

卫生部规划教材
全国高等医药院校教材

供药学类专业用

分子生物学基础

史济平 主编



人民卫生出版社

全国高等医药院校教材

供药学类专业用

分子生物学基础

史济平 主编

编者(以姓氏笔画为序)

史济平(上海复旦大学医学院)

刘景晶(中国药科大学)

张景海(沈阳药科大学)

崔景荣(北京大学医学部)

人民卫生出版社

图书在版编目(CIP)数据

分子生物学基础/史济平主编;—北京:人民卫生出版社,2000

ISBN 7-117-03914-0

I.分… II.史… III.分子生物学 IV.Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 49192 号

分子生物学基础

主 编:史济平

出版发行:人民卫生出版社(中继线 67616688)

地 址:(100078)北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址:<http://www.pmph.com>

E-mail: pmph@pmph.com

印 刷:河北省遵化市今日印业有限公司

经 销:新华书店

开 本:787×1092 1/16 印张:20

字 数:406 千字

版 次:2000 年 11 月第 1 版 2002 年 11 月第 1 版第 3 次印刷

标准书号:ISBN 7-117-03914-0/R·3915

定 价:22.00 元

著作权所有,请勿擅自用本书制作各类出版物,违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

全国高等医药院校药学专业 第四轮规划教材修订说明

为适应我国高等药学教育的改革和发展,在总结前三轮药学专业教材编写经验的基础上,卫生部教材办公室于1996年9月决定进行第四轮教材修订,根据药学专业的培养目标,确定了第四轮教材品种和修订的指导思想,药学本科教育的培养对象是从事一般药物制剂、鉴定及临床合理用药等工作的药师,教材修订应紧紧围绕培养目标,突出各学科的基本理论、基本知识,同时又反映学科的新进展。该套教材可供药学及相关专业选用。全套教材共22种,均经卫生部聘任的全国药学专业教材评审委员会审定。教材目录如下:

- | | | | |
|------------------|--------|-----------------|--------|
| 1. 高等数学(第三版) | 毛宗秀 主编 | 11. 药理学(第四版) | 李 端 主编 |
| 2. 医药数理统计方法(第三版) | | 12. 药物分析(第四版) | 刘文英 主编 |
| | 刘定远 主编 | 13. 药用植物学(第三版) | 郑汉臣 主编 |
| 3. 物理学(第三版) | 王鸿儒 主编 | 14. 生药学(第三版) | 郑俊华 主编 |
| 4. 物理化学(第四版) | 侯新朴 主编 | 15. 药物化学(第四版) | 郑 虎 主编 |
| 5. 无机化学(第三版) | 许善锦 主编 | 16. 药剂学(第四版) | 毕殿洲 主编 |
| 6. 分析化学(第四版) | 孙毓庆 主编 | 17. 天然药物化学(第三版) | 姚新生 主编 |
| 7. 有机化学(第四版) | 倪沛洲 主编 | 18. 中医学基础(第四版) | 李向中 主编 |
| 8. 人体解剖生理学(第四版) | | 19. 药事管理学(第二版) | 吴 蓬 主编 |
| | 龚茜玲 主编 | 20. 生物药剂学与药物动力学 | |
| 9. 微生物学与免疫学(第四版) | | | 梁文权 主编 |
| | 李明远 主编 | 21. 分子生物学基础 | 史济平 主编 |
| 10. 生物化学(第四版) | 吴梧桐 主编 | 22. 药学英语(第二版) | 胡廷熹 主编 |
- 以上教材均由人民卫生出版社出版。

卫生部教材办公室

全国药学专业教材第二届评审委员会

主任委员:彭 司 勋

副主任委员:郑 虎

委员(以姓氏笔画为序)

王 夔 安登魁 李万亥 邹立家

郑俊华 胡昌奇 姚新生 梁文权

秘 书:翁玲玲 冉 兰

前 言

21 世纪是“生命科学的世纪”。分子生物学是生命科学的核心学科。根据国家教委关于深化改革高等教育的精神,为适应药学专业的培养模式转化为药学、化学、生物学之需要,经卫生部药学专业第四轮教材委员会讨论决定增设“分子生物学基础”课程,其教材则由国内四所高等医药院校的教授们共同编写而成,供全国高等医药院校药学类专业的学生使用。

自从分子生物学理论和技术导入医药工业领域以来,已经取得举世瞩目的成功,对药品研制,新药开发及未来医药工业结构的调整及改造将产生深远影响,所以药学专业的学生有必要学习分子生物学基础,扩大知识面来拓宽专业口径,以此适应医药工业的飞跃发展。

鉴于教学大纲必须与相关学科相衔接的要求,本教材不仅系统介绍了分子生物学基础理论和基本技能,而且还就分子生物学所派生的基因工程基本过程进行了阐述,内容涉及分子生物学系统、核酸、染色体与基因、染色体外遗传因子、DNA 复制、突变损伤、修复和重组,基因转录和转录后加工及逆转录,蛋白质的生物合成,基因的表达调控,基因工程及其在医药工业中的应用。

本教材绪论、第一、九章由上海医科大学史济平教授编写,第二、六章由沈阳药科大学张景海副教授编写,第三、四、八章由北京医科大学崔景荣教授编写,第五、七章由中国药科大学刘景晶教授编写。

本教材编写过程中,编者们根据自身教学实践并收集和阅读有关国内外文献书籍,其中主要参考书目有 Benjamin Lewin Gene(6thed. 1996); NEIL A. CAMPBELL Biology (Fourth Edition); バイオサイエンスとインダストリー(1993~1999); 孙志贤. 现代生物化学理论与研究技术(军事医学科学出版社,1995); 孙乃恩,等. 分子遗传学(南京大学出版社,1996); 陈诗书,等. 医学细胞与分子生物学(上海医科大学出版社,1995); 吴乃虎. 基因工程原理. 第二版. 上册(科学出版社,1998); 谷志远. 现代医学分子生物学(人民军医出版社,1998); 瞿礼嘉,等. 现代生物技术导论(高等教育出版社,1999)等。

在教材编写过程中由中科院上海生物工程中心沈国祥同学承担秘书工作;复旦大学生命科学院微生物学系宋大新主任对部分章节提出宝贵意见和建议;上海复旦大学药学院领导也给予积极支持与帮助,在此一并表示衷心谢意。

由于学科飞速发展,限于编者水平和能力,教材中仍存在缺点和错误,恳切希望读者给予批评和指正。

史济平

2000 年 2 月于上海复旦大学医学院

目 录

绪论	1
一、分子生物学定义	1
二、分子生物学发展简史	1
三、分子生物学与现代医学和药学	2
(一)分子生物学理论和技术在发病机制中的应用	3
(二)分子生物学技术在疾病诊断中的应用	3
(三)分子生物学在疾病治疗中的应用	3
(四)重组 DNA 技术与新药研究	3
第一章 分子生物学系统	4
第一节 原核生物和真核生物	4
一、原核生物(细菌)的结构特征和功能	4
二、原核生物分子生物学特性	4
三、真核生物结构特征和功能	5
四、真核生物(酵母)的分子生物学特征	5
五、原核和真核生物比较	6
六、细胞周期	7
(一)原核生物	7
(二)真核生物	7
第二节 亚细胞生物	9
一、噬菌体	9
(一)噬菌体的生物学特性	9
(二)噬菌体的结构及其核酸类型	10
(三)噬菌体的感染作用	10
(四)烈性噬菌体与温和噬菌体	11
二、病毒	11
(一)病毒结构和化学组成	11
(二)病毒的生活周期	11
(三)病毒的分类	12
(四)病毒在分子生物学中的应用	12
第二章 核酸	13
第一节 核酸的化学组成及其结构	13
一、核酸的种类和分布	13
二、核酸的化学组成	13

三、核酸的结构	14
(一)核酸的一级结构	14
(二)DNA 的二级结构	16
(三)DNA 的高级结构	19
四、RNA 结构	22
(一)tRNA	22
(二)mRNA	24
(三)rRNA	25
第二节 核酸的功能	25
一、中心法则	25
二、DNA 功能	26
三、hnRNA 和 mRNA 功能	27
四、tRNA 功能	28
五、rRNA 功能	30
(一)5S rRNA	32
(二)16S rRNA	32
(三)23S rRNA	32
(四)5.8S rRNA	32
(五)18S rRNA	33
六、snRNA、scRNA 功能	33
第三节 核酸变性、复性和杂交	33
一、核酸的变性	33
二、核酸的复性、Cot 曲线	36
三、核酸的杂交	38
第四节 病毒核酸	39
一、病毒的基本概念	39
二、病毒核酸的一般特征	40
三、DNA 病毒的核酸结构	41
四、RNA 病毒的核酸结构	42
第三章 染色体和基因	44
第一节 染色质和染色体	44
一、染色质和染色体形态	44
(一)染色质	44
(二)染色体	46
二、染色质和染色体化学成分	48
(一)脱氧核糖核酸	48
(二)组蛋白	49
(三)非组蛋白	49

(四)RNA	50
(五)酶	50
三、染色质和染色体功能	50
(一)组蛋白和非组蛋白的磷酸化	51
(二)染色体在遗传中的作用	53
(三)组蛋白与非组蛋白的转录调控	54
第二节 基因概念	55
一、基因生物学定义	55
二、基因的分子生物学定义	56
三、基因功能	57
(一)转录	57
(二)翻译—蛋白质的合成	58
第三节 原核生物基因特征	58
第四节 真核生物基因特征	59
一、基因不连续性	59
二、基因家族	60
(一)基因家族	60
(二)超基因家族	61
三、重复基因结构	62
(一)中度重复基因序列	62
(二)高度重复基因序列	63
四、细胞器基因	65
第五节 亚细胞结构基因特征	66
第六节 人类基因组	67
第四章 染色体外遗传因子	69
第一节 质粒	69
一、质粒遗传学类型	69
二、质粒 DNA 特性	70
(一)质粒的复制	70
(二)质粒的不相容性	70
(三)质粒的转移性	71
(四)质粒中的选择性标记	72
三、特殊细菌质粒	73
(一)F 质粒—性质粒	73
(二)R 质粒—抗药性质粒	73
(三)Col 质粒—大肠杆菌质粒	73
四、真核生物中的质粒	75
第二节 转座子	76
一、转座子分类和结构特征	76

二、转座子作用	78
(一)转座子引起的靶序列的复制	78
(二)转座子引起的染色体畸变	79
三、转座子机制	80
(一)转座中复制子融合形成共合体	80
(二)转座子的复制过程	80
(三)转座作用模型(I)	80
(四)转座作用模型(II)	81
四、真核生物中的转座子	82
(一)酵母菌的 Ty 成分	84
(二)还原病毒与转座子	84
(三)非病毒返座子	84
第五章 DNA 的复制、突变、损伤修复和重组	85
第一节 DNA 复制机制	85
一、DNA 半保留复制	85
二、复制的起始点和方向	87
三、原核生物 DNA 的复制	88
(一)DNA 复制的起始	88
(二)前导链和后随链的同步合成	88
四、真核生物 DNA 的复制	91
(一)DNA 聚合酶	91
(二)真核生物 DNA 复制模型	92
(三)复制过程中核小体的装配	94
(四)端粒酶和 DNA 末端的复制	96
五、拓扑异构酶在 DNA 复制中的作用	96
六、噬菌体、病毒、质粒及线粒体核酸的复制	98
(一)单链环状 DNA 的复制	98
(二)线形 DNA 末端的复制	98
(三)质粒 DNA 的复制	99
(四)哺乳动物线粒体 DNA 的复制	100
第二节 突变	101
一、突变的类型	101
二、突变的自然发生	102
三、诱变	104
四、基因的离体定向诱变	105
五、体内基因的定点破坏	105
六、突变体的分离	109
七、突变的分析	110
第三节 DNA 损伤修复系统	113

一、修复 DNA 复制时发生的错配	113
二、核酸切除修复系统	114
三、碱基切除修复系统	114
第四节 遗传重组	116
一、同源重组	116
(一)同源重组模型	116
(二)同源重组的起始	118
(三)链侵入	119
(四)分支迁移	120
(五)Holliday 中间体的拆分	122
(六)基因转换	122
二、位点特异性重组	124
(一) λ 噬菌体 DNA 的整合与切离	124
(二)VDJ 重组	124
第六章 转录、转录后加工及逆转录	129
第一节 转录的基本特征	129
第二节 DNA 指导下的 RNA 聚合酶	130
一、原核生物 RNA 聚合酶	130
二、真核生物 RNA 聚合酶	132
第三节 与转录起始和终止有关的 DNA 结构	133
一、原核生物启动子和终止子	133
(一)启动子结构	134
(二)终止子结构	139
二、真核生物启动子	140
(一)RNA 聚合酶 I 的启动子	140
(二)RNA 聚合酶 II 的启动子	141
(三)RNA 聚合酶 III 的启动子	143
三、原核生物和真核生物转录起始位点的结构差异	144
第四节 原核生物和真核生物转录及其抑制剂	145
一、转录的起始	145
二、转录的延长	146
三、转录的终止和新合成 RNA 链的释放	147
(一)依赖于 ρ 因子的终止	147
(二)不依赖于 ρ 因子的终止	148
(三)抗终止	148
四、真核生物的转录	148
五、RNA 生物合成抑制剂	149
(一)嘌呤和嘧啶类似物	149

(二)DNA 模板功能的抑制剂	150
(三)RNA 聚合酶的抑制剂	151
第五节 转录后加工过程及其机制	153
一、mRNA 生成	154
(一)5' 端加帽	154
(二)3' 末端的产生和多聚腺苷酸化	156
(三)mRNA 的甲基化	157
二、rRNA 生成	157
三、tRNA 生成	159
四、RNA 的剪接	161
(一)第 I 类内含子和第 II 类内含子的剪接特征	162
(二)rRNA 的剪接	163
(三)RNA 的催化功能	164
(四)tRNA 的剪接	166
(五)mRNA 的剪接	167
第六节 逆转录	168
一、逆转录酶	168
二、逆转录过程	171
三、逆转录的生物学意义	172
第七节 反义核酸	173
一、反义核酸概述	173
二、反义技术	175
(一)反义 DNA	175
(二)反义 RNA	176
(三)Ribozyme	176
三、反义技术的意义	177
第七章 蛋白质生物合成——翻译	181
第一节 遗传密码	181
一、破译遗传密码	181
二、遗传密码的性质	183
第二节 蛋白质的生物合成	184
一、原核生物和真核生物 mRNA 的特点	184
二、核糖体	185
三、蛋白质合成	187
(一)肽链合成的起始	187
(二)肽链的延伸	189
(三)肽链合成的终止和释放	190
第三节 蛋白质转运机制	190

一、蛋白质转运	190
二、蛋白质的跨膜	192
第四节 蛋白质合成后的修饰加工	195
一、二硫键的形成	195
二、蛋白质的糖基化	196
三、蛋白质前体的加工	199
第八章 基因表达调控	201
第一节 原核生物基因表达调控	201
一、乳糖操纵子	201
(一)乳糖操纵子结构	201
(二)乳糖操纵子正调控和负调控	201
二、色氨酸操纵子	202
三、转录水平的调控	205
(一)转录起始的调控	205
(二)转录终止的调控	209
四、翻译水平的调控	210
(一)mRNA 自身的二级结构的形成	210
(二)mRNA 的降解	211
(三)蛋白质合成的调控	211
第二节 真核生物基因表达调控	214
一、真核基因表达调控的特点	214
(一)真核生物的基因结构功能特点	214
(二)基因表达调控的信号	215
二、转录水平的调控	216
(一)真核生物基因表达调控模型	216
(二)参与基因调控的顺式作用元件	217
(三)参与基因调控的反式作用因子	218
三、翻译水平的调控	219
(一)mRNA 的稳定性	219
(二)mRNA 翻译起始的调控	220
(三)蛋白质合成的自体调控	220
(四)可溶性蛋白质因子的修饰	220
第三节 λ 噬菌体基因表达调控	220
一、 λ 噬菌体的调控区	221
二、 λ 噬菌体的操纵基因和启动子的结构	222
三、CI 蛋白和 Cro 蛋白	225
(一)CI 蛋白的结构和功能	225
(二)Cro 蛋白的结构和功能	226
(三)CI 蛋白和 Cro 蛋白对转录的调控	226

第九章 基因工程及其在医药工业中的应用	230
第一节 基因工程相关的酶学	231
一、核酸限制性内切酶与 DNA 分子体外切割	232
(一)宿主控制的限制与修饰现象	232
(二)核酸内切酶的命名与类型	233
(三)Ⅱ型限制性核酸内切酶的基本特性	234
二、DNA 连接酶	237
(一)DNA 连接酶的连接作用分子机制	237
(二)大肠杆菌 DNA 连接酶	237
(三) T_4 DNA 连接酶	237
三、聚合酶	238
(一)大肠杆菌 DNA 聚合酶 I	239
(二)Klenow 聚合酶	239
(三) T_4 噬菌体 DNA 多聚酶	239
(四)经修饰的 T_7 噬菌体 DNA 聚合酶(测序酶)	240
(五)Taq DNA 聚合酶	240
(六)逆转录酶	240
四、DNA 和 RNA 的修饰酶	241
(一)末端脱氧核苷酸转移酶与同聚物加尾	241
(二) T_4 多核苷酸激酶与 DNA 分子 5' 末端标记	241
(三)碱性磷酸酶与 DNA 脱磷酸作用	241
五、核酸酶	241
(一)核酸酶 S1 与 RNA 的分子定位	241
(二)Bal31 核酸酶与确定限制位点	242
(三)外切核酸酶Ⅲ	242
(四)脱氧核糖核酸酶 I	242
(五)核糖核酸酶 A	243
(六)核糖核酸酶 T1	243
第二节 基因工程的载体	243
一、大肠杆菌载体	243
(一)质粒	243
(二) λ 噬菌体载体	250
二、真核细胞载体	254
(一)哺乳动物细胞载体	254
(二)酵母载体	255
第三节 制备目的基因和常用分离方法	257
一、人工合成	258
(一)DNA 的化学合成过程	258
(二)化学合成寡聚核苷酸连接成完整的基因的方法	259

(三)化学合成寡聚核苷酸的应用	259
(四)采用化学酶促相结合的办法	260
(五)人工合成基因的基本程序	260
(六)人工合成基因的局限性	260
二、基因文库构建(限制性内切酶法)	261
(一)原核生物目的基因的直接分离	261
(二)鸟枪法克隆基因	261
(三)真核生物基因文库的建立	261
三、cDNA 文库构建(逆转录法)	262
(一)总 RNA 提取及 mRNA 制备	263
(二)cDNA 文库第一链的合成	263
(三)cDNA 文库第二链的合成	263
(四)cDNA 片段与载体连接	264
(五)cDNA 文库的优越性	264
(六)cDNA 文库局限性	264
四、PCR 法	264
(一)基本原理	265
(二)PCR 反应控制要点	266
(三)PCR 的应用	267
(四)PCR 分类	268
第四节 载体 DNA 与目的基因的连接	268
一、DNA 分子间连接策略	269
(一)粘性末端 DNA 片段连接	269
(二)平末端 DNA 片段连接	270
(三)粘平末端 DNA 片段间连接	274
二、影响目的基因与载体之间连接效率的因素	275
(一)DNA 片段间的连接方式	275
(二)目的基因载体 DNA 浓度和比例	275
(三)连接温度与时间	275
(四)其他因素	275
第五节 重组分子引入受体细胞	275
一、重组 DNA 导入大肠杆菌	277
(一)氯化钙转化法	277
(二)转染法	277
二、抗生素生物合成基因引入链霉菌载体宿主系统	279
(一)原生质体转化	280
(二)电穿孔转化	280
三、酵母菌转化	280
(一)完整细胞的转化法	280
(二)原生质体转化法	281

四、重组 DNA 导入哺乳动物细胞	281
(一)显微注射法	281
(二)DNA-磷酸钙转染法	281
(三)DEAE 葡聚糖转染法	282
(四)阳性脂质体及其介导的基因转染	282
(五)电穿孔法	282
(六)细胞融合法	283
(七)病毒感染法	283
第六节 重组体的鉴定和分析	283
一、生物学方法	283
(一)表型筛选法	283
(二)噬菌斑形成筛选法	284
(三)遗传互补	284
二、核酸分子杂交法	284
(一)菌落原位杂交	284
(二)DNA 印迹分析	284
(三)RNA 印迹分析	285
(四)斑点印迹杂交和狭线印迹杂交	285
三、免疫分析筛选	285
四、限制性内切酶图谱的鉴定	287
五、双脱氧终止法测序	287
第七节 克隆基因的表达	287
一、真核基因在原核细胞中表达的特点	288
二、影响外源基因在大肠杆菌中高效表达的因素	288
(一)从 DNA 水平考虑	288
(二)影响转录水平的因素	288
(三)影响翻译水平的因素	289
(四)影响蛋白质水平的因素	290
(五)其他因素	290
三、真核基因在大肠杆菌中的表达类型	290
(一)融合蛋白的表达	290
(二)非融合蛋白的表达	291
(三)蛋白分泌型表达	292
第八节 真核基因在大肠杆菌中表达产物的分离纯化和鉴定	293
一、外源基因在原核生物或真核生物中分泌方式	293
(一)表达产物分泌到细胞外环境中	293
(二)表达产物分泌到周质空间	293
(三)表达产物分泌到细胞质中	293
二、表达蛋白纯化方法所选择的基本策略	295

(一)针对不同产物表达形式采取不同纯化策略	295
(二)针对不同性质的蛋白质选用不同层析类型	295
(三)多种分离纯化技术应用	295
(四)选择合适的分离纯化材料	295
(五)分离纯化过程的规模	295
三、真核基因在大肠杆菌中表达产物检测与鉴定	295
第九节 重组原核微生物生产药物	296
一、生产小分子药物	296
(一)重组合成维生素 C	296
(二)重组合成生产抗生素	297
二、生产蛋白类药物	299
(一)胰岛素	300
(二)人生长激素	301

绪 论

一、分子生物学定义

生物学经历一个漫长的研究过程。由于生物化学、生物物理学、遗传学、微生物学、细胞生物学、有机化学物理化学的相互渗透,相互促进从而使生物学研究闯入细胞的水平。直到 20 世纪中叶,生物学引入了生物大分子为研究目标以后,开始创立独立生物学科——分子生物学。

分子生物学(molecular biology)从分子水平研究生命现象的科学。它的核心内容是通过生物的物质基础——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阐明生命分子基础,从而探索生命的奥秘。

1953 年, Watson 和 Crick 共同提出脱氧核糖核酸(DNA)的双螺旋结构模型,为打开遗传信息的复制和转录的秘密奠定了基础,紧接着 Crick 提出中心法则,明确了遗传信息传递的规律。从此以后,核酸分子生物学迅速发展,从而使分子生物学成为生命科学中的领先学科。

从广义来讲,蛋白质(酶)和核酸等生物大分子结构和功能的研究内容都属于分子生物学的范畴。然而人们常常采用狭义的概念,即将分子生物学研究范畴侧重于核酸(基因)的分子生物学。从基因展开,围绕 DNA 复制、转录、表达和调控等方面给予论述,当然其中就所涉及到相关过程的酶和蛋白加以讨论。本教材也采用狭义概念对基因的分子生物学原理、机制及基因工程进行讲授。

二、分子生物学发展简史

自从分子生物学诞生到今天,追述过去的 50 多个春秋,这个领域发展突飞猛进,始终领导着生命科学的最新潮流。以下简要列出已经用分子生物学理论所解决的问题以及展现它所取得的研究成果,将有助于了解分子生物学发展和成熟过程,以便更好学习分子生物学。

1871 年, Miescher 首次从莱茵河鲑鱼精子中分离到 DNA。

1944 年, Avery 等人在肺炎链球菌转化实验中,发现遗传信息的携带者是 DNA 而不是蛋白质。

1953 年, Watson 和 Crick 阐明 DNA 双螺旋结构。

1957 年, Kornberg 在大肠杆菌中发现 DNA 聚合酶 I,它是第一次在试管中制造出 DNA 的酶。

1958 年, Meselson 和 Stahl 提出了 DNA 半保留复制模型。

1960 年, Ochoa 发现 RNA 聚合酶,它以单链 DNA 作为模板制造 RNA,并发现信