

国外生物专业经典教材

An
Introduction
to
Molecular
Biotechnology

[德] Michael Wink◎主编
江南大学 唐蕾◎主译

分子生物技术导论



中国轻工业出版社

全国百佳图书出版单位

国外生物专业经典教材

分子生物技术导论

An Introduction to Molecular Biotechnology

[德] Michael Wink 主编

江南大学 唐蕾 主译

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

分子生物技术导论/ (德) 温克 (Wink, M.) 主编; 唐蕾主译.
—北京: 中国轻工业出版社, 2013. 9

ISBN 978-7-5019-9002-3

国外生物专业经典教材

I. ①分… II. ①温… ②唐… III. ①分子生物学—研究
IV. ①Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 225557 号

Original Published in the English Language by Wiley - VCH Verlag GmbH & Co. KGaA,
Boschstrasse 12, D - 694.

责任编辑: 张 磊

策划编辑: 江 娟

版式设计: 宋振全

责任终审: 张乃柬

责任校对: 晋 洁

封面设计: 锋尚设计

责任监印: 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 三河市万龙印装有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2013 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 787 × 1092 1/16

印张: 30.5

字 数: 704 千字

插页: 10

书 号: ISBN 978-7-5019-9002-3

定价: 68.00 元

著作权合同登记 图字: 01-2008-2006

邮购电话: 010-65241695 传真: 65128352

发行电话: 010-85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

080149K1X101ZYW

译者序

随着分子生物学理论与技术的迅速发展，其应用已渗透到生物技术的各个领域，形成了与传统生物技术有着明显不同的分子生物技术。由德国海德堡大学 Wink 教授主编的《分子生物技术导论》一书，涵盖了分子与细胞生物学的基本原理；分子生物技术中常用的标准技术；分子生物技术的关键主题。该书系统和全面地向学生和从事生命科学、药学和生物化学工作的专业人士提供了分子生物技术的有关知识。江南大学的师生对该书的主要部分进行了翻译，按章顺序依次为 1 ~ 20 章（唐蕾）；21 ~ 26 章（史锋）；27 ~ 33 章（唐蕾）；术语表（唐蕾、李珍爱、董晓璇）。最后由唐蕾对全书进行了统稿。

前言

preface

1919 年匈牙利工程师 Karl Ereky 首创了生物技术一词。他把该词作为一个笼统的术语,描述通过微生物的作用生产有价值产品的方法。从在啤酒、葡萄酒、醋或者干酪的生产中使用酵母或细菌算起,人类使用生物技术已有上千年的历史。

生物技术是 21 世纪的关键技术之一。它包括诸如牛乳和乳制品、啤酒、葡萄酒和其他酒精饮料生产在内的已经确立的传统工业,以及氨基酸、维生素和抗生素的生产和转化。这一领域,包括了相关的过程工程,被称之为灰色生物技术。由于它已经相当成熟,有很多优秀的书籍描述了这一领域,故本书只在第 33 章中略有介绍。

在过去的 50 年里,尤其是最近 20 年中,分子和细胞生物学取得了惊人的进展,为工业领域的应用开启了新的激动人心的篇章。应用生物学曾被当作传统生物技术的一个分支,随着研究的深入,发现两者涉及的领域有着明显不同,故被称为分子生物技术。

分子生物学和细胞生物学的研究是对有关细胞中大分子功能和结构以及细胞自身作用方面知识进行的革命。大多数的进展是在基因组学(例如 2001 年人类基因组测序)和蛋白质组学方面取得的。新知识已在医学基础和临床上产生直接的反响,因为现在有可能直接研究疾病的基因成因,应该可以到了变治标为治本的阶段。机遇为工业生物技术(红色生物技术)敞开了大门以发展新的诊断和疗法,诸如在基因革命前做不到的激素、酶和抗体的重组。在绿色生物技术领域,对栽培品种的目标修饰可以提高其性能,例如抵抗害虫或者合成新的产品。在微生物技术方面可以改良生产过程,通过组合生物合成创造新产品。

分子生物技术也涵盖了基因组学、功能基因组学、蛋白质组学、基因治疗或分子诊断中的前沿研究。概念和方法是从细胞和分子生物学、结构生物学、生物信息和生物物理学中衍生出来的。

如果你关注一下如 Genentech、Biogen 和其他分子生物技术公司在科学和经济上的贡献,就会发现分子生物技术的成功已是相当可观。由于覆盖这一广泛主题的教科书很少,所以一群专家和大学老师决定编写一本广泛涉及不同主题的导论教科书。

本书第一部分对细胞中的基本构成模块和反应过程进行了简洁的综合介绍。这一信息对理解下面的章节是重要的,但是它不能替代对有关细胞和分子生物学更充实、广泛和深入介绍的教科书。

第二部分论述在生物技术中最重要的方法。与第一部分一样，想要更彻底地了解该主题，请参阅相关教科书。

第三部分涉及分子生物技术的不同领域，诸如基因组研究、功能基因组学、蛋白质组学、转录组学、基因治疗和分子诊断。它不仅给出了当前知识的概要，而且突出了未来的应用和发展。

给出一个比其他任何领域中的事物都发展迅速的学科的前沿研究几乎是不可能的，因此当本书到了出版阶段，一些进展已经超越了本书中的描述。尽管我们想包括更多的相关内容，但是在了一本教科书中可选择的主题受到限制。

37 位作者参加了编写工作，尽管我们想努力做到风格一致，但是读者仍然可以分辨出各位作者们的不同观点和价值。出版社和编辑要感谢所有作者建设性的合作。特别感谢 Wiley - VCH 的人员（A. Pillmann 博士、W. Wuest 博士、R. Kirsten 博士、P. Henheik 博士）所给予的热心支持。对于英文版，我们要感谢 A. Sendtko 博士和翻译人员。

Michael Wink

2006 年春于海德堡

目 录

content

第一部分 细胞和分子生物学基础

1	细胞作为生命的基本单元	3
2	细胞大分子的结构与功能	6
2.1	概述	6
2.2	糖的结构和功能	7
2.3	膜脂类结构	9
2.4	蛋白质结构与功能	13
2.5	核苷酸和核酸 (DNA 和 RNA) 的结构	22
3	细胞的结构与功能	30
3.1	真核细胞的结构	30
3.2	细菌结构	53
3.3	病毒的结构	54
3.4	细胞分化	56
4	大分子的生物合成和功能 (DNA, RNA 和蛋白质)	59
4.1	基因组、染色体和复制	59
4.2	转录: 从基因到蛋白质	74
4.3	蛋白质生物合成 (翻译)	78
5	蛋白质在细胞中的分布 (蛋白质分拣)	83
5.1	通过核孔的蛋白质输入与输出	84

5.2	向线粒体与叶绿体中输入蛋白质	85
5.3	蛋白质输送到内质网中	85
5.4	从 ER 经高尔基体向细胞质膜输送囊泡	88

6 生物多样性 91

6.1	原核生物	91
6.2	真核生物	92

第二部分 分子生物学中的标准方法

7 蛋白质的分离与纯化 99

7.1	介绍	99
7.2	制备蛋白抽提物	100
7.3	电泳分离方法	101
7.4	蛋白质沉淀的方法	103
7.5	柱色谱方法	104
7.6	示例	109

8 用电喷雾串联质谱分析多肽和蛋白质 112

8.1	介绍	112
8.2	质谱原理	112
8.3	质谱精度、分辨率和同位素分布	112
8.4	电喷雾离子化原理	113
8.5	串联质谱仪	114
8.6	用 MS/MS 进行多肽测序	116
8.7	用 MS/MS - 数据和蛋白数据库鉴定蛋白质	117
8.8	测定蛋白质分子质量	118
8.9	共价蛋白修饰分析	119

9 DNA 和 RNA 的提取 122

9.1	介绍	122
9.2	DNA 提取	122
9.3	RNA 提取	124

10 核酸的色谱及电泳	125
10.1 介绍	125
10.2 核酸的色谱分离	125
10.3 电泳	126
11 核酸的杂交	128
11.1 碱基配对的重要性	128
11.2 实验杂交作用、动力学和热力学控制	128
11.3 分析技术	129
12 在核酸修饰中酶的使用	133
12.1 限制性酶（限制性内切核酸酶）	133
12.2 连接酶	135
12.3 甲基化酶	135
12.4 DNA 聚合酶	136
12.5 核酸酶	137
12.6 T4 多聚核苷酸激酶	137
12.7 小牛肠磷酸酯酶	137
13 聚合酶链反应（PCR）	138
13.1 介绍	138
13.2 技术	138
13.3 应用领域	141
14 DNA 测序	143
14.1 介绍	143
14.2 DNA 测序方法	143
14.3 人类基因组测序策略	144
14.4 DNA 测序的实际意义	146
15 克隆步骤	147
15.1 介绍	147

15.2	重组载体的构建	147
16	重组蛋白的表达	161
16.1	介绍	161
16.2	在宿主细胞中表达重组蛋白	162
16.3	在无细胞体系中的表达	170
17	膜片钳方法	172
17.1	生物膜和离子通道	172
17.2	膜片钳方法的物理基础	172
17.3	膜片钳结构	173
17.4	异源表达系统和切片制备	175
18	细胞周期分析	177
18.1	细胞周期分析	177
18.2	细胞周期的实验分析	179
19	显微技术	185
19.1	光学显微术	185
19.2	相差光学显微术	185
19.3	暗视野显微术	186
19.4	偏振和干涉显微术	186
19.5	荧光显微术	186
19.6	共聚焦荧光显微术	187
19.7	电子显微术	188
20	激光的应用	191
20.1	激光技术的原理	191
20.2	激光辐射的性质	192
20.3	激光器类型以及它们的设置	193
20.4	应用	193

第三部分 关键主题

21 基因组学	197
21.1 介绍	197
21.2 测序方面的技术进展	199
21.3 基因组测序	203
21.4 cDNA 计划	221
22 功能基因组学	236
22.1 介绍	236
22.2 个体基因的鉴定和分析	238
22.3 转录活性的调查	243
22.4 基于细胞的方法	257
22.5 整个基因组的功能分析	265
23 蛋白质 - 蛋白质和蛋白质 - DNA 相互作用	270
23.1 蛋白质 - 蛋白质相互作用	270
23.2 蛋白质 - DNA 相互作用	279
24 生物信息学	287
24.1 介绍	287
24.2 数据资源	287
24.3 序列分析	289
24.4 基因预测	295
24.5 转录组和蛋白组分析中的生物信息学	297
24.6 系统生物学	302
25 药物研究	306
25.1 介绍	306
25.2 活性化合物和它们的靶点	306
25.3 临床前期药理学和毒理学	319
25.4 临床开发	320
25.5 临床测试	321

26 药物靶向和前药	323
26.1 药物靶向	323
26.2 前药	328
26.3 药物沿生物膜的穿透	329
26.4 延长作用时间的前药	331
26.5 用于药物靶向释放的前药	332
26.6 减少副作用的前药	332
27 医学中的分子诊断学	335
27.1 分子诊断学的使用	335
27.2 哪种分子变异应该被检测?	339
27.3 分子诊断的方法	342
27.4 展望	349
28 重组抗体和噬菌体展示	351
28.1 介绍	351
28.2 如何重组抗体?	353
28.3 获得特异性的重组抗体	353
28.4 生产重组抗体	358
28.5 重组抗体的格式	360
28.6 重组抗体的应用	366
28.7 展望	367
29 遗传修饰鼠(转基因和敲除)以及它们对医学的影响	376
29.1 介绍	376
29.2 转基因鼠	378
29.3 遗传修饰鼠在生物医药中的影响	382
30 基因治疗: 策略和载体	384
30.1 介绍	384
30.2 体细胞基因治疗的原理	386
30.3 生殖细胞系治疗	387
30.4 基因治疗的挫折	388

30.5	基因治疗的载体	389
30.6	特异表达	397
31	修饰的 DNA, PNA 及其在医药和生物技术中的应用	400
31.1	介绍	400
31.2	修饰核酸	401
31.3	DNA 类似物与互补的 DNA 和 RNA 的相互作用	404
31.4	应用	406
32	植物生物技术	410
32.1	介绍	410
32.2	转基因植物的开发	411
32.3	筛选转化的植物细胞	417
32.4	转基因植物的再生	421
32.5	植物分析: 基因工程植物的鉴定与表征	422
33	在化学工业中的生物催化	428
33.1	介绍	428
33.2	生物转化/酶法过程	430
33.3	工业用生物催化剂的开发	433
33.4	发酵过程	439
	术语表	448

第一部分

细胞和分子生物学基础

1 细胞作为生命的基本单元

学习目标 本章简要介绍了原核、真核细胞和病毒结构。

生命的基本单位是细胞。细胞组成了所有原核生物（细胞中没有细胞核，例如细菌）和真核生物（细胞拥有细胞核，例如原生动物、真菌、植物和动物）的基本元素。细胞是膜包裹的小单元，直径在 $1 \sim 20 \mu\text{m}$ ，细胞内为浓缩的液体溶液。细胞不是从无到有产生的，但其具有自我复制的能力，即可以从前一个细胞分裂形成。这意味着，自从生命开始（大约 40 亿年前），所有细胞一直被相互联系在一起。1885 年著名细胞生物学家 Virchow 创立的“细胞来自细胞”定律（所有细胞起源于细胞）至今仍有效。

由于细胞共有的进化与发育过程，所有细胞的结构和成分都非常相似（图 1.1）。所以根据细胞的一般特征将其分成几个基本类型加以讨论。如图 1.2 所示的细菌细胞、植物细胞、动物细胞。由于病毒和噬菌体（图 1.3）没有自己的代谢，所以算不上真正的有机体，它们依赖宿主细胞进行繁殖，因此它们的生理和结构与其寄居的宿主细胞的生理和结构紧密联系。

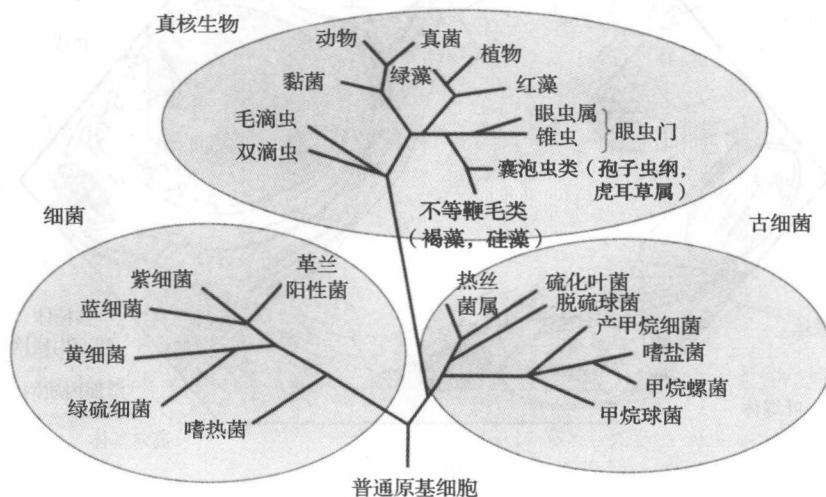


图 1.1 生命树——生命领域的进化史

根据 16S rRNA 的核苷酸序列、细胞骨架蛋白的氨基酸序列和细胞结构特征构建的进化树。原核生物被分成细菌和古细菌。在真核生物中可以看到许多单系类群（双滴虫/毛滴虫、眼虫、囊泡虫类、不等鞭毛类、红藻和植物、黏菌和动物；详见表 6.3 ~ 表 6.5）。尽管在此图中古细菌和真核生物以姊妹群的形式表示出来，但也有将细菌和古细菌不表示成姊妹群的替代方法

以下的讨论基于所有细胞的共有特征，但不能忽略多细胞生物呈现的多种差别。如果要理解并且处理诸如癌症等细胞特异性失调，就必须详细了解这些差别。

在详细讨论细胞结构及功能（第3章）之前，将在下一章简要概述细胞和分子生物学的生物化学基础。

