

分子遗传学纲要

陈俊民 编



内 容 简 介

本书系统地阐明分子遗传学的基本原理和方法。全书共分八章,包括遗传学发展简史,基因分子的结构和功能——复制、表达和变异(包括突变和遗传重组),质粒与基因工程,遗传分析方法及真核生物分子遗传学的一些问题。书末附获得诺贝尔奖金的分子遗传学家名单和参考文献。本书力图启发读者的思维。可供大学生、研究生和科研人员阅读参考。

分子遗传学纲要

陈俊民 编

高等教育出版社出版

新华书店北京发行所发行

复旦大学印刷厂印装

开本850×1168 1/32 印张3.875 字数88,000

1985年5月第1版 1985年5月第1次印刷

印数00,001—7,200

书号13010·01065 定价1.10元

前 言

自从Watson和Crick在1953年提出DNA双螺旋结构以来至今30周年了。分子遗传学的飞速发展使它成为自然科学中最有成效的学科之一，成为生物学包括医学、农学和生物工程学的重要理论基础。引人注目的基因工程是在分子遗传学的基础上发展起来的。离开分子遗传学的理论指导，把它单纯看成是一种技术或化学方法，是不全面的。

本书力求做到：(1) 在介绍分子遗传学的基本原理的同时，尽可能启发读者的思维，例如科学家如何发现问题、提出设想、设计试验去加以验证，并通过对试验结果的分析得出新的结论、提出新问题。对问题的讨论按照认识过程逐步深入。(2) 反映分子遗传学的最新成就。(3) 以图解加深对问题的认识，并为此精心作了不少设计(如图5.5和5.8)，但这些目标没有很好达到。

本书首先介绍遗传学的发展简史和核酸的化学结构，然后着重讨论DNA分子的三大功能——复制、表达和变异，随后介绍基因工程及其常用运载体，遗传分析的主要方法和真核生物的一些特殊问题。书末附获得诺贝尔奖金的分子遗传学家名单，他们的工作是分子遗传学的里程碑。参考文献只列出一些最新资料供进一步阅读。

简浩然教授、江静波教授对本书的编写给予热情鼓励，并提出宝贵意见，朱汝舫同志在出版过程中给予大力帮助，谨致谢忱。

本书篇幅较小，内容不得不有所取舍。由于作者水平有限，书中错误缺点在所难免。敬希读者批评指正。

作者于中山大学
1983年国庆节

目 录

前言	1
第一章 遗传学发展简史	1
古典遗传学(1)遗传学向分子水平发展(2)DNA双螺旋模型的提出和分子遗传学的诞生(5)	
第二章 核酸的复制	6
一、核酸的结构	6
核酸的组分(6)核酸的二级结构(7)核酸的一些化学性质(11)DNA在细胞中的存在形式(11)	
二、DNA的复制	13
环形双链DNA的复制(13)环形单股DNA的复制(20)依赖RNA的DNA合成(21)依赖RNA的RNA复制(22)	
第三章 基因的表达及其调节	23
一、转录	23
二、转译	26
三、遗传密码	33
遗传密码的破译(33)密码子的简并和摇摆配对规律(35)密码子的通用性和例外(36)	
四、基因表达的调节(37)	
转录起始的调节(37)转录终止的调节(41)rRNA合成和蛋白质合成的关系(42)温和性噬菌体生活史的基因调节(43)	
第四章 突变及其机制	46
一、DNA的损伤和修复	46
DNA的损伤(46)DNA损伤的修复(46)	
二、突变的发生和突变株的筛选	48

突变的非定向性(48)突变在群体中的发生是随机的(50)	
突变发生的位点不是随机的(50)突变株的筛选(50)	
三、突变的机制	52
突变的类型(52)各种诱变剂的作用机制(53)自发突变	
(58)回复突变(58)高等动物的诱变(60)	
第五章 细菌及噬菌体的基因重组	61
一、基因重组的一些基本问题	61
对外源DNA的限制和修饰(61)重组和重组模型(62)参加	
重组的酶系统(65)	
二、转化	66
对给体DNA的要求(66)受体菌的性质(66)转化过程(67)	
三、接合	67
致育因子引起 <i>E. coli</i> 的接合(67)以F 因子为中介转移	
<i>E. coli</i> 基因(68)	
四、噬菌体的重组及其引起的转导	71
噬菌体的重组(71)转导(72)噬菌体转变(75)	
五、原生质体融合	75
第六章 质粒与基因工程	77
一、质粒	77
质粒的种类(77)质粒的复制(80)质粒的转移(81)细菌对	
质粒重复感染的免疫(82)	
二、基因工程	83
技术要求(83)应用上面的方法(89)	
第七章 遗传结构分析	91
一、互补试验	91
二、基因定位	93
根据复制的先后(93)根据接合时基因的转移时间和重组	

率(93)根据连锁和重组率(93)	
三、遗传精细结构分析	95
通过DNA重组进行突变位点的分析(95)通过体外杂交检	
查同源或缺失部位(96)DNA顺序分析(97)	
第八章 真核生物分子遗传学的一些问题	100
一、遗传信息的组织	100
二、转录与加工	101
三、基因表达的调节... ..	105
转录的调节(105)蛋白质的合成与分解(106)	
附录：因研究分子遗传学而获得诺贝尔奖金的科学家	107
主要参考文献	109

第一章 遗传学发展简史

遗传学是研究遗传和变异的科学。它研究遗传信息如何从亲代准确地传递给后代，和由于突变等而引起的生物体遗传特征的不连续的、可传给后代的变化，研究基因型及其对表型的影响方式，即生物体的遗传组成及其对结构、生理与生化特征的影响方式。遗传学的发展可分为几个阶段：

I. 古典遗传学

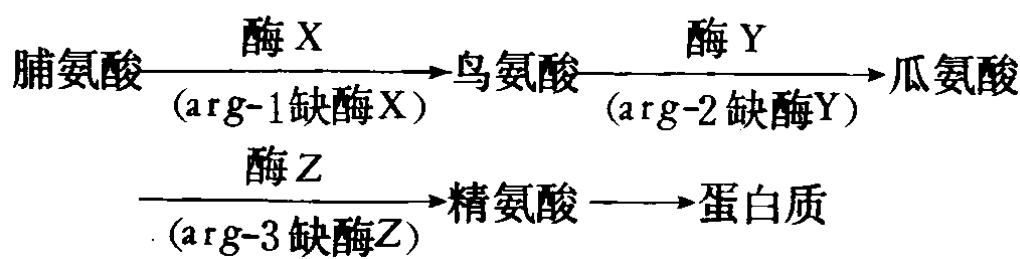
人类通过长期的生产实践，培育出各种动、植物新品种，积累了不少遗传育种的经验。但遗传学作为一门科学是从孟德尔1866年发表的豌豆杂交试验开始的。豌豆具有一些容易观察的形态特征，在自然条件下是自花授粉的，容易保持纯系，并且要进行杂交也很方便。孟德尔把可观察的遗传特征(表型)和控制它们的遗传因子(后人称为基因(gene)，其组成称为基因型)区分开来，并用纯系开始进行杂交。通过对亲代和子代之间表型的关系进行基因型的分析，揭示了二个重要的遗传学规律，即基因的分离定律和自由组合定律。但当时的研究限于生物体的整体水平，并且不知道遗传因子位于何处，是何物质，如何传递和起作用的。

孟德尔的研究在1900年才被重新发现。这时已发现了细胞、有丝分裂和减数分裂。不久Sutton与Boveri分别注意到分离定律和减数分裂时同源染色体的分离现象是平行的，自由组合定律和减数分裂时各对同源染色体在分离过程中的随机组合现象是平行的，得出基因在染色体上的结论。但实验证据主要来自摩尔根等人的果蝇试验。果蝇繁殖快，可观察的特征又多。他们通过果蝇

的研究，发现基因的联锁与交换规律和减数分裂时染色体的交换行为是平行的，证明基因位于染色体上，把遗传学推进到了染色体水平。通过对不同基因联锁关系的遗传分析，对果蝇四对染色体上的几百个基因进行了定位。其他学者也对动、植物包括人体进行了大量的遗传学研究和基因定位。

II. 遗传学向分子水平发展

A. 生化遗传学和一个基因一种酶学说 Garrod 1908 年认为尿黑酸症这种遗传病是由于一种隐性基因纯合子不能产生催化某种生化反应的酶的结果，最先提出基因与酶的关系的设想。Beadle 与 Ephrussi 1936 年对果蝇朱红眼、朱砂眼和野生型眼的研究也证实这一理论。Beadle 与 Tatum 1941 年采用粗糙链孢霉进行试验。霉菌和细菌有许多优点：（1）单倍体，容易分离到突变株供遗传分析。因为突变基本上是隐性的，双倍体中一个等位基因的突变常被掩盖。（2）个体小、生长快，易得到大量后代。（3）能在简单的合成培养基中生长，通过诱变容易得到代谢障碍的菌株。他们用紫外线或 X 射线处理后，得到许多营养缺陷菌株，其中有三种精氨酸缺陷菌株都需要在基本培养基中添加精氨酸才能生长，但突变株 arg-1 还能在瓜氨酸和鸟氨酸上生长，arg-2 还能在瓜氨酸上生长。结论是它们分别缺失精氨酸合成途径中的一种酶，证明遗传性状是通过酶来实现的，一种基因决定一种酶。



后来知道有些酶由几个亚基构成，而且有些基因产物是多肽而不是酶，因此改为“一个基因—一个多肽”学说。这个学说基本正确，但还有一些基因不编码多肽。

既然一个基因决定一种多肽，而多肽又是由一定顺序的氨基酸排列而成，那么由基因决定多肽的氨基酸顺序是不言而喻的。但这种想法直到发现DNA是遗传物质之后才得到证实。在此之前有人提出“酶不能制造酶”的假说，认为酶只能催化某一步代谢反应而不能决定多肽的氨基酸顺序。假如基因是一种酶，那么这种酶的氨基酸顺序又是由什么决定的？显然不能在酶或蛋白质当中去寻找构成基因的物质。

B. 脱氧核糖核酸(DNA)是遗传物质 细胞遗传学和生化遗传学的发展使遗传学家产生一种新概念：基因是一种化学分子。这一研究的第一个突破来自下面的试验。

1. 肺炎球菌的转化试验：肺炎球菌S株在琼脂培养皿上形成大而光滑闪亮的菌落、称光滑型，细胞外有一层厚的多糖荚膜，能使人得肺炎，使小鼠患败血症而很快死亡。R株形成粗糙型菌落，无荚膜，不能致病。Griffith 1928年报告，把加热杀死的S型菌和活的R型菌分别注射小鼠都不致死，但混合注射则小鼠死亡，从死亡的小鼠血液中分离到了活的S型菌。他把这种现象称为转化。看来在加热杀死的S型菌中存在一种能使R型菌变为S型菌的因子。他认为这种转化因子可能是多糖或者催化多糖合成的酶。

后来有人在试管中进行转化也得到成功，并发现转化因子能被酒精或丙酮沉淀，加热至80℃不变性，但煮沸或加肺炎球菌自溶液中的酶则被破坏，说明它不是荚膜多糖。Avery, MacLeod和McCarty 1944年证明转化因子具有DNA的所有特征。后来有人证明用蛋白酶和RNA酶处理不影响其活性，但DNA酶则能破坏它。改进提纯方法后发现转化因子中杂质含量小于0.02%时仍有转化活性，并且随着DNA纯度的提高，转化活性也提高，从而认为转化因子是DNA。转化因子能自我复制并传给后代，还能指导细胞合成荚膜多糖，这些正是基因具备的特点。但当时对DNA缺乏足

够认识，因此Avery等人的发现没有马上得到普遍接受。

2. 噬菌体感染试验：Hershey与Chase 1952年用放射性同位素标记T2噬菌体进行感染试验(图1.1)。T2结构简单，由蛋白质外壳和蛋白质外壳包裹的DNA分子构成，其只能在细菌细胞内利

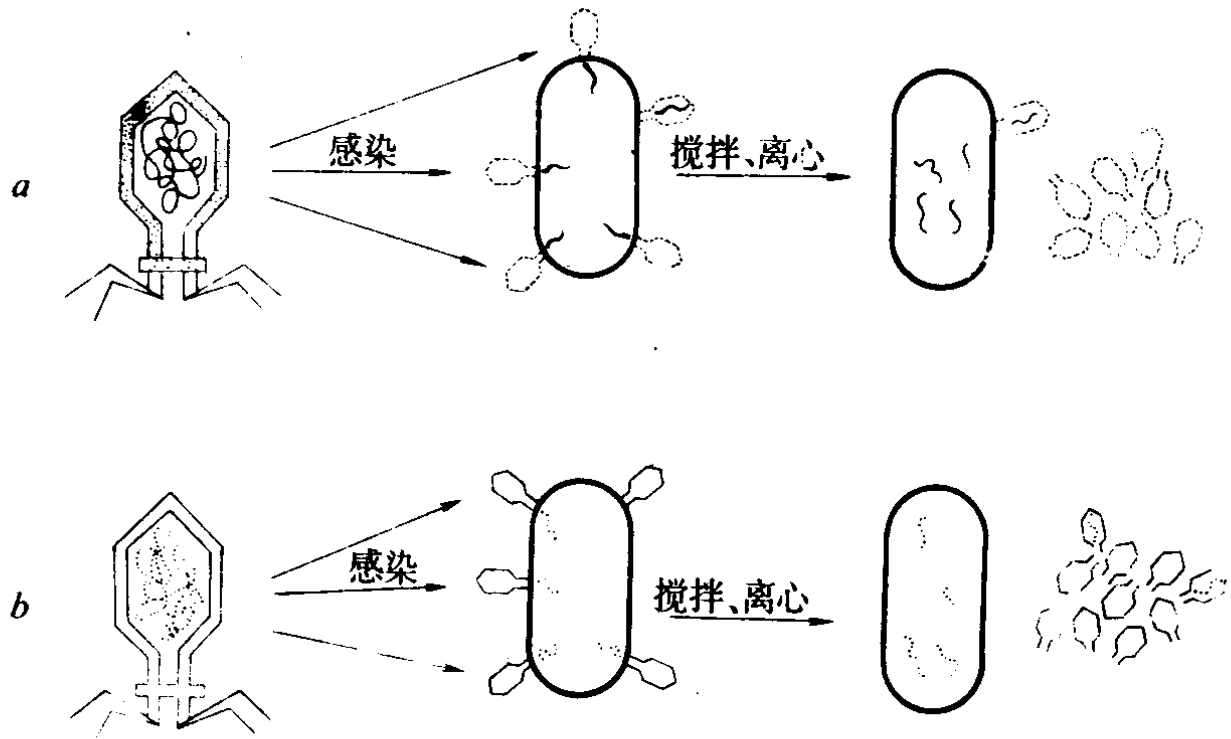


图1.1 噬菌体T2感染试验证明DNA是遗传物质

a. 用 ^{35}S 标记T2蛋白质，经感染和搅拌后，极大部分放射剂量存在T2外壳中，子代T2无放射剂量。 b. 用 ^{32}P 标记T2DNA，感染和搅拌后大部分放射剂量存在细菌细胞中，其中50%放射剂量传给子代T2。图中放射性物质以细点表示。

用寄主的酶繁殖后代。磷存在于DNA中，而蛋白质中不存在，硫则相反。在含 ^{35}S 的培养基中培养被T2感染的大肠杆菌(*E.coli*)，则释放出的后代T2的外壳蛋白标记上 ^{35}S 。然后用它感染*E.coli*，感染后用搅拌器将附着在细菌外的噬菌体外壳刮掉，经离心后发现约80%的 ^{35}S 的放射剂量存在上清液中脱落的外壳上，20%粘附在细菌表面的噬菌体外壳上，只有1%在T2后代中找到。如用 ^{32}P 标记T2的DNA后进行感染，则80%的 ^{32}P 的放射剂量进入细胞中，其中50%传给后代；上清液中还有20%放射剂量存在于不能感染

的完整噬菌体中。证明了噬菌体的蛋白质外壳没有进入细菌中，只有DNA进入到了细菌的细胞中。噬菌体DNA引导细菌细胞合成新的噬菌体DNA和蛋白外壳并装配成子代噬菌体。再次证明DNA是遗传物质。

后来又发现烟草花叶病病毒等的遗传物质是核糖核酸(RNA)。

Ⅲ. DNA双螺旋模型的提出和分子遗传学的诞生

在遗传学家、生化学家、微生物学家和物理学家的共同努力下，研究目标集中到一个根本问题：担负起遗传信息这种特殊功能的DNA的物质基础是什么？在对DNA四种碱基的比例关系和对DNA的X光衍射图进行深入分析之后，Watson与Crick于1953年提出了影响无比深远的“DNA的双螺旋结构”。具体问题将在第二章阐述，这里只指出其重大意义。DNA双螺旋结构使它具备了基因的三大功能：(1) DNA是一条用A、G、C、T四种字母(代表四种碱基)书写的数量无比巨大的遗传信息语言，它决定多肽(包括酶)的氨基酸顺序，从而决定了生物体的表型。(2) 这种遗传信息可通过自我复制而传给后代。(3) 碱基顺序的改变可引起遗传性的改变。从此以后遗传学家不但把基因定位在DNA分子的某一段上，把突变位点定位在某一对核苷酸上，还弄清了一些基因的核苷酸顺序，并且把整个遗传学包括基因的复制、表达和变异等各方面的研究深入到分子水平上。遗传学从此进入了分子遗传学阶段。Watson和Crick由于这一巨大功勋而获得1962年诺贝尔奖金，人们也把1953年作为分子遗传学的新纪元。

第二章 核酸的复制

上文已证实遗传物质是DNA(一些病毒为RNA)。为了深入研究其遗传功能,必须先了解核酸的分子结构及其在细胞中的存在形式,以及核酸的复制。

一、核酸的结构

I. 核酸的组分

核酸(nucleic acid)是由许多核苷酸(nucleotide)聚合而成的直链大分子化合物,由有机碱基(base)、戊糖和磷酸构成。核酸所含的碱基是嘧啶(pyrimidine)或嘌呤(purine)的衍生物,主要有尿嘧啶(uracil, U),胸腺嘧啶(thymine, T),胞嘧啶(cytosine, C),腺嘌呤(adenine, A)和鸟嘌呤(guanine, G)(图2.1)。此外还有次黄嘌呤(hypoxanthine, I)和一些稀有碱基。

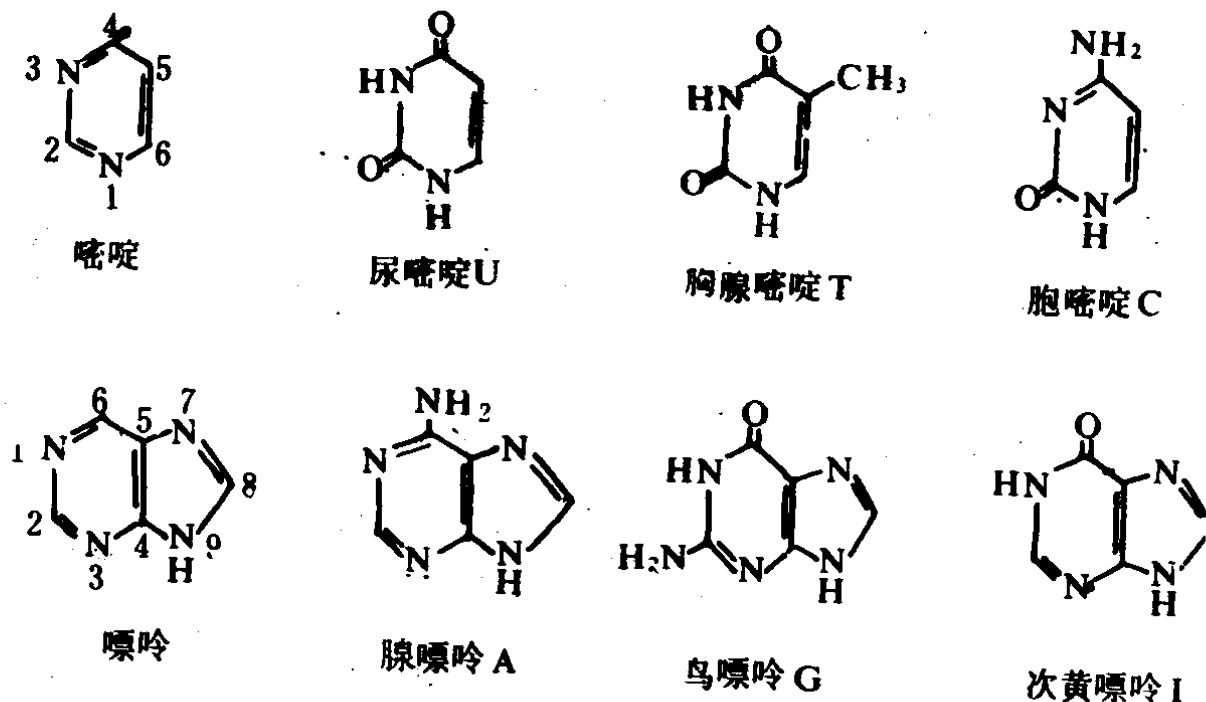


图 2.1 核酸的主要碱基

核酸中的戊糖有核糖(ribose)和脱氧核糖(deoxyribose)两种,和碱基缩水分别构成核糖核苷和脱氧核糖核苷,统称核苷(nucleoside),如腺苷和脱氧腺苷等。核酸被磷酸二酯酶降解后生成各种核苷酸。核苷酸是核苷的磷酸酯,是由核苷的戊糖上5'位的羟基和磷酸缩水而成,因此称5'-核苷酸(5'有时不标出),例如腺苷-5'-磷酸,简称腺苷酸,以5'-AMP表示(图2.2);脱氧腺苷-5'-磷酸简称脱氧腺苷酸,以5'-dAMP表示。核苷酸可以有1—3个磷酸基团,分别以-MP、-DP和-TP表示,如腺苷三磷酸为ATP。

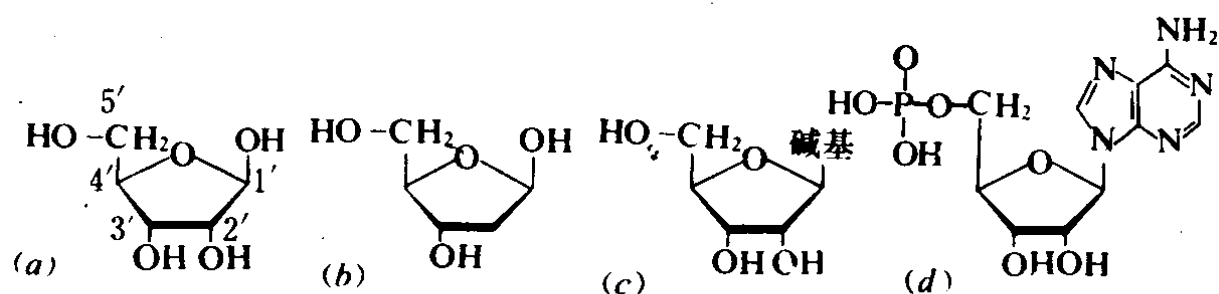


图 2.2 核糖(a), 脱氧核糖(b), 核糖核苷(c)和5'-腺苷酸(d)

通过核苷酸的磷酸和另一个核苷酸的戊糖上的3'-OH之间形成的磷酸二酯键,可形成聚核苷酸(polynucleotide)。这是一条以磷酸和戊糖相间排列作为主干而以碱基为侧支的长链。核酸是大分子的聚核苷酸,分为核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)和脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)两类。RNA主要由AMP、GMP、UMP和CMP构成;DNA主要由dAMP、dGMP、dTMP和dCMP构成。

II. 核酸的二级结构

核酸分子和蛋白质分子一样,除了由共价键连接成链状的一级结构之外,还通过分子间的弱化学键构成特定的二级和三级结构。最重要的弱化学键是氢键和离子键,其次是范得瓦尔力和疏水键。

A. DNA 对DNA的各种碱基含量分析的结果发现 $T = A$,

G = C。而通过X 射线衍射研究发现DNA是细长双链结构。Watson和Crick 1953年从这些结果推断出DNA的双螺旋结构模型(图2.3)；两条右旋的极性相反(DNA 的一头是某股链的3' 端和另一股链的5' 端，另一头则倒过来,3' 端方向以↑表示)的聚脱氧核糖核苷酸链(其碱基以氢键相互配对；图2.3 a)构成直径20Å的双螺旋。两

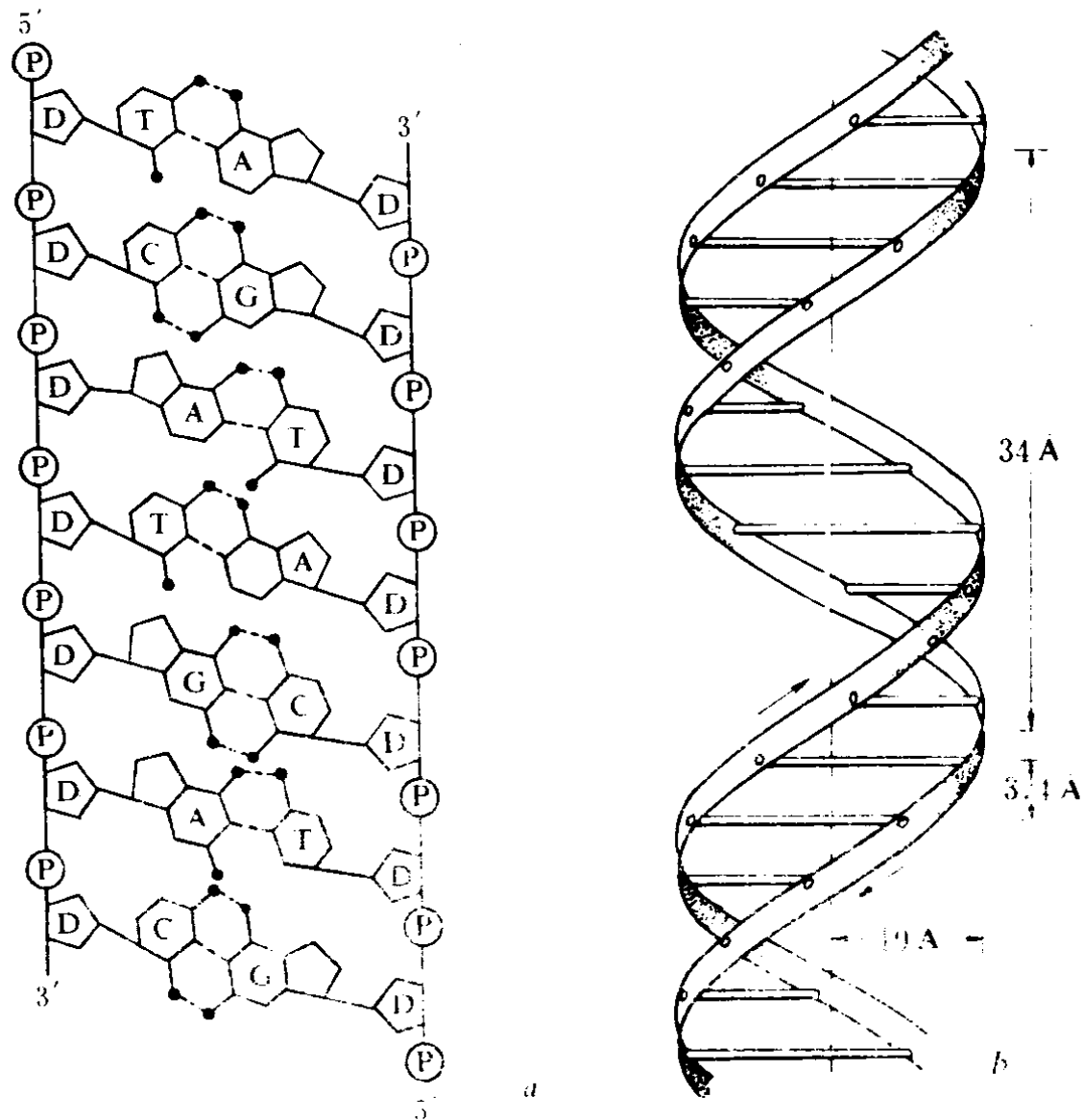


图2.3 DNA的结构
a. 平面结构图； b. 立体模型图

股链之间的距离刚好容纳一个嘧啶和一个嘌呤，但由于H键配对的关系，只能是A对T或G对C(图2.4) 因此双股链DNA中4种碱基的关系为A = T C = C。每周旋距34Å，上面排列10对核苷酸。

有些噬菌体的DNA是单链的，在这种情况下A和T，G和C可以不相等。

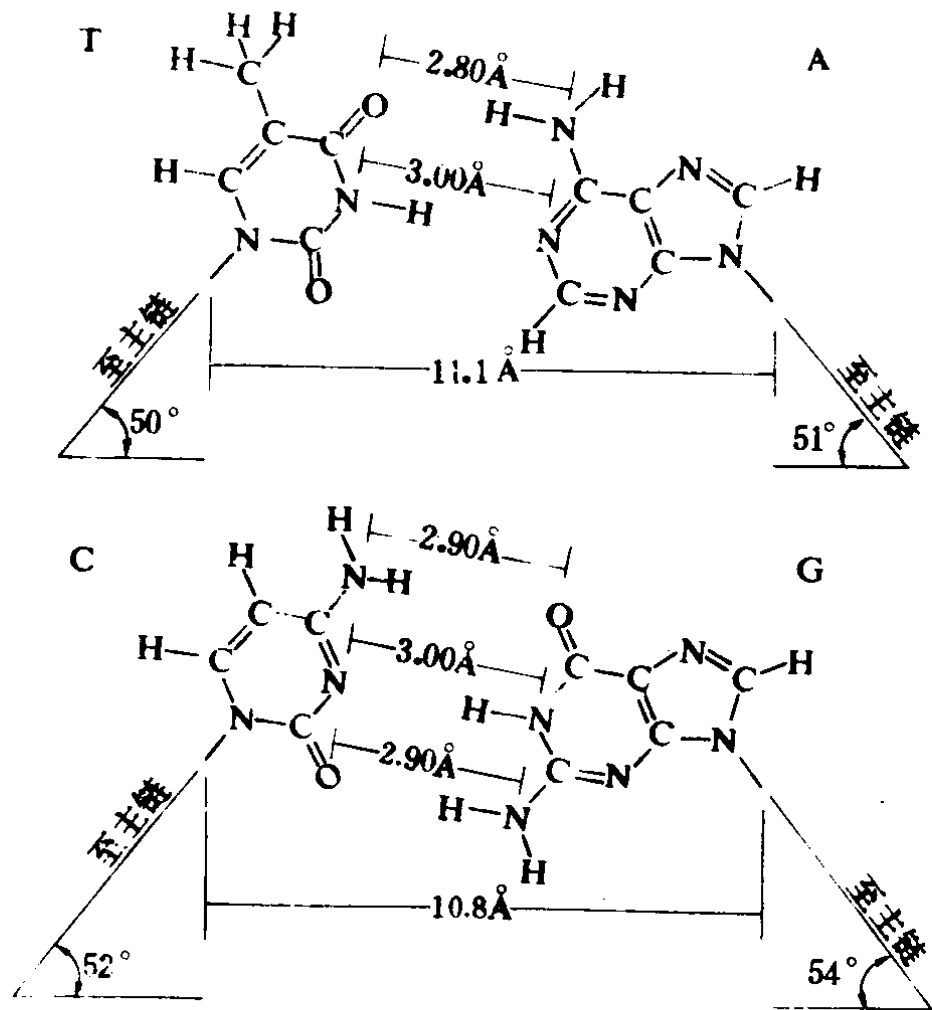


图 2.4 DNA 双螺旋中A与T，G与C之间的氢键

细菌和质粒等的DNA是环形双链的。当环形DNA分子扭转得更紧(例如每周有9.5 核苷酸对)时，则DNA在 α 螺旋基础上再卷曲成超旋结构，称为闭环，就象把扭得过紧的双股绳的两头靠近时那样。当超螺旋的某股链上出现一个切口就可松开成为环形，称为开环。

B. RNA 除最近发现的小鼠脑心肌炎病毒之外, RNA都不是环形的, RNA的核苷酸数目从75至1 万以上。RNA都是单链结构，因此不能象DNA那样构成统一的双螺旋结构，但同一条链上的大多数碱基常以氢键相配对(A :::: U, G :::: C)而折叠成发夹状的

Diagram illustrating the cloverleaf structure of tRNA^{Ala} (Alanine tRNA). The structure shows the following components and modifications:

- Acceptor Stem (氨基酸受体臂):** The 3' terminal adenosine (A-O-丙氨酸) is attached to the acceptor stem.
- D-loop (D环):** Contains modified nucleotides including D (2-dihydropyrimidinone) and G.
- T ψ C-loop (T ψ C环):** Contains modified nucleotides including T (thymine), ψ (pseudouridine), and C (cytosine).
- Anticodon Loop (反密码子环):** Contains the anticodon sequence IGC (where I is inosine), which pairs with the codon AGG (Arginine).
- Extra Loop (额外环):** A small loop containing modified nucleotides including Me (methyl group) and G.
- Stems:** The structure is stabilized by base pairing between complementary nucleotides in the stems.

Legend for modified nucleotides:

- ψ : 假尿苷 (Pseudouridine)
- D: 二氢尿苷 (2-dihydropyrimidinone)
- GMe: 甲基鸟苷 (Methylguanosine)
- G₂Me: 二甲基鸟苷 (Dimethylguanosine)
- I: 次黄嘌呤核苷 (Inosine)
- IMe: 甲基次黄嘌呤核苷 (Methylinosine)
- T: 胸腺苷 (Thymine)

根据功能的不同可把RNA分为信使RNA (messenger RNA, mRNA)、核糖体RNA (ribosomal RNA, rRNA) 和转移RNA (transfer RNA, tRNA), 它们通常是以DNA为模板合成的, 但有些RNA病毒可由RNA复制新RNA链。mRNA的任务是在蛋白质合成时按照DNA上的遗传信息去控制正确的氨基酸顺序。

• 10 •

CCAOH, 能和氨基酸结合; (2) 二氢尿嘧啶环(UH₂或D环): 基部3—4对, 环上8—12个; (3) 反密码子环: 基部5对, 环上7个包括反密码子3个; (4) 五核苷酸环(又称T ψ C环): 基部5对, 环上7个; (5) 额外环: 短者3—5个, 长者13—15个, 在三级结构中由氢键把三叶草形弯曲成L形空间构型(图2.5(b))。氨基酸受体臂的CCAOH和反密码子环分别位在L形的两端, 相距约70Å; D环和T ψ C环形成L的角。

原核细胞的rRNA有5S(S为沉降系数, 分子量越大S也越大, 但二者不成比例)、16S和23S三种, 它们和蛋白质共同构成70S的核糖体, 其中23S、5SrRNA和33种蛋白质构成50S亚基, 16SrRNA和21种蛋白质构成30S亚基。真核细胞的核糖体为80S, 由5S、5.8S和28SrRNA和蛋白质构成60S亚基, 18SrRNA和蛋白质构成40S亚基。各种rRNA都是由发夹迴构成的分支或菊花形结构。三种RNA的功能将在第三章讨论。

· III. 核酸的一些化学性质

核酸及其碱基的吸收光谱高峰在260nm(毫微米)左右, 因此紫外线辐射可引起DNA损伤(见第四章)。将DNA加热至一定温度时双链就分开, 这个过程称热变性。在双链开始松开后消光值逐步升高, 至完全分开时达最高峰。消光值升高的中点称融解温度(T_m)。因为AT间只有两对H键, GC间有叁对, 含GC对较多的DNA, T_m值较高, 可据此推算各种DNA的GC克分子比。将DNA热变性后慢慢冷却, 则两条单链可恢复双螺旋结构, 称为复性(renaturation)。但快速降温则不能恢复。将两种变性的DNA混合一起温浴可进行体外DNA/DNA杂交, 可用来检查两种DNA的同源程度(见第七章), 还可进行DNA/RNA杂交。

IV. DNA在细胞中的存在形式

除了RNA病毒之外, 所有生命的遗传物质是DNA。原核细胞