

分子生物学引论

FENZI SHENGWUXUE YINLUN

LUOJINXIAN BIAN ZHU

罗进贤 编著

中山大学出版社

分子生物学引论

罗进贤 编著

*

中山大学出版社出版发行

广东省新华书店经销

广州红旗印刷厂印刷

850 × 1168 毫米 32 开本 17印张 416千字

1987年11月第1版 1987年11月第1次印刷

印数 1—2500册

统一书号: 13339·21 定价: 3.25元

内 容 简 介

本书内容包括 DNA 的结构和性质, 基因概念, 染色体外遗传因子及转位因子, DNA 复制, 基因表述及其调控, DNA 损伤、修复及重组, 核酸酶及核酸顺序测定, 基因工程技术, 哺乳动物的基因转移, 杂交瘤技术及单克隆抗体, 基因家族, 肿瘤病毒及癌基因等。本书在阐述分子生物学基础理论的基础上, 还全面地介绍了各个应用领域。

本书可供从事分子生物学、生物化学、遗传学、细胞生物学及生物工程等有关学科的科研人员, 高等学校的师生参考。

前 言

分子生物学是从分子水平上研究生命现象的一门学科。它的核心内容是通过**对生物的主要物质基础——核酸、蛋白质、酶等生物大分子的结构、功能及其相互作用等运动规律的研究来揭示生命现象的本质**。自1953年 Watson 和 Crick 提出并确立了 DNA 分子的双螺旋结构模型，从而奠定了分子遗传学的基础以来，分子生物学经历了卅多年突飞猛进的发展过程。它的基本理论已渗透到分子药理学、分子免疫学、分子病毒学、遗传工程等各个领域，促进了一大批新学科和新技术的兴起和发展。

七十年代以来，由于医药、食品、发酵工业、农业、畜牧业、能源开发和环境保护等领域的发展，向生物学提出了许多迫切的新的要求以及由于数学、物理学、化学和机械、信息等工程和技术方法的渗入，导致了诸如限制酶和基因重组、细胞融合、DNA 顺序测定、核酸分子杂交以及电镜在核酸研究中的应用等一系列新技术的出现，使生物学研究发生了革命性的变化，大大推动了分子生物学的发展。分子生物学的发展不仅促进了生物学的深入，产生了一批新学科，而且对工、农、医的发展也起着重要的推动作用。例如，在分子遗传学基础上发展起来的基因工程，已与细胞融合、微生物发酵及酶应用技术等相结合，建立了一门新的综合性科学技术——生物工程学。它对医药、食品、化工、农业、能源和环保等方面产生了深远的影响，成为新技术革命的重要支柱。

本书主要是根据近三年来给生物系各专业研究生及四年级生化、遗传专业本科生开设的“分子生物学引论”课程及参考国外

开设的分子生物学课程的内容和资料写成的。内容以分子遗传学为中心,在概述 DNA 的结构、性质和基因概念的基础上介绍分子生物学的中心法则、DNA 的损伤修复、基因重组、基因表达及调控、重要的分子生物学技术如分子克隆、DNA 顺序分析、细胞融合与杂交瘤技术以及肿瘤的分子基础等。在阐明基础理论的基础上介绍了有关领域的发展动向。

由于分子生物学是一门新兴的、发展神速的学科,往往是书还未付印,某些材料就感过时。加上编者水平的限制,不可能细查资料,也来不及认真作文字上的推敲,书中错漏不妥之处,在所难免。热忱地请有关专家和读者批评指正。

目 录

第一章 DNA、基因和染色体	(1)
第一节 概述	(1)
第二节 DNA 的双螺旋结构	(4)
第三节 DNA 的超盘绕和拓扑异构酶	(7)
一、DNA的超盘绕	(7)
二、超螺旋的性质	(9)
三、DNA拓扑异构酶	(11)
第四节 DNA的主要性质	(18)
一、DNA分子的大小和形状	(18)
二、DNA的检测和测定	(21)
三、DNA的碱基组成	(23)
四、DNA的变性与复性	(24)
五、核酸的分子杂交	(31)
第五节 基因和染色体	(34)
一、原核生物基因组的结构特点	(35)
二、真核细胞基因组的顺序组织	(38)
三、真核细胞染色质的组成和结构	(48)
第二章 染色体外遗传因子及转位因子	(57)
第一节 质粒	(58)
一、质粒的存在和分布	(58)
二、质粒的研究方法	(64)
三、质粒的遗传学	(65)
四、质粒DNA复制	(67)

五、质粒的不相容性	(68)
第二节 线粒体 DNA	(70)
一、mtDNA的性质	(70)
二、线粒体基因组	(73)
三、线粒体密码子的用法	(77)
四、线粒体组成的双重遗传控制	(78)
第三节 叶绿体 DNA	(79)
一、叶绿体DNA的物理性质	(79)
二、叶绿体DNA上的基因	(81)
三、叶绿体DNA顺序的其它特点	(87)
第四节 转位因子	(89)
一、原核生物中的转位因子	(90)
二、转位机制	(96)
三、真核细胞中的转位因子	(100)
第三章 DNA 复制	(107)
第一节 DNA复制的机制	(107)
一、半保留复制	(107)
二、复制起点和复制单元	(113)
三、半不连续复制	(117)
四、复制的过程	(119)
五、DNA复制的真实性	(121)
第二节 参与DNA复制的酶和蛋白质	(123)
一、DNA聚合酶	(123)
二、DNA连接酶	(132)
三、单链结合蛋白	(134)
四、DNA解链酶	(135)
五、DNA拓扑异构酶	(136)
第三节 特异的复制系统	(136)

一、单链DNA病毒复制	(136)
二、某些双链线状DNA病毒的复制	(138)
第四节 DNA合成抑制剂	(142)

第四章 DNA损伤与修复

第一节 DNA损伤的类型

一、引起DNA损伤的因素	(144)
二、DNA损伤的类型	(146)

第二节 DNA修复的生物学意义

一、DNA修复与遗传的关系	(148)
二、修复与生命起源的关系	(149)
三、修复与变异的关系	(149)
四、修复与遗传疾病和癌变的关系	(149)

第三节 DNA修复机制

一、直接修复	(150)
二、切除修复	(152)
三、插入酶——缺失碱基的修复	(157)
四、重组修复	(158)
五、SOS修复	(159)
六、电离辐射损伤的修复	(163)

第四节 DNA损伤与修复的检测方法

一、羟基磷灰石(HAP)分离法	(165)
二、微孔滤膜法	(166)
三、放射自显影法	(166)
四、电镜法	(166)
五、蔗糖密度梯度离心法	(166)

第五节 衰老、疾病与修复缺陷

一、机体衰老与DNA修复	(167)
二、DNA修复与寿命	(168)

三、DNA 损伤与遗传疾病	(168)
四、DNA 修复与癌症	(168)

第五章 核酸酶与核酸的顺序测定

第一节 核酸酶	(171)
一、核糖核酸酶	(171)
二、非专一性的核酸酶	(174)
三、脱氧核糖核酸酶	(175)
四、限制性内切核酸酶	(179)
第二节 DNA 分子的物理图	(183)
一、部份酶解法	(184)
二、两种限制酶交叉酶解法	(185)
第三节 DNA 顺序测定	(187)
一、酶法	(188)
二、化学法	(192)
第四节 RNA 一级结构的测定	(195)
一、片段重叠法	(195)
二、直读法	(196)

第六章 基因重组的分子机制

第一节 一般重组	(201)
一、一般重组的过程	(202)
二、参与一般重组的因子	(206)
第二节 位点专一重组	(209)
第三节 细菌的重组	(216)
一、转化	(216)
二、转导	(219)
三、接合	(221)

第七章 转录和转录后加工 (227)

第一节 RNA 的结构和性质 (229)

一、tRNA (229)

二、rRNA (232)

三、mRNA (235)

第二节 以 DNA 为模板的 RNA 聚合酶 (239)

一、原核生物的 RNA 聚合酶 (239)

二、真核生物的 RNA 聚合酶 (241)

第三节 转录过程 (242)

一、启动子与转录的起始 (242)

二、RNA 链的延伸与 σ 因子的循环 (349)

三、转录的终止 (250)

四、RNA 合成抑制剂 (253)

第四节 转录产物的加工 (255)

一、tRNA 前体的加工 (255)

二、rRNA 前体的加工 (259)

三、真核生物 mRNA 前体的加工 (263)

第五节 RNA 剪接 (268)

一、mRNA 前体的剪接 (269)

二、tRNA 前体的剪接 (272)

三、rRNA 前体的剪接 (273)

四、酵母线粒体 RNA 前体的剪接 (275)

第八章 蛋白质的生物合成 (278)

第一节 遗传密码 (279)

一、三联体密码 (279)

二、遗传密码的破译 (282)

三、遗传密码的性质 (286)

第二节 tRNA 是一个接合体	(289)
一、tRNA 是一个接合体分子	(289)
二、起始 tRNA、延伸 tRNA、同功 tRNA	(290)
三、校正 tRNA	(291)
四、AA-tRNA 合成酶	(295)
第三节 核糖体——翻译工厂	(299)
一、核糖体的组成和结构	(300)
二、核糖体的功能	(301)
第四节 起始因子、延伸因子及终止因子	(302)
一、起始因子	(303)
二、延伸因子	(304)
三、终止因子	(306)
第五节 蛋白质生物合成机制	(306)
一、蛋白质合成的起始	(306)
二、肽链的延伸	(314)
三、肽链的终止	(318)
四、蛋白质前体的加工	(318)
第六节 新生蛋白质的去向	(319)
第七节 蛋白质合成抑制剂	(321)
第九章 基因表达的调控	(323)
第一节 原核生物基因表达的调控	(324)
一、乳糖操纵子	(326)
二、色氨酸操纵子	(332)
三、(p)ppGpp 调控系统	(338)
第二节 噬菌体基因表达的调控	(341)
一、 λ -噬菌体溶菌途径基因表达的调节	(343)
二、 λ -噬菌体溶源途径的基因控制	(344)
第三节 真核生物基因表达的调控	(346)

一、基因扩增	(348)
二、基因重排	(349)
三、DNA 甲基化与基因表达	(350)
四、重复顺序与基因表达	(351)
五、增强子与真核基因表达	(353)
六、基因表达调控模型	(358)
第十章 分子克隆技术	(362)
第一节 分子克隆技术的发展	(362)
第二节 载体——受体系统	(365)
一、大肠杆菌载体	(366)
二、枯草杆菌载体	(376)
三、酵母载体	(378)
四、分泌载体的研究	(380)
第三节 基因工程中常用的酶	(381)
第四节 基因的合成与分离	(383)
一、化学合成法	(383)
二、酶促合成法	(386)
三、物理化学和生物学方法分离基因	(386)
第五节 DNA 分子的重组	(387)
一、粘性末端连接	(387)
二、钝端连接	(390)
第六节 重组 DNA 分子的扩增	(392)
一、大肠杆菌分子克隆	(392)
二、枯草杆菌分子克隆	(394)
三、酵母作为分子克隆受体	(395)
第七节 克隆基因的鉴定和分析	(396)
一、生物学方法	(396)
二、核酸分子杂交法	(397)

三、重组 DNA 的分析	(398)
第八节 克隆基因的表达	(398)
一、增加基因的拷贝数	(399)
二、克隆基因的表达——高效表达载体的构建	(400)
三、生长激素释放抑制因子基因的克隆和表达	(403)
第九节 cDNA 克隆	(406)
一、哺乳动物 mRNA 的分离	(406)
二、cDNA 的合成	(408)
三、cDNA 克隆	(409)
第十节 建立基因文库的一般方法	(410)
第十一节 植物基因工程	(413)
一、基因载体	(413)
二、外源基因转入植物细胞的手段	(416)
第十二节 基因工程的应用与前景	(417)
第十一章 哺乳动物的基因转移与杂交瘤技术	(421)
第一节 体细胞融合	(421)
第二节 哺乳动物的基因转移	(425)
一、磷酸钙沉淀法	(428)
二、以病毒为载体的转移法	(432)
三、显微注射法	(434)
四、关于基因治疗	(436)
第三节 杂交瘤与单克隆抗体	(438)
一、抗原与抗体	(438)
二、杂交瘤的发现	(438)
三、单克隆抗体的生产	(441)
四、单克隆抗体的应用	(444)
第十二章 基因家族	(448)

第一节 珠蛋白基因族	(448)
一、珠蛋白基因族的组成和表达	(448)
二、人的 β -珠蛋白基因族	(451)
三、人的 α -珠蛋白基因族	(452)
四、与珠蛋白基因表达缺陷有关的遗传病	(452)
第二节 免疫球蛋白基因族	(456)
一、免疫球蛋白的结构	(456)
二、免疫球蛋白基因的结构和表达	(458)
第三节 热休克基因族	(463)
第四节 组蛋白基因族	(466)
第五节 rRNA 基因族	(468)
一、转录单元的组织结构	(469)
二、不转录的间隔区	(472)
第十三章 肿瘤病毒与癌基因	(474)
第一节 概述	： (474)
第二节 DNA 肿瘤病毒	(476)
一、Papova 病毒类	(477)
二、腺病毒类	(483)
三、疱疹病毒类	(484)
第三节 RNA 肿瘤病毒	(486)
一、病毒颗粒的组成	(487)
二、病毒的复制	(489)
三、LTR 与原病毒的生成	(490)
第四节 癌基因	(492)
一、病毒癌基因	(493)
二、细胞癌基因	(495)
三、细胞癌基因是如何被激活的?	(498)
四、生长因子、癌基因与癌	(505)
附录：英汉名词对照	(509)

第一章 DNA、基因和染色体

第一节 概 述

核酸是1869年瑞士医生 Mischer 在绷带脓血的白血球中发现的，后来又发现在鲑鱼等精子中含有大量的这种物质。但是，由于对其功能一无所知，研究进展极慢。直到本世纪四十年代，揭示了 DNA 是遗传物质之后，对核酸的研究才蓬勃开展起来，从而推动了分子生物学的诞生和发展。

1928年 Griffith 做了肺炎球菌转化实验。外表光滑的S-型肺炎球菌具有荚膜，有毒性，R-型肺炎球菌外表粗糙，不能产生荚膜，没有毒性。Griffith 把 R-型肺炎球菌与加热致死的 S-型肺炎球菌一起注入小鼠体内，使小鼠死亡。按理，R-型细菌或加热致死了的 S-型细菌都不能单独杀死小鼠，但从致死小鼠体内却找到了有毒性的 S-型细菌。后来发现：用 S-型细菌的抽提物与 R-型细菌一起注射，也可以使小鼠致死。这表明死的 S-型细菌中有某些成份可以转化 R-型细菌，使它变成有毒性的、具有荚膜的 S-型细菌。那么，这种转化因子是什么呢？1943年 Avery 等证明这种转化因子是 DNA。这个结论后来为许多实验所证实。例如，Avery 等所制备的纯化的转化因子：（1）其化学性质与 DNA 十分相似；（2）它的光学、离心、扩散及电泳等性质也与 DNA 雷同；（3）当用有机溶剂去脂类后其转化活性并不消失；（4）胰蛋白酶、胰糜蛋白酶等水解酶也不影响它的转化活性；（5）RNase 对纯化因子的转化活性也无影响；但经 DNase 处理后，转化因子的转化活性随即消失。这说明遗传物质是

DNA而不是RNA、蛋白质、更不是脂类。

噬菌体 T_2 是感染大肠杆菌的病毒，它感染大肠杆菌后约 20 分钟，细菌即裂解，同时放出大量的噬菌体。1951年 R. Herriot 认为： T_2 感染大肠杆菌时，病毒并不进入寄主，只是其尾巴与寄主细胞接触，可能是通过酶把细胞外膜穿个洞，头部的核酸进入寄主细胞。1952年 Hershey 及 Chase 通过实验证实了 Herriot 的想法。他们用 ^{32}P 标记 T_2 -噬菌体的 DNA，用 ^{35}S 标记其蛋白量，然后用标记的噬菌体去感染大肠杆菌，经过一段时间培养之后，用匀浆器处理几分钟，使 T_2 -噬菌体与细菌分开。离心后，细菌细胞下沉而空的病毒外壳留在上清液中，然后分析 ^{32}P 与 ^{35}S 的去向。如图 1-1所示，大部分的 ^{32}P 标记都在大肠杆菌细胞（沉淀）中，而 ^{35}S 标记则在病毒外壳（上清液）中。在子代病毒颗粒中含 30% 的 ^{32}P ，而基本上不含 ^{35}S 。这个实验证明：进入寄主细胞的是 DNA 而不是蛋白质。病毒感染以后就能命令寄主细胞的机器复制自己，从而加强了 DNA 是遗传物质的结论。

1953年 Watson 和 Crick 提出了DNA 双螺旋结构模型，从自我复制的角度证明了 DNA 是遗传的物质基础，从而使遗传学的研究进入分子水平，开创了分子生物学的时代。在细菌和噬菌体中 DNA 是遗传物质的结论是无疑的，但高等生物的情况又如何呢？

在高等生物细胞中，DNA 在染色体上。1973 年人们第一次把一种动物细胞的染色体分离出来与另一种细胞混合，受体细胞即可表达供体细胞的某些功能。后来把纯化的 DNA 甚至是某个特定的基因转移至缺乏该基因的培养细胞中，发现被转化的细胞也含有并能表达该基因（图 1-2），这表明：真核生物细胞的遗传物质也是 DNA。

但是，有些病毒并不含 DNA，它们的遗传物质是 RNA，如

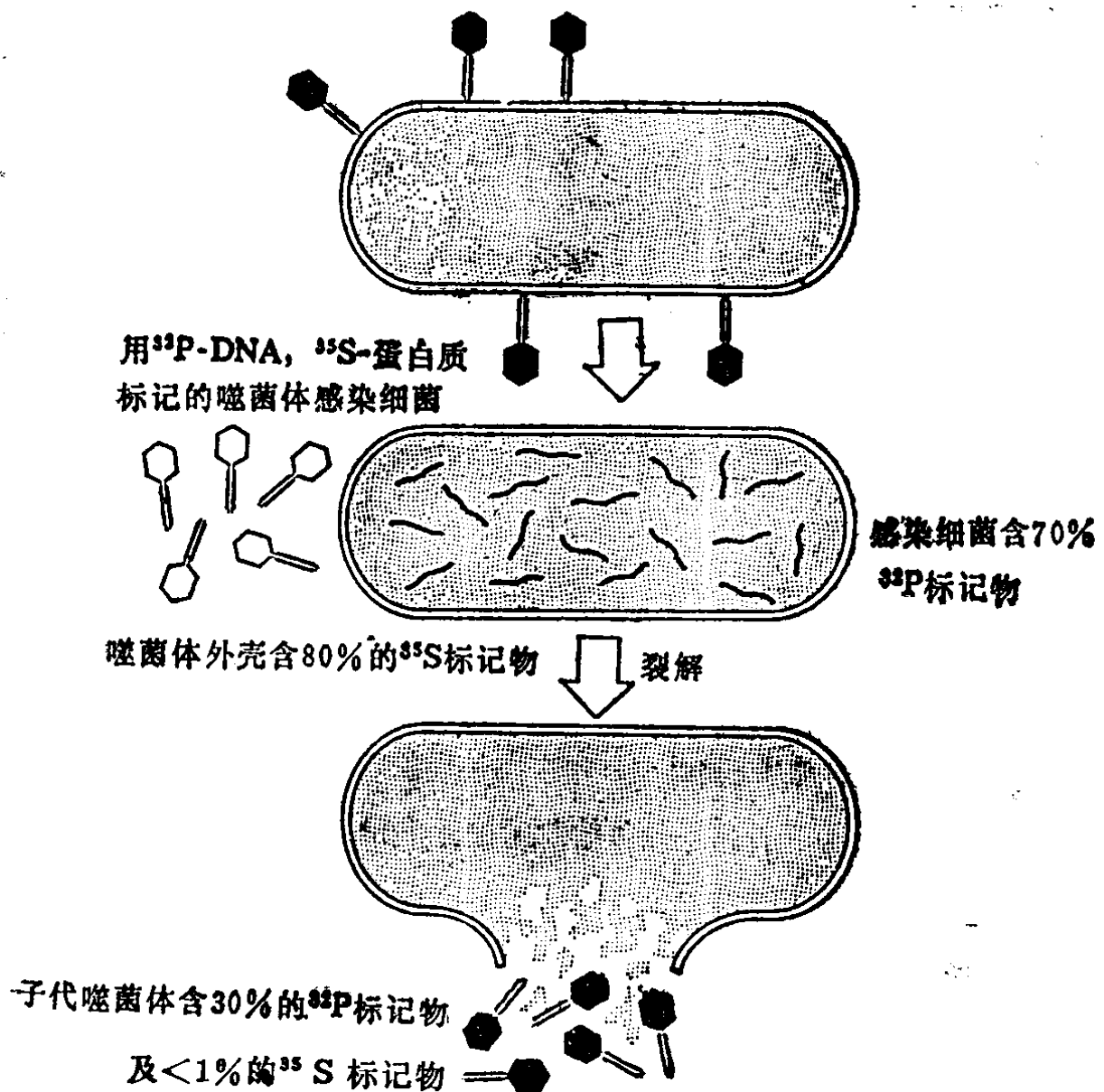


图1-1 T_2 -噬菌体的遗传物质是DNA

植物中的烟草花叶病毒 (TMV)，动物的反转录病毒 (Retrovirus) 及细菌病毒如 MS2, Q β 等都是 RNA 病毒。病毒 RNA 具有感染寄主的能力而病毒蛋白则没有。有人曾做过 TMV 病毒的重组实验，把病毒的 RNA 与外壳蛋白分离，并重新组合之后仍可获得有活性的病毒。若把甲株病毒的 RNA 与乙株病毒的蛋白质重组后得到的病毒象甲株病毒的性质，相反，若把乙株病毒