



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

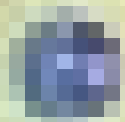
分子遗传学

MOLECULAR GENETICS

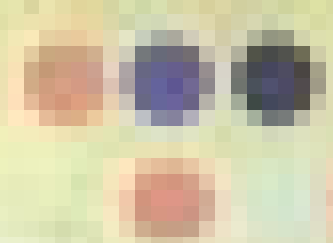
主 编 徐晋麟



高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS



中国科学院植物研究所 中国科学院昆明植物研究所



分子遗传学

MOLECULAR
GENETICS

第二版

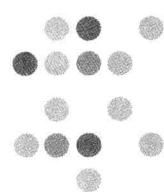




普通高等教育“十一五”国家级规划教材

Fenzi Yichuanxue

分子遗传学



MOLECULAR
GENETICS



主 编 徐晋麟

副主编 陈 峰

编著者 (按姓氏拼音排序)

陈 淳 陈 峰 庞小燕

徐晋麟 徐 沁 赵耕春



高等教育出版社·北京
HIGHER EDUCATION PRESS BEIJING

内容提要

本书为普通高等教育“十一五”国家级规划教材,共10章,内容以中心法则为纲,由浅入深地阐明DNA的结构、复制、转录、加工、翻译及调控。此外还介绍了损伤与修复、基因突变、重组、转座、发育和分子进化。每章后附有习题。

本书内容新颖,纳入了近年的一些新发现、新理论和新成果。本书在介绍每项成果时,着重介绍发展的过程,以期使读者受到启迪,贯彻“授人以渔”的理念。本书文字流畅,插图丰富,资料翔实,力图达到图文并茂。

本书可供综合、师范、农林、医学院校生命科学相关专业的本科生和研究生使用,也可供相关专业的教师及科研人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

分子遗传学 / 徐晋麟主编. —北京:高等教育出版社, 2011.6

ISBN 978 - 7 - 04 - 032463 - 1

I. ①分… II. ①徐… III. ①分子遗传学 - 高等学校 - 教材 IV. ①Q75

中国版本图书馆CIP数据核字(2011)第128805号

策划编辑 王 莉
责任校对 杨雪莲

责任编辑 高新景
责任印制 韩 刚

封面设计 赵 阳

责任绘图 尹 莉

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 北京市密东印刷有限公司
开 本 889 × 1194 1/16
印 张 23.5
字 数 720 000
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.landracom.com>
<http://www.landracom.cn>
版 次 2011年6月第1版
印 次 2011年6月第1次印刷
定 价 46.00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 32463 - 00

前 言

分子遗传学是在分子水平研究基因结构与功能的遗传学分支学科,是体外重组技术的重要理论基础,也是生命科学最为活跃的领域之一。这门课程于20世纪80年代起在国内一些高等院校陆续开设,随之出版了各具特色的教材。其中最具有影响力的是两本教材,一本是1998年由复旦大学盛祖嘉和沈仁权教授编著的《分子遗传学》,另一本是孙乃恩等1990年编写出版的《分子遗传学》。前者颇具特色,并不按照一般的思路编写,而是从基因组展开,资料丰富,内容深入,数据翔实,论述严谨,比较适合于研究生使用;后者是以B. Lewin的*GENES II* (1985,第2版)、J. D. Watson等的*Molecular Biology of the Gene* (1987,第4版)和D. Freifelder的*Molecular Biology* (1983)3本名著为基础编写而成,文字流畅,内容翔实系统,一度成为国内高校普遍采用的教材。如今*GENES X*已于2010年出版,2005年的*Molecular Biology of the Gene* (第5版)中译本也已问世,这些书的内容和以前相比,可谓面目全非,而孙乃恩等编写的教材仍未能更新,实是可惜。

生命科学发展之快令人目不暇接,作为生命科学前沿学科分子遗传学更是日新月异。为了适应学科的发展,我和同事们参考了B. Lewin的名著*GENES IX*,著名科学家J. D. Watson等著的*Molecular Biology of the Gene* (第5版)及近年来出版的相关书籍和文章,同时在我们编写的《现代遗传学原理》(2005,第2版)基础上,将分子遗传学部分独立出来,去粗取精,吐故纳新,纳入近年来的新成果、新理论、新技术和新概念,编成《分子遗传学》,以为读者提供更新、更丰富的内容。

本书共分10章,70余万字,450余幅插图,以期达到图文并茂,适合54~72学时教学使用。为了使读者更好地掌握基础知识和基本理论,每章后附有习题。

由于水平有限,书中内容难免有疏漏之处,希望读者不吝赐教,以便更正。在编写的过程中,我们得到了高等教育出版社王莉、高新景编辑的支持和帮助,对他们的辛勤劳动表示衷心的感谢。

作 者

2011年3月

目 录

绪论	1	二、Taylor 实验	38
一、分子遗传学研究方法	1	三、Cairns 复制模型	39
二、经典遗传学和分子遗传学	2	第二节 复制的起点、方向和终点	40
三、分子遗传学和分子生物学	3	一、研究方法	40
四、分子遗传学的起源与发展	3	二、原核生物 DNA 的复制起点和方向	42
第一章 遗传信息的载体——DNA		第三节 DNA 复制突变型的筛选	42
与染色体	8	一、质粒温度敏感性的筛选	42
第一节 遗传物质的发现、功能和组成	8	二、快停突变与慢停突变	42
一、遗传物质的发现	8	第四节 DNA 聚合酶	43
二、Hershey-Chase 的噬菌体侵染实验	10	一、DNA 聚合酶 I	44
三、RNA 也是遗传物质	11	二、DNA 聚合酶 III	45
第二节 DNA 和 RNA 的化学组成及双螺旋模型的诞生	12	三、真核生物的 DNA 聚合酶	47
一、DNA 和 RNA 的化学组成	12	第五节 与 DNA 合成有关的其他蛋白质	47
二、DNA 双螺旋模型的诞生	14	一、DNA 连接酶	47
第三节 DNA 的结构和性质	14	二、单链结合蛋白	48
一、DNA 双螺旋结构	14	三、解旋酶	48
二、DNA 二级结构的稳定因素	16	四、DNA 拓扑异构酶	49
三、双螺旋结构的多型性	17	第六节 DNA 复制的过程	50
四、DNA 二级结构的类型	19	一、原核 DNA 的复制起始点和方向	50
五、超螺旋	21	二、半不连续复制	51
第四节 DNA 的变性和复性	23	三、复制体和回环模型	53
一、DNA 变性的影响因素	23	四、环状 DNA 复制的终止	55
二、DNA 的复性动力学	24	五、滚环复制模型	56
第五节 真核生物的染色体	25	第七节 真核生物的 DNA 复制	59
一、染色质	26	一、真核生物 DNA 复制的特点	59
二、染色体的四级结构	27	二、端粒酶与真核生物 DNA 复制的终止	62
三、着丝粒	30	三、线粒体的 D 环复制	62
四、端粒	33	四、组蛋白八聚体的装配	64
习题	35	五、复制的调节	64
第二章 DNA 与染色体的复制	37	习题	67
第一节 DNA 半保留复制的验证	37	第三章 RNA 的转录与加工	69
一、Meselson-Stahl 实验	37	第一节 RNA 的酶促合成	69
		一、RNA 合成的基本特征	69
		二、RNA 聚合酶的特点	70

三、细菌 RNA 聚合酶	70
第二节 原核生物的转录	71
一、原核生物的启动子	71
二、转录起始	73
三、转录延伸	74
四、转录终止	74
第三节 真核生物的转录	77
一、真核生物的 RNA 聚合酶	77
二、真核生物的启动子	78
三、RNA 聚合酶 II 的转录起始	83
四、真核基因转录的终止	84
第四节 转录后加工	84
一、原核生物 tRNA 和 rRNA 的加工	85
二、真核生物 tRNA 和 rRNA 的加工	86
三、前体 mRNA 的加工	89
四、内含子的剪接	93
五、剪切型核酶	102
六、RNA 编辑	105
习题	108

第四章 遗传密码与翻译

第一节 遗传密码的破译	109
一、遗传密码的试拼	109
二、利用突变来解读密码	110
三、Crick-Brenner 实验验证三联密码	110
四、无细胞系统用于破译遗传密码	111
五、三联体结合实验	112
六、利用重复共聚物破译密码	113
七、起始密码子和终止密码子的确定	114
八、遗传密码的证实和特点	115
第二节 tRNA 与核糖体	117
一、tRNA 的三叶草型结构	117
二、tRNA 的 L 形结构	118
三、核糖体的结构	119
四、核糖体的活性部位	120
第三节 氨酰-tRNA 的形成	121
一、tRNA 对氨基酸的识别	121
二、氨酰-tRNA 的形成	122
三、氨酰-tRNA 合成酶的校正作用	124
第四节 蛋白质的合成:起始	125
一、细菌的翻译起始	126
二、真核生物蛋白质合成的起始	130
第五节 蛋白质的合成:延伸和终止	135
一、肽链合成的延伸	135
二、肽链合成的终止	140

第六节 翻译后的加工	141
一、N 端甲基的去乙酰化或甲基的切除	141
二、二硫键的形成	141
三、化学修饰	141
四、蛋白质剪切和剪接	141
习题	143

第五章 原核生物与噬菌体的基因

表达调控

第一节 转录水平的调控	145
一、调节基因和结构基因	145
二、正调控和负调控	146
第二节 操纵子模型	147
一、乳糖操纵子	147
二、阻遏蛋白的活性	149
第三节 操纵子的其他调控形式	152
一、半乳糖操纵子	152
二、阿拉伯糖操纵子	153
三、色氨酸操纵子	155
第四节 DNA 重排对转录起始的调控	156
一、沙门氏菌的相转变	156
二、Mu 噬菌体的“G”片段倒位	158
第五节 RNA 聚合酶转录起始的调节	159
一、 σ 因子的替代调控转录起始	159
二、修饰核心酶、替换 σ 亚基	159
三、RNA 聚合酶的代换	160
第六节 转录终止的调控	161
一、衰减作用	161
二、蛋白质介导的 RNA 变构调控	163
三、核开关	165
四、抗终止作用	166
第七节 翻译的调控	167
一、翻译起始的调控	168
二、稀有密码子调控翻译的延伸	173
三、翻译的终止调控	174
第八节 λ 噬菌体生活周期的调控	181
一、 λ 噬菌体裂解周期的级联调节	182
二、 λ 噬菌体溶源周期的建立和维持	183
三、和溶源化有关的调节	187
四、溶源周期和裂解周期的平衡	190
习题	192

第六章 真核生物的基因表达调控

第一节 染色体水平的调控	193
--------------------	-----

一、染色体丢失	193	第八章 重组与转座	255
二、染色体扩增	193	第一节 重组机制	255
三、染色体重排	196	同源重组模型	256
第二节 染色质水平的调控	199	第二节 同源重组和酶	259
一、异染色质化	199	第三节 非同源重组	261
二、DNase 的敏感性和基因表达	200	一、保守性位点特异性重组	261
三、组蛋白对基因表达的调节	201	二、模板选择性重组	265
四、非组蛋白的调节功能	203	第四节 转座重组和转座因子	266
五、边界元件	204	一、转座因子的发现	267
第三节 转录水平的调控	206	二、原核生物中的转座因子的发现	269
一、顺式作用元件	206	三、转座因子的类型	270
二、反式作用因子	206	四、转座的分子机制	275
三、真核基因表达的时空性及对环境因素的 应答	210	五、真核生物的转座因子	277
第四节 转录后调控	213	六、真核生物的反转录转座子	281
一、转录后加工	213	七、转座的遗传效应	284
二、转录后沉默	214	第五节 非同源末端连接	285
三、mRNA 的细胞内定位	218	一、免疫球蛋白基因及其重排	285
第五节 翻译的调控	218	二、体细胞重组的分子机制	288
一、翻译的起始调节	218	习题	289
二、硒代半胱氨酸的插入	219	第九章 发育的遗传基础	291
三、mRNA 的结构和翻译的效率	220	第一节 高等生物的细胞核是否有 全能性	292
四、选择性翻译	221	一、植物细胞核的全能性	292
五、3' UTR 对翻译的调控	221	二、两栖动物的核移植	293
六、移框	221	三、克隆羊的诞生	293
七、翻译的自我调节	222	第二节 生殖细胞和体细胞	294
第六节 表观遗传	222	一、细胞骨架	294
一、DNA 甲基化与亲本印记	222	二、细胞骨架纤维内在的不对称性	294
二、X 染色体的剂量补偿	225	三、生殖系的定位决定	295
三、副突变	227	第三节 位置信息的建立	297
习题	229	一、细胞骨架的对称性和果蝇的前后轴	298
第七章 DNA 损伤、修复与基因突变	230	二、细胞信号和果蝇的背腹轴	299
第一节 DNA 损伤起源和类型	231	三、两种类型的位置信号	301
一、内源性损伤	232	第四节 利用位置信息建立细胞命运	302
二、外源性损伤	234	一、位置信息的起始翻译	302
第二节 DNA 损伤的修复机制	238	二、精确实行命运的分配	303
一、直接修复	238	三、级联调节	305
二、切除修复	239	第五节 图式形成的其他方面	305
三、复制后修复	243	一、存储细胞命运的记忆系统	305
第三节 基因突变	249	二、通过定向决定确保命运定位	306
一、基因突变的类型	249	三、发育的途径是“塞子”和“模块”的排列	307
二、突变的原因	250	四、凋亡	308
习题	254		

第六节 在脊椎动物和昆虫中的图式形成的平行性	311	二、基因组功能的进化	333
第七节 动物的性别决定和分化	313	第三节 分子进化的分析方法	334
一、性别决定的途径	313	一、分子钟和中性突变学说	335
二、果蝇的性别决定	313	二、基因树	336
三、哺乳动物的性别决定	317	三、自展分析法	339
四、植物花器官的发育和分化	319	第四节 新基因的起源	339
第八节 胚胎干细胞	321	一、基因的重复和趋异	340
一、干细胞的发现	321	二、外显子混编	341
二、胚胎干细胞的形成和特点	322	三、反转录转座	342
三、干细胞全能性的调控	324	四、基因水平转移	343
四、干细胞研究技术的应用	325	五、非编码序列进化为新基因	344
习题	326	第五节 蛋白质的进化	344
第十章 分子进化	327	一、DNA 多态性与多基因家族的进化	344
第一节 核酸的进化	327	二、人类血红蛋白的进化	345
一、逆向理论	328	第六节 线粒体的进化和人类的起源	348
二、细胞起源理论	328	习题	350
三、共进化理论	329	主要参考文献	352
第二节 基因组的进化	330	索引	357
一、基因组结构的进化	330		

绪 论

分子遗传学(molecular genetics)是在分子水平研究基因的结构与功能的遗传学分支学科。分子遗传学主要研究遗传物质的化学本质、DNA 复制、基因的表达与调控、DNA 的重组、细胞间遗传信息的横向转递、DNA 的损伤与修复及进化等分子机制。分子遗传学研究的对象是从微生物到人类,其早期研究都以微生物为材料,而现在研究的重点已转移到真核生物,特别是植物和人类。

一、分子遗传学研究方法

分子遗传学的研究方法和经典遗传学的大不相同(表 1)。经典遗传学(1900—1953 年)是以杂交为主要实验方法,通过观察比较生物体亲代和杂交后代的性状变化,进行数量分析,从而了解与生物性状相关的基因及其突变与传递的规律。这是遗传学的杂交分析时代,即从生物体的性状改变来认识基因,是谓正向遗传学(forward genetics)。从 20 世纪 50 年代以后,分子遗传学脱颖而出,急剧地演变为运用物理学和化学的原理和实验技术,在分子水平上揭示基因的结构和功能,以及两者之间的关系,即从基因的结构出发来认识基因的功能,故称之为反向遗传学(reverse genetics)。

表 1 分子遗传学和经典遗传学之间的差异

分子遗传学		经典遗传学
研究的目标	基因的结构和功能	遗传信息纵向传递的规律
研究的层次	分子水平	染色体水平
研究的策略	反向遗传(基因→表型)	正向遗传(表型→基因)
研究的方法	理化实验和 DNA 的构象分析	杂交,镜检和统计分析
主要理论基础	双螺旋模型,一基因—酶学说,顺反子,操纵子模型,中心法则,遗传密码和信息论	分离法则,自由组合法则,连锁法则和概率论

分子遗传学的研究方法主要有下面几种。

(一) 建立模型

根据观察到的现象或获得的实验结果建立一种模型来加以解释,以揭示其分子机制。例如,双螺旋模型、操纵子模型等。

(二) 理化实验和构象分析

分子遗传学几乎完全不采用杂交和统计分析方法,而是常用 DNA(或 RNA)的抽提、分离、纯化、测序、酶切、电泳、分子杂交、定点突变、体外扩增(PCR)、体外表达和基因打靶等理化实验方法。在对 DNA 大分子结构的研究中还经常应用电子显微镜技术。在对某些调节因子及酶的结构分析中也常用 X 射线衍射技术。基因组学问世后,生物信息学也成为分子遗传学中某些领域(如分子进化)常用的方法。

二、经典遗传学和分子遗传学

经典遗传学揭示了遗传信息纵向传递的规律,为分子遗传学打下基本的理论基础,同时也提供了更为深入的研究线索。分子遗传学就沿着这些线索,由表及里探寻相应的分子机制。分子遗传学是经典遗传学的延伸、深入和升华。例如,1938年 M. M. Rhoades 首次发现不稳定突变等位基因(unstable mutant allele),即一种回复突变率很高的等位基因。1951年 McClintock 在此基础上提出转座(transposition)和跳跃基因(jumping gene),进一步解释了不稳定突变等位基因的本质。1969年 J. A. Shapiro 在 *E. coli* 中发现了转座因子(transposable element),并建立了转座的 Shapiro 模型,从分子水平解释了转座的机制(见第九章)。

1940年 C. P. Oliver 首次报道了基因内重组(intragenic recombination)的现象。他发现位于果蝇 X 染色体上菱形眼(lozenge)基因座的两个隐性等位基因“眼镜眼”(spectacle eye)基因(lz^s)和“玻璃眼”(glassy eye)基因(lz^g),它们被认为是一对等位基因,即同一个基因的不同形式。这个资料被用于 X 染色体上同一个基因座的作图。它们有着相似的眼突变表型,杂合体(lz^s/lz^g)雌性也表现为菱形眼。当用 lz^s/lz^g 雌蝇与 lz^+ 或 lz^s 雄蝇交配,并检查了大量后代时,发现有 0.2% 的个体具有正常的野生型眼。野生型的产生可解释为 lz^s 或 lz^g 基因发生了回复突变,但有两点理由可充分地否定此解释:①在菱形眼的雄果蝇中 lz^s 或 lz^g 基因的回复突变率远低于 0.2%;②在菱形基因座两侧带有遗传标记的 lz^s/lz^g 杂合体雌蝇中,极少的后代具有野生型眼,这些雌蝇 X 染色体上的 lz^+ 基因侧翼标记总是发生重组。而且当 lz^s 和 lz^g 两个基因之间发生交换时,侧翼标记总是发生相同的重组(图 1)。在这些后代中侧翼标记(A, b)绝不会同时出现在一条染色体上。Oliver 认为这些野生型等位基因的出现是由于在菱形眼基因座内发生了交换的结果。但 Oliver 不能鉴别这种双突变,是由于他不能识别来自亲本的单个表型。鉴别野生型后代和由于在菱形基因中发生交换而产生的双突变染色体的变型,这些突变型是在菱形基因座的两侧的一些位点发生了突变。M. M. Green 称这些突变位点为侧翼标记(flanking marker)。如果交换发生在菱形眼基因座内,就会产生一个侧翼标记发生重组的染色体,并且在野生型基因 lz^+ 附近出现固定的标记。例如,在 lz^s/lz^g 杂合体雌性 X1 染色体的菱形眼基因座附近带有重组侧翼标记,则野生型后代 X 染色体应在菱形眼基因座发生基因内重组,也就是说 lz^+ 始终是伴随着侧翼标记的重组而发生。M. M. Green 使用了许多对这样的侧翼标记,实验结果均与预期相符,这充分地说明 lz^s 和 lz^g 是位于基因座的不同位置上, lz^+ 染色体的产生是由于在 lz^s 和 lz^g 两个突变位点之间发生了交换。这项研究的结果首次表明基因要比“念珠”复杂得多。研究揭示基因是可分的,它含有的位点通过交换是可以分开的。

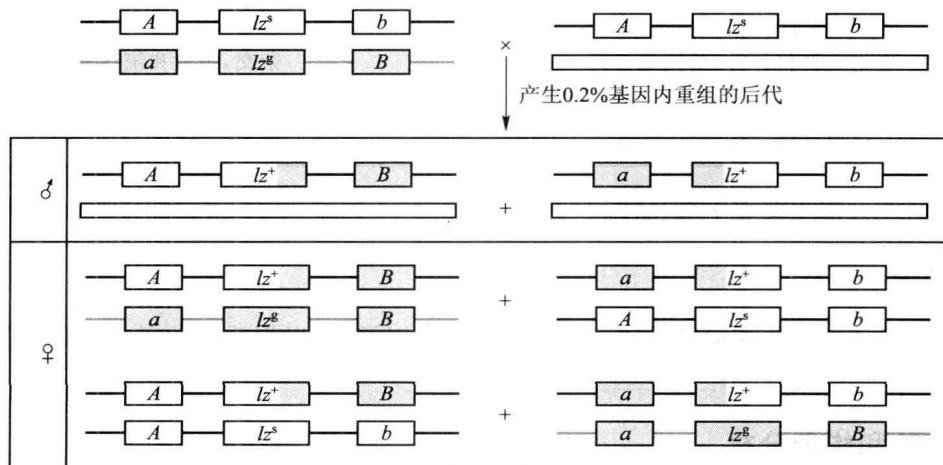


图1 C. P. Oliver 所进行的果蝇 X 染色体上菱形基因座的两个隐性等位基因 lz^s 和 lz^g 的基因内重组实验

染色体两侧 A, B 是标记基因, 标记基因之间是菱形基因座。当杂交后代出现野生型眼时, 标记基因总是发生重组, 表明出现野生型不是 lz^s 和 lz^g 基因发生回复突变, 而是 lz^s 和 lz^g 基因发生了基因内重组

1942年 A. H. Sturtevant 的学生 E. B. Lewis 发现在黑腹果蝇的显性突变型星眼(*star*, S)的杂合体(S/+)

具有比野生型稍小的复眼,而隐性突变型星眼(*asteroid*, *ast*)的纯合体(*ast/ast*)的复眼更小。这两个突变型基因都在2号染色体上,在唾腺细胞的2号染色体上占有两条并列的显著横纹,相距0.02图距单位。这两个基因的顺式构型($++/S\ ast$)果蝇的复眼几乎和野生型的一样,而反式构型($+ast/S+$)的果蝇则具有较小的突变型复眼。这个结果用星眼(*star*, *S*)突变的不完全显性是难以解释的。随后 E. B. Lewis 用两个眼色突变(白色眼 *w* 和杏色眼 *apr*)又进行了相似的实验,而获得了容易解释的结果。*apr*(现称为 w^a)和 *w* 是果蝇 X-连锁隐性突变基因,*apr* 的纯合体为杏色眼,*w* 的纯合体为白色眼,与之相对的是野生型红色眼(w^+)。Lewis 于 1942 年报道杂合体(*apr/w*)雌蝇绝大部分为淡杏色眼,但也有很少的红色眼的子代,这些红眼子代带有重组($apr w^+$)的染色体。Lewis 能鉴别出那些 *apr w* 交互重组基因型的子代。他观察到 *apr w* 突变之间的重组率为 0.03%,显然 *apr* 和 *w* 是可以通过重组而分开的。依照经典的基因概念,*apr* 和 *w* 不是一对等位基因。当 Lewis 获得的基因型为 *apr w/apr^+ w^+* 果蝇时,眼为红色,就像野生型果蝇的眼色;当获得的基因型为 *apr^+ w/apr w^+* 果蝇时,眼为淡杏色(图 2)。两种基因型都含有相同的突变型和野生型的遗传信息,但排列不同。当两个突变基因在染色体上呈顺式排列时,表型为野生型,反式排列表型为突变型,这种因排列方式不同而表型不同的现象被 E. B. Lewis 称为顺反位置效应(*cis-trans position effect*),又称为位置拟等位基因。在此基础上,1955 年 S. Benzer 用细菌为实验材料,提出了“顺反子”概念,使基因的概念从“经典”走向了“现代”。

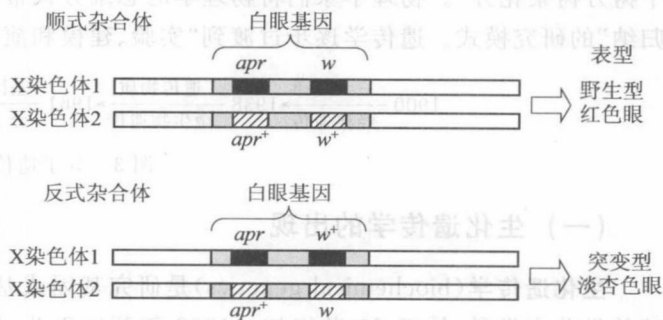


图 2 E. B. Lewis 进行的顺反位置效应实验
apr 为杏色眼基因, *w* 为白色眼基因。这两个基因连锁在 X 染色体上

三、分子遗传学和分子生物学

分子遗传学主要的研究对象是核酸,而分子生物学是在分子水平研究大分子(蛋白质、核酸和多糖)的结构和功能。那么分子生物学是否涵盖了分子遗传学?回答是否定的。虽然分子生物学也涉及核酸,但研究的深度远不及分子遗传学。而分子遗传学的研究领域同样也涉及蛋白质,但不是所有的蛋白质,而是和基因的结构、功能及表达紧密相关的一些蛋白质,如 DNA 聚合酶、RNA 聚合酶和一些表达调控因子等。因此可以说,分子生物学和分子遗传学各有侧重。分子生物学早期的研究主要是利用物理和化学的方法来研究大分子的结构。例如,1938 年 W. T. Astbury 和 F. D. Bell 首次发表脱氧核糖核酸的 X 射线衍射研究。同年 J. D. Bernal 等发表胰蛋白酶和血红蛋白的 X 射线衍射研究。1949 年 L. Pauling 等证明 H^s 基因产生异常血红蛋白,并提出了“分子病”的新概念。1951 年 L. Pauling 和 R. B. Corey 对蛋白质的结构提出了 α 螺旋模型。1955 年 F. Sanger 和他的 5 位同事首次报道一种蛋白质的一级结构,显示胰岛素含有两条多肽链,通过二硫键相连接。1955 年 D. W. Green 等用 X 射线衍射晶体分析研究了血红蛋白的结构。1957 年 J. C. Kendrew 等用 X 射线衍射建立了肌红蛋白分子的三维结构模型等。同年 F. Sanger 和 H. Tuppy 用纸层析首次分析了胰岛素的苯丙氨酰氨基链的氨基酸序列。

四、分子遗传学的起源与发展

分子遗传学的形成含有 4 项重要的基石:那就是遗传物质的分子结构、适合分子遗传学的基因概念、操纵子模型的建立和遗传密码的破译。分子遗传学的发展是一个逐步的过程,遗传学的发展史为分子遗传学的形成画出了一条清晰的轨迹(图 3)。即从经典遗传学发展到生化和微生物遗传,并在此基础上发展成分子遗传学。科学的发展是历史的必然,但某些偶然的因素也成了重要的促进剂。1944 年,量子力学创始人之一的奥地利物理学家、诺贝尔物理学奖(1933 年)得主 E. Schrödinger 出版了《生命是什么》一书,通俗系统地介绍了遗传学的基本定律,提出基因能够逐代传递而保持不变是因为“携带它们的染色体是一种非周期晶体”的观点。

他认为这种非周期晶体是由少量的同分异构单体的连续体所组成,再由这种“连续体”组成了遗传密码。他用民用电报的莫尔斯电码中“滴”(·)和“答”(—)两个符号的排列组合来解释遗传密码可能具有的极大信息量。另外他指出:“有机化学家在研究越来越复杂的分子时,已经十分接近于那种‘非周期晶体’了,依我看来,那正是生命的物质载体。因此,有机化学家对生命问题已作出了重大贡献,而物理学家却几乎毫无作为,也就不足为奇了”,并号召物理学家通过遗传学研究来发现“新的物理学定律”。在 E. Schrödinger 的激励和鼓动下,一些年轻的物理学家离开了他们自己的专业,而进入到遗传学这个新的研究领域。例如,建立 DNA 双螺旋模型的著名科学家 F. H. C. Crick,他将 DNA 制备成晶体进行 X 射线分析;获得清晰的 DNA 射线照片的 R. E. Franklin 和 M. Wilkins,证实噬菌体的遗传重组的 M. Delbrück 等都是来自物理学“阵营”的科学家。这些物理学家的加盟虽然并没有发现新的物理学定律,却引发了一场生命科学的革命,真可谓“忽如一夜春风来,千树万树梨花开”。物理学家们将物理学的思维方式带到了遗传学中,改变了传统生物学家那种“观察、描述和归纳”的研究模式。遗传学逐步过渡到“实验、建模和演绎”的分子遗传学时代。

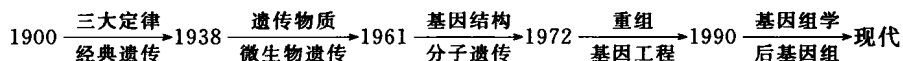


图3 分子遗传学的发展轨迹

（一）生化遗传学的出现

生化遗传学(biochemical genetics)是研究基因或基因组在细胞和/或机体代谢过程中的作用及其规律的遗传学分支学科,始于20世纪初。1902年英国医生 A. Garrod 通过对尿黑酸尿(alkaptonuria, AKU)、白化病、胱氨酸尿症和戊糖尿症4种代谢疾病的研究,首次提出了“先天性代谢缺陷”的概念,建立了“一个突变基因一个代谢障碍”(one mutant gene-one)的观点。1941年 G. W. Beadle 和 E. L. Tatum 创立了一种研究代谢途径遗传控制的新方法,即用 X 射线处理,诱发脉孢菌发生突变,用选择性培养基加以鉴别,通过大量的实验将“一个突变基因一个代谢障碍”的概念发展为“一基因一酶”(one gene-one enzyme)学说。此学说首先阐明了基因是通过对酶的控制来决定性状的,对以后基因的结构和功能的研究产生了深远的影响,对分子遗传学的诞生起了“助产”的作用。在这个阶段还未能能在分子水平上研究基因的结构和功能。

（二）微生物遗传学的兴起

经典遗传学一般是以真核生物为材料(如豌豆、果蝇和玉米等),以杂交的方式来研究基因纵向传递的规律。而微生物遗传学的显著特点之一是以微生物为材料,但也常以杂交的方式进行研究;特点之二是多研究遗传信息的横向传递,如转化、转导、接合、转染和性导等。1928年 F. Griffith 发现肺炎链双球菌(*Streptococcus pneumoniae*)的转化现象。1944年, O. T. Avery 等通过体外实验揭示了肺炎链双球菌遗传物质转化的实质,并证明遗传物质是 DNA,而不是蛋白质。1943年 S. E. Luria 和 M. Delbrück 论证抗性突变是细菌的固有特征,是通过试剂选择出来的,而不是被试剂诱变而产生的。1946年 J. Lederberg 和 E. L. Tatum 发现了细菌的遗传重组。1952年 J. Lederberg 和 N. D. Zinder 发现了广泛性转导现象。同年 A. D. Hershey 和 M. Chase 用标记噬菌体感染实验再次证实遗传物质是 DNA,而不是蛋白质。1955年 S. Benzer 用微生物进行实验,建立了染色体的精细作图方法和互补测验,提出了“顺反子”(cistron)概念。顺反子的提出对分子遗传学的产生意义重大,因为顺反子突破了经典遗传学中“基因”的概念,认为基因仅是一个遗传的“功能单位”,而不是“重组单位”和“突变单位”。也就是说,基因内部是可以重组的,最小的重组单位和突变单位是碱基,而不是基因。

微生物遗传学的产生和发展为分子遗传学的产生铺平了道路,但它并不能代替分子遗传学,分子遗传学的研究材料、方法和着眼点和微生物遗传学都是不同的。

（三）分子遗传学的诞生

1953年 J. D. Watson 和 F. H. C. Crick 建立了 DNA 双螺旋模型,这为分子遗传学奠定了最为重要的基

础,但从整体而言,当时还处在微生物遗传学时期,因为此时遗传密码尚未破译,还难以从分子水平来研究基因的结构和功能。其实早在 1938 年 W. T. Astbury 和 F. D. Bell 就已发表脱氧核糖核酸的 X 射线衍射研究结果,并为 DNA 的结构提出了框架。但我们不能认为 1938 年就已经产生了分子遗传学。同样的道理,在 1951 年 B. McClintock 就首先发现了玉米中的转座因子。她的实验方法是比较经典的,但其结论是分子水平的。正是由于当时仍处于微生物遗传学时期,人们对“基因”的认知尚未能达到分子水平,所以才将 B. McClintock 的发现视为“天方夜谭”,将她看成“另类”。也正因为如此,现在人们公认 B. McClintock 的伟大发现是超时代的。

将 20 世纪 60 年代作为分子遗传学时期的开始比较合适。这一时期的成果主要有:1958 F. H. C. Crick 提出中心法则,确定了基因流的方向,也成为分子遗传学研究内容的“纲”。1961 年法国的 F. Jacob 和 J. Monod 提出了操纵子模型,使人们认识到基因的表达是受到调控的。而在经典遗传、生化遗传和微生物遗传时期都未涉及基因的调控。同年 F. H. C. Crick、L. Barrett 和 S. Brenner 等证实了遗传密码为“三联密码”。接着,1964 年又由美国遗传学家 C. Yanofsky 等确定大肠杆菌色氨酸合成酶的基因和蛋白产物的共线性。同年英国的 R. Holliday 提出 DNA 重组的“Holliday”模型。此后真核生物的分子遗传学研究才逐渐开展起来。1965—1967 年美国的 M. W. Nirenberg 和 H. G. Khorana 先后通过“三联体结合实验”和“重复共聚物实验”破译了除终止密码子以外的全部有义密码子,解决了遗传密码问题。这一阶段起才真正进入了分子遗传学时期。

以上可以看出分子生物学的产生要略早于分子遗传学,但两者并不是从属的关系,而是并驾齐驱,相互交叉。

(四) 分子遗传学的发展趋势

分子遗传学并不是遗传学发展的“尽头”。随着社会的进步,分子遗传学的发展有以下几种趋势。

1. 由纯理论向应用方向发展

在 20 世纪 60 年代后期,分子遗传学领域已是硕果累累,成就辉煌。1961 法国巴斯德研究所的 F. Jacob 和 J. Monod 建立操纵子模型。1962 年瑞士的 W. Arber 提出限制与修饰假说来解释宿主对噬菌体生长的限制。1965—1967 年美国国立卫生研究院的 M. W. Nirenberg 和威斯康星大学的 H. G. Khorana 分别破译了全部有义密码子。1966 年 B. Weiss 和 C. C. Richardson 就已经分离了 DNA 连接酶,这就可以对 DNA 进行体外加工了。1968 年, H. O. Smith 等分离出第一个限制性核酸内切酶。这些成果也为基因工程的诞生铺平了道路。理论研究向应用转移也是社会发展的需要,是人类对自然科学研究的期盼。但分子遗传学从科学理论转化为生产力的周期之短,速度之快,成果之显著令人惊叹。1972 年美国斯坦福大学的 P. Berg 等将猿猴病毒(SV40)的 DNA 和噬菌体 λ 的 DNA 进行体外重组,开创了体外重组之先河。1972 年加州大学的 H. W. Boyer 等就在研究限制性核酸内切酶 *Eco* R I, 并鉴别了 λ 噬菌体 DNA 中被特异的核酸内切酶所识别的核苷酸序列。斯坦福大学的 S. N. Cohen 等证明大肠杆菌能接纳环状质粒 DNA 分子,并利用质粒所携带的抗生素抗性基因来筛选细菌的群落中的转化株。1973 年, S. N. Cohen 和 H. W. Boyer 等人,用限制性核酸内切酶 *Eco* R I 切割含有抗四环素基因的质粒 pSC101 和来自鼠伤寒沙门氏菌的质粒 RSF1010(带有抗链霉素和磺胺基因),用连接酶进行拼接,构建成为一个新的 DNA 分子即杂种质粒。用它转化大肠杆菌后,转化子既抗四环素,又抗链霉素,从而首次建立了基因工程技术。1974 年他们又将非洲爪蟾的 DNA 切成片段,连接到质粒 pSC101 中并转移到大肠杆菌中,又将基因工程技术向前推进了一大步。此时分子遗传学进入了应用的时期。一个新的“基因工程”时代展现在人们的眼前,它既给人们带来了惊奇、兴奋和希望,同时也带来了惶恐、争议和不安。

基因工程的发展更为神速,1985 年美国的 R. L. Brinster 等成功地将人类生长激素基因(*HGH*)转移到侏儒品系小鼠的受精卵中,使侏儒型小鼠长成了巨鼠。1986 年 M. A. DeLuca 首先将萤火虫的荧光素酶基因 *luc* (luciferase gene) 转到烟草中并表达。1996 年 7 月英国的 I. Wilmut 和 K. Campbell 等首次成功地进行体细胞克隆,产生一头克隆羊——多莉(见第九章),这震惊了全世界,并掀起了动物体细胞克隆的新高潮。如今科学家们已成功地克隆了多种哺乳动物。

将克隆技术应用于人类,主要体现在两个方面:一是“生殖克隆”(reproductive cloning),也就是俗称的“克隆人”;二是“医疗克隆”(therapeutic cloning),即运用胚胎克隆技术产生干细胞,并且通过培养、分化,获得人类医疗所需要的组织和器官,用于预防和医治一些先天性遗传缺陷等疾病和器官移植,可以救治很多人的生命。我国政府表示支持“医疗克隆”,反对“生殖克隆”。

体细胞克隆技术的诞生也促进了干细胞的研究。2007年3月美国内华达大学的专家们就培育出世界上首只人兽细胞混种羊。希望“混合器官”逐步提高人体化,而用于人体器官移植。2007年8月英国成为首个批准人兽混合胚胎研究的国家。科学家宣称一旦胚胎细胞混合成功,他们会从中提取干细胞,用于组织器官的培养。2006年3月,日本京都大学的山中伸弥(Shinya Yamanaka)领导的研究小组在小鼠尾部细胞中插入一个四基因联合体,成功得到了类胚胎干细胞。

2007年6月Yamanaka、麻省理工学院的R. Jaenisch及哈佛大学的K. Hochedlinger领导的3项研究,改进了导入4种基因的载体及iPCs的选择标记,并且证实了利用小鼠表皮细胞制得的诱导多能性干细胞(induced pluripotent cells, iPCs),具有类似胚胎干细胞(ES)的功能,有分化成各种组织的潜力。

2007年11月21日,《细胞》和《科学》杂志同时分别发表了Shinya Yamanaka等和美国威斯康星大学的J. A. Thomson和Junying Yu(俞群英)的科学论文,宣告人类首次以非克隆技术将人类的皮肤细胞培养成人体干细胞。

2. 由分子遗传学向基因组学和系统生物学方向转移

分子遗传学就其方法论来说是属于还原论的范畴。所谓“还原论”(reductionism)是17世纪法国物理学家笛卡尔(Rence Descartes)提出的,他认为如果一件事物过于复杂,以至于一下子难以解决,那么就可以将它分解成一些足够小的问题,分别加以分析,然后再将它们组合在一起,就能获得对复杂事物的完整、准确的认识。还原论是一种“认识论”和“方法论”,对现代科学的发展起到了深远的影响。在这种思想的指导下,自然科学包括近代力学、物理学和生命科学都取得了巨大的成功,但科学发展到目前这个阶段,还原论的局限性也随之凸显出来。在生命科学的研究中表现尤为明显。1986年因发现肿瘤病毒而获得1975年诺贝尔医学奖的美国科学家R. Dulbecco在《科学》上发表了题为《癌症研究的转折点:测序人类基因组》的文章,他回顾了1970年以来肿瘤研究的状况,认为人们花费了近20年的时间研究癌的发生,发现了约100个癌基因和近20个抑癌基因,取得了一定的成绩,但对癌的发生、演进、侵袭和转移的机制仍未弄清;看来要彻底阐明癌症,研究单个的癌基因是不够的,必须对人体细胞的基因组进行测序,研究基因间的相互关系和作用才能达到目的。于是他提出了对人类基因组进行全序列测定的建议。这个建议的本身就反映科学家们已认识到还原论的局限性,认识到生物体是一个复杂系统。从整体的角度,综合分析并充分理解组成生命体各部分的相互作用方式,才是破解生命之谜的真正途径。2001年9月哈佛大学医学院的细胞生物学家S. Rothman出版了《还原论的局限:来自活细胞的训诫》(*Lessons from the living cell: the limits of reductionism*)一书,系统地批判了生命科学中“还原论”的方法论。

“系统论”(system theory)是奥地利科学家L. von Bertalanffy在1969年提出的。系统论的核心思想是系统的整体观念。Bertalanffy指出,任何系统都是一个有机的整体,它不是各个部分的机械的组合或简单的加积,系统的整体功能是各要素在孤立状态下所不具有的新功能。系统中的任何一部分从整体中分离出来后,它所显示的功能与在系统中的发挥的作用可能不完全相同。例如,白介素2(IL-2)在体外可以刺激T细胞的生长,故旧称T细胞生长因子。科学家利用基因敲除技术去除小鼠基因组中的IL-2基因后,预期这种小鼠T细胞的数量与功能将明显下降。但结果却完全相反,IL-2基因敲除小鼠表现为T淋巴细胞大量增殖。这说明IL-2在体外所显示的功能与在体内细胞因子网络中的作用是不完全相同。现已知道IL-2在体内除了具有刺激T细胞的生长的功能以外,还具有促进T细胞凋亡的功能,但在体外其单独是表现不出这种功能的。因此,一般来说系统的整体功能要大于部分功能之和。

系统论的基本思想方法就是把所研究和处理的对象,当做一个系统,分析系统的结构和功能,研究系统、要素、环境三者的相互关系和变动的规律性。

目前,进一步揭示“还原论”的局限性,以达到在科学方法论上对还原论的超越是必要的。但是,这种超越不是简单地否定和抛弃,还原论对于近代科学的发展是起了不可磨灭的作用。对于认识一个事物,一开始便从整体出发,可能难以揭开内在的奥秘。孟德尔正是从“遗传因子”着手才建立了遗传学的基本理论,而他的先驱者虽然也进行了植物的杂交实验,但都是从整体出发而不得要领。但是到了现阶段,人们已经了解了很多基因的结构和功能,那么就应当进一步从整体的视角了解基因与基因、基因与蛋白质、蛋白质与蛋白质之间的相互作用规律。从而出现了基因组学、蛋白质组学,以及其他各种“组学”,这也促进了系统生物学的诞生。系统生物学(system biology)是研究一个生命系统中所有组成成分(基因、mRNA 和蛋白质等)的构成,以及在特定条件下这些组分间的相互关系的学科。

3. 开拓核酸以外的遗传信息

从 20 世纪初,遗传学基本原理被大家广为接受以来,人们就一直坚定地认为,遗传信息仅储存在 DNA 或 RNA 中。随着遗传学深入研究和迅速的发展,科学家们发现很多用遗传学原理无法解释的现象而感到困惑。例如,马、驴正交和反交的后代表型差别较大;同卵双生子具有完全相同的基因组,即使在同样的环境中发育生长,他们的性格、爱好、对某些疾病(如自身免疫性疾病等)的易感性等方面也会有较大的差异;衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)杂交时,两个亲本对合子贡献了相等的细胞质,而后代总是保留 mt^+ 亲本与抗性有关的表型,呈现单亲遗传的现象。这些都不符合经典遗传学原理。随着诸如花斑位置效应、转染(transfection)、副突变、剂量补偿、RNA 编辑、亲本印记及基因转录后沉默等的不断发现和积累,随着分子遗传学研究的不断深入,人们逐步认识到除了基因序列外,还另有一些因素在影响着基因的表达,如染色质的化学修饰,从而建立了表观遗传学。表观遗传学被称为基因、表型和环境之间“迷失的桥梁”。分子遗传学的发展方向之一可能就是要延伸这座“迷失的桥梁”。

4. 从单一生命学科向多学科的交叉融合方向发展,建立了生物信息学

生物信息学(bioinformatics)是从事对基因组研究相关生物信息的获取、加工、储存、分配、分析和解释的一门交叉学科。具体来讲,生物信息学是通过分析基因组 DNA 序列信息,找到基因组序列中代表蛋白质和 RNA 基因的编码区。同时,阐明基因组中大量存在的非编码区的信息实质,探索隐藏在 DNA 序列中的遗传语言规律。在此基础上,归纳、整理与基因组遗传信息释放及其调控相关的转录谱和蛋白质谱的数据,从而认识代谢、发育、分化和进化的规律。此外,生物信息学还利用基因组中编码区的信息进行蛋白质空间结构的模拟和蛋白质功能的预测,并将此类信息与生物体和生命过程的生理生化信息相结合,阐明其分子机制,最终进行蛋白质、核酸的分子设计、药物设计和整体化的医疗保健设计。

生物信息学在短短十几年间,在基因组测序、序列比对(sequence alignment)、基因识别、非编码区分析研究、表达谱分析、分子进化、比较基因组学、基因组注释、核苷酸多态性位点的分析、蛋白质结构预测和药物的设计与开发等方面已发挥了巨大的作用,形成多个研究方向。

此外,近些年来分子遗传学和分子细胞生物学似乎也在逐渐地“靠拢”,在细胞周期调控、免疫、信号传递及癌的发生等领域有着大幅度的交叉和融合。

分子遗传学发展形成了很多新的学科,但它本身并没有被取代而消失,仍以加速度的步伐走在生命科学的最前列。

第一章

遗传信息的载体——DNA 与染色体

■ 遗传物质的发现、功能和组成

■ DNA 的变性和复性

■ DNA 和 RNA 的化学组成及双螺旋模型的诞生

■ 真核生物的染色体

■ DNA 的结构和性质

20 世纪初 W. S. Sutton 和 T. Boveri 提出了著名的“萨顿-鲍维里假说”(Sutton-Boveri hypothesis), 认为基因是位于染色体上。1910 年摩尔根(T. H. Morgan)和他的弟子们建立了遗传的连锁定律(law of linkage), 为萨顿-鲍维里假说提供了间接的证据。1916 年摩尔根的学生 C. B. Bridges 通过“染色体不分离”实验确证了萨顿-鲍维里假说, 使人们接受了染色体是基因的载体这一观点。但此时, 人们对“基因”及其载体的本质几乎是一无所知, 更无法将基因、核酸和染色体联系在一起。

早在 1868 年, 瑞典的一名年轻的生物化学家 F. Miescher 对从伤员绷带的脓细胞中分离到的一种酸性物质产生了兴趣。他先从绷带中分离到脓细胞, 用猪胃蛋白酶处理这些细胞, 最后他得到了一种酸性物质, 并将它命名为核素(nuclein)。Miescher 分离得到的核蛋白其特别之处在于, 它含有大量的氮元素和磷元素, 而这两种元素在当时被认为只共存于一些特殊的脂类当中。Miescher 将他的发现整理成文, 并于 1869 年寄往杂志社。然而, 该杂志的编辑对此结果的真实性感到怀疑, 决定自己亲自重做一下实验。因此, Miescher 的文章一直到 1871 年才得以发表。但这项重大的发现未受到科学界的重视。1989 年德国化学家 A. Kossel 等发现核素是蛋白质和核酸的复合物。他小心地水解核酸, 得到了组成核酸的基本成分: 鸟嘌呤、腺嘌呤、胸腺嘧啶和胞嘧啶, 还有些具有糖类性质的物质和磷酸。由于此项贡献, Kossel 荣获了 1910 年获诺贝尔生理学或医学奖。Kossel 的学生 P. A. Levene 和 W. Jones 等在 1911—1934 年, 对核酸的化学结构作了系统研究, 并证明核酸中含有五碳核糖和脱氧核糖。但在 1929 年 Levene 和 E. S. London 提出“四核苷酸假说”(tetranucleotide hypothesis), 认为“核酸是一种简单的线形排列的四核苷酸多聚体, 来源不同的各种脱氧核糖核酸其 4 种碱基的摩尔数相等”。这一假说当时被普遍接受, 使人们误认为核酸不可能作为遗传物质, 从而阻碍了遗传学的发展。

第一节 遗传物质的发现、功能和组成

早在 1883 年提出“种质论”的 A. Weismann 就预言道: “遗传物质是具有特定分子结构的化合物”。在证实核酸(DNA 和 RNA)是遗传物质之前很长的时间里, 遗传学家们认识到, 遗传物质这种特殊的分子必须具备以下基本特点: ①它必须能携带生物的各种遗传信息。②它必须能精确地复制, 这样才能稳定地传递遗传信息。③它在生物体各个体细胞中结构必须相同, 含量必须稳定; 而在生殖细胞中其含量应当减半否则遗传物质会逐代倍增。④它必须能够变异。如果没有变异(如突变和重组)生物就不能发生改变和适应, 进化也不会发生。

一、遗传物质的发现

直到 20 世纪 30 年代末, 人们才逐渐将核酸化学的研究和遗传信息联系起来。1928 年英国 F. Griffith 的