化合物。

在这样种类复杂、形态万千的生物体系中,人们必须寻求生命状态的基本逻辑原理,这就是:

(1) 生物大分子虽然具有复杂的结构,但在其组成方面却存在着一种基本的简单性,例如 DNA 由四种脱氧核糖核苷酸聚合而成, RNA 由四种核糖核苷酸聚合而成,蛋白质由 20 余种氨基酸聚合而成,多糖由少数几种单糖聚合而成。

(2) 所有的生物都使用相同种类的构件分子,似乎它们是从一个共同的祖先进化而来。

(3) 每个物种的特性是通过它具有的一套与众不同的核酸和蛋白质而保持的。

(4) 每种生物大分子在细胞中有特定的功能。

以上这些正是生物化学、分子生物学、分子遗传学所要研究的基本问题所遵循的逻辑。

分子遗传学是一门新兴的科学,它可以追溯到 1944 年 Avery 等人的肺炎球菌转化实验;但是突破性的事件乃是 1953 年 Watson 和 Crick 的 DNA 双螺旋结构模型的提出,从而开创了分子生物学和分子遗传学的新纪元。1977 年, Sanger 弄清了噬菌体 $\phi \times 174$ 的全部碱基序列(5 386 个碱基),确立了 DNA 序列分析的新战略和新方法,从而使分子生物学和分子遗传学进入了一个崭新的时代。30 多年来,分子遗传学取得了极其巨大的成就,它已成为生命科学的带头科学之一,有力地促进了生命科学中各分枝学科的发展。在实践方面,分子遗传学促进了基因工程的发展,使得人类能够以更快的速度和更准确的目标进行生物品种的改良,甚至创造新物种,大规模进行生物活性物质的生产。在工业、农业、医药、环境保护等方面,基因工程都已崭露头角,应用范围日益扩大,它正在成为一个有巨大潜力的产业部门。

然而,分子遗传学仍然是一门年轻的学科。一方面,它的发展极为迅速,任何一本教科书都不可能将最新的研究成果毫无遗漏地搜集起来。同时,也正因为其发展迅速,使得人们不得不重新考虑某些原来被公认为是正确的结论。人们对所谓“内含子”和“外显子”的认识就是一个很好的例子。70 年代末刚发现 intron 时,人们普遍认为它是真核基因的“真质标记”(hallmark),是一种不表达成蛋白质的(即内含而不显的)核酸序列,因而中译名把它叫做“内含子”。可是时过不久,人们就发现酵母线粒体细胞色素 b 基因的一个 intron 是编码一种叫做成熟酶(maturase)的蛋白质的,而且这个蛋白质是细胞色素 b mRNA 前体的拼接过程所不可缺少的。关于 exon,通常真核生物基因的首尾两个 exon 也只有一部分序列编码蛋白质;后来又相继发现若干基因的首尾 exon 完全不编码蛋白质的情况(例如人类尿激酶原基因的第二个 exon 的 88 个核苷酸全部不编码蛋白质)。这样,中译名“内含子”和“外显子”都暴露

出其画蛇添足之嫌。1984年,Chu等人发现了T4噬菌体胸腺嘧啶核苷酸合成酶的基因中有一个1017个核苷酸的intron,这就使得intron是真核基因的真质标记之说从此告终。另一方面,人们对许多遗传现象的分子机制仍然不清楚甚至毫无所知;有些正在探索之中,常会有歧义的甚至完全矛盾的说法。在这种情况下,作者尽量采用流行的说法。

本书原稿是作者在南京大学任课所使用的讲义。它经过七年试用并进行三次大的修改,方成该书。在成书过程中,始终得到各方面的鼓励与支持。特别是全国遗传学教材编审组和高等教育出版社组织的杭州遗传学教材会议(1988年7月)通过对该书的评审。会上,以陈士怡教授为首的评委们提出了宝贵的评审意见并很快转达给作者。作者根据这一意见又作了一次修改。1989年11月的杭州遗传学教材会议又督促该书及早问世。高等教育出版社李茂国同志,杭州大学李桃生同志,南京大学出版社责任编辑荣翠琴同志都为本书的问世付出了辛勤的劳动。对于大家的热情帮助和支持,作者均致以衷心的感谢。

本书以David Freifelder的“Molecular Biology”(1983年版), Benjamin Lewin的“Genes”(1985年第二版)和James Watson等人的“Molecular Biology Of The Gene”(1987年第四版)为主要参考书,同时吸取一些国外近年(1986年—1990年初)期刊杂志上发表的研究成果。由于本书按照72学时的要求进行编写,因此免疫遗传学、发育遗传学、细胞分化和癌症发生等重要内容就无法按专题讲授,只在有关章节作蜻蜓点水式的叙述。限于时间和水平,疏漏之处在所难免,欢迎读者批评指正。

作者 1990年3月12日于
南京大学生物化学系

目 录

第一章 遗传的物质基础——DNA	1
第一节 DNA 携带着两类不同的遗传信息	1
第二节 DNA 的一级结构	1
第三节 DNA 的二级结构	3
一、Watson-Crick 右手双螺旋结构	3
二、决定双螺旋结构状态的因素	3
第四节 DNA 物理结构的不均一性	7
一、反向重复序列	7
二、富含 A/T 的序列	7
三、嘌呤和嘧啶的排列顺序对双螺旋结构稳定性的影响	8
第五节 DNA 双螺旋结构的呼吸作用	9
第六节 DNA 的变性、复性、杂交和 Cot 曲线	9
一、变性	10
二、复性	10
三、杂交	11
四、Cot 曲线	11
第七节 DNA 二级结构的多形性	13
第八节 DNA 构象家族	19
第九节 DNA 超螺旋和拓扑异构现象	21
第十节 常见的 DNA 分子形式及其相互关系	27
提要	28
参考文献	29
第二章 有机体、染色体和基因	31
第一节 原核生物和真核生物	31
第二节 基因组大小与 C 值矛盾	32
第三节 原核生物染色体及其基因	33
一、大肠杆菌染色体	33
二、噬菌体	36
第四节 真核生物的染色体	39
一、真核生物 DNA 复性动力学	39
二、真核生物染色体上的单一序列和重复序列以及卫星 DNA	41
三、卫星 DNA 的等级结构及其起源和进化	42
四、染色质和核小体	47
五、着丝点	54
六、端粒	55
第五节 真核生物的基因	56

一、不连续基因	56
二、基因家族与基因簇	59
三、串联重复基因	61
四、细胞器基因	64
第六节 基因定位	67
一、遗传交换定位法	67
二、接合定位法	68
三、染色体步行和染色体跳跃	70
第七节 基因的分子进化	71
第八节 早期生命进化的三界系统理论	75
一、原核生物之间的巨大差异	75
二、基于 16S rRNA 碱基变化的通用系统发生分类法	76
三、内共生作用参与了真核生物的进化	77
提要	79
参考文献	80
第三章 DNA 的复制	84
第一节 DNA 的半保留复制	84
第二节 复制原点、方向和方式	84
第三节 DNA 复制的酶学	88
一、DNA 的聚合反应和聚合酶	88
二、脱氧核苷三磷酸前体的来源	89
三、三种 DNA 聚合酶的结构和功能	89
四、DNA 连接酶	93
五、与 DNA 几何学性质相关的酶	94
第四节 DNA 复制的半不连续性	95
一、DNA 半不连续性复制的发现	95
二、引物和引发酶	97
三、前体片断的连接	98
第五节 DNA 复制机构的复杂性	100
第六节 DNA 复制的起始	101
一、先导链合成的起始(上): 从新起始	101
二、先导链合成的起始(下): 共价延伸	109
三、后随链的前体片断的起始	112
四、由复制体进行先导链和后随链的同时复制	116
第七节 复制的终止	116
一、环形 DNA 复制的终止	116
二、线形 DNA 复制的终止	117
第八节 真核生物的 DNA 复制	120
一、真核生物的复制原点、复制元和复制元族	120
二、真核生物的 DNA 聚合酶和引发酶	120
三、SV40 的大 T 抗原与复制原点	122
四、SV40 以及其他真核生物的 DNA 复制过程	122

五、真核生物染色体末端 DNA 的复制	123
六、真核生物复制过程中的核小体结构	126
第九节 复制的调控	128
提要	131
参考文献	132
第四章 以修复作用为中心的 DNA 的安全保障体系	136
第一节 复制修复	136
一、尿嘧啶糖基酶系统	136
二、错配修复系统	127
第二节 损伤修复	138
一、胸腺嘧啶二聚体的产生	138
二、胸腺嘧啶二聚体修复的生物学指征	139
三、胸腺嘧啶二聚体修复的分子生物学机制	139
四、其他损伤类型及其修复	147
第三节 限制与修饰	150
一、限制-修饰现象	150
二、限制-修饰系统	151
三、限制-修饰系统的生物学意义	157
提要	157
参考文献	157
第五章 突变	159
第一节 概述: 突变定义及其分类	159
第二节 条件型突变	161
第三节 回复突变和抑制突变	162
一、回复突变的鉴定和分类	162
二、基因内抑制突变	162
三、基因间抑制突变	164
四、基因间间接抑制突变	170
第四节 突变剂和突变生成	171
一、碱基类似物在 DNA 复制时的渗入	171
二、DNA 分子上碱基的化学修饰	173
三、嵌合剂的致突变作用	175
四、转座成分的致突变作用	176
五、增变基因	176
六、紫外线的致突变作用	176
七、突变热点	178
第五节 离体定向诱变	178
提要	182
参考文献	182
第六章 转录	184
第一节 概述	184

第二节 RNA 合成的酶学	185
一、RNA 合成的基本特征	185
二、 <i>E. coli</i> RNA 聚合酶	185
三、真核生物的 RNA 聚合酶	187
第三节 控制转录起始的 DNA 序列——操作子和启动子的结构	187
一、操纵元及其结构	187
二、原核生物的启动子结构	188
三、鉴别 RNA 聚合酶等蛋白质在 DNA 上结合位点的方法	192
四、真核生物的启动子	193
第四节 转录的起始和延伸	197
第五节 转录的终止	200
一、终止序列和释放因子	200
二、终止与抗终止及抗终止因子	202
三、真核生物转录的终止	206
第六节 转录后处理(一) 转录产物的修饰——真核生物 mRNA 的帽子和尾巴	207
一、帽子	207
二、多聚(A)尾巴	208
第七节 转录后处理(二) 基因间序列的去除——稳定 RNA 从多基因转录产物中 的分离	210
一、不稳定 RNA 与稳定 RNA	210
二、rRNA 的转录后处理	211
三、tRNA 的转录后处理	214
第八节 转录后处理(三) 内元的去除——RNA 的拼接	216
一、概述	216
二、tRNA 的拼接	217
三、第 I 类内元的拼接	221
四、编码 RNA 成熟酶的内元	228
五、第 II 类内元的拼接	231
六、核基因 mRNA 内元的拼接	233
第九节 转录后处理(四) 不连续转录和反式拼接	236
第十节 逆转录	238
提要	240
参考文献	242
第七章 翻译	247
第一节 tRNA 和遗传密码	248
一、tRNA 的结构	248
二、密码子与反密码子	249
三、副密码子与氨酰基 tRNA 的合成	250
四、tRNA 的丰富度与密码子的使用频率	251
五、密码的通用性, 线粒体密码的特殊性和密码的进化	254
第二节 核糖体——制造蛋白质的工厂	257
一、核糖体的结构	257

二、核糖体的装配	259
三、核糖体突变	260
四、核糖体的活性位点	260
第三节 肽链的合成	262
一、合成的起始	262
二、延伸	265
三、终止和肽链的释放	267
第四节 mRNA 的结构与翻译	269
一、原核生物的多顺反子 mRNA 的翻译	269
二、真核生物核糖体形成位点与双功能 mRNA	269
三、只有最后一个终止密码子的多基因 mRNA 的翻译	270
第五节 蛋白质在细胞内的越膜运输, 定位和翻译后处理	271
一、概述	271
二、细菌中蛋白质的越膜	271
三、真核生物蛋白质的转运、分拣和锚定	271
四、翻译后处理	276
提要	277
参考文献	278
第八章 原核生物基因表达的调控	281
第一节 概述	281
第二节 正调控与负调控	281
第三节 操纵元的原型——乳糖操纵元	283
一、操纵元模型的提出	283
二、乳糖操纵元的调控机理	285
三、阻遏蛋白与操作子的相互作用	286
四、乳糖操纵元的正调控	290
第四节 操纵元的其他调控形式	291
一、具有双启动子的半乳糖操纵元	291
二、阿拉伯糖操纵元: 具有双功能(正控制和负控制)的调节蛋白质	293
三、色氨酸操纵元: 可阻遏系统	296
第五节 基因转录的时序调控	298
一、枯草杆菌中 σ 亚基的更迭	298
二、大肠杆菌热休克基因的表达	301
三、T4 噬菌体生长中 RNA 聚合酶亚基的修饰和 σ 亚基的替换	302
四、T7 噬菌体生长过程中用噬菌体 RNA 聚合酶代替寄主的 RNA 聚合酶	303
五、 λ 噬菌体早期、晚期基因转录以及裂解生长和溶原生长的调控	306
第六节 基因转录的翻译调控——衰减子系统	310
一、概述	310
二、衰减子的作用机制	310
三、衰减子的普遍性及其生物学意义	313
四、负责核苷酸合成的基因的衰减子	314
第七节 翻译水平的调控	316

一、反义 RNA 的调控作用	316
二、mRNA 本身的二级结构影响翻译的进行	317
三、mRNA 的寿命对基因表达的调控	319
四、蛋白质合成的自体调控	321
五、严谨反应	325
第八节 DNA 序列重排对基因转录的调控	326
提要	328
参考文献	329
第九章 真核生物基因表达的调控	332
第一节 概述	332
一、真核生物基因调控的特点	332
二、活跃表达基因的数目	332
三、基因表达的不同水平, 丰富 mRNA 和稀少 mRNA	333
四、持家基因和奢侈基因	335
五、胚胎分化过程中有可能存在着相对简单的分子开关	336
第二节 DNA 水平的调控	337
一、基因丢失	337
二、基因扩增	338
三、基因重排	339
第三节 活跃转录基因的染色质结构	341
一、转录基因的核小体结构	341
二、DNA 酶 I 优先敏感性和 HMG 蛋白质	342
三、DNA 酶 I 超敏感点	343
四、组蛋白的修饰作用	345
五、DNA 的甲基化和去甲基化	346
第四节 转录水平的调控	348
一、Britten-Davidson 模型	348
二、基因调控的顺式作用成分	350
三、基因调控的反式作用因子	354
四、真核基因转录调控的机制	356
第五节 rRNA 基因的转录: 先终止还是先起始?	359
第六节 意外的意外, RNA 聚合酶 III 启动子的多形性和三种 RNA 聚合酶及其启动子的 共通性	360
第七节 真核生物中转录的翻译控制	361
第八节 转录后水平的调控	363
一、hnRNA 的选择性加工运输	363
二、mRNA 前体的选择性拼接	364
第九节 翻译水平的调控	368
一、mRNA 的稳定性	368
二、mRNA 翻译起始的调控	369
三、真核生物蛋白质合成的自体调控	370

提要	371
参考文献	372
第十章 基因表达调控的分子机制	377
第一节 概述	377
第二节 两类遗传信息的差异	377
第三节 调节蛋白质的对称性与其识别序列的对称性	379
第四节 λ 噬菌体的阻遏蛋白和 Cro 蛋白所组成的转录开关系统	380
第五节 调控蛋白质的结构花式及其与 DNA 相互作用的细微机制	386
一、概述	386
二、 α 螺旋—转角— α 螺旋	387
三、锌指结构	394
四、Leu 拉链	395
第六节 不同结合位点上的蛋白质之间的相互作用	396
一、蛋白质相互作用的方式	396
二、蛋白质相互作用的复杂性和正、负调控作用的相对性	398
第七节 RNA 开关系统	400
提要	401
参考文献	402
第十一章 遗传重组	404
第一节 概述	404
第二节 同源重组的分子机制	405
一、断裂—复合及 Holliday 中间体的形成	405
二、Holliday 中间体的拆分	408
三、异源双链与基因转换	411
四、细菌转化、接合和转导的重组机制	413
第三节 同源重组的酶学机制——RecA 蛋白质和 RecBCD 蛋白质在同源重组中的作用	415
一、RecA 蛋白质在联会和链交换中的作用	415
二、RecA 蛋白质和 Holliday 中间体的形成	419
三、RecBCD 在同源重组中的作用和重组热点	420
四、拆分 Holliday 中间体的酶活性	423
五、RecF 途径	423
第四节 依赖于同源重组的位点特异性的序列代换——酵母 MAT 序列的转接	424
第五节 位点特异性重组	424
一、 λ 噬菌体 DNA 的整合与切除	424
二、 λ 噬菌体整合的分子机制	427
第六节 细菌中的转座成分	429
一、转座成分概述	429
二、插入序列	430
三、复合转座元	431
四、Tn10 和 Tn5 的末端组件与转座的调节	434

五、转座的机制	436
六、Tn3 及其转座作用	438
七、作为转座成分的 Mu 噬菌体	441
八、沙门氏菌鞭毛相变中的转座机制	443
第七节 真核生物中的转座成分(一) 真核生物转座成分的分类及其典型代表	443
一、真核生物中的转座成分及其分类	443
二、酵母的 Ty 成分	445
三、果蝇的 copia 等转座成分	446
四、玉米的转座成分	449
第八节 真核生物中的转座成分(二) 还原病毒	450
一、通过 DNA 中间体复制其基因组 RNA	450
二、还原病毒的基因组结构	451
三、还原病毒基因组 RNA 到原病毒 DNA 的转变过程	451
四、原病毒的基因表达	456
五、还原病毒的癌基因及其起源	456
六、还原病毒和转座元的关系	459
第九节 真核生物中的转座成分(三) 非病毒返座元	460
一、概述	460
二、RNA 聚合酶 II 转录产物的返座假基因和返座基因	461
三、RNA 聚合酶 III 转录产物的返座元	461
四、关于返座的机制	463
提要	464
参考文献	466
第十二章 基因工程导论	469
一、概述	469
二、限制性内切酶对 DNA 分子的专一性切割	469
三、载体: 克隆载体, 穿梭载体和表达载体	471
四、基因组克隆和 cDNA 克隆	475
五、核苷酸链的杂交反应提供了检测特定核苷酸片断的灵敏方法	478
六、用 DNA 重组技术大量制造细胞中的微量蛋白质	479
七、植物的基因工程	480
八、基因工程工业	482
九、结束语	486
参考文献	486
附录: 涵义和译名有所变化的部份分子遗传学术语	488
索引	493

第一章 遗传的物质基础——DNA

第一节 DNA 携带着两类不同的遗传信息^{1,2}

除了少数的 RNA 病毒之外, DNA 几乎是所有生物遗传信息的携带者。DNA 分子携带着两类不同的遗传信息。一类是负责蛋白质氨基酸组成的信息, 是以众所周知的三联体密码子方式进行编码的。在 64 个三联体密码子中除了三个终止密码子外, 其余 61 个密码子代表了 20 种不同的氨基酸, 因而大多数氨基酸都有一种以上的密码子, 这就是所谓密码子的简并性。几乎所有的生物都使用相同的密码子。这就是所谓密码子的通用性。后来发现, 线粒体的密码子与核基因的密码子不同, 这可能与线粒体的蛋白质合成机器有关。人们还发现, 密码子的碱基组成与氨基酸的侧链性质有一定的相关性。近年来人们又发现了硒半胱氨酸的密码子以及密码子进化方面的规律。此外, 人们还发现了决定 tRNA 本质的副密码子(paracodon)。

DNA 分子上所携带的另一类遗传信息是关于基因选择性表达的信息。我们知道, 在原核生物中, 结构基因占基因组的比例很大。特别是在亚细胞生命体噬菌体中, 这一比例就更高。例如 $\phi \times 174$ 噬菌体共有碱基 5 386 个, 结构基因用去 5 169 个, 这个比例高达 96%。然而, 在高等哺乳动物中, 这一比例只有大约 10~15%。人们不禁要问: 其余占基因组 80% 以上的 DNA 起什么作用? 目前对这个问题还无法作出精确解释; 但可以肯定的一点是, 基因组中大部分 DNA 序列是用来编码基因选择性表达的遗传信息的。这种选择性表现在, 细胞周期的不同时期中, 个体发育的不同阶段中, 不同的器官和组织中, 在不同的外界环境下, 各种基因是关闭还是表达, 表达量是多少, 都是各不相同的。用来编码基因选择性表达的遗传信息的这一部分 DNA 序列并不是单独发挥其调控作用的, 在这一点上它与结构基因 DNA 序列是相类似的。然而, 二者还是有差别的。结构基因的转录和翻译, 都是强烈地依赖于转录酶系和一套蛋白质合成机构, 而核酸序列本身的差异只是提供了这些酶和蛋白质识别的基础。而对于调控 DNA 序列来说, 除了上面作用之外, 可能还会主动修饰自己的双螺旋空间结构。说得更确切些, 调控 DNA 序列能与调控蛋白质相互作用而修饰自己的双螺旋空间结构, 以便更好地为调控蛋白质所识别。美国 E. W. Prohofsky 借助于固体物理学技术, 非常成功地预言了 DNA 的大频率跨度(从无线电波到红外)的电磁波谱的振动模。与生物学和基因表达有关的大部分信息存在于长程力所引起的低频振动, 使得 DNA 的各部分序列之间能进行长距离的对话, 从一端可以了解另一端发生了什么情况。

第二节 DNA 的一级结构^{3,4}

DNA 从结构上来说是由脱氧核糖核苷单磷酸通过 3', 5' 磷酸二酯键连接而成的高聚物。从同一个磷酸基的 3' 酯键到 5' 酯键的方向定为链的方向。在大多数天然 DNA 分子长链的两端, 总是有一个核糖带有自由的 5'-磷酸, 而另一端的核糖带有自由的 3'-羟基, 前者称为 5' 端, 后者称为 3' 端。DNA 链的方向就是从 5' 端到 3' 端。习惯写法中, 如 pApCpApGpT, 左边总

是 5' 端, 右边是 3' 端, OH 一般省略不写, 这已成常规。

DNA 分子一级结构中的显著特点, 顾名思义, 就是脱氧核糖了。也就是核糖的 2' 位上没有自由羟基, 这也就是 DNA 这一主要遗传物质极其稳定的根本原因。特别是对于碱的抵抗力, 在 pH11.5 时, DNA 链的一级结构几乎没有任何变化, 而 RNA 链在几分钟内降解为 2'-单磷酸核苷和 3'-单磷酸核苷。RNA 碱水解先生成一个 2', 3' 环式单核苷酸中间产物, 由于是一个五员环, 稳定性较差, 很快转变成 2' 单核苷酸和 3' 单核苷酸, 见图 1-1。

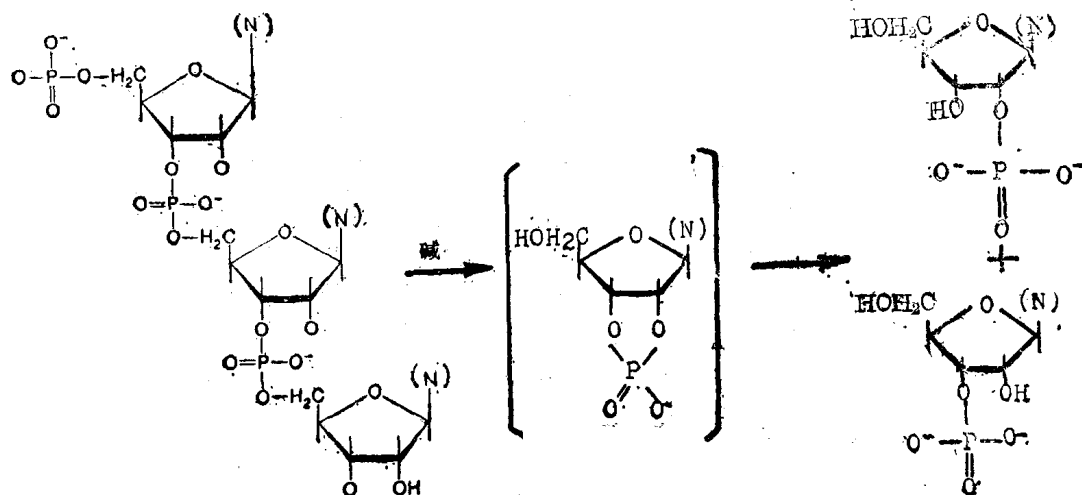


图 1-1 RNA 由于含有 2'-OH, 很容易被碱水解

DNA 一级结构的测定即 DNA 的序列分析工作在近十多年中进展迅速, Sanger 在这方面作出了最为杰出的贡献。众所周知, Sanger 于 60 年代初利用小片段重迭法首次测定了一个生物大分子胰岛素的 51 个氨基酸序列。此后不少人使用小片段重迭法测定 DNA 和 RNA 的核苷酸序列, 结果只测定出若干小分子的 RNA (如 tRNA^{Ala}); 而 DNA 序列分析仍然步履艰难。因为 DNA 分子巨大, 而组成这种巨大分子的单体又只有四种, 因此从战略上来说, 用小片段重迭法去进行 DNA 的序列分析是不恰当的。1975 年, Sanger 提出了新的战略, 也就是用测定 DNA 片段的相对长度来推断核苷酸顺序的方法。在 8~20% 的聚丙烯酰胺凝胶上电泳 40 厘米左右, 即可区分一个核苷酸之差的 10~160 个核苷酸的各种大小的片段。每一种片段含量很低, 必须用 ³²P 进行标记, 通过放射自显影才能得到清晰的图象。这就是所谓“凝胶直读法”, 即以凝胶电泳为主要手段, 从放射自显影的 X-光胶片上直接读出核苷酸序列。凝胶直读法又可分为两类: 一类是酶法, Sanger 于 1975 年设计的“加减法”以及他们于 1977 年所改进的“末端终止法”(即“双脱氧法”)都是酶法。这种方法要求有单链 DNA 模板和与之互补的一段引物, 然后以 DNA 聚合酶 I 进行互补链的合成。因此从凝胶电泳的放射自显影 X-胶片上读出的序列是互补链的序列。这种方法又称为间接拷贝法 (indirect copying methods)。其中双脱氧法操作简便、迅速, 已成为 DNA 序列分析的首选方法。另一类是化学法, 即 1977 年 Maxam 和 Gilbert 所设计的化学断裂法, 针对四种核苷酸使用不同的链断裂方法。这种方法也简便、精确, 对于较短的 DNA 片段分析起来比双脱氧法快得多, 因此目前也被广泛采用。根据 Sanger 提出的战略, 人们还发展了许多测定 RNA 序列的方法。对于序列分析的具体方法, 本书不能作详细介绍, 请读者参阅有关文献。

DNA 一级结构的重要意义不仅在于它蕴藏了遗传信息 (以密码子的方式), 而且还决定