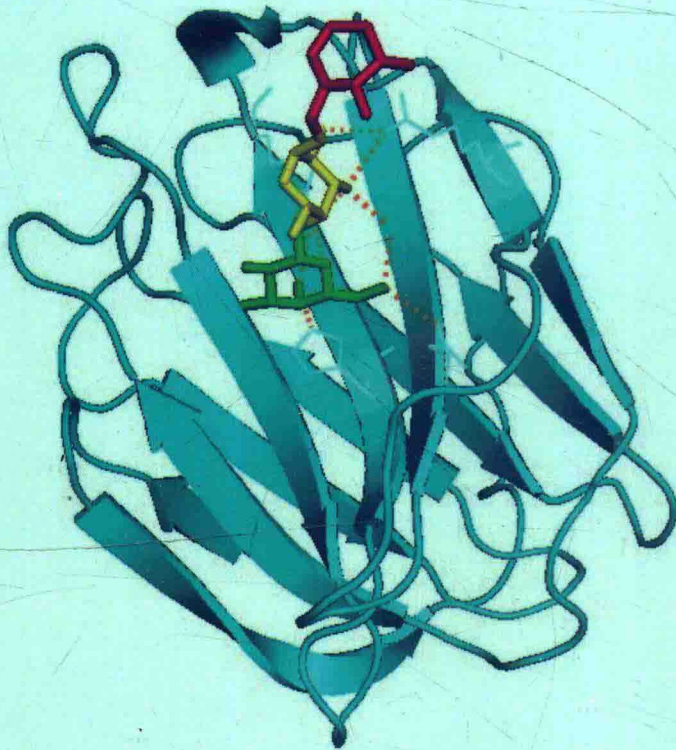


□ 全国高等学校“十三五”农林规划教材

主 编 聂 理

# 分子生物学导论

Introduction to  
Molecular Biology



高等教育出版社

□ 全国高等学校“十三五”农林规划教材

# 分子生物学导论

Fenzi Shengwuxue Daolun

主 编 聂 理

副主编 吕淑霞 郑伟娟 季 勤

主 审 徐朗莱



## 内容简介

本书遵循“基础、简明、实用”的原则，深入浅出地介绍了遗传物质的结构、功能，合成、表达调控的机理以及实验技术基本原理。全书在内容系统的基础上精简篇幅，适应当前高校学时少的专业学习。书中设置了“分子生物学基本技术”一章，让从事分子生物学实验研究的师生们对实验机理也有一定的了解。每章叙述中穿插有科学小故事或知识窗，并附有小结、中英文对照关键词、思考题，便于学生复习。本书适用于农、林、师范及综合性大学生物类专业的“分子生物学”课程教材，也可供从事分子生物学研究的师生、科研人员参考使用。

## 图书在版编目(CIP)数据

分子生物学导论 / 聂理主编. -- 北京: 高等教育出版社, 2016.3

ISBN 978-7-04-044225-0

I. ①分… II. ①聂… III. ①分子生物学-高等学校-教材 IV. ①Q7

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第275644号

策划编辑 孟丽 责任编辑 孟丽 特约编辑 陈龙飞 封面设计 张志奇  
责任印制 赵义民

出版发行 高等教育出版社  
社址 北京市西城区德外大街4号  
邮政编码 100120  
印刷 北京市白帆印务有限公司  
开本 787mm×1092mm 1/16  
印张 18.25  
字数 420千字  
购书热线 010-58581118

咨询电话 400-810-0598  
网址 <http://www.hep.edu.cn>  
<http://www.hep.com.cn>  
网上订购 <http://www.hepmall.com.cn>  
<http://www.hepmall.com>  
<http://www.hepmall.cn>  
版次 2016年3月第1版  
印次 2016年3月第1次印刷  
定价 31.60元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题，请到所购图书销售部门联系调换  
版权所有 侵权必究  
物料号 44225-00

## 编审人员

主 编 聂 理

副主编 吕淑霞 郑伟娟 季 勤

编 者 (按姓氏笔画排序)

于晓丹 (沈阳农业大学)

方淑梅 (黑龙江八一农垦大学)

吕淑霞 (沈阳农业大学)

芮 琪 (南京农业大学)

李 信 (南京农业大学)

杨志敏 (南京农业大学)

林 英 (沈阳农业大学)

季 勤 (淮阴师范学院)

郑伟娟 (南京大学)

钟 鸣 (沈阳农业大学)

聂 理 (南京农业大学)

徐朗莱 (南京农业大学)

主 审 徐朗莱 (南京农业大学)

数字课程 (基础版)

# 分子生物学 导论

主编 聂理

## 登录方法:

1. 访问<http://abook.hep.com.cn/44225>, 点击页面右侧的“注册”。已注册的用户直接输入用户名和密码, 点击“进入课程”。
2. 点击页面右上方“充值”, 正确输入教材封底的明码和密码, 进行课程充值。
3. 已充值的数字课程会显示在“我的课程”列表中, 选择本课程并点击“进入课程”即可进行学习。

自充值之日起一年内为本数字课程的有效期  
使用本数字课程如有任何问题  
请发邮件至: [lifescience@pub.hep.cn](mailto:lifescience@pub.hep.cn)



□全国高等学校“十三五”农林规划教材

## 分子生物学导论

主编 聂理

用户名  密码  验证码  2848 进入课程

内容介绍

纸质教材

版权信息

联系方式

“分子生物学导论数字课程”与纸质教材一体化设计, 紧密配合。数字课程除包括纸质教材中的全部插图外, 还提供了拓展阅读材料和教师授课的教学课件, 以此引导学生自主学习, 提升课程教学效果。

高等教育出版社

<http://abook.hep.com.cn/44225>

# 前 言

分子生物学是在遗传学、生物化学和生物物理学等学科基础上发展起来的一门新兴学科，主要研究生命体内核酸等生物大分子的结构、形态与功能及其在生命活动中相互作用的规律。目前的研究重点，一方面是深入研究基因的结构和功能，以及遗传信息在生命体内传递、表达和调控的机制；另一方面是应用分子生物学技术改造生物基因，研育抗病、抗虫、抗逆境的新型或优良生物品种。

近年来，分子生物学在科学研究领域中影响广泛且最具活力，不仅在动物、植物和微生物等各生物学基础学科，而且在食品、农业、环境领域内很多应用学科的科研中都渗透着分子生物学的知识和技术；医药、司法、海关等许多行业中的工作人员越来越需要掌握分子生物学的知识与技术。

为了普及分子生物学的基本知识及技术，为了让具有生物学基础知识的广大学生、老师以及科研工作者们能经过自学来了解和掌握分子生物学知识，我们组建了《分子生物学导论》教材编写团队。编写者们都是多年来从事分子生物学和生物化学教学的一线教师，而且具有较丰富的科研工作经验。在总结本科生和研究生的分子生物学教学与实践的经验基础上，我们完成初稿，并互相交流，反复修订，徐朗莱教授对修改全书稿件提出了许多诚恳的建议并参与了部分章节的编写。全体编写老师本着“基础、系统、精简、实用”的原则，在本书中力求深入浅出的叙述理论知识，增强可读性和适用性。

本教材内容共有 11 章，分别为绪论，核酸的结构与特性，基因与基因组，DNA 的复制，DNA 的损伤、修复与突变，转录与加工，逆转录与 RNA 复制，翻译及其加工，原核生物基因表达调控，真核基因的表达调控和分子生物学基本技术。本教材在内容选择上，不仅充分体现了分子生物学基本理论知识及技术的核心，而且也体现了分子生物学的现代性和实用性。

本书专门设置了第 11 章分子生物学基本技术，希望分子生物学理论与实验原理介绍能有机的结合，让从事分子生物学研究的师生们对实验原理有一定的了解，并请季勤教授结合多年教学和科研感受，选取了分子生物学常见的实验技术并简介其基本原理和操作方法供读者们参考。

本教材虽有不少特点和新意，但毕竟由于编者水平限制，在现版教材中难免还会存在缺点和不足，我们衷心希望本教材的学习使用者多给予指正。

编者

2015 年 9 月

# 目 录

## 第 1 章 绪 论

1.1 分子生物学的基本概念	1
1.2 分子生物学产生与发展	1
1.2.1 进化论的影响与反思	1
1.2.2 遗传学的奠基	2
1.2.3 生物化学的贡献	2
1.2.4 基因表达调控研究的开启	5
1.2.5 基因工程技术的兴起	6
1.2.6 基因组与后基因组时代	7
1.3 分子生物学研究方向	8
1.3.1 生物大分子结构与功能的研究	8
1.3.2 基因表达调控的研究	9
1.3.3 DNA 重组技术的应用	9
1.3.4 生物信息学	10
科学小故事 嗅觉的秘密	10

## 第 2 章 核酸的结构与特性

2.1 DNA 是最主要的遗传物质	12
2.2 DNA 的分子结构	13
2.2.1 DNA 的一级结构	13
2.2.2 DNA 的二级结构	14
2.2.3 DNA 的三级结构和拓扑异构酶	18
2.3 RNA 的分子结构	19
2.3.1 编码 RNA 的结构	20

2.3.2 非编码 RNA 的结构	21
2.3.3 tmRNA 的结构	24
2.4 核酸的变性、复性和分子杂交	25
2.4.1 核酸的变性与复性	25
2.4.2 分子杂交	27
科学小故事 DNA 结构确定中的小插曲	27

## 第 3 章 基因与基因组

3.1 基因的概念与分类	30
3.2 特征基因	31
3.2.1 不连续基因	31
3.2.2 基因家族	33
3.2.3 重复基因与重复序列	34
3.2.4 跳跃基因	35
3.2.5 重叠基因	35
3.2.6 假基因	37
3.2.7 沉默基因	38
3.2.8 非编码 RNA 基因	38
3.3 基因组	39
3.3.1 噬菌体基因组	41
3.3.2 细菌基因组	43
3.3.3 酵母基因组	44
3.3.4 植物基因组	45
3.3.5 人类基因组	48
3.4 基因组大小与 C 值矛盾	49
3.5 基因组学	51
3.5.1 结构基因组学	51
3.5.2 功能基因组学	52

3.5.3 生物信息学 .....	53
科学小故事 孤独的研究者——芭芭拉·麦克林托克 (Barbara McClintock) .....	53

## 第4章 DNA的复制

4.1 DNA的半保留复制 .....	56
4.1.1 原核生物DNA半保留复制实验证明 .....	56
4.1.2 真核生物DNA半保留复制 .....	58
4.1.3 DNA的半不连续复制 .....	59
4.2 原核生物DNA合成体系 .....	60
4.2.1 大肠杆菌DNA复制酶类 .....	60
4.2.2 复制子 .....	68
4.2.3 大肠杆菌DNA复制过程 .....	69
4.3 真核生物DNA合成体系 .....	73
4.3.1 染色质复制 .....	73
4.3.2 多起点DNA复制 .....	74
4.3.3 RNA引物和冈崎片段 .....	74
4.3.4 真核生物DNA聚合酶 .....	75
4.3.5 端粒与端粒酶 .....	75
4.4 复制的多种形式 .....	77
4.4.1 滚环复制 .....	77
4.4.2 $\theta$ 式复制 .....	79
4.4.3 D环复制 .....	80
4.5 DNA复制的高度忠实性 .....	80
4.5.1 DNA聚合酶对底物的选择作用 .....	80
4.5.2 DNA聚合酶的校正作用 .....	81
4.5.3 引物RNA的起头与切除 .....	81
4.5.4 底物与 $Mg^{2+}$ 浓度的控制 .....	82
4.5.5 DNA复制后错配碱基的	

修正 .....	82
知识窗 基因缺陷存在“多米诺效应”导致更易患上癌症 .....	82

## 第5章 DNA的损伤、修复和突变

5.1 DNA的损伤 .....	85
5.1.1 自发性损伤 .....	85
5.1.2 物理因素引起的DNA损伤 .....	87
5.1.3 化学因素引起的DNA损伤 .....	89
5.2 DNA修复 .....	90
5.2.1 光修复 .....	91
5.2.2 切除修复 .....	91
5.2.3 重组修复 .....	93
5.2.4 SOS修复 .....	93
5.3 DNA突变 .....	94
5.3.1 突变原因 .....	94
5.3.2 突变方式 .....	95
5.3.3 突变类型 .....	99
5.4 突变的应用及生物学意义 .....	101
5.4.1 突变是进化的分子基础 .....	101
5.4.2 突变可产生遗传多态性 .....	101
5.4.3 突变可产生突变体 .....	101
5.4.4 突变可创造新类型物种 .....	102
5.4.5 突变是某些疾病的致病原因 .....	102
知识窗 镰刀型贫血症 .....	102

## 第6章 转录与加工

6.1 转录概述 .....	104
6.1.1 转录含义 .....	104
6.1.2 转录单位 .....	105
6.2 RNA聚合酶类 .....	106



6.2.1 原核生物 RNA 聚合酶	106	7.3.2 逆转录性质与过程	148
6.2.2 真核生物 RNA 聚合酶	109	7.3.3 逆转录酶	149
6.3 原核生物的转录	110	7.3.4 致癌病毒 RNA 的繁殖过程	150
6.3.1 大肠杆菌 $\sigma^{70}$ 启动子	110	7.3.5 乙肝病毒 DNA 的侵染过程	151
6.3.2 原核生物转录起始过程	114	科学小故事 逆转录的发现	152
6.3.3 原核生物 RNA 合成的延伸	117		
6.3.4 原核基因转录的终止	119		
6.3.5 抗终止因子	121		
6.3.6 Nus A	122		
6.4 真核生物的转录	122		
6.4.1 真核生物启动子组成	123		
6.4.2 真核生物转录延伸	129		
6.4.3 真核生物转录终止	130		
6.5 RNA 转录后的加工	131		
6.5.1 前体 mRNA 的加工	131		
6.5.2 前体 tRNA 的加工	136		
6.5.3 前体 rRNA 的加工	138		
知识窗 真核生物转录如何克服组蛋白的阻碍?	140		
<b>第 7 章 逆转录与 RNA 复制</b>			
7.1 动物、植物病毒的遗传物质	143		
7.1.1 病毒遗传物质分类	143		
7.1.2 典型病毒简介	144		
7.2 病毒 RNA 的复制	146		
7.2.1 RNA 复制酶类	146		
7.2.2 +RNA 病毒的复制和侵染	146		
7.2.3 -RNA 病毒的复制和侵染	147		
7.2.4 双链 RNA 病毒的复制和侵染	147		
7.3 逆转录	148		
7.3.1 前病毒假说	148		
8.1 遗传密码	154		
8.1.1 遗传密码的破译	154		
8.1.2 密码子的基本规律	156		
8.1.3 密码子的特殊含义	159		
8.2 蛋白质合成体系	160		
8.2.1 mRNA	160		
8.2.2 tRNA	161		
8.2.3 核糖体与 rRNA	164		
8.2.4 蛋白质合成的辅因子	169		
8.3 原核生物蛋白质的生物合成过程	169		
8.3.1 活化	170		
8.3.2 起始	172		
8.3.3 延伸	173		
8.3.4 终止	174		
8.3.5 原核生物蛋白质合成的抑制剂	176		
8.4 真核生物蛋白质的生物合成	177		
8.4.1 真核生物蛋白质合成的起始	177		
8.4.2 肽链的延伸与终止	179		
8.4.3 真核生物蛋白质合成的抑制剂	180		
8.5 蛋白质的转运	180		
8.5.1 蛋白质的转运途径	181		
8.5.2 蛋白质的共翻译转运	181		
8.5.3 蛋白质的翻译后转运	183		
8.5.4 细菌蛋白质的转运	185		
8.6 蛋白质翻译后的加工	186		

8.6.1	肽链 N 端的剪切或添加 氨基酸 .....	186
8.6.2	蛋白质的拼接 .....	187
8.6.3	个别氨基酸的修饰 .....	187
8.6.4	肽链的交联 .....	189
8.6.5	肽链的折叠 .....	189
8.7	蛋白质组学简介 .....	193
知识窗	朊病毒 .....	193

## 第 9 章 原核生物基因表达调控

9.1	概述 .....	196
9.1.1	操纵子 .....	196
9.1.2	正负调控 .....	197
9.2	DNA 水平的调控 .....	199
9.3	基因转录的时序调控 .....	200
9.3.1	枯草杆菌及噬菌体 $\sigma$ 亚基的更迭 .....	200
9.3.2	大肠杆菌热激基因的 表达 .....	202
9.4	乳糖操纵子 .....	202
9.4.1	乳糖操纵子负调控机理 .....	202
9.4.2	乳糖操纵子正调控机理 .....	205
9.4.3	乳糖操纵子正、负双重 调控效应 .....	207
9.5	色氨酸操纵子 .....	207
9.5.1	色氨酸操纵子负调控 .....	208
9.5.2	衰减子 .....	208
9.6	阿拉伯糖操纵子 .....	212
9.7	翻译水平的调控 .....	214
9.7.1	反义 RNA 的调控 .....	214
9.7.2	严谨反应 .....	216
9.7.3	核开关 .....	217
知识窗	$\alpha$ -互补、蓝白斑现象 .....	218

## 第 10 章 真核基因的表达调控

10.1	真核基因及表达特点 .....	221
10.2	染色体水平的调控 .....	221
10.2.1	基因扩增 .....	221
10.2.2	基因重排 .....	221
10.2.3	基因丢失 .....	222
10.2.4	染色质结构与基因表达 调控 .....	222
10.3	转录水平的调控 .....	226
10.3.1	转录调控的顺式作用 元件 .....	226
10.3.2	反式作用因子 .....	228
10.4	转录后水平的调控 .....	232
10.4.1	可变拼接与编辑 .....	232
10.4.2	RNA 干涉 .....	232
10.4.3	小分子 RNA .....	233
10.5	翻译水平的调控 .....	238
10.5.1	5'-UTR 对翻译的调控 .....	238
10.5.2	3'-UTR 对翻译的调控 .....	239
10.5.3	mRNA 的稳定性 .....	240
10.6	翻译后水平的调控 .....	241
10.6.1	蛋白质品种与数量的调 控 .....	241
10.6.2	蛋白质的共价修饰 .....	241
10.6.3	蛋白质的选择性降解 调控 .....	246
科学小故事	蛋白质“死亡之吻”—— 泛素-蛋白酶体系统的 发现 .....	248

## 第 11 章 分子生物学基本技术

11.1	核酸的制备 .....	251
11.1.1	DNA 的分离与纯化 .....	251
11.1.2	RNA 的分离与纯化 .....	252

<b>11.2 核酸的鉴定</b> .....	252	11.4.1 基因克隆载体 .....	263
11.2.1 核酸的凝胶电泳技术		11.4.2 重组 DNA 分子的构建	
.....	252	.....	268
11.2.2 核酸的分子杂交 .....	254	11.4.3 重组 DNA 分子导入	
11.2.3 DNA 序列分析 .....	257	宿主细胞的途径 .....	270
<b>11.3 目的基因获得与扩增</b> .....	259	11.4.4 重组子的选择与鉴定	
11.3.1 工具酶 .....	259	.....	271
11.3.2 聚合酶链反应技术 ...	261	科学小故事 溶菌酶的发现 .....	273
11.3.3 反转录-PCR .....	262	<b>主要参考文献</b> .....	275
<b>11.4 基因克隆</b> .....	263		



## 1.1 分子生物学的基本概念

分子生物学 (molecular biology), 有两个层面的含义:

从狭义水平上讲: 分子生物学偏重研究基因, 是从分子水平上研究基因的结构、功能以及遗传信息在生命体内传递、表达和调控规律的科学, 是人类由探索生命的奥秘, 进而改造生物特性的科学。

分子生物学狭义水平的含义, 是分子生物学发展初级阶段的真实写照。年轻的分子生物学仅在最近几十年里, 在研究基因的结构、合成、表达和基因表达调控以及分子生物学相关技术中兴旺发展起来, 获得的研究成果主要是体现在核酸及其相关的蛋白质水平上。本书也侧重围绕狭义的分子生物学领域, 针对比较成熟和公认的概念予以介绍与阐述。

从广义水平上讲: 分子生物学不仅从分子水平上研究基因的结构与表达机理和基因表达的产物, 如功能 RNA、蛋白质, 还要研究各种生物分子与基因间的相互作用, 以及基因表达调控和生物信息传递机理等。

分子生物学广义水平的含义, 显示了分子生物学研究的发展趋势, 其内容还在不断更新。人类研究生命的奥秘, 已经找到其根源“核酸”之后, 正从狭义的分子生物学向着广义的分子生物学领域迈进。如果说分子生物学从基因开始作为研究的“圆心”, 那么, 向广义领域的发展将是“圆的半径延伸”。辽阔的分子生物学领域正等待着我们去探索, 未来新知识和新概念正迎接着我们。每本教材都将在历史的长河中不断刷新概念。

## 1.2 分子生物学产生与发展

分子生物学是生物学科发展中出现的一个年轻分支, 其迅猛发展的历史只有最近几十年。她是在遗传学、细胞生物学、生物化学、生物物理学、生理学以及医学等学科基础上产生的一门新学科。

### 1.2.1 进化论的影响与反思

探索生命的奥秘, 了解生命的起源, 人类一直在寻找其答案。漫长的生物史, 广袤而复杂的生物种群, 困惑着人们。人类早期用上帝或神灵来敷衍解答, 世代相传中演变成宗教和迷信。“上帝的创世论”成为统治者奴役人们的工具, 严重禁锢了人们的思想, 神圣到不容怀疑、不许否定的地步。

英国伟大的生物学家达尔文 (C. Darwin) 于 1859 年发表了著名的《物种起源》一书, 提出了“物竞天择, 适者生存”的“生物进化论”, 勇敢地向“上帝创世论”的传统观念发起了挑战。他曾跟随贝格尔号军舰环球探险世界长达五年, 在晕船、饥渴、病痛、死亡的威胁下坚持搜集了大量的生物标本和资料。回国后, 又反复做大量对比实验。他的论述采用统计学、解剖学、形态学等多种方法, 用事实来分析生物产生与变化的奥秘。达尔文的研究方法和思路, 对后人进行生物科学的研究影响很大。“生物进化论”也称作“达尔文学说”, 发表距今一百多年历史, 吸引着众多科学家投身到生命科学研究之中, 推动着生命科学研究突飞猛进地发展。

当人们逐渐接受“生物进化论”思想, 将“达尔文学说”视作真理的时候。最近, 一些科学家又发表文章, 质疑“生物进化论”对生命起源的推测。他们认为: 目前所掌握的实验证据还不完全符合“低等生物是高等生物祖先”的结论。他们还认为: 进化论在短暂的历史时期而言, 它是合理的, 但从整个宇宙起源过程来看, 他的理论有待商榷。

科学就是在反思、求证中去伪存真、探索前进的。反思达尔文的“生物进化论”是科学研究中常见的一种态度。我们目前的生物知识有限, 无法揭示生命起源的秘密。达尔文的理论是否完全正确? 有待考证。但是他“冲破传统观念, 用事实说话, 揭示生命奥秘”之精神仍鼓舞着我们前赴后继, 追寻真理。

### 1.2.2 遗传学的奠基

生物的遗传遵循什么规律? 伟大的奥地利科学家孟德尔 (G. Mendel, 图 1-1) 在研究遗传性状从亲本向子代传递的规律方面开创了传递遗传学 (transmission genetics)。Mendel 在修道院担任神父, 曾经在 1857—1864 年的 7 年时间里, 种植并统计了 7 对性状差异的豌豆杂交遗传结果。于 1865 年发表了题为《植物杂交试验》(Experiments in Plant Hybridization) 论文。提出了遗传因子的分离与自由组合的两大遗传规律。他曾经将自己论文寄给当时国际著名的生物学家, 却始终得不到回音。Mendel 的研究理论超过了当时科学认识水平, 加之他这个神父没有什么“名气”, 伟大的科学发现竟埋没了将近 35 年。直到 1900 年来自荷兰、德国、奥地利等多位遗传研究者证明和支持 Mendel 的遗传因子假说和两大遗传规律后, 遗传学大发展的时代才到来。实践中人们感叹 Mendel 的伟大, 公认他为遗传学的奠基人。而此时, Mendel 已在九泉之下。

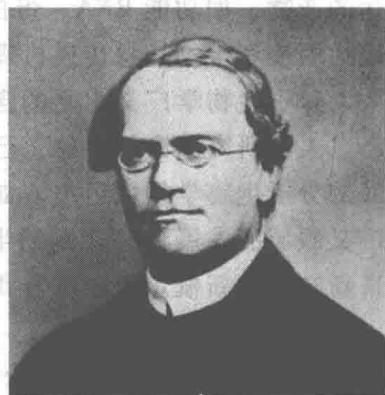


图 1-1 孟德尔 (G. Mendel)

1909 年丹麦遗传学家约翰森 (W. L. Johannsen) 创造了“基因 (gene)”一词, 用来表述 Mendel 的“遗传因子”。

1910 年美国的遗传学家摩尔根 (T. H. Morgan) 和他的助手们利用果蝇进行遗传实验, 在著名的《基因论》书中对过去人们把基因作为抽象的概念予以了更正, 证明“基因是排列在染色体上的实体。”1933 年 Morgan 荣获了诺贝尔 (Nobel) 生理学及医学奖。

### 1.2.3 生物化学的贡献

分子生物学与生物化学的联系最为密切, 生物化学 (biochemistry) 主要是从分子水平

研究四大生物分子（核酸、蛋白质、糖类、脂质）的结构与功能，阐述生物大分子合成与分解代谢的机理。分子生物学得益于生物化学的迅猛发展，生物化学史上许多重大发现为分子生物学理论的建立作出了巨大贡献。

### 1.2.3.1 遗传物质分子组成的确定

早在1869年，瑞士年轻医生米歇尔（F. Miescher）从收集废弃的外科绷带上的脓细胞开始，进行了艰难的细胞核分离提取的试验研究。他第一个分离到完整的细胞核，进而又第一个从核中提取到富含磷的化合物，他取名为核素（nuclein）。后来，他在莱茵河上游找到来源丰富、品种均一的实验材料鲑鱼精子，提取到了更加纯的核素，即核蛋白。1889年，Miescher的学生奥特曼尼（R. Altmann）进一步去除核素中的蛋白质，将纯化的产物命名为“核酸（nucleic acid）”。他们提取核酸的方法成为今天分子生物学实验的重要基石。

1910年德国生理学和化学家库赛尔（A. Kossel）首次分离到单核苷酸，并阐明核酸中三个主要成分是核糖、磷酸、碱基。1924年德国细胞学家费根（R. Feulgen）将核酸按照戊糖的不同分成两大类：一类是脱氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid, DNA），另一类是核糖核酸（ribonucleic acid, RNA）。1929年库赛尔的学生、俄裔美国生物化学家莱文（T. Levine）在DNA中进一步确定四种碱基是腺嘌呤、鸟嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶。莱文还发现核酸中四种碱基反复出现。这为后来DNA双螺旋模型的确定提供了很重要的依据。然而，他论文中并不认为DNA能够携带复杂的遗传信息，而是赞同当时流行的观点——蛋白质结构复杂，是遗传信息的载体。

人类在认识遗传物质的分子本质上走了弯路。提取到它，却忽视它将近70年。第一个用令人信服的实验证明DNA是遗传物质的当属美国微生物学家艾吾瑞（O. Avery）。从1928年开始，他围绕肺炎球菌的遗传实验进行了长达16年的研究。于1944年在《实验医学杂志》上发表论文，用遗传转化实验结果证明：当致病菌（S型）高温灭活后，与无致病菌（R型）混合时，灭活的S型菌的核酸比蛋白质耐高温，仍然能“转化”到R型菌内，R型菌子代中产生出致病的S型菌。Avery的实验结果打破了传统的“蛋白质是遗传物质”的信条，提出了新观念——DNA是遗传物质。

当时支持Avery的人太少了。事隔8年之后，美国冷泉港卡纳基遗传学实验室的科学家赫歇尔（A. Hershey）和他的学生蔡斯（M. Chase）等人用放射性同位素标记技术，从事噬菌体侵染细菌的实验研究，获得更加有力的证据支持Avery观点。他们于1952年发表论文再次证明DNA是遗传物质。论文得到媒体的广泛宣传，引起科学家们的关注，更多人用实验验证了遗传物质确实是核酸。1969年Hershey等人获得诺贝尔生理学或医学奖，而Avery已经于1955年去世，未能获得这个殊荣，成为分子生物学发展史上又一个“孟德尔”。

系统总结DNA碱基组成规律的是查戈夫（E. Chargaff）。1948—1953年间，Chargaff不仅用新的层析和电泳技术分析自己试验中DNA的碱基组成；还大量收集别人核酸实验论文，统计不同生物DNA碱基组成。从而得出了著名的查戈夫法则（Chargaff rule）：

（1）碱基当量定律：双链DNA中碱基组成分子数量符合腺嘌呤（A）等于胸腺嘧啶（T），鸟嘌呤（G）等于胞嘧啶（C）的规律。

（2）不对称比例：不同生物DNA之间，碱基组成有差异。

Chargaff 用新的视角统计和总结他人的实验结果，得出精简的结论。这是值得我们后人在知识大爆炸的时代中认真学习的。“Chargaff 法则”至今都是生物化学和分子生物学中的基础；“Chargaff 法则”也为后来 DNA 双螺旋模型的问世提供了重要的依据。

### 1.2.3.2 DNA 结构的揭晓

DNA 的结构是什么样子？人们参照已经掌握的蛋白质结构特点和核酸实验结果，猜测出很多种 DNA 结构模型。因没有确凿的实验证据，他们只能停留在“假说”水平。

1953 年沃森 (J. Watson) 和克里克 (F. Crick) 在 *Nature* 杂志上发表了 DNA 双螺旋模型的文章，轰动了全世界，于 1962 年和提供 DNA 衍射图谱的威尔金斯 (M. Wilkins) 共同获得诺贝尔生理学及医学奖。这一事件被誉为分子生物学发展史上的里程碑，成为分子生物学兴起的标志。从此，分子生物学迅速发展，并向其他学科交叉渗透。其丰硕的科研成果，也让生物学成为自然科学领域的带头学科。

这三人来自不同的专业领域，携手“揭示”DNA 结构的面纱，成为人们津津乐道的话题。Crick 曾经是英国伦敦大学物理学硕士，二战期间在英国海军研究水雷。战争结束，转向攻读剑桥大学医学博士，1951 年 Crick 已经 35 岁，在剑桥卡文迪什实验室忙于血红蛋白结构的博士论文，期间遇到了年仅 25 岁的美国生物学博士后 Watson，Watson 在研究肌红蛋白结构。这两人年龄相差 10 岁，论文方向都是研究蛋白质，却在业余时间共同话题锁定到揭示 DNA 结构上。他们对核酸的实验研究不多，只好收集他人的论文资料，借助于英国皇家医学院新西兰裔的物理专家 Wilkins 等人提供的 DNA 衍射图谱，进行分析和推理。1953 年 4 月在 *Nature* 上他们发表了 DNA 双螺旋模型论文。紧接着 5 月份他们又在 *Nature* 上发表了论文，结合 DNA 双螺旋结构，阐述“基因的自我复制与基因的突变”机理，吸引了众多生物学家对分子生物学研究的关注。1962 年当他们荣获诺贝尔生理学及医学奖之后，更是推动了分子生物学这一新学科在全世界轰轰烈烈地发展起来。

半个世纪以来，DNA 双螺旋模型揭示的光环主要照耀在 Watson 和 Crick 身上，而 Wilkins 很少有人提起，为 DNA 图谱拍摄和研究作出过巨大贡献的富兰克林 (R. Franklin) 更是鲜为人知。直到 2004 年，88 岁的 Crick 因癌症去世，人们缅怀 Crick 一生中 对生物化学和分子生物学的巨大贡献，他总结的生物信息传递的“中心法则”、翻译中的“摆动假说”等经典理论众人皆知。人们赞誉他是“DNA 之父”时，英国的一些媒体却披露了令人震惊的消息：当年参加拍摄的助手回忆并公布了 Watson 与 Franklin 的信件。更正说：Watson、Crick 当时并没有做 DNA 结构分析实验，发表在 *Nature* 上的 DNA 图谱是 Wilkins 和当年 29 岁的博士生 Franklin 拍摄的。世界一片哗然，首次听到 Franklin 的名字。

Franklin 是何人？原来她曾经以出色的物理化学专业功底，成为英国皇家医学院 Wilkins 的博士生。她聪明细心，多次拍摄了高质量的碳结构、DNA 结构图谱。博士毕业



James Watson



Francis Crick



Maurice Wilkins



Rosalind Franklin

图 1-2 揭示 DNA 双螺旋结构的主要科学家

后，留校任教。然而，Franklin 这位女性科学家一生受到歧视和不公正的待遇来自多方面，加之长期射线辐射的伤害，于1958年因卵巢癌去世，年仅37岁。人们传阅着《DNA 黑暗夫人》等相关报道，在沉痛缅怀中记住了这位女性科学家。

### 1.2.3.3 中心法则的完善

自从 DNA 双螺旋结构的揭晓，生物学家们努力寻找着合成 DNA 的酶类。1956 年美国学者科恩伯格 (A. Kornberg) 从大肠杆菌 (*E. coli*) 中分离到 DNA 聚合酶 I，为 DNA 的自我复制研究提供了帮助。1959 年他与发现合成 RNA 机制的美国科学家奥乔 (S. Ochoa) 共同分享了诺贝尔生理学或医学奖。

1958 年 Crick 又提出了遗传信息传递的“中心法则”，即  $\text{DNA} \rightarrow \text{RNA} \rightarrow \text{蛋白质}$ 。从此，围绕着“中心法则”的复制、转录、翻译机理的研究蓬勃发展起来。

1961 年在美国工作的德国人尼仁伯格 (M. W. Nirenberg) 与师兄麦特赫 (J. H. Matthaei) 一道破译了苯丙氨酸的密码子。他们带着成果参加了莫斯科举行的第五届国际生物化学交流大会，在分会场上这两个“小人物”做了研究介绍。分会场记录员汇报给国际生化理事 Crick，得到 Crick 的高度关注，邀请他俩在总会场再次报告。Nirenberg 的发言引起大会的巨大轰动。全世界科学家纷纷加入破译遗传密码的行列，仅五年时间，64 个密码子全部破译。1968 年尼仁伯格和霍利 (R. W. Holley) 以及霍雷纳 (H. G. Khorana) 共同分享诺贝尔生理学或医学奖。其中，Khorana 创立了人工合成 RNA 技术，并发明了检测遗传密码的另一种方法，加快了遗传密码的破译和校正工作。Holley 曾经阐明了酵母丙氨酸 tRNA 的序列，并证实生物中各种 tRNA 结构上具有相似性。

1960 年，美国威斯康星大学的肿瘤学家特明 (H. M. Temin)，以致癌 RNA 病毒基因的合成机理为例，对“中心法则”中  $\text{DNA} \rightarrow \text{RNA}$  单向性提出不同观点，发表了著名的“前病毒假说”，阐述这类病毒遵循“ $\text{RNA} \rightarrow \text{DNA}$ ”的特殊途径，引起世界巨大反响，质疑声不断，“逆转录的酶”在哪？Temin 背负着巨大的压力，进行了艰难的寻找工作，以求证明自己的观点。

1969 年美国的德尔布吕克 (M. Delbrück)、赫歇尔 (A. D. Hershey) 和卢里亚 (S. E. Luria) 发现了与“中心法则”不同的  $\text{RNA} \rightarrow \text{RNA}$  的病毒复制机制。而共同获得诺贝尔生理学或医学奖。

1970 年 Temin 终于在鸟类劳氏肉瘤病毒中提取到了逆转录酶。同年，美国的巴尔蒂姆 (D. Baltimore) 等人，在鼠类白血病病毒中也提取到逆转录酶。还有曾经是 Temin 的导师杜尔贝科 (R. Dulbecco) 也在肿瘤研究中支持 Temin 的“前病毒假说”。至此，“中心法则”得以完善，添加了逆转录的内容以及 RNA 的自我复制环节。一大批应用逆转录方法的研究成果也相继问世，该成果大力推进了分子生物学的深入发展。1975 年他们三人因“逆转录”的研究共同获得诺贝尔生理学或医学奖。可惜 Temin 获奖后工作至 60 岁就病逝了 (1934—1994)。

### 1.2.4 基因表达调控研究的开启

基因表达调控研究的发起人当属法国巴斯德研究所的几位科学志士。具有俄罗斯—波兰血统的利沃夫 (A. Lwoff) 是法国巴斯德研究所著名的微生物专家。他曾就读于法国巴黎大学，后来在巴斯德研究所工作期间，对微生物的研究很有成效。最早提出感染噬菌体



并生存的细菌叫“溶源性细菌”的概念。他因二战期间反法西斯而获得过抗敌勋章。二战结束后，他招募的弟子中有一些学历不高，年纪不轻，但性格坚毅，聪明好学的人。

雅各布 (F. Jacob) 就是一个刚从军队退役的年轻军医，到 Lwoff 的旗下有点改行，但经过几年的努力，他对噬菌体基因在细菌核 DNA 中整合位点进行了准确的定位。并发现了溶源性细菌对相同噬菌体感染具有“免疫力”机制以及溶源性细菌可被紫外线诱导产生新的噬菌体后代的现象。1947 年，二战结束刚两年，Jacob 就获得医学博士学位。

莫诺德 (J. L. Monod) 在 Lwoff 的带领下，从事细菌糖源的研究。后来转向对  $\beta$ -半乳糖苷酶的生化特性进行研究。他很想弄清楚，为什么该酶总量大小受环境影响？为什么乳糖有时具有诱导该酶合成作用？当 Monod 与 Jacob 相识后，两人对酶基因表达调控产生了兴趣。Lwoff 很支持他俩的“冒险”研究。两人凭着敏锐的思路，专业特长的互补，顽强的毅力和导师的参谋指导，终于在 1961 年发表了轰动世界的《蛋白质合成中遗传调节机制》论文。

他们以 *E. coli* 分解吸收乳糖的三个相关酶基因表达调控为例，首次提到“操纵子学说” (Theory of Operon)。认为原核生物中串联的一组结构基因可以被一个调节基因控制其表达。他们还提到了从 DNA 到蛋白质之间有一个遗传信息传递的中间体——信使 RNA (messenger RNA, mRNA)。

操纵子学说为基因表达调控的研究拉开了帷幕，开辟了分子生物学的一个新领域。以后的研究证实原核生物中操纵子存在的普遍性，还发现了衰减子调控机理。操纵子学说也为后来寻找到 mRNA 起到了促进作用。1965 年他们三人共同获得诺贝尔生理学及医学奖。

### 1.2.5 基因工程技术的兴起

以基因工程为代表的分子生物学技术的发展，给分子生物学发展注入了强大的活力。人类从此由认识生物，发展到改造生物的新境界。

1965 年瑞士的微生物遗传学家阿尔伯 (W. Arber) 首次提出生物体内存在一种切割 DNA 的限制性核酸内切酶 (restriction enzyme, RE)，并于 1968 年首次分离到 I 型 RE。1970 年史密斯 (H. O. Smyth) 分离到 II 型 RE。这些“工具酶”如同生物“手术刀”，在提取特定基因以及基因组测序中起到关键作用。1970 年美国的内森斯 (D. Nathans) 则用 RE 将 SV40 病毒的 DNA 切割后，分段检测，绘制了 SV40 的基因组图谱。他们三人于 1978 年分享诺贝尔生理学及医学奖。

1967 年盖勒特 (M. Gellert) 从大肠杆菌中发现了 DNA 连接酶。这类工具酶又如同“缝合器”，在基因重组中发挥了巨大作用。1973 年科恩 (S. N. Cohen) 和波耶 (H. W. Boyer) 等人将 *E. coli* 中两种不同特性的质粒片段重组出新型质粒，再导入到细菌中复制。推动了分子克隆 (molecular cloning) 等基因工程技术的发展。

1975 年 Southern 发明了凝胶电泳分离特定 DNA 的印迹技术。

1958 年英国剑桥大学的桑格 (F. Sanger) 发明了双脱氧末端终止法用于 DNA 的序列测定，被誉为 Sanger 反应。1977 年吉尔伯特 (W. Gilbert) 发明

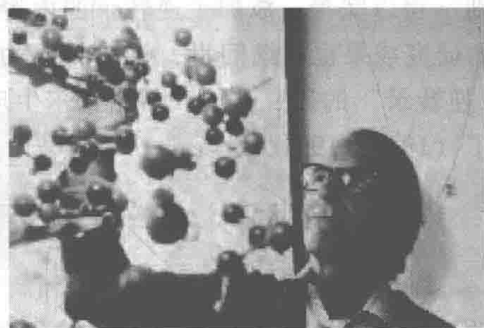


图 1-3 F. Sanger