

# 基因工程原理

吴乃虎 编著

•JIYIN GONGCHENG YUANLI

高等教育出版社

## 序

自从本世纪70年代初期基因工程学诞生以来,在不到20年的时间内,已经取得了许多激动人心的成就,并且正以新的势头继续向前迅猛发展,成为当今生物科学研究诸领域中最具生命力、最引人注目的前沿学科之一。

科学技术从来就是生产力。如同任何一门新科学新技术一样,基因工程学的出现,也给社会发展带来了深刻的影响,迫使工业、农业、医疗卫生事业以及生物科学研究本身都面临一场空前的变革。其影响之深远、潜力之巨大,在目前我们是无法估量的。许多国家都已经把基因工程列为优先发展的高科技项目,我国政府也已制订了相应的对策。但是教育是发展科学的基础。今天,分子生物学和基因工程学的发展不但急需大批的专业人才,也要求培养足够的后备力量。为适应客观形势的发展,国内高等院校的有关系科,许多科学研究单位,都先后开设了基因工程专业和相应的课程,报考的本科生与研究生逐年增多。与此同时,一些出版机构也组织人力,相继翻译出版了若干专著。然而由于多方面的原因,到这些书籍出版之时,往往大部分资料都已经过时,况且其编写的体例与内容也不尽符合教学要求。显然,编写一部比较符合我国实际情况的基因工程教科书是必要的,适时的。

近年来,作者曾应邀在国内若干高校讲授“基因工程基本原理”课程,并陆续编写了一部分教材。本书就是在此基础上扩充而成的。目的是为生物、农林、医学专业的学生、研究生及从事生物科学研究的工作者提供一部比较全面系统的教学用书。考虑到某些专业学生的知识结构的实际情况,在内容上加重了有关基本原理部分的叙述,以使本书有较大的适应面,内容也不至于太快过时。

在编写过程中,我们参阅了大量的专著和文献,并对已发现的某些相互矛盾的资料或数据作了认真订正。我们也努力运用新的资料,反映新的成果,但对此没有过分追求,因为本书是按教科书的要求编写的,它有别于一般性的综述。另外,鉴于篇幅有限,书末仅列出最主要的一部分参考文献。对于登载在国内刊物中有关文章,有的亦被参阅,在此特向原作译者表示谢意。

北京大学生物学系黄美娟教授参加了第八章及附录部分的编写工作,并为本书资料的收集与整理以及索引的编撰等作了大量的工作;中国科学院史瀛仙教授和申同健教授;以及北京大学生物学系吴鹤龄教授和朱圣庚教授分别审阅了本书的有关章节;研究生张银华等协助准备了少部分资料;高等教育出版社宗小梅同志为本书绘制了全部插图,在此一并表示感谢。

在本书的出版和编写过程中,得到了中国科学院发育生物学研究所有关部门的领导和同志以及人民教育出版社副社长安名勋同志的热情关心与支持。高等教育出版社朱秀丽同志担任本书的责任编辑,在编辑加工过程中对有的章节作了一些修改和补充,她为本书的出版付出了艰辛的劳动。

由于编者水平有限，加上时间仓促，书中肯定有不少的缺点与错误，欢迎各位同学及有关的专家、学者批评指正，并致诚挚的谢意。

吴乃虎(中国科学院发育生物学研究所)

1989年4月

# 目 录

<p>序.....1</p> <p><b>第一章 基因与基因工程</b>.....1</p> <p>  一、基因研究的发展.....1</p> <p>    1. 基因学说的创立.....1</p> <p>    2. 基因与 DNA 分子.....3</p> <p>    3. 基因与 DNA 的多核苷酸区段.....5</p> <p>    4. 基因与多肽链.....6</p> <p>    5. 基因的碱基顺序与蛋白质的氨基酸顺序.....7</p> <p>    6. 基因的表达与调控.....10</p> <p>    7. 基因的分离.....11</p> <p>    8. 基因的合成.....14</p> <p>  二、基因的现代概念.....15</p> <p>    1. 移动基因.....15</p> <p>    2. 断裂基因.....17</p> <p>    3. 重叠基因.....19</p> <p>    4. 假基因.....20</p> <p>    5. 重复序列及重复基因.....22</p> <p>  三、基因工程的诞生及其主要的研究内容.....24</p> <p>    1. 基因工程的诞生.....24</p> <p>    2. 基因工程的定义及其主要的研究内容.....28</p> <p>  四、有关基因工程安全性的争论.....29</p> <p><b>第二章 基因操作的基本技术</b>.....34</p> <p>  一、凝胶电泳.....34</p> <p>  二、核酸分子杂交.....36</p> <p>    1. 萨瑟恩 DNA 吸印杂交技术.....37</p> <p>    2. 诺塞恩 RNA 吸印杂交技术.....38</p> <p>    3. 菌落(或噬菌斑)杂交技术.....40</p> <p>  三、细菌转化.....41</p> <p>  四、DNA 核苷酸序列分析技术.....43</p> <p>    1. Sanger 双脱氧链终止法.....44</p> <p>      (1) Sanger 双脱氧链终止法的基本原理.....44</p> <p>      (2) Sanger 双脱氧-M13 体系 DNA 序列分析法.....45</p> <p>      (3) Sanger 双脱氧-pUC 体系 DNA 序列分析法.....48</p> <p>    2. Maxam-Gilbert 化学修饰法.....51</p>	<p>      (1) Maxam-Gilbert 化学修饰法的基本原理.....51</p> <p>      (2) 碱基特异的化学切割反应.....51</p> <p>      (3) Maxam-Gilbert 化学修饰-CS 载体系统 DNA 序列分析法.....54</p> <p>      (4) Maxam-Gilbert 化学修饰法的优点.....54</p> <p>    3. DNA 序列分析法的自动化.....55</p> <p>  五、基因的化学合成.....56</p> <p>    1. 基因化学合成的概况.....56</p> <p>    2. 磷酸二酯法合成寡核苷酸.....57</p> <p>    3. 磷酸三酯法合成寡核苷酸.....59</p> <p>    4. 固相亚磷酸三酯法合成寡核苷酸.....60</p> <p>    5. 用寡核苷酸片段组装基因的方式.....61</p> <p>    6. 寡核苷酸化学合成的实际用途.....62</p> <p>      (1) 作为合成基因的元件.....63</p> <p>      (2) 作为核苷酸序列分析的引物.....63</p> <p>      (3) 作为核酸分子杂交的探针.....63</p> <p>      (4) 用于定点突变研究.....64</p> <p>  六、寡核苷酸诱发的基因定点突变.....64</p> <p>    1. 寡核苷酸诱发基因定点突变的原理.....64</p> <p>    2. 寡核苷酸诱发基因定点突变的过程.....65</p> <p>      (1) 正链 DNA 的合成.....65</p> <p>      (2) 突变引物的合成.....65</p> <p>      (3) 异源双链 DNA 分子的制备.....65</p> <p>      (4) 闭环异源双链 DNA 分子的富集.....65</p> <p>      (5) 转化.....65</p> <p>      (6) 突变体的筛选.....66</p> <p>      (7) 突变基因的鉴定.....67</p> <p><b>第三章 基因克隆的酶学基础</b>.....68</p> <p>  一、核酸内切限制酶与 DNA 分子的体外切割.....68</p> <p>    1. 寄主控制的限制与修饰现象.....68</p> <p>    2. 核酸内切限制酶的类型.....70</p> <p>    3. II 型核酸内切限制酶的基本特性.....74</p> <p>    4. 核酸内切限制酶的命名法.....78</p> <p>    5. 影响核酸内切限制酶活性的因素.....79</p> <p>      (1) DNA 的纯度.....79</p>
---	---

(2) DNA 的甲基化程度 .....	79	5. 质粒的不亲和性 .....	120
(3) 酶切消化反应的温度 .....	80	二、质粒 DNA 的复制与拷贝数的控制 .....	121
(4) DNA 的分子结构 .....	80	1. 质粒 DNA 复制的多样性 .....	121
(5) 核酸内切限制酶的缓冲液 .....	81	2. 多拷贝质粒 ColEI DNA 复制的一般特性 .....	121
二、DNA 连接酶与 DNA 分子的体外连接 .....	81	3. 质粒 DNA 拷贝数的控制 .....	122
1. DNA 连接酶 .....	81	4. 杂种质粒 DNA 拷贝数的控制 .....	124
2. 粘性末端 DNA 片段的连接 .....	84	三、质粒载体的选择 .....	125
3. 平末端 DNA 片段的连接 .....	86	1. 用作克隆载体的质粒必须具备的基本条件 .....	125
4. 用化学合成的衔接物连接 DNA 分子 .....	87	2. 载体类型的选择 .....	126
三、DNA 聚合酶 .....	91	(1) 高拷贝数质粒载体的选用 .....	126
1. DNA 聚合酶 I 与核酸杂交探针的制备 .....	91	(2) 低拷贝数质粒载体的选用 .....	127
(1) DNA 聚合酶 I .....	91	(3) 插入失活型质粒载体的选用 .....	127
(2) DNA 缺口转移 .....	93	3. 质粒载体的选择记号 .....	128
(3) DNA 杂交探针的制备 .....	95	四、大肠杆菌质粒载体 .....	129
2. 大肠杆菌 DNA 聚合酶 I 的 Klenow 片段与 DNA 末端标记 .....	95	1. pSC101 质粒载体 .....	129
3. T4 DNA 聚合酶和取代合成法标记 DNA 片段 .....	96	(1) 应用 pSC101 质粒作基因克隆载体的实例 I——葡萄球菌质粒基因在大肠杆菌中的表达 .....	131
4. 依赖于 RNA 的 DNA 聚合酶与互补 DNA 的合成 .....	98	(2) 应用 pSC101 质粒作基因克隆载体的实例 II——在大肠杆菌中克隆非洲爪蟾 DNA .....	133
5. T7 DNA 聚合酶 .....	99	2. ColEI 质粒载体 .....	133
6. 修饰的 T7 DNA 聚合酶 .....	100	3. pBR322 质粒载体 .....	134
四、DNA 及 RNA 的修饰酶 .....	101	(1) pBR322 质粒载体的构建 .....	134
1. 末端脱氧核苷酸转移酶与同聚物加尾 .....	101	(2) pBR322 质粒 DNA 分子的结构特点 .....	137
2. T4 多核苷酸激酶与 DNA 分子 5'-末端的标记 .....	103	(3) pBR322 质粒的改良 .....	139
3. 碱性磷酸酶与 DNA 脱磷酸作用 .....	104	(4) 应用 pBR322 质粒作为基因克隆载体的实例——水稻叶绿体光诱导基因 psbA 的结构分析 .....	141
五、核酸外切酶 .....	106	4. 其它的大肠杆菌质粒载体 .....	142
1. 核酸外切酶 VII (exoVII) .....	106	(1) 低拷贝数的质粒载体 .....	142
2. 核酸外切酶 III (exoIII) .....	106	(2) 直接选择的质粒载体 .....	143
3. $\lambda$ 核酸外切酶 ( $\lambda$ exo) 和 T7 基因 6 核酸外切酶 .....	108	(3) 失控的质粒载体 .....	145
六、单链核酸内切酶 .....	109	第五章 噬菌体载体和柯斯载体 .....	146
1. SI 核酸酶与 RNA 分子定位 .....	109	一、噬菌体的一般生物学特性 .....	146
2. Bal31 核酸酶与限制位点的确定 .....	111	1. 噬菌体的结构及其核酸类型 .....	146
第四章 基因克隆的质粒载体 .....	113	2. 噬菌体的感染性 .....	147
一、质粒的一般生物学特性 .....	113	3. 噬菌体的溶菌生命周期 .....	148
1. 质粒 DNA .....	113	4. 噬菌体的溶源生命周期 .....	149
2. 质粒 DNA 的转移 .....	114		
3. 质粒 DNA 的迁移作用 .....	117		
4. 质粒 DNA 的复制类型 .....	119		

5. 重组体噬菌体的分离	153
<b>二、<math>\lambda</math>噬菌体载体</b>	154
1. $\lambda$ 噬菌体分子生物学概述	155
2. $\lambda$ 噬菌体载体的构建	159
(1) 多余限制位点的消除—— $\lambda$ 噬菌体改建的基本原理	159
(2) 插入型载体	162
A. 免疫功能失活的插入型载体	162
B. $\beta$ -半乳糖苷酶失活的插入型载体	162
(3) 替换型载体	163
(4) $\text{Spi}^+$ 正选择的替换型载体	164
3. $\lambda$ 重组体 DNA 分子的体外包装	167
(1) $\lambda$ 重组体 DNA 分子的转染作用	167
(2) $\lambda$ DNA 的体外包装	168
(3) $\lambda$ 噬菌体 DNA 的包装限制问题	170
4. 重组噬菌体的成熟	171
5. 克隆在 $\lambda$ 噬菌体载体上的外源基因的表达	171
<b>三、凯伦噬菌体载体</b>	173
<b>四、柯斯质粒载体</b>	174
1. 柯斯质粒载体的构建	174
2. 柯斯质粒载体的特点	175
3. 柯斯克隆	175
<b>五、单链 DNA 噬菌体载体</b>	180
1. M13 噬菌体的生物学特性	180
2. M13 克隆体系	182
3. M13 载体系列的发展	183
4. M13 载体系列的优点	187
<b>第六章 基因的分离与鉴定</b>	190
<b>一、DNA 克隆片段的产生与分离</b>	190
1. 基因组 DNA 的片段化	190
2. DNA 片段的大小分部	192
3. 编码目的基因的克隆片段的富集	193
<b>二、重组体 DNA 分子的构建</b>	193
1. 载体 DNA 的分离	194
2. 含有目的基因的外源 DNA 片段同载体分子的重组	196
(1) 外源 DNA 片段定向插入载体分子	196
(2) 非互补粘性末端 DNA 分子的连接	197
(3) 最佳连接反应	199
<b>三、重组体分子导入受体细胞</b>	201

1. 重组体 DNA 分子的转化或转染	201
2. 体外包装的 $\lambda$ 噬菌体之转导	202
<b>四、基因克隆的实验方案</b>	203
1. 互补作用克隆	206
2. cDNA 基因文库	207
(1) 不同丰度 mRNA 的 cDNA 克隆	207
A. 高丰度 mRNA 的 cDNA 克隆	207
B. 低丰度 mRNA 的 cDNA 克隆	209
C. 稀少 mRNA 的 cDNA 克隆	209
(2) cDNA 克隆的优越性	210
3. 基因组 DNA 克隆	212
(1) 用 $\lambda$ 噬菌体载体构建基因组 DNA 基因文库	212
(2) 利用柯斯质粒作载体构建基因组 DNA 基因文库	214
<b>五、重组体分子的选择与鉴定</b>	216
1. 遗传检测法	216
(1) 根据载体提供的表型特征选择重组体分子的直接选择法	216
A. 抗药性记号插入失活选择法	216
B. $\beta$ -半乳糖苷酶显色反应选择法	219
(2) 根据插入序列提供的表型特征选择重组体分子的直接选择法	221
2. 物理检测法	222
(1) 凝胶电泳检测法	223
(2) R-环检测法	223
3. 核酸杂交检测法	223
4. 免疫化学检测法	225
(1) 放射性抗体检测法	226
(2) 免疫沉淀检测法	228
(3) 表达载体产物之免疫化学检测法	229
5. 转译筛选法	231
(1) 杂交抑制的转译	231
(2) 杂交选择的转译	231
6. 正负筛选法	232
<b>第七章 真核基因在大肠杆菌中的表达</b>	234
<b>一、引言</b>	234
<b>二、基因表达的基本问题</b>	236
1. 转录	236
(1) RNA 合成的化学特性	236
(2) RNA 合成的不同阶段	237

(3) RNA 分子的类型.....	240
(4) 真核生物的转录.....	242
2. 转译.....	244
(1) 转译的概述.....	244
(2) 转译的三个步骤.....	246
三、真核基因在大肠杆菌细胞中的表达.....	250
1. 理论问题.....	250
2. 克隆基因表达的基本条件.....	251
3. 增强外源蛋白质稳定性的途径.....	252
4. 克隆基因表达的检测.....	254
四、原核生物的表达载体.....	256
1. lac 启动子的表达载体.....	256
2. trp 启动子的表达载体.....	259
3. PL 启动子的表达载体.....	261
五、高等真核基因在大肠杆菌中表达的实例.....	263
1. 合成的脑激素基因在大肠杆菌细胞中的表达.....	263
2. 胰岛素基因在大肠杆菌细胞中的表达.....	266
六、提高克隆基因表达水平的途径.....	270
1. 启动子结构对表达效率的影响.....	270
2. 转译起始序列对表达效率的影响.....	270
3. 启动子同克隆基因间隔距离对表达效率的影响.....	271
4. 质粒拷贝数对表达效率的影响.....	275
5. 转录终止区对克隆基因表达效率的影响.....	275
6. 质粒分离的不稳定性对克隆基因表达效率的影响.....	276
7. 质粒稳定性对克隆基因表达效率的影响.....	276
<b>第八章 植物基因工程.....</b>	<b>278</b>
一、引言.....	278
二、植物基因工程的主要研究方向.....	279
1. 提高光合作用效率的植物基因工程基础研究.....	279
(1) 光合作用概述.....	279
(2) 光合作用基因工程的主要目标.....	280
(3) 叶绿体基因结构与功能的研究是开展光合作用基因工程的重要基础.....	281
2. 生物固氮与固氮基因的转移.....	282
(1) 根瘤菌的固氮作用.....	282
(2) 固氮酶复合体.....	284

(3) 生物固氮的基因工程.....	284
3. 增加种子的营养价值.....	285
4. 提高农作物抗病虫害及除草剂的能力.....	287
(1) 培育抗病虫害的农作物.....	287
(2) 培育抗除草剂的农作物.....	288
5. 增加植物次生代谢产物的产率.....	288
三、植物基因转移的病毒载体.....	289
1. 单链 RNA 植物病毒.....	289
2. 单链 DNA 植物病毒.....	291
3. 双链 DNA 植物病毒.....	292
(1) 花椰菜花叶病毒组的一般生物学特性.....	293
(2) CaMV DNA 的特性.....	293
(3) CaMV DNA 核酸内切限制酶切割图谱.....	294
(4) CaMV 的生活史模式.....	297
4. 花椰菜花叶病毒 DNA 载体.....	297
(1) CaMV DNA 的表达.....	297
(2) DNA 的缺失或插入与 CaMV 的感染性.....	298
(3) CaMV 克隆载体的发展.....	299
A. 互补载体系统.....	299
B. 混合载体系统.....	299
C. CaMV 35S 启动子融合基因载体系统.....	300
(4) CaMV DNA 作为克隆载体的评价.....	300
四、植物基因转移的质粒载体.....	301
1. 病原土壤杆菌.....	301
2. 植物冠瘿的诱发与冠瘿细胞的特性.....	303
3. Ti 质粒的遗传特性.....	306
(1) 冠瘿瘤诱发之遗传本质.....	306
(2) Ti 质粒的遗传功能.....	307
(3) 以 Ti 质粒为媒介的接合转移.....	307
(4) Ti 质粒的限制图及基因图.....	308
4. T-DNA 的结构与功能.....	309
(1) Ti 质粒与 T-DNA.....	309
(2) T-DNA 的整合机理.....	309
(3) T-DNA 的结构与功能.....	310
5. Ti 质粒载体的构建.....	311
(1) T-DNA 转化的选择记号.....	311

(2) 共合载体法.....	312	3. 聚阳离子-DMSO 转染技术 .....	337
(3) 二元载体系统.....	314	4. 基因显微注射技术 .....	337
A. 二元 Ti 载体系统 .....	314	(1) 显微注射法.....	337
B. 无 T-DNA 的二元系统.....	316	(2) 穿刺法.....	338
(4) 隔端载体法.....	317	5. 电穿孔 DNA 转染技术 .....	338
6. Ri 质粒载体系统.....	319	(1) 基本原理.....	338
五、培育转基因植物的实验方法.....	319	(2) 操作程序.....	338
1. 根瘤土壤杆菌的转化 .....	319	(3) 影响因素.....	339
(1) 两步接合转移法.....	320	6. 脂质体载体法 .....	339
(2) 三亲株杂交转移法.....	320	三、SV40 病毒载体.....	340
2. 植物细胞的转化 .....	321	1. SV40 病毒的基本生物学特性.....	340
(1) 创伤植株感染法.....	321	(1) SV40 病毒的生活周期 .....	340
(2) 原生质体共培养法转化植物细胞.....	323	(2) SV40 病毒的基础分子生物学 .....	341
(3) 叶盘法转化植物细胞.....	324	2. SV40 病毒载体的发展.....	342
(4) 土壤杆菌对单子叶植物的感染 问题.....	325	(1) 取代型重组病毒载体.....	343
第九章 哺乳动物基因工程.....	327	A. 晚期区段取代载体.....	343
一、哺乳动物基因转移的遗传选择标记.....	327	①在猴细胞中表达大鼠前胰岛素基因 的晚期区段取代载体.....	343
1. 嘌呤和嘧啶的生物合成.....	327	②在猴肾细胞中表达兔 $\beta$ -珠蛋白基因的 晚期区段取代载体.....	343
2. 胸苷激酶基因选择系统 .....	327	B. 早期区段取代载体 .....	345
(1) tk <sup>-</sup> 细胞 .....	327	(2) 重组的病毒-质粒载体 .....	346
(2) HAT 选择法.....	328	A. 含有完整早期区段和复制起点的病 毒-质粒载体 .....	346
(3) 共转化选择.....	329	B. 微型病毒复制子-质粒载体.....	347
3. 二氢叶酸还原酶基因选择系统 .....	329	四、反转录病毒载体.....	347
(1) 基本原理.....	329	1. 反转录病毒的一般生物学特性 .....	347
(2) 显性选择.....	330	(1) 生活周期.....	348
4. 氯霉素乙酰转移酶基因选择系统.....	331	(2) 反转录病毒基因组的特点.....	348
(1) CAT 质粒.....	331	(3) 反转录病毒的复制.....	349
(2) CAT 酶活性的测定 .....	331	(4) 原病毒 DNA 的表达.....	349
5. 黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶基因 选择系统 .....	332	A. 原病毒 DNA 的结构特点.....	349
6. 氨基糖苷磷酸转移酶基因选择系统 .....	333	B. 原病毒 DNA 的转录与转译 .....	351
二、外源 DNA 导入哺乳动物细胞的方法.....	334	C. 原病毒 DNA 的表达与肿瘤的诱发 .....	352
1. 磷酸钙转染技术 .....	334	2. 反转录病毒载体的主要类型 .....	352
(1) 磷酸钙转染的基本步骤.....	334	(1) 辅助病毒互补的重组的反转录病毒质粒 载体.....	352
(2) 影响磷酸钙转染效率的因素.....	334	(2) 不需要辅助病毒互补的重组的反转录 病毒质粒载体.....	353
2. DEAE-葡聚糖转染技术.....	336	(3) 广寄主的反转录病毒载体.....	354
(1) DEAE-葡聚糖转染的一般程序.....	336	(4) 反转录病毒表达载体.....	354
(2) DEAE-葡聚糖转染的可能机理及 影响因素 .....	336		
(3) DEAE-葡聚糖转染法的评价.....	336		



A. 反转录病毒表达载体的构建.....	355	(1) 基因治疗的主要目标.....	367
B. 影响表达效率的因素.....	355	(2) 使用反转录病毒载体进行基因治疗.....	368
五、其它的病毒载体.....	356	(3) 哺乳动物细胞基因点射.....	368
1. 痘苗病毒载体.....	356	4. 重组 DNA 探针与遗传病诊断.....	370
(1) 痘苗病毒的特性.....	356	(1) 遗传性疾病的产前诊断.....	370
(2) 痘苗病毒载体的构建.....	356	(2) 胎儿的 DNA 分析.....	370
2. 乳头状瘤病毒载体.....	357	二、重组 DNA 技术与疫苗生产.....	371
(1) 牛乳头状瘤病毒基因组的结构特点.....	357	1. 疫苗的设计.....	372
(2) 牛乳头状瘤病毒载体.....	358	2. 重组亚基疫苗.....	372
A. 简单的载体.....	358	(1) 抗乙型肝炎病毒(HBV)的重组亚基疫苗.....	372
B. 穿梭载体.....	358	(2) 抗其它病毒的重组亚基疫苗.....	374
3. 腺病毒载体.....	359	3. 重组病毒活疫苗.....	374
(1) 腺病毒的一般生物学特性.....	359	(1) 重组痘苗病毒疫苗.....	374
(2) 腺病毒载体的构建.....	360	(2) 对重组病毒活疫苗的评价.....	375
<b>第十章 重组 DNA 技术的应用.....</b>	<b>361</b>	三、重组 DNA 技术与工业生产.....	375
一、重组 DNA 技术与医学研究.....	361	1. 纤维素的开发利用.....	375
1. 癌症研究.....	361	2. 酿酒工业.....	376
(1) 致癌基因.....	361	3. 干酪生产.....	377
(2) 细胞癌化.....	363	4. 新型蛋白质的生产.....	377
A. 蛋白质激酶.....	363	四、重组 DNA 技术与农业.....	378
B. ras 族致癌基因.....	363	1. 转基因植物.....	378
C. myc 族致癌基因.....	364	2. 转基因动物.....	379
2. 爱滋病研究.....	364	<b>主要参考文献.....</b>	<b>380</b>
(1) HIV 基因组结构.....	366	<b>名词术语解释.....</b>	<b>382</b>
(2) HIV 病毒的生命周期.....	366	<b>索引.....</b>	<b>388</b>
(3) 爱滋病的预防与治疗.....	366		
3. 基因治疗.....	367		

# 第一章 基因与基因工程

## 一、基因研究的发展

最近的 15 到 20 年间,是现代生物科学生机勃勃迅速发展的年代。随着一系列新技术新方法的不断涌现,生物学家们已经作出了许多前所未有的重大发现,开拓了不少新的研究领域,从而全面地革新了生物科学的研究现状。其中,最引人注目并被公认的是以重组 DNA 为中心的基因工程学。

基因工程或称基因操作,是在分子生物学和分子遗传学综合发展的基础上,于本世纪 70 年代诞生的一门崭新的生物技术科学。它的创立和发展,直接地依赖于基因分子生物学的进步,两者之间有着密切而不可分割的内在联系。可以说,基因的研究,为基因工程的创立奠定了坚实的理论基础,基因工程的诞生是基因研究发展的一个必然结果;而基因工程技术的发展与应用,又深刻而有力地影响着基因的研究,使我们对基因本质的认识提高到了空前的高度。因此,在讨论基因工程之前,先简单地回顾一下基因研究的发展过程,以及基因的现代概念,显然是十分必要的。

自本世纪开始以来,基因研究就一直是影响整个遗传学发展的主线。根据不同历史时期的水平和特点,基因研究大体上可分为 2 个不同的发展阶段:在本世纪 50 年代以前,主要从细胞染色体水平上进行研究,属于基因的染色体遗传学阶段;50 年代之后,则主要从 DNA 大分子水平上进行研究,属于基因的分子生物学阶段。从孟德尔遗传规律提出,到 Watson-Crick DNA 双螺旋结构发现的有关历程,在一般的遗传学专著中都有详尽的讨论,这里只作简单的概述。本章将着重讨论 Watson-Crick 双螺旋结构模型提出之后,基因研究的一般发展情况。

### 1. 基因学说的创立

遗传因子的概念,最初是由孟德尔 (G. Mendel) 提出的。孟德尔从 1857 到 1864 年,坚持以豌豆为材料进行植物杂交试验。他选择了 7 对区别分明的性状作仔细的观察。例如,他用产生圆形种子的植株同产生皱形种子的植株杂交,得到的几百粒杂交子一代的种子全是圆形的。第二年,他种了 253 粒圆形杂交种子,并让它们自交,结果得到的 7324 粒子二代种子中,有 5474 粒是圆形的,1850 粒是皱形的。用统计学方法计算得出,圆皱比为 3:1。据此孟德尔推导出遗传因子分离律。他还研究了具有 2 种彼此不同的对立性状的 2 个豌豆品系之间的双因子杂交试验。他选用产生黄色圆形种子的豌豆品系同产生绿色皱形种子的豌豆品系进行杂交,所产生的杂种子一代种子,全是黄色圆形的。但在自交产生的子二代 556 粒种子中,不但出现了 2 种亲代类型,而且还出现了 2 种新的重组类型。其中黄色圆形的 315 粒,黄色皱形的 121 粒,

绿色圆形的 108 粒，绿色皱形的 32 粒。4 种类型的比例接近于 9:3:3:1。这就是所谓的孟德尔遗传因子独立分配律。

如何解释这些遗传现象呢？孟德尔从生殖细胞着眼，提出了自己的见解。他根据长期的实验结果，推想生物的每一种性状都是由遗传因子控制的，这些因子从亲代到子代，代代相传；在体细胞中，遗传因子是成对存在的，其中一个来自父本，一个来自母本；在形成配子时，成对的遗传因子彼此分开，因此，在性细胞中则是成单存在的；在杂交子一代体细胞中，成对的遗传因子各自独立，彼此保持纯一的状态；在形成配子时，它们彼此分离，互不混杂，完整地传给后代；由杂种形成的不同类型的配子数目相等；雌雄配子的结合是随机的，有同等的结合机会。

令人遗憾的是，孟德尔的这些科学发现和见解，在当时并没有引起生物学界同行的注意。湮没了 35 年之后，即 1900 年才被 H. De Vries、C. Correns 和 Tschermak 等 3 位植物学家重新发现。他们 3 人都是在完全不知道孟德尔以往工作的情况下，各自独立地做了一些与孟德尔相似的实验，得出了与孟德尔相似的结论。

1909 年，丹麦生物学家 W. Johannsen 提出，用“基因”这个术语来代替孟德尔的“遗传因子”。不过他所说的基因，并不代表物质实体，而是一种与细胞的任何可见形态结构毫无关系的抽象单位。因此，那时所指的基因只是遗传性状的符号，还没有具体涉及基因的物质概念。

美国著名的遗传学家摩尔根 (T. H. Morgan) 对基因学说的建立作出了卓越的贡献。他以果蝇为材料进行遗传学研究。1910 年，摩尔根和他的助手 C. B. Bridges、H. J. Muller 及 A. H. Sturtevant，从红眼的果蝇中发现了 1 只白眼的雄果蝇。因为正常的果蝇都是红眼的，称为野生型，所以称白眼果蝇为突变型。到了 1915 年，他们一共找到了 85 种果蝇的突变型。这些突变型跟正常的野生型果蝇，在诸如翅长、体色、刚毛形状、复眼数目等性状上都有差别。有了这些突变型，就能够更广泛地进行杂交实验，也能更加深入地研究遗传的机理。摩尔根将白眼雄果蝇同红眼雌果蝇交配，所产生的子一代不论是雄的还是雌的，无一例外地都是红眼果蝇。让这些子一代的果蝇互相交配，所产生的子二代有红眼的也有白眼的，但有趣的是所有的白眼果蝇都是雄性的。说明这个白眼性状与性别有联系。

为了解释这些现象，需要简单地了解一下果蝇的染色体。果蝇只有 4 对染色体。在雌果蝇中，有 1 对很小呈粒状，2 对呈“V”形，另有 1 对呈棒状的特称为 XX 染色体；在雄果蝇中，前 3 对同雌果蝇的完全一样，但没有 1 对棒状的 XX 染色体，它是由 1 个棒状的 X 染色体和 1 个 J 形的 Y 染色体取代，这一对叫做 XY 染色体。

在摩尔根当时，就已经知道性染色体的存在。因此他推想，白眼这一隐性性状的基因 (w) 是位于 X 染色体上，而在 Y 染色体上没有它的等位基因。他让子一代的红眼雌果蝇 (Ww)，跟亲本的白眼雄果蝇 (wY) 回交，结果产生的后代果蝇中有 1/4 是红眼雌果蝇，1/4 是白眼雄果蝇。这个实验说明，白眼隐性突变基因 (w) 确实位于 X 染色体上。我们称这种现象为遗传性状的连锁定律。

摩尔根和他的助手们的杰出工作，第一次将代表某一特定性状的基因，同某一特定的染色体联系起来，使得科学界普遍地接受了孟德尔的遗传原理。摩尔根指出：“种质必须由某种独

立的要素组成,正是这些要素我们叫做遗传因子,或者更简单地叫做基因”。

## 2. 基因与 DNA 分子

尽管由于摩尔根及其学派的出色工作,使基因学说得到了普遍的承认,但是,直到1953年Watson-Crick DNA双螺旋模型提出之前,人们对于基因的理解仍缺乏准确的物质内容。那时的遗传学家,不但没有探明基因的结构特征,而且也不能解释位于细胞核中的基因,是怎样地控制在细胞质中发生的各种生化过程,以及在细胞繁殖过程中,为何基因可准确地产生自己的复制品。

首先用实验证明基因就是DNA分子的是美国著名的微生物学家O. T. Avery。他和他的合作者C. M. MacLeod及M. McCarty,在纽约进行细菌转化的研究,并于1944年发表了研究报告。他们选用的实验材料肺炎双球菌,有两种不同的品系:具荚膜的品系形成光滑型的菌落(简称S型)是有毒的;无荚膜的品系形成粗糙型的菌落(简称R型),是无毒的。他们发现,将S型肺炎双球菌的DNA加到R型肺炎双球菌的培养物中,能够使R型转变成S型,表现出具有毒力和荚膜的特性(图1-1)。

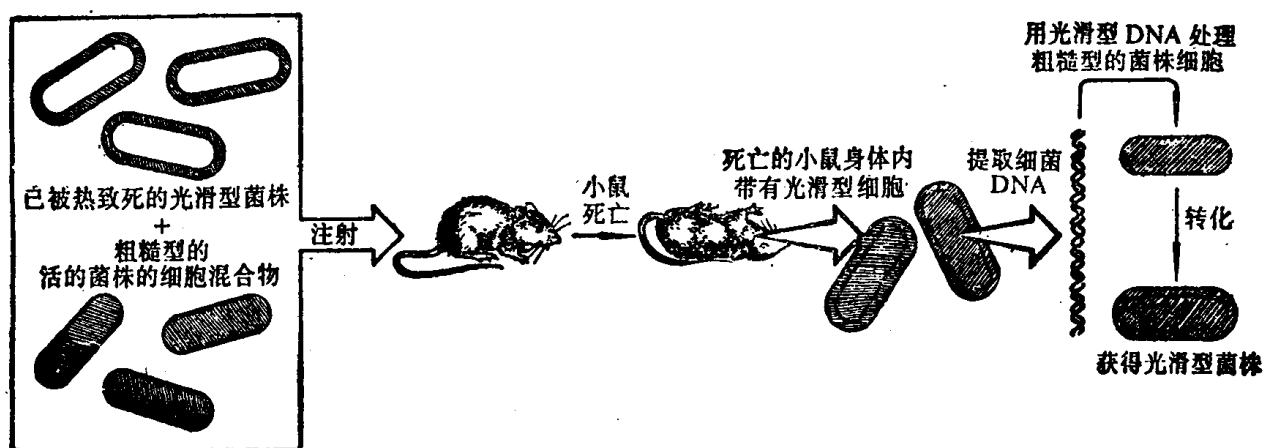


图1-1 细菌转化的遗传本质是DNA分子

无论是被热致死的光滑型肺炎球菌,还是粗糙型的活的肺炎球菌,单独注射都不能使小鼠致死;而两者混合物注射则会使小鼠致死。从混合物注射死亡的小鼠内分离出了活的光滑型的肺炎球菌。在体外将光滑型菌株的DNA提取物加到粗糙型菌株的培养物中,也可以使后者转化成为具毒性的光滑型菌株。

这种细菌转化实验以无可辩驳的事实证明,使细菌性状发生转化的因子是DNA。这一重大的发现轰动了整个生物界。因为当时许多研究者们都认为,只有象蛋白质这样复杂的大分子才能决定细胞的特性和遗传。Avery等人的工作打破了这种信条,在遗传学理论上树起了全新的观点——DNA分子是遗传信息的载体。

紧接着在1952年,美国冷泉港卡内基遗传学实验室的科学家A. D. Hershey和他的学生M. Chase共同发表报告,肯定了Avery的结论。他们用放射性同位素 $^{32}\text{P}$ 和 $^{35}\text{S}$ ,分别标记噬菌体的内部DNA和外壳蛋白质。然后再用这种双标记的噬菌体去感染寄主细胞。结果发现只有 $^{32}\text{P}$ 标记的DNA注入到寄主细胞内部,并且重新繁殖出子代噬菌体。这个实验进一步表明:在

噬菌体中遗传物质也是 DNA 分子,而不是蛋白质(图 1-2)。

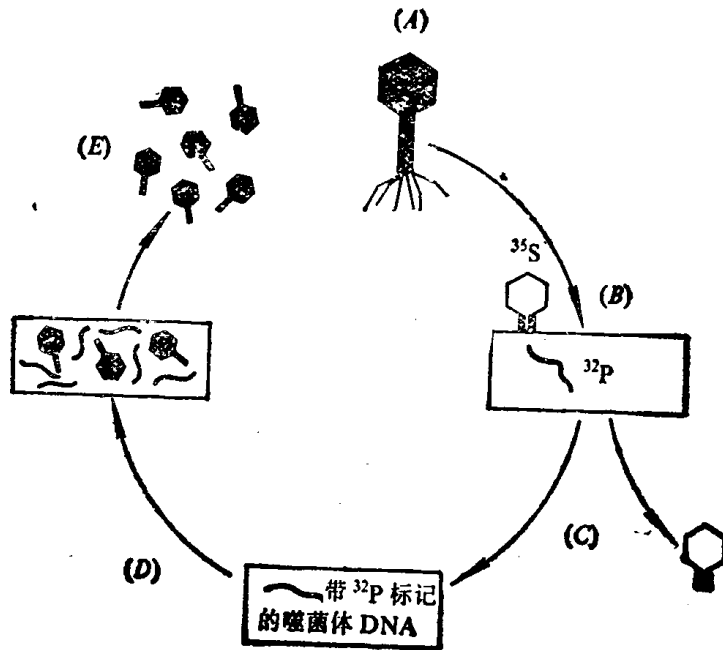


图 1-2 用放射性同位素  $^{35}\text{S}$  和  $^{32}\text{P}$  双标记法证明遗传信息的载体是 DNA 而不是蛋白质的 Hershey-Chase 实验示意图

(A) 噬菌体的蛋白质外壳,只含有 S,因此当其生长在含  $^{35}\text{S}$  的培养基中时,它的蛋白质便被特异性地标记上;而当噬菌体是在含  $^{32}\text{P}$  的培养基中增殖时,它的 DNA 也就会被特异性地标记上,因为在它的外壳蛋白质中没有 P; (B) 用这种带上双标记的噬菌体感染大肠杆菌宿主,噬菌体颗粒吸附在细胞上,并将其 DNA 注入细胞内; (C) 将感染的细菌培养物在混合搅拌器中剧烈振荡,使吸附在细胞上的已经中空的噬菌体外壳脱落下来; (D) 在感染的寄主细胞内,噬菌体 DNA 大量复制(其中只有亲本 DNA 链才带有  $^{32}\text{P}$  同位素)并装配成子代噬菌体颗粒; (E) 寄主细胞破裂,释放出新的子代噬菌体颗粒,其中有少量的噬菌体 DNA 带有  $^{32}\text{P}$  标记,但没有一个蛋白质外壳具有  $^{35}\text{S}$  标记。

证明了 DNA 是遗传物质和基因的载体之后,遗传学家和分子生物学家进而着手研究维系生命现象的基础——DNA 分子的自我复制的过程,以揭示遗传信息是怎样从亲代准确地传递到子代的本质。这个问题是在 1953 年 DNA 双螺旋结构模型提出之后才得到逐步解决的。根据这个模型,DNA 分子是由 2 条互补的多核苷酸链相互缠绕而成,其中每条链所具有的特殊的碱基结构都可作为合成另 1 条互补链的模板。也就是说,在 2 条 DNA 互补链之间,腺嘌呤(A)与胸腺嘧啶(T)配对,鸟嘌呤(G)与胞嘧啶(C)配对。在适宜的条件下,松开配对碱基之间氢键,便能使 2 条链解开,形成 2 条单链。然后以每条单链为模板,在 DNA 聚合酶和游离的核苷酸的参与下,按照碱基配对原理,吸引带有互补碱基的核苷酸,并在相邻的核苷酸之间形成磷酸二酯键。于是在靠近 2 条不配对的旧链的露出部分,都形成了一条新的互补链。由此产生的 2 个子代 DNA 分子与亲代分子的碱基顺序完全一样,并且在每个子代分子的双链中,都保留有一条亲代的 DNA 链。因此,人们把这种复制方式叫做 DNA 半保留复制(图 1-3)。由于 DNA 半

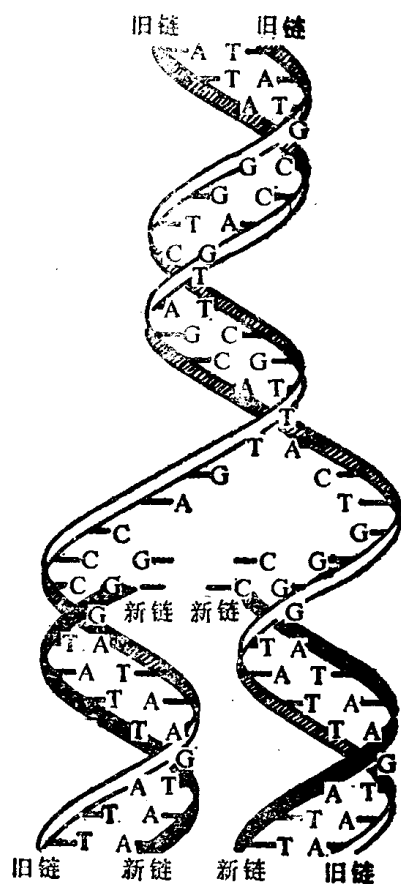


图 1-3 DNA 分子的半保留复制模型

保留复制是严格地按照碱基配对原理进行的，因此新合成的子代 DNA 分子忠实地保存了亲代 DNA 分子所携带的全部遗传信息。通过这样的复制，基因便能够代代相传，准确地保留下去。于是，遗传学家长期感到困惑的基因自我复制问题也就迎刃而解了。

双螺旋模型的建立，使遗传学家能够从分子水平分析遗传与变异的现象。基因再也不是一种只能用育种实验手段来研究的神秘物质了。它现在是以一种真正的分子物质呈现在我们的面前。科学家们能够象研究其它小分子一样，客观地探索基因的结构及功能。这样，人们便开始从分子的层次上研究基因的遗传现象，从此进入了基因的分子生物学的新时代。

### 3. 基因与 DNA 的多核苷酸区段

上面已经说过 DNA 分子是基因的载体，那么是否每一段 DNA 都是基因呢？按照经典的基因概念，在染色体或 DNA 分子上，基因是成串珠似的一个挨一个地排列着，它们之间由非遗传的物质连接起来。交换只是在基因之间进行，而不是在基因内部发生。换言之，基因既是遗传的功能单位，同时也是交换单位和突变单位。但是，后来有许多研究工作，特别是以 T4 噬菌体为材料的研究工作表明，事实并非如此。

T4 噬菌体是感染大肠杆菌的一种病毒。在它感染之后不到 30 分钟，寄主细胞就裂解死亡，并释放出约 100 个左右的子代噬菌体颗粒。这种控制寄主细胞致死效应(即所谓的快速溶菌)的功能，是由该噬菌体的 rII 区编码的。S. Benzer 使用一类通称为 rII 突变型的 T4 噬菌体为材料

进行研究,发现 rII 区可分为 rIIA 和 rIIB 两个亚区,它们各产生一种特殊的物质。只有当这 2 种物质同时存在时,其寄主菌大肠杆菌 K 株的细胞才会发生溶菌裂解。因此,用 rIIA 突变型和 rIIB 突变型单独感染大肠杆菌 K 株细胞,都不能正常生长;而用这 2 种突变型混合感染 K 株细胞时,就能象未发生突变的野生型 T4 噬菌体一样正常生长和行使功能。由此可见,rIIA 和 rIIB 显然是互补的突变型。在 rIIA 亚区发生了突变的 T4 噬菌体,能和在 rIIB 亚区发生了突变的 T4 噬菌体互补,但它们都不能跟与自己一样在同一亚区内发生突变的任何 T4 噬菌体互补,反之也一样。所以,rIIA 和 rIIB 是 2 个不同的功能单位。1955 年, Benzer 正式使用“顺反子”(cistron)这个术语,将这 2 个亚区分别叫做 rIIA 顺反子和 rIIB 顺反子(即 rIIA 基因和 rIIB 基因)。

很显然,每 1 个顺反子就是一段核苷酸序列,它编码 1 种完整的多肽链。这种多肽链既可以是一种具有生物活性的蛋白质,也可以同别的多肽聚合形成多功能的蛋白质。顺反子是功能单位,它是由许多可以突变的位点组成的,而这些位点之间又可以发生交换。现在大约已经分析了 2 400 个 rII 区的突变,并已鉴定出其中有 304 个不同的突变位点。这些突变可以整理成直线的顺序排列。这就说明基因本身也具有如同染色体基因线性排列一样的线性结构。根据 Benzer 的计算,在功能 DNA 中,最小交换单位约为 1—3 个核苷酸对,这同理论上的最低值,1 个核苷酸对极为相近。所以,顺反子中的最小交换单位(又称交换子)和最小突变单位(又称突变子),都应是 DNA 分子中的一个核苷酸对。只有在这种情况下,交换子才等于突变子。

在现代的遗传学文献中,顺反子和基因这两个术语是相互通用的。一般说来,一个顺反子即是一个基因,大约含有 1500 个核苷酸对,是由一群突变单位和重组单位组成的线性结构。因此,顺反子概念表明:基因不是最小单位,它仍然是可分的;并非所有的 DNA 序列都是基因,而只有其中某一特定的多核苷酸区段才是基因的编码区。

一切生物,从细菌到哺乳动物,它们的基因都是由 DNA 构成的。由于所有生物的 DNA 的基本结构都是一致的,因此,来自两种生命形态的基因(DNA)可以融为一体。由此可见,基因的 DNA 共性,是进行基因工程的重要理论基础之一。

#### 4. 基因与多肽链

把基因的功能同酶的作用联系起来的想法,最早可以追溯到 1902 年到 1908 年之间。当时 A. Garrod 在研究人类黑尿病(alkaptonurea)时就已经指出,这种疾病是由于缺乏某种酶催代谢反应所致。但是第一次明确提出“一种基因一种酶”假说的学者则是 G. W. Beadle 和 E. L. Tatum。1941 年,他们在分析了对红色面包霉(*Neurospora crassa*)的大量研究结果之后,认为生物体内发生的每一步代谢反应,都是由一种特殊的酶负责控制的,而这种酶又是某一特定基因的合成产物。一旦基因发生突变,那么由它指导合成的蛋白质也将随之发生变化,甚至可能导致活性的丧失。因为就基因的结构而论,突变只是一种随机的事件,它极可能破坏基因的功能,而大量的突变就会产生出一种无功能的基因。

“一种基因一种酶”的假说,到了 1945 年已经成为一种十分流行的说法。毫无疑问,这种假说对于促进遗传学的研究曾起到相当积极的作用。不过这里应该提醒,在那个时候,人们对于

基因的认识还局限于经典的、抽象的孟德尔遗传单位的范畴之内，对基因的分子本质还毫无了解。况且，这个假说也没有说明基因究竟是怎样指导酶的合成，更没有涉及到基因指导氨基酸组装成蛋白质多肽链的概念。

直到1957年，英国剑桥的科学家 V. M. Ingram, 在对镰形细胞贫血症(sickle cell anemia)的血红蛋白，和正常的血红蛋白的氨基酸序列作了对比研究之后，才第一次用实验证实了基因同蛋白质之间的直接联系。镰形细胞贫血症的患者，在氧分压较低的环境中，他们的红细胞便会呈现出异常的形状似镰刀的构形，结果给血液循环带来严重的后果。研究表明，这种疾病是一种基因突变造成的分子病。Ingram 应用当时刚刚发明的蛋白质氨基酸序列分析法，分析了成人血红蛋白的  $\alpha$  链和  $\beta$  链。在镰形血红蛋白  $\alpha$  链未发现有任何变化，但其每一条  $\beta$  链都同正常野生型的血红蛋白的  $\beta$  链之间有 1 个氨基酸的差别，即在  $\beta$ -多肽链的氨基端第 6 个氨基酸部位由缬氨酸取代了正常的谷氨酸。这表明基因的突变，会直接影响到它编码的蛋白质多肽链的成分的改变，从而证实了“一种基因一种酶”的假说是正确的。

蛋白质的结构研究发现，有许多种的蛋白质都是由数个亚基组成的。这类蛋白质叫做多体蛋白质(multimeric proteins)。在多体蛋白质中，如果所有的亚基都是同样的，这种蛋白质就是属于同型多体(homomultimer)蛋白质，由一种基因编码。如果这些亚基各不相同，这种多体蛋白质便属于异型多体(heteromultimer)蛋白质，由多种基因编码。例如血红蛋白，就是由多种不同的多肽链组成的一种异型多体蛋白质。再如一个血红素基团(heme group)，是由 2 个  $\alpha$  亚基和 2 个  $\beta$  亚基组成的另一种异型多体蛋白质。每一种类型的亚基都是一种不同的多肽链，是不同基因编码的产物。因此，编码  $\alpha$  亚基和  $\beta$  亚基的任何一个基因发生突变，都会导致血红蛋白功能的抑制。为了能够适用于任何一种异型多体蛋白质的情况，“一种基因一种酶”的表述，后来便被修正为“一种基因一种多肽”，这样就更加准确地反映出事物的本质。

### 5. 基因的碱基顺序与蛋白质的氨基酸顺序

V. M. Ingram 虽然确定了基因同蛋白质多肽链之间的对应关系，但他不可能更加深入地了解这种关系的分子本质。因为在他那个时候，分离编码各条血红蛋白多肽链的 DNA 的工作，简直是不可想像的。其后经过多年的努力，加上 DNA 分子生物学多方面的进展，基因的核苷酸碱基顺序，同蛋白质多肽链氨基酸顺序之间的对应关系才得到了阐明。

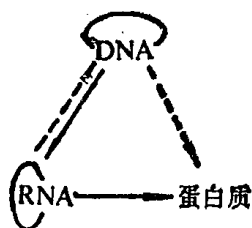
1958 年，F. Crick 在综合地分析了 50 年代末期有关于遗传信息流向的各种资料的基础上，提出了描述 DNA、RNA 和蛋白质三者关系的所谓中心法则(central dogma)。根据这个法则，遗传信息是从 DNA 流向 RNA，再由 RNA 流向蛋白质：



这个图式表明，在 DNA 的复制过程中，DNA 的双链解开，以单链形式作为合成自己互补链(cDNA)的模板；而在 DNA 到 RNA 转录过程中，单链的 DNA 则是作为指导 RNA 合成的模板。实验证明，在细胞内的 DNA 的 2 条链中，只有一条具有转录的活性，另一条则只能进行



复制而无转录的功能。在从 RNA 到蛋白质的所谓转译过程中, RNA 又反过来作为蛋白质氨基酸顺序的模板, 指导多肽链的合成。中心法则认为, 遗传信息一旦转移到蛋白质分子之后, 就不再能由蛋白质传向蛋白质, 或由蛋白质传向 DNA 或 RNA。但是, 这里所说的只是在细胞中发现的信息传递的一般路线, 而没有涉及反转录等特殊问题。随着分子生物学研究的深入, 人们发现有很多 RNA 病毒, 例如小儿麻痹症病毒、流行性感胃病毒以及大多数单链 RNA 噬菌体等, 在感染了寄主细胞之后, 都能够进行 RNA 的复制。1970 年, H. M. Temin 和 D. Baltimore 发现, 有一些 RNA 致癌病毒, 如劳斯氏肉瘤病毒 [Rous sarcoma virus (RSV)], 在寄主细胞中的复制过程是, 先以病毒的 RNA 分子为模板, 在反转录酶的作用下, 合成 DNA 互补链, 然后以 DNA 链为模板合成新的病毒 RNA, 也就是说, 遗传信息可以从 RNA 反向传递到 DNA, 这是中心法则提出之后的一个重要的发现。1971 年 F. Crick 根据新的进展修改了中心法则, 提出了更为完整的图解模式:



图中的实线箭头所示的是 3 种普遍地存在于绝大多数生物细胞中的遗传信息传递方向。虚线箭头表示的是特殊情况下的遗传信息的传递方向, 只存在于极少数的生物中。而遗传信息从 DNA 直接到蛋白质的传递, 只是一种理论上的可能性, 迄今尚未在活细胞中得到证实。

当我们思考转录和转译这两个过程时会发现, 转译与转录不同, 它不是简单的核苷酸顺序的抄写, 而是将 RNA 分子上的核苷酸语言, 翻译成蛋白质分子上的氨基酸语言的复杂过程, 是涉及到两种不同语言信号之间的更换问题。因此, 在转译过程中, 必定存在着一种特殊的遗传密码 (genetic code) 系统, 才能够将 RNA 分子上的核苷酸顺序, 同蛋白质分子上的氨基酸顺序联系起来。

在 50 年代末和 60 年代初, 关于遗传密码的研究是基因分子生物学中最活跃的课题之一。经过许多人的共同努力, 特别是 F. Crick 和 S. Brenner 的出色工作, 到 1961 年底有关遗传密码的若干最主要的问题就已经得到了解决。第一个问题是密码比 (coding ratio)。核酸有 4 种不同的碱基 (DNA 的是 A. G. C. T; RNA 的是 A. G. C. U)。如果是一种碱基编码一种氨基酸, 总共只能有 4 种不同的氨基酸; 如果是 2 个碱基编码一种氨基酸, 则可以编码出 16 种 ( $4^2=16$ ) 不同的氨基酸; 如果是每 3 个碱基编码一种氨基酸, 就会编码出 64 种 ( $4^3=64$ ) 不同的氨基酸。蛋白质分子是由 20 种不同的氨基酸构成的。据此推理, 可以得出一个简单的结论, 即由 3 个碱基甚至更多的碱基编码一种氨基酸是必要的。遗传学实验证实, 是由 3 个碱基编码一种氨基酸, 我们称这种碱基三联体为密码子 (codon)。

第二个问题是密码 (code) 是否重叠。按常规推测, 遗传密码的排列有重叠的和不重叠的两种可能性。在不重叠的三联密码中, 每 3 个碱基组成一组, 只特异地编码一种氨基酸; 但在完全

• 8 •