

卫生部规划教材
研究生教材
供医药类各专业用

医学分子生物学

来茂德 主编

人民卫生出版社

图书馆

研 究 生 教 材

供医药类专业用

医学分子生物学

来茂德 主编

编 者 (按姓氏笔画排序)

于秀平 (山东医科大学)

方伟岗 (北京医科大学)

朱 迅 (白求恩医科大学)

来茂德 (浙江医科大学)

吴南屏 (浙江医科大学)

陈 智 (浙江医科大学)

罗建红 (浙江医科大学)

傅松彦 (温州医科大学)

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

医学分子生物学/来茂德主编. —北京: 人民卫生出版社, 1999

ISBN 7-117-03284-7

I. 医… II. 来… III. 医药学: 分子生物学 N. R3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 17928 号

医学分子生物学

来茂德 主编

人民卫生出版社出版发行
(100078北京市丰台区方庄芳群园3区3号楼)

三河市潮河印刷厂印刷
新华书店经销

787×1092 16开本 22.5印张 520千字
1999年9月第1版 1999年9月第1版第1次印刷
印数:00 001—4 000

ISBN 7-117-03284-7/R·3285 定价:25.00元

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

版权所有,请勿擅自用本书制作各类出版物,违者必究。

前 言

从分子水平认识生命现象是本世纪生物科学最重要的研究成就。分子生物学是一个发展迅速，影响面宽的生命科学中的主流学科，已渗透到多个领域。近年来，分子生物学在医学上的研究和应用发展很快，就我国而言，与国外的差距逐渐缩小。分子生物学理论与技术已从基础研究渗透到临床，部分技术已在临床实践中得到应用，对推动临床诊断和治疗水平的提高起了积极的作用。但是基础研究与临床医学的结合问题还没有很好解决，其主要原因是分子生物学的教学没有及时跟上。目前国内高校非常重视分子生物学的教学，在各专业研究生教学中大多开设了分子生物学课程，作为有关专业的选修课或必修课。在研究生论文工作中有不少涉及分子生物学内容。有的院校还在本科生和临床医师继续教育项目中开设了选修课。尽管信息时代为我们获取信息提供了各种便捷的条件，但一本比较系统和理想的教科书对学生从庞大的知识体系中掌握基本的分子生物学知识和概念是有益的。基于此并在卫生部教材办公室的支持下，我们编写了这本教材。目的是引导医学生步入医学分子生物学的殿堂。

本书编写的基点是作为研究生用教材。因此我们在编写时在保证严谨的科学性和最新成就的基础上，兼顾研究生用和教材编写两个方面的要求，重点突出：①“医”，在内容取舍上着眼于医学相关的内容，对普通分子生物学内容和方法，如生物大分子，实验技术等不再述及；②“精”，在写作上尽量精练，精选近年广受重视的内容，不面面俱到；③“新”，力求介绍最新研究成果和进展，以便适合于研究生学习；④“导”，在每章开头有内容提要，章末列出进一步阅读文献和一些需要学生查阅文献后能回答和讨论的思考题，以引导学生去探索。

编写研究生用教材是一种探索，尽管编者在各自的编写领域内已经或正在进行一些研究工作，但正如上述，分子生物学研究十分活跃，进展神速。因此在内容上会有疏漏，并且有些观点在读者使用该书时会发现不很正确，甚或是错误的。本书的某些欠缺或失当之处敬请使用该书的教师和学生加以指正。科学的进展就是一个不断修正，不断前进的过程，我们希望在以后再版中能根据科学的发展加以完善。

来茂德

1998年12月于杭州浙江大学
医学院（原浙江医科大学）

目 录

第一章 引言	1
一、医学分子生物学的概念和定义	1
二、分子生物学的发展史	2
三、近十余年的主要进展	5
四、未来的医学是分子生物学	9
第二章 DNA 结构和功能	10
第一节 DNA、RNA 和多肽	10
第二节 DNA 的结构和复制	12
一、DNA 的结构	12
二、DNA 复制	14
第三节 RNA 转录与基因表达	16
一、遗传信息的传递路径	16
二、基因的转录	17
三、顺式作用元件和反式作用转录因子在真核基因转录中的相互作用	19
四、组织特异性基因表达	20
五、CpG 岛的甲基化和转录活性	21
第四节 转录后 RNA 的加工	22
一、RNA 剪接	22
二、RNA 剪接后加工	24
第五节 翻译、翻译后加工及蛋白质的结构	25
一、翻译	25
二、翻译后修饰	28
三、蛋白质的分泌及向特定核内部位运输	30
四、向内质网和胞外运输的信号	30
五、其他信号	30
六、核定位信号	30
七、蛋白质结构的复杂性和多变性	31
第六节 基因突变和修复	33
一、基因突变	33
二、突变的修复	35
第三章 细胞分子生物学	40
第一节 细胞周期及其调控	40
一、细胞周期	40
二、细胞周期的调控	41
第二节 癌基因与抗癌基因	54
一、癌基因的概念	55

二、癌基因蛋白的生物学功能	56
三、原癌基因活化与癌	59
四、抗癌基因	62
五、癌基因的协同作用和肿瘤发生的多步骤性质	65
第三节 细胞信号转导系统	66
一、环核苷酸类信号转导系统	66
二、钙和钙调蛋白系统	68
三、磷酸肌醇信号转导系统	69
四、酪氨酸蛋白激酶信号转导系统	70
第四节 细胞凋亡	76
一、细胞凋亡的概念和特征	76
二、细胞凋亡的形成机理	77
三、细胞凋亡的调控机理	78
四、细胞凋亡的生物学意义	82
第五节 人类端粒和端粒酶	83
一、端粒	84
二、端粒酶	85
三、“端粒-端粒酶”假说	87
四、端粒、端粒酶与肿瘤	89
五、端粒酶与肿瘤治疗	90
第四章 疾病基因的识别和克隆	94
第一节 基因克隆原理	94
一、基于细胞的 DNA 克隆	95
二、基于聚合酶链式反应的 DNA 克隆	107
第二节 人类基因组组织结构特点	109
一、人类基因组	109
二、人类基因的组织特点	110
三、人类基因组的多基因家族和重复顺序 DNA	112
第三节 人类基因组计划	118
一、人类基因组计划的历史、组织和目标	118
二、人类遗传图谱	120
三、人类基因组的物理图谱	126
四、模式生物的基因组图谱和人类基因组多样性计划	135
五、人类基因组计划数据的储存和进入方法	137
六、关于人类基因组计划的利弊讨论	137
第四节 疾病相关基因的识别和克隆	138
一、疾病基因识别的原理和策略	140
二、功能克隆法	141
三、定位克隆法	142
四、候选基因法	142
五、突变筛选以确定候选基因	144
第五章 免疫分子生物学	147

第一节 细胞因子及其受体	148
一、细胞因子研究概况及分类	148
二、细胞因子的生物学效应及特性	153
三、 T_H 细胞活化与细胞因子基因表达	157
四、细胞因子受体	159
第二节 免疫球蛋白与免疫球蛋白超家族	163
一、免疫球蛋白的多基因组成	163
二、Ig 可变区的基因重排及机制	165
三、Ig 基因转录与调控	173
四、工程化抗体的制备	176
五、免疫球蛋白超家族	182
第三节 免疫细胞表面分子	185
一、白细胞分化抗原	186
二、主要组织相容性复合体	188
三、T 细胞受体	194
四、B 细胞抗原受体	201
第六章 肿瘤分子生物学	206
第一节 肿瘤与遗传	206
一、遗传性肿瘤综合征	206
二、遗传性乳腺癌	208
三、遗传性大肠癌	209
第二节 多步骤致癌的分子机理	213
一、多步骤致癌模型的提出及其机理	213
二、“看门人”及“看管人”基因假说	214
三、间质缺陷继发上皮恶变	215
第三节 肿瘤侵袭转移的分子机理	215
一、概论	215
二、肿瘤细胞侵袭转移的调节基因	216
三、细胞粘附分子与肿瘤侵袭转移	218
四、细胞外基质降解与肿瘤侵袭转移	220
五、细胞的运动能力与肿瘤侵袭转移	222
六、肿瘤血管生成在侵袭转移中的意义	223
七、肿瘤侵袭转移中细胞信号传导机制的改变	224
第七章 病毒分子生物学	227
第一节 病毒分子生物学概况	228
一、病毒的基因结构及功能	228
二、病毒感染的分子机理	230
三、病毒感染的诊断	233
四、抗病毒治疗	235
五、病毒疫苗	236
六、动物病毒载体	238
第二节 肝炎病毒	239

一、甲型肝炎病毒	240
二、乙型肝炎病毒	242
三、丙型肝炎病毒	247
四、丁型肝炎病毒	250
五、戊型肝炎病毒	251
六、庚型肝炎病毒	252
第三节 人类免疫缺陷病毒	253
一、HIV 感染的流行病学	254
二、HIV 生物学特性	256
三、HIV 基因组结构和功能	256
四、HIV 的致病机理	259
五、疫苗防治艾滋病的复杂性和展望	261
六、艾滋病的治疗	262
第八章 分子神经生物学	266
第一节 神经元信号传导概述	266
一、神经元之间的联系方式	266
二、神经元膜的基本结构和功能	268
三、神经元的电信号传导	269
四、神经元的化学传导	270
第二节 介导神经元信号传导的受体和通道	273
一、离子通道的概念和研究方法	273
二、电压门控性离子通道	275
三、递质门控性离子通道	281
四、第二信使门控的离子通道	287
五、G 蛋白偶联受体	291
第三节 神经递质与调制	293
一、神经递质与调制的概念	293
二、递质的共存及其意义	294
三、作为特殊化学信使的一氧化氮	294
四、递质的合成与储存	295
五、递质的释放过程	296
六、递质释放的调节	297
第九章 基因诊断	299
第一节 基因诊断的原理和主要技术	299
一、基因诊断的定义	299
二、基因诊断的主要技术	299
三、基因诊断的优点	305
第二节 基因诊断在遗传病和产前诊断中的应用	306
一、基因诊断在遗传病中的应用	306
二、基因诊断在遗传病的产前诊断中的应用	309
第三节 基因诊断在法医学中的应用	310
一、DNA 指纹在法医学中的应用	310

二、PCR 在法医学中的应用	311
第四节 基因诊断在感染性疾病中的应用	312
一、病毒	312
二、细菌	314
三、螺旋体	316
四、支原体	317
五、衣原体	317
六、寄生虫	318
第五节 基因诊断在肿瘤学中的应用	319
一、肿瘤染色体易位及融合基因的检测	320
二、癌基因和抗癌基因的检测	323
三、肿瘤相关病毒的检测	324
四、肿瘤细胞多药耐药基因的检测	325
五、微卫星不稳定性的检测	325
六、端粒酶活性检测	326
第十章 基因治疗	328
第一节 基因治疗的概念	328
一、基因治疗的基本概念	328
二、基因治疗的基本条件	328
三、基因治疗的基本步骤	329
四、基因治疗的疗效考核和安全性	330
第二节 目的基因的获得	330
一、DNA 的化学合成	330
二、基因克隆	331
三、PCR 法扩增目的基因	331
第三节 靶细胞的选择	331
一、选择靶细胞的条件	332
二、常用的靶细胞	332
第四节 基因转移方法	334
一、基因转移的物理学方法	334
二、基因转移的化学方法	334
三、融合法	335
四、颗粒轰击技术	335
五、病毒载体基因转移技术	336
第五节 基因治疗的临床实践	342
一、遗传性疾病的基因治疗	342
二、肿瘤的基因治疗	343
三、抗病毒基因治疗	346

第一章 引言

生命的进化经历了元素和简单化合物的形成，而后形成有机物。在此基础上进一步聚合演变为生物大分子 (macromolecule)。膜的出现形成原始细胞。原始细胞分裂与分化形成了原核细胞 (prokaryocyte)，原核细胞进一步发展到真核细胞 (eukaryocyte)。从单细胞生物发展成多细胞机体，在此过程中细胞分化形成具有特定功能的器官和系统。生命现象的物质基础是生物大分子 (蛋白质、核酸、多糖和脂类)，所有生物功能都依赖于生物大分子在分子水平上有序的活动。对这些活动的深入研究将加深对某些生物学问题包括疾病的认识。

20 世纪生物学的特征之一是进入到分子水平。分子生物学 (molecular biology) 是当今生物学发展的主流。它的发展带动了生物学的全面发展，并且为农业、工业、医学及国防方面的研究开辟了广阔的应用前景。人类历史的发展主要由技术的进步来推动。冶金和改进的农业使文明脱离了石器时代。19 世纪的工业革命使得非凡的机器问世，也使城市不断得以延伸。20 世纪，物理学成了皇帝。物理学家们打破了原子，探究了奇异的相对论和量子论世界，并驾驭了小硅片的能力。沿着这条道路，他们以原子弹、晶体管、激光器和微芯片改变了世界。未来如何？人们确信生命科学的发展将改变整个世界。1996 年诺贝尔化学奖得主罗伯特·柯特认为“本世纪曾是物理学和化学的世纪，显然，下个世纪将是生物学的世纪”。1997 年“多利”羊的诞生标志着生物学的世纪已提前来到。生命科学已发展到能将个体的一个细胞变成动物个体，从而使生物学发展面临一个新的阶段。说明生物技术已从原来的科学设想逐步变成现实。

分子生物学在医学各个领域中的渗透使医学科学进入分子水平。相信医学分子生物学的发展最终将解决诸多的重大医学问题，如人脑机理、生育控制、肿瘤防治、器官移植、免疫调节、新药开发等。为适应下世纪科学发展的需要，医学生必须掌握分子生物学的基本知识和基本技能。为此，加强医学分子生物学教学的发展已刻不容缓。这也是编写本书的目的。

一、医学分子生物学的概念和定义

分子生物学是在分子水平上研究生物的结构、组织和功能的科学。广义而言，分子生物学主要包括分子生物学技术、分子生物学技术的应用及应用这些技术研究所取得的理论成就等方面。从生物学发展趋势看，未来生物学的挑战之一，仍旧是解决结构和功能的问题。可以预料结构分子生物学 (structural molecular biology) 将担负起作为分子生物学核心学科的重任。结构分子生物学是以生物大分子的特定空间结构及结构的特定运动与其生物学的关系为基础来阐明生命现象的科学。狭义地讲，分子生物学的范畴侧重于核酸 (或基因) 的分子生物学，主要研究基因或 DNA 的复制、转录、翻译和调控等过程，同时也涉及与这些过程有关的蛋白质、酶的结构和功能的研究。医学分子生物学是应用分子生物学技术和理论来阐明人体正常生理活动和病理过程及其调控的分子机

理。本书基本采用狭义的概念对医学分子生物学的基本原理进行阐述，未及部分请参阅其他有关著作。

生物系统大致可分为分子、细胞、组织、器官、系统、个体、种群、群落、生态和生物圈等十个层次。因此它是一个极其复杂的网络系统。在一个层次上是不可能把生物过程完全搞清楚，需要有不同的研究。所以应该特别强调在重视分子生物学研究的同时，决不能忽视其他层次的研究。也不能认为唯分子生物学研究是高层次，而其他层次的研究是低层次。分子生物学的发展有赖于其他学科的协调发展。离开了生物系统的层次关系，我们就很难深刻认识任何一种生物和生命现象。

二、分子生物学的发展史

(一) DNA 是遗传物质

19 世纪后半叶进化论(C. Darwin 和 A. Wallace, 1859)和细胞理论(T. Schwann 1839 和 M.J. Schleiden 1838)的创立使生物学从纯观察的时代进入实验科学阶段。随着人们对上述理论的接受和科学发展的需要，生物化学(biochemistry)和遗传学(genetics)随之诞生。到 1900 年大部分氨基酸已分离纯化(16/20)，与此同时 E. Fischer (1900) 提出两相邻氨基酸通过肽键相连的概念。

1865 年遗传学之父 G. Mendel (1822~1884) 根据豌豆杂交试验结果，创立了遗传因子学说，即遗传的分离律和自由组合律。该工作在沉睡了 35 年之久以后，到 1900 年才发现，将其应用于人类。1903 年 W. Sutton 提出染色体是 Mendel 遗传单位的载体的概念。1909 年 W. Johannsen 将这种在染色体上的 Mendel 遗传单位定名为基因(gene)，gene 一词一直沿用至今，但其科学内涵已发生了深刻的变化。

1905 年 W.E. Castle 用果蝇(*Drosophila*)进行遗传学实验(此前大多数实验是在植物中进行的)。1910 年左右现代实验遗传学的奠基人 T.H. Morgan (1866~1945) 及其学生研究果蝇的遗传规律，认为基因在染色体上是规律性线性排列。发现基因呈连锁现象(连锁律)，但连锁不是绝对的，在生殖细胞形成过程中，同源染色体之间有时可交换一个片段，使连锁基因发生重新组合(交换律)。1931 年 B. McClintock 观察到染色体可发生断裂，并在重组时再结合现象。从而提供了连锁基因重组的形态学证据。

1941 年 G.H. Beadle 和 E.L. Tatum 以普通的链孢霉菌(*Neurospora crassa*)为模型研究了各种突变及有关的代谢缺陷，研究结果提出了“一个基因对应一个酶”的概念。以后的研究表明，非酶蛋白质也是由基因所决定的。现在认为一个基因决定一个特定的多肽链的结构。当然应该承认，并不是所有的基因都能决定一个多肽的结构。40 年代中期 J. Lederberg 在受到霉菌可用于遗传学研究的启示，应用细菌(*E. Coli*)研究遗传规律，发现基因可以从一个细菌转移到另一个细菌。他的细菌遗传研究系统的建立为以后了解基因的化学性质提供了最简单的模型。

遗传物质是什么？一直困扰着人们。40 年代 O.T. Avery 等学者的细菌转化实验证明 DNA 是遗传物质。1928 年 F. Griffith 发现肺炎球菌的无毒菌株与死的有毒菌株的 DNA 混合，即变成有毒的致病菌株。1944 年，O.T. Avery, C.M. McLeod, M. McCarty 以及后来的 R.D. Hotchkiss, S. Zamenhof 等对有毒的肺炎球菌的死细胞进行分级分离实验。野生型的肺炎球菌具有荚膜、致病力强，而自发突变的变异株无荚膜、毒力弱，不引起肺

炎。实验将野生型的提取物加到变异株中，能使变异株转变为毒力强的野生型肺炎球菌而致病。用 DNA 酶处理可取消这种作用，而其他蛋白酶则无此作用。上述实验充分证明遗传物质是 DNA。1952 年 A. Hershey 和 M. Chase 对噬菌体的研究进一步证明 DNA 是遗传物质。他们用 ^{32}P 和 ^{35}S 分别标记噬菌体的 DNA 和蛋白质（因 DNA 只含磷而不含硫，但蛋白质却含硫而几乎不含磷），并将其加在大肠杆菌上结果只有 ^{32}P DNA 被摄入而噬菌体扩增。 ^{35}S 蛋白质没有摄入，与复制无关。以后 Fraenkle-Conrat 对烟草花叶病毒（TMV）的研究指出该病毒的遗传物质是 RNA。TMV 是由蛋白质和核酸所组成，在其蛋白质中既有缺少组氨酸和蛋氨酸的系统（称为 A），又有含组氨酸和蛋氨酸的系统（称为 B），分别从 A 和 B 中摄取蛋白质和 RNA，再将 B 的 RNA 和 A 的蛋白质组成重组病毒。将这种重组病毒插入烟草中发现只有 B 系统的病毒增殖。

通过上述实验证实 DNA 和 RNA 都是遗传物质。RNA 作为遗传物质仅存在于基因组小、结构简单的 RNA 生物中，如 RNA 病毒。其他的生物遗传物质全都是 DNA。蛋白质因其缺乏遗传表面，而且遗传嗅觉不灵敏，不能作为遗传物质，早已成为定论，但朊病毒（prion）的发现和其致病作用的肯定使该问题出现一片疑云。

（二）分子生物学的创立

分子生物学这一术语的来源要追溯到 1950 年 Astbury 在 Harvey 演讲中的用语。但正如前述，人类从分子水平研究生命要比 Astbury 应用这一术语早得多。1953 年 J.D. Watson 和 F.H.C. Crick 对 DNA 双螺旋模型的提出标志着分子生物学的创立。自此分子生物学进入了快速发展的道路。DNA 双螺旋模型已经预示出 DNA 复制的规则。A. Kornberg 于 1956 年在大肠杆菌（*E. Coli*）的无细胞提取液中实现了 DNA 合成。他从 *E. Coli* 中分离出 DNA 聚合酶 I（DNA polymerase I），能使 4 种 dNTP（dATP、dGTP、dCTP 和 dTTP）连接成 DNA。DNA 的复制需要以一个 DNA 作为模板。1958 年 M. Meselson 和 F.W. Stahl 用精彩的实验证明，DNA 复制时 DNA 分子的两条链先行分开。他们用 ^{15}N 重同位素及密度梯度超速离心证明 DNA 复制是一种半保留复制。

DNA 分子怎样指导蛋白质分子正确地排定氨基酸顺序呢？1954 年物理学家 G. Gamow 推测了遗传密码的本质，认为遗传信息是由 DNA 分子以含氮碱基非重叠三联体密码来携带的。1961 年 F.H.C. Crick 及其同事 T. 噬菌体的实验确认遗传信息是以非重叠的碱基三联体线性顺序形式存在的，三联体之间不存在间隔物。M.W. Nirenberg 和 J.H. Matthaei（1961）以及 H.G. Khorana, M.W. Nirenberg 和 S. Ochoa 以后（~1966）的工作最终破译了遗传密码。他们在 64 种可能组成的三联体中发现了约 50 种三联体的含意。

蛋白质合成是分子生物学的重要课题，它的研究经历了很长的过程。早在 1953 年 P. Zamecnik 及其同事就开始在无细胞系统中利用放射性同位素标记的氨基酸研究蛋白质合成过程，发现蛋白质的合成场所为核糖体（ribosome）。他们还证明蛋白质的合成还需要 ATP 作为肽链形成的能源。氨基酸掺入蛋白质之前首先要与转移 RNA（tRNA）结合，它是由氨基酰合成酶催化的。1960 年以后利用 T_2 噬菌体感染 *E. Coli* 作为系统，噬菌体侵染细菌后，寄主的 RNA 合成被中止，只有 T_2 DNA 被转录成 T_2 RNA。令人惊奇的是 T_2 RNA 携带 DNA 的碱基组成与 T_2 DNA 非常相似，但它并不与 rRNA 结合形成核糖体。后来这种 RNA 携带 DNA 的信息转移到核糖体上合成蛋白质，故称为信使 RNA

(mRNA)。继 mRNA 被发现之后, J. Hurwitz 等人发现了 RNA 聚合酶, 这种酶以 DNA 为模板利用 ATP、GTP、CTP、UTP 等合成 RNA, 这就是转录 (transcription)

在遗传决定以及蛋白质结构和生物合成的控制中, 显然存在着单向的信息流; DNA 顺序决定了 mRNA 的核苷酸顺序 (转录), 而 mRNA 的核苷酸顺序又决定了多肽的氨基酸顺序 (翻译) (FHC. Crick, 1954), 这个学说称之为中心法则 (图 1-1)。尽管一般来说中心法则似乎是正确的, 但也有一些例外。逆转录病毒能以 RNA 为模板合成单链 DNA, 然后再以其为模板合成互补的 DNA (complementary DNA, cDNA)。H. Temin 和 D. Baltimore 分别发现逆转录酶 (reverse transcriptase) (以 RNA 为模板催化合成 DNA) 证实了从 RNA 到 DNA 的相对于中心法则的逆向信息流的存在。

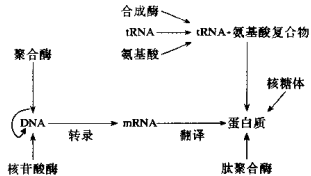


图 1-1 中心法则所假设的信息流

从受精卵或合子发育而来的高等动物在细胞有丝分裂过程中的分化现象表明, 转录和翻译过程是受遗传控制的。不同的体细胞会有相同的基因组, 为什么合成的蛋白质种类不同? 1961 年 F. Jacob 和 J. Monod 提出的 *E. Coli* 乳糖操纵子学说为人们理解动物基因表达调控提供了理想的模型 (图 1-2)。当然高等生物体内蛋白质合成的遗传调节要复杂得多。

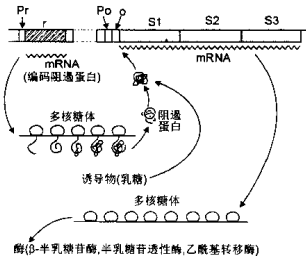


图 1-2 乳糖操纵子学说

r: 调节基因; Pr: 调节基因的启动子; o: 操纵基因; Po: 操纵基因的启动子; S1, S2和S3分别为 β -半乳糖苷酶、半乳糖苷透性酶与乙酰基转移酶的结构基因

recombinant DNA technology; Cohen, Chang, Boyer, Helling) 问世极大地推动了人类和医学遗传学的发展。F. Sanger (1977) 应用酶法和 W. Gilbert 采用化学方法解决了 DNA 的测序方法, 使我们对基因甚至基因组的结构得以了解。

1977 年人类第一个基因被克隆 (J. Shine)。Y.W. Kan (简悦威) 等 (1976)、H.B. Wong

DNA 双螺旋模型的建立, 遗传密码的破译和乳糖操纵子学说的提出是 20 世纪生物学的巨大成果。

(三) 基因工程学的诞生

70 年代初, 随着限制性内切酶的发展和 DNA 分子杂交技术的建立, 分子生物学进入了技术化时代, 基因工程学也有所发展。1970 年 H.G. Khorana 首次在试管内合成基因成功。1972 年 P. Berg 首次将不同的 DNA 片段连接起来, 并且将这个重组的 DNA 分子有效地插入到细菌细胞之中, 重组的 DNA 进行繁殖, 于是产生了重组的 DNA 克隆 (clone)。1973 年重组 DNA 技术 (re-

等 (1978) 和 AM. Dozy 等 (1979) 应用 DNA 实验技术就胎儿羊水细胞 DNA 作出了 α -地中海贫血出生前诊断。1978 年 YW. Kan 等应用胎儿羊水细胞作出了镰形红细胞贫血症的出生前诊断。近年来, 许多遗传病都能在 DNA 水平上作出诊断。1978 年 AJ. Jeffreys 报道首例 DNA 指纹, 方法几经改进, 在法医学个体识别中产生深远影响。1986 年 K. Mullis 等建立的 PCR (polymerase chain reaction) 技术使分子生物学的发展进入了一个新的阶段。1986 年核酶 (ribozyme) 的发现 (T. Cech) 表明 RNA 除具有原先人们认识的功能外还具有催化功能。这一发现对生物进化研究和潜在的医学应用具有很大的意义。90 年代初基因治疗 (gene therapy) 进入了临床试验阶段, 虽迄今还困难重重, 但仍然大有希望。

美国 1977 年成功应用基因工程方法生产出人生长激素抑制素。这一突破震撼了全世界。预示着难以估量的社会效益和经济效益的基因工程技术备受全世界的青睐, 目前全世界至少有 3000 家生物工程公司。正在开展基因工程研究的活性多肽药物近百种, 有的已用于临床, 如人胰岛素、干扰素、人生长激素和 IL-2 等。

三、近十余年的主要进展

分子生物学的历史令人目眩, 从基因研究到实际应用的时间越来越短。许多新的诊断技术已广泛应用于临床诊断, 一些基因产品如干扰素、白细胞介素、生长因子等在临床上获得了广泛的应用。下面列举一些近年的主要进展。

(一) 细胞信号转导

细胞跨膜信号转导是指细胞外的刺激信号通过一定的机理转换成细胞应答反应的过程, 这个过程涉及一系列细胞内蛋白质构象和功能的改变以及基因表达的改变。一般将细胞跨膜信号转导分: ①环核苷酸类信号转导系统, 包括 cAMP 和 cGTP 系统; ②磷酸肌醇信号转导系统; ③ Ca^{2+} 和钙调蛋白信号转导系统; ④酪氨酸蛋白激酶信号转导系统四大类。许多癌基因和抗癌基因涉及信号转导系统。一般认为, 许多疾病包括癌症是细胞调节失常直接造成的。因此细胞跨膜信号转导通路的深入研究将阐明许多生命现象的本质和疾病发生的机理, 可能在疾病诊断和治疗上导致重大突破。

(二) 细胞增殖、细胞分化和细胞凋亡

细胞增殖、细胞分化和细胞凋亡是任何一个多细胞生物在个体发育过程中的三项基本生命活动, 相互依存, 缺一不可 (图 1-3)。一般认为细胞的增殖和分化是相互依存和拮抗的。细胞分裂不仅增加细胞的数目, 而且也是细胞分化的基础。细胞进行 DNA 复制而分裂, 就不再间时进行基因转录而分化。而细胞在完全停止分裂后开始分化。细胞凋亡其中一部分

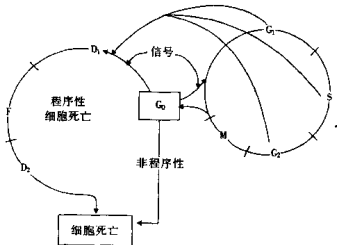


图 1-3 细胞增殖动力学模式图
D₁: 引起 DNA 碎裂 (F) 的有关基因和蛋白质表达时期; D₂: 细胞自身碎裂成凋亡小体的时期; 各期交叉线表示检查点

实质上是细胞分化的特例，比之于红细胞更为特殊，细胞的形态结构也不复存在。任何部位细胞进行分裂增殖，何时何部位进行细胞分化，又何时何部位细胞该凋亡，受着细胞周期的调节系统的调节，也受着个体发育不同阶段的发育调节。这些调节的基础是基因按一定的时间和空间顺序选择性地表达。

一个组织的生长，不论是正常组织还是恶性肿瘤组织，是由细胞的增殖率和细胞死亡率的定量关系所确定。正常的成年组织两者保持平衡，一旦失衡就会引起病理改变。恶性肿瘤是由于平衡破坏，导致增殖超过死亡的结果。因此如何维持平衡的机理研究是目前细胞分子生物学的热门领域。

恶性肿瘤具有两大特征，一是细胞无休止分裂，二是恶性分化(malignant differentiation)。如何使肿瘤细胞停止分裂，并走向死亡(凋亡)和“改邪归正”(诱导分化)是肿瘤治疗的关键问题。我国科学家在早幼粒白血病治疗方面取得举世瞩目的成绩。应用维甲酸治疗能使恶性细胞重新恢复正常细胞的分化程序(分化疗法)，应用砷霜能使细胞凋亡的功能恢复起来(凋亡疗法)，从而达到治疗目的。另外不同的抗癌药作用于细胞周期不同时期，如能确定肿瘤细胞各期的时间，选择各期的针对性药物进行治疗，则可能提高疗效。

(三) 肿瘤学研究

肿瘤是目前中国第三位死因，上海已列第二位，因此肿瘤研究是医学研究中最热门的课题之一。近年来肿瘤分子生物学研究取得了长足的进步。部分肿瘤的病毒病因已得到阐明或部分阐明。Knudson肿瘤发生的“二次突变”(two mutation)学说的提出和证明，说明肿瘤发生是一个多步骤的过程，涉及多个基因改变。癌基因与抗癌基因、微卫星不稳定性、端粒和端粒酶在肿瘤发生中的作用受到广泛的重视。恶性肿瘤的预后较差，肿瘤是否转移、对化疗药物的敏感性和早诊早治是决定预后的关键(重要)因素。实体瘤微转移的检测将从实验室走向临床应用。肿瘤多耐药基因表达和细胞凋亡的发生与化疗效果有关，如何阻止多耐药基因表达，诱导肿瘤细胞凋亡提高化疗效果已被广为关注。APC基因突变的检测、微卫星不稳定性检测，BRCA1和BRCA2突变检测、诱变剂敏感性检测的合理应用对筛选易感人群会有帮助。

(四) 动态突变

已经证明基因内外的一些简单的重复序列与一系列遗传病和某些肿瘤的发病有关，如已知的脆性X综合征、强直性肌营养不良、亨廷顿舞蹈病这样一些遗传病是由于基因编码或非编码区的CCG、CTG、CAG三核苷酸串联重复序列拷贝数过度增加或扩展引起的。这种增加或突变不是稳定的，它可能随着世代的传递而扩大，因而被称为动态突变(dynamic mutation)。动态突变的提出改变和丰富了经典遗传学有关突变的概念，它也是遗传病研究上的重大突破。近年也证实Kennedy病(脊髓延髓肌萎缩症)、脊髓小脑共济失调I型、齿状核、红核苍白球路易氏体萎缩症、Machodo-Joseph病也涉及动态突变。一些重要神经精神疾病患者如双向情感性精神病、某些类型的精神分裂症、孤癖症等也有遗传早现现象，是否与动态突变有关还不清楚。动态突变迄今只见于人类。

(五) 基因组印迹

哺乳动物的某些组织和细胞中，控制某一表型的一对等位基因由于亲源不同而呈差异性表达，即机体转录来自亲本一方的等位基因，而与自身性别无关。这一现象称为基

基因组印迹 (genomic imprinting)。其中父 (母) 系等位基因不表达者就称为父 (母) 系印迹。基因组印迹不符合经典的 Mendel 式遗传, 但它对遗传、进化、发育及病理学的研究具有深远的影响。人类基因组印迹的近代认识, 更有可能彻底重建肿瘤如何发展的见解。目前认为印迹 DNA 水平的特征是 CpG 双核苷酸的甲基化。甲基化可抑制或激活相应基因的转录。

(六) 线粒体病

线粒体基因组由紫色光合细菌侵入真核细胞而来。人类线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 是一个含有 16569 碱基对的闭环双链 DNA 分子, 已知其中有 37 个基因。线粒体基因组不同于核基因组有以下特点: ①遗传密码不同, 如 CUA 在通用密码是 leu, 但在线粒体中却是 Thr。②组成线粒体的多数蛋白由核编码。mtDNA 编码的蛋白质不到线粒体总蛋白的 10%。③哺乳动物细胞线粒体不编码终止密码子, 终止密码子是由 poly (A) 酶加成的 UAA。④插入顺序现象在真核细胞中普遍存在。mtDNA 编码的一些蛋白质, 从目前情况看都是没有插入序列的。⑤一个细胞周期复制几次。⑥突变可发生于生殖细胞或体细胞, 能量需求高的组织易有 mtDNA 突变。⑦有丝分裂分离。增殖细胞排斥突变型 DNA, 未分裂细胞排除正常型 DNA。

mtDNA 基因的突变可引起线粒体基因病。由于其传递和表达完全不同于由核基因突变引起的遗传病, 而成为组织独特的遗传病, 具有以下特点: ①母系遗传, 但在贻贝 (*mytilus*) 和欧洲鲴 (*Engraulis encrasicolus*) 等由双性遗传; ②临床症状是由野生型 mtDNA 与突变型 mtDNA 比例决定; ③传递突变 mtDNA 的母亲可以有症状的患者, 也可以是表现型正常的携带者。

线粒体基因病已为人们所认识和关注, 但其传递和发病机理还有许多不清楚的地方。对其的深入研究会对其防治产生深远的影响。

(七) 基因诊断和基因治疗

自 1978 年 Kan (简悦威) 等开创基因诊断技术以来已广泛应用于临床, 特别是感染原和遗传病的诊断。基因诊断在我国已有相当的基础, 以 PCR 为基础的诊断方法目前在基层医院也已开展, 但其质量控制有待提高, 以更好地为临床服务。近来 DNA 芯片技术研究又成为热点, 该项技术的发展将对疾病的诊断产生深远的影响。

基因治疗是一种由正常 (野生型) 的基因代替或置换致病基因的方法。目前基因治疗的定义扩大到导入外源基因达到治疗效果的所有方法, 因此有文献统称为基因疗法。

基因治疗主要用于遗传病、艾滋病和恶性肿瘤。1990 年 9 月首例腺苷脱氨酶 (ADA) 缺陷的重症联合免疫缺陷病患者接受基因治疗并获得疗效, 以后囊性纤维化 (cystic fibrosis)、高雪病 (Gaucher disease)、血友病 B 和家族性高胆固醇血症等进行了基因治疗收到了一定的效果。我国在血友病 B 治疗方面进行了有益的探索并为世界同行所关注。但是确切地讲全球正在进行 200 多项由几百例患者参加的临床试验尚无一例完全成功。主要问题是缺乏有效的传递系统、不能持续表达和宿主免疫反应等问题。这些问题的存在需要重新强调基因疗法涉及的基础科学, 尤其是载体的三维结构, 免疫学和细胞生物学。既然问题已被发现, 这些问题终将被克服。因此有理由相信基因治疗前景美好, 大有可为。据估计到 2025 年时世界上 4000 多种遗传性疾病能够得到治疗。当然成熟的基因治疗也不能解决所有医学问题, 昂贵的费用和不同个体对基因治疗不同的反应, 将

是面临的难题。

(八) 神经科学

当代自然科学面临最大的挑战之一是揭示脑的奥秘。在细胞与分子水平上阐明神经活动的基因规律进而预防和诊治神经和精神疾患是神经科学的基本内容。近十年来神经科学研究成为一热门的研究领域，一些常见疾病的基因定位获得成功，为治疗这些疾病如阿尔茨海默病(Alzheimer disease)和帕金森病(Parkinson disease)奠定了基础。神经生长因子可能为神经退行性疾病和神经损伤的治疗提供新的途径。应用基因工程技术给某些疾病的症状改善和治愈带来希望。

(九) 免疫生物学

免疫学是当代的前沿学科之一，发展迅速。在T细胞表面受体及其基因、细胞因子、免疫耐受、移植排斥、基因工程抗体、基因免疫、抗肿瘤免疫等方面取得了重大进展，为阐明人类疾病机理和疾病治疗提供理论基础和研究方法。一些研究成果已应用临床，前景诱人。

(十) 生殖生物学

精子和卵子的融合是自然界最完美的“细胞融合”，精子基因在受精卵中的表达是自然界中最有效的“基因工程”。受精是一个多环节多时相的复杂过程，调控这个过程是生殖生物学的重要内容。随着社会的发展，人们希望有计划地生育，一方面通过避孕达到控制生育的目的，另一方面通过辅助生育技术使不孕夫妇达到生育的目的。辅助生育技术给不孕夫妇带来福音的同时也带来一系列的伦理学问题应引起我们的高度重视。转基因技术的应用为在受精卵水平纠正病理基因提供了可能。“克隆羊”的诞生震惊了全世界，引起了人们对“克隆人”所带来“灾难”的恐惧。尽管从“克隆羊”到“克隆人”还有一系列的技术问题，“克隆人”终将出现，我们对此应有充分的思想准备。

(十一) 人类基因组计划

人类基因组(human genome)指的是单倍数染色体组中的包含的全部连锁群(linkage groups)的基因，它包含一套完整的人类基因，估计有5万~10万个基因，30亿bp。1990年春美国国立卫生研究院(NIH)和美国能源部(DOE)根据科学家的提议和调查论证联合发表了人类基因组计划(human genome project, HGP)的科学计划。准备耗资30亿美元，历时15年(到2005年)完成30亿bp的测序工作。弄清基因组内的所有核苷酸的物理位置。人类基因组计划对生物进化研究、疾病机理阐明和生物医学基础研究具有重大的意义，并且疾病基因的克隆是有很大的潜在商业价值。因此引起了全世界的极大关注。继美国之后，欧共体、意大利、日本、俄罗斯、法国、加拿大、澳大利亚和我国相继启动人类基因组研究。人类基因组研究是当前生物医学科学最前沿的领域。现在人类基因组计划时间过半，研究进程也已过半，因此按计划完成已无多大问题。

我国于1994年启动人类基因组计划，现已完成南北方两个汉族人群和西南、东北地区12个少数民族共733个永生细胞系的建立，为中华民族基因保存了宝贵的资源，并在多民族基因组多样性的研究中取得了成就，在致病基因研究中有所发现。定名为《中华民族基因组结构和功能研究》的人类基因组计划为“九五”国家最大的资助研究项目(700万元)。为在下世纪国际人类基因组科学的新一轮竞争中使我国占据有利地位打基础。