

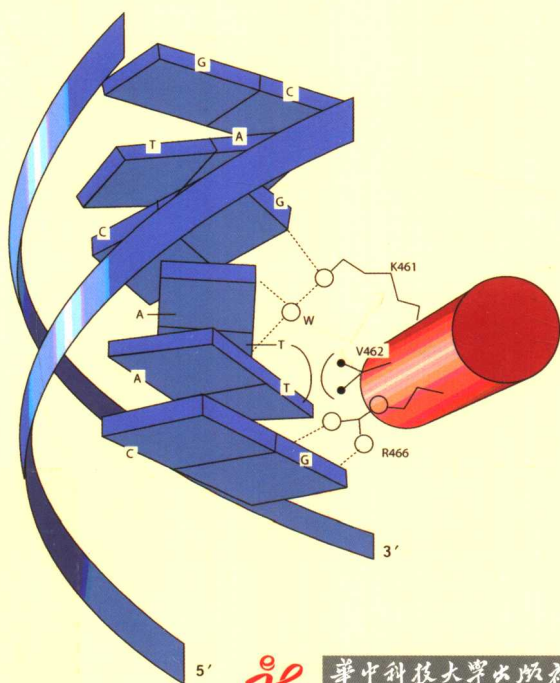
全国普通高等院校
生命科学类“十二五”规划教材



分子生物学

李 钰 马正海 李 宏 主编

Molecular Biology



华中科技大学出版社
<http://www.hustp.com>

全国普通高等院校生命科学类“十二五”规划教材

分子生物学

主 编 李 钰 马正海 李 宏

副主编 范永山 王秀丽 赵利峰

侯典云 张 飞

编 委 (以姓氏笔画为序)

丁军涛 新疆大学

马正海 新疆大学

王秀丽 大连海洋大学

刘川鹏 哈尔滨工业大学

李 宏 重庆工商大学

李 钰 哈尔滨工业大学

李红心 陕西科技大学

李聪聪 聊城大学

张 飞 郑州轻工业学院

范永山 唐山师范学院

赵利峰 塔里木大学

侯典云 河南科技大学

华中科技大学出版社

中国·武汉

内 容 提 要

本书以“重基础、内容新”为指导思想,从分子生物学的概念、术语、理论及新发现出发,系统介绍分子生物学的理论和技术基础。绪论主要介绍分子生物学的发展简史和分子生物学的主要研究内容;第2章到第9章为本书的核心部分,介绍DNA与基因组、DNA复制、基因组的变异与DNA损伤修复、DNA重组与转座、原核生物的转录及转录调控机制、真核生物的转录及转录调控机制、RNA转录后加工及调控和蛋白质翻译与调控;第10章对近年来发展迅速的基因组学、转录组学、蛋白质组学以及生物信息学进行介绍;第11章对分子生物学技术基础进行翔实的阐述。

本书供生物科学、生物技术、生物工程、生物信息学等专业本科生使用,也可以作为农林、环保、园艺、医学、药学等相关专业的本科生、研究生的教材,此外还可作为各相关领域的教师和研究工作者的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

分子生物学/李钰,马正海,李宏主编. —武汉:华中科技大学出版社,2014.7
ISBN 978-7-5609-9697-4

I. ①分… II. ①李… ②马… ③李… III. ①分子生物学-高等学校-教材 IV. ①Q7

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第147199号

分子生物学

李 钰 马正海 李 宏 主编

策划编辑:王新华

责任编辑:王新华

封面设计:刘 卉

责任校对:张 琳

责任监印:周治超

出版发行:华中科技大学出版社(中国·武汉)

武昌喻家山 邮编:430074 电话:(027)81321915

录 排:华中科技大学惠友文印中心

印 刷:华中理工大学印刷厂

开 本:787mm×1092mm 1/16

印 张:25 插页:2

字 数:653千字

版 次:2014年11月第1版第2次印刷

定 价:56.00元



本书若有印装质量问题,请向出版社营销中心调换
全国免费服务热线:400-6679-118 竭诚为您服务
版权所有 侵权必究

全国普通高等院校生命科学类“十二五”规划教材

编 委 会



主任委员

余龙江 华中科技大学教授,生命科学与技术学院副院长,2006—2012 教育部高等学校生物科学与工程教学指导委员会生物工程与生物技术专业教学指导分委员会委员,2013—2017 教育部高等学校生物技术、生物工程类专业教学指导委员会委员

副主任委员(排名不分先后)

胡永红 南京工业大学教授,南京工业大学研究生院副院长

李 钰 哈尔滨工业大学教授,生命科学与技术学院院长

任国栋 河北大学教授,2006—2012 教育部高等学校生物科学与工程教学指导委员会生物学基础课程教学指导分委员会委员,河北大学学术委员会副主任

王宜磊 菏泽学院教授,2013—2017 教育部高等学校大学生物学课程教学指导委员会委员

杨艳燕 湖北大学教授,2006—2012 教育部高等学校生物科学与工程教学指导委员会生物科学专业教学指导分委员会委员

曾小龙 广东第二师范学院教授,副校长,学校教学指导委员会主任

张士瑾 中国海洋大学教授,2006—2012 教育部高等学校生物科学与工程教学指导委员会生物科学专业教学指导分委员会委员

委员(排名不分先后)

陈爱葵	胡仁火	李学如	刘宗柱	施文正	王元秀	张 峰
程水明	胡位荣	李云玲	陆 胤	石海英	王 云	张 恒
仇雪梅	贾建波	李忠芳	罗 充	舒坤贤	韦鹏霄	张建新
崔韶晖	金松恒	梁士楚	马 宏	宋运贤	卫亚红	张丽霞
段永红	李 峰	刘长海	马金友	孙志宏	吴春红	张 龙
范永山	李朝霞	刘德立	马三梅	涂俊铭	肖厚荣	张美玲
方 俊	李充璧	刘凤珠	马 尧	王端好	徐敬明	张彦文
方尚玲	李 华	刘 虹	马正海	王金亭	薛胜平	郑永良
耿丽晶	李景蕻	刘建福	毛露甜	王伟东	闫春财	周 浓
郭晓农	李 梅	刘 杰	聂呈荣	王秀丽	杨广笑	朱宝长
韩曜平	李 宁	刘静雯	彭明春	王永飞	于丽杰	朱长俊
侯典云	李先文	刘仁荣	屈长青	王有武	余晓丽	朱德艳
侯义龙	李晓莉	刘忠虎	邵 晨	王玉江	咎丽霞	宗宪春

全国普通高等院校生命科学类“十二五”规划教材

组编院校

(排名不分先后)

北京理工大学
广西大学
广州大学
哈尔滨工业大学
华东师范大学
重庆邮电大学
滨州学院
河南师范大学
嘉兴学院
武汉轻工大学
长春工业大学
长治学院
常熟理工学院
大连大学
大连工业大学
大连海洋大学
大连民族学院
大庆师范学院
佛山科学技术学院
阜阳师范学院
广东第二师范学院
广东石油化工学院
广西师范大学
贵州师范大学
哈尔滨师范大学
合肥学院
河北大学
河北经贸大学
河北科技大学
河南科技大学
河南科技学院
河南农业大学
菏泽学院
贺州学院
黑龙江八一农垦大学

华中科技大学
华中师范大学
暨南大学
首都师范大学
南京工业大学
湖北大学
湖北第二师范学院
湖北工程学院
湖北工业大学
湖北科技学院
湖北师范学院
湖南农业大学
湖南文理学院
华侨大学
华中科技大学武昌分校
淮北师范大学
淮阴工学院
黄冈师范学院
惠州学院
吉林农业科技学院
集美大学
济南大学
佳木斯大学
江汉大学文理学院
江苏大学
江西科技师范大学
荆楚理工学院
军事经济学院
辽东学院
辽宁医学院
聊城大学
聊城大学东昌学院
牡丹江师范学院
内蒙古民族大学
仲恺农业工程学院

云南大学
西北农林科技大学
中央民族大学
郑州大学
新疆大学
青岛科技大学
青岛农业大学
青岛农业大学海都学院
山西农业大学
陕西科技大学
陕西理工学院
上海海洋大学
塔里木大学
唐山师范学院
天津师范大学
天津医科大学
西北民族大学
西南交通大学
新乡医学院
信阳师范学院
延安大学
盐城工学院
云南农业大学
肇庆学院
浙江农林大学
浙江师范大学
浙江树人大学
浙江中医药大学
郑州轻工业学院
中国海洋大学
中南民族大学
重庆工商大学
重庆三峡学院
重庆文理学院

前 言

作为全国普通高等院校生命科学类“十二五”规划教材之一,《分子生物学》一书即将付梓。欣喜之余,参与编写此教材的各位编委也忐忑地期待着此书与读者见面。在编写本书过程中,我们充分比较和分析了已有的国内外相关教材,借鉴了各版本教材的成功之处,这为本教材的顺利完成提供了极大的帮助。在此,我们向所借鉴著作的作者表示衷心的感谢,也希望本教材能与当今已有的《分子生物学》教材互补,以适应人才培养的需求。

分子生物学是生命科学的前沿领域和生长点,它的理论和技术已经融入生命科学的各个方面和各个层次,它的发展为人类揭示生命现象的本质和解决生命科学问题提供了重要的理论基础和技术支持。为此,本教材特别注意教材内容的更新、对已掌握知识运用能力的培养、拓展个人知识能力的培养以及基本技术与操作能力的培养等。

近年来,分子生物学迅速发展,作为培养创新型人才的《分子生物学》教材,其内容必须与时俱进,及时适应这种新的形势。因此,在认真总结多年教学实践经验的基础上,考虑到作为本科生专业基础课教材所要求的基础性和系统性的同时,针对创新能力和创新意识培养的需求,本教材还重点介绍了对分子生物学发展具有开创性意义的经典研究。而且,对本教材的结构体系和教学内容做了深入的研讨,强调了其内容的先进性和知识结构的合理性与逻辑体系,及时增加了已经成为分子生物学重要组成部分的内容,例如关于非编码 RNA、高通量分子生物学研究技术、生物信息技术在分子生物学领域的应用等,力求更好地满足教学发展的需求。

参加本教材编写的既有具有丰富的分子生物学教学和科研经验的一线教师,也有活跃在本学科前沿领域的青年学者。编写任务分工如下:第1章由李钰编写;第2章和第6章由赵利峰编写;第3章由马正海和丁军涛编写;第4章由李宏编写;第5章由李宏和李红心编写;第7章由侯典云和张飞编写;第8章由刘川鹏编写;第9章由王秀利和范永山编写;第10章由李钰和李红心编写;第11章由丁军涛和李聪聪编写。要特别表示感谢的是,在编写过程中,刘川鹏教授在完成自身编写任务的同时,还对相关章节进行了审阅,并提出了中肯的意见;在稿件汇总和校对中,张春斌副教授对本书进行了全面的校阅;还要感谢陈玥博士、史明老师和姚媛菲,他们在某些章节写作中做了较多的工作;尤其要感谢史明老师在教材组稿过程中与各位编委的及时联系。正是上述各位同仁的辛勤劳动,保证了本教材能在较短的时间内得以顺利完成。此外,本教材的撰写还得到各编委所在单位的关心和支持,也得到华中科技大学出版社的大力协助,在此我们表示诚挚的敬意。

尽管在书稿编写和汇总时始终力求保证各章节之间的行文风格、篇幅比例和内容衔接等方面的一致性,但由于出版的时间需求、各位编委的教学与科研工作压力以及不同内容的进展限制,还存在着不十分理想之处。而且由于分子生物学的内容日新月异,加之编者的知识更新速度和写作水平有限,本书一定会存在一些不足之处,我们真诚地欢迎各位专家和读者批评指正。

编 者

2014 年 6 月

目 录

第 1 章 绪论 /1

- 1.1 分子生物学及其研究对象与目的 /1
- 1.2 分子生物学的主要研究内容 /2
- 1.3 分子生物学的发展简史 /6
- 1.4 分子生物学的应用与展望 /10

第 2 章 DNA 与基因组 /14

- 2.1 DNA 的结构 /14
- 2.2 DNA 结构的多样性 /20
- 2.3 DNA 结构的动态性 /23
- 2.4 基因的概念 /23
- 2.5 基因组 /24
- 2.6 染色质的结构 /39

第 3 章 DNA 复制 /45

- 3.1 DNA 复制的特点 /45
- 3.2 DNA 复制的酶及蛋白质 /53
- 3.3 DNA 复制的起始 /59
- 3.4 DNA 复制的延伸及持续性复制 /61
- 3.5 DNA 复制的终止 /62

第 4 章 基因组的变异与 DNA 损伤修复 /68

- 4.1 基因组的变异与稳定性维持 /68
- 4.2 DNA 损伤 /75
- 4.3 DNA 修复机制 /79

第 5 章 DNA 重组与转座 /98

- 5.1 DNA 重组 /98
- 5.2 转座子 /115

第 6 章 原核生物的转录及转录调控机制 /131

- 6.1 原核生物 RNA 聚合酶 /131

- 6.2 原核生物的启动子 /132
- 6.3 转录的起始 /138
- 6.4 转录的延伸 /141
- 6.5 转录的终止 /148
- 6.6 操纵子 /153
- 6.7 λ 噬菌体基因表达调控 /164
- 6.8 σ 亚基的转换 /168
- 6.9 逆转录 /171

第 7 章 真核生物的转录及转录调控机制 /175

- 7.1 真核生物 RNA 聚合酶 /175
- 7.2 真核生物的启动子 /178
- 7.3 增强子和沉默子 /183
- 7.4 真核生物转录及转录调控的特点 /186
- 7.5 转录因子 /188
- 7.6 染色质结构对基因转录的影响 /213

第 8 章 RNA 转录后加工及调控 /224

- 8.1 mRNA 的转录后加工 /224
- 8.2 核糖体 RNA(rRNA)的加工 /258
- 8.3 转运 RNA(tRNA)的加工 /260
- 8.4 RNA 干扰 /263
- 8.5 microRNA /265

第 9 章 蛋白质翻译与调控 /269

- 9.1 遗传密码的使用 /269
- 9.2 核糖体 /277
- 9.3 翻译过程 /281
- 9.4 蛋白质折叠翻译 /288
- 9.5 蛋白质转运 /291
- 9.6 蛋白质翻译后修饰 /298
- 9.7 蛋白质降解 /300
- 9.8 翻译水平调控 /303

第 10 章 基因组学与后基因组学 /310

- 10.1 基因组学 /310
- 10.2 转录组学 /317
- 10.3 蛋白质组学 /323
- 10.4 生物信息学 /327

第 11 章 分子生物学技术基础 /334

- 11.1 载体 /334
- 11.2 核酸酶 /339
- 11.3 克隆基因技术 /342
- 11.4 DNA 测序技术 /349
- 11.5 聚合酶链式反应 /353
- 11.6 生物分子分离技术 /362
- 11.7 核酸杂交 /370
- 11.8 基因转录产物的定位和定量分析方法 /380
- 11.9 核酸与蛋白质相互作用的检测方法 /384
- 11.10 基因的敲除与敲入 /385
- 11.11 显微成像 /387
- 11.12 DNA 芯片 /387

1.1 分子生物学及其研究对象与目的

分子生物学(molecular biology)是从分子水平研究生命现象,阐明生命本质的科学。它以核酸、蛋白质和生物糖等生物大分子的结构及其在生命活动中的功能作用为研究对象,是当代生命科学中发展最快,并与其他学科广泛交叉的重要前沿领域。

在分子水平上研究生命现象旨在阐明生命体的遗传、生殖、生长和发育等生命基本特征的分子机理,进而为利用和改造生命奠定理论基础和提供新的手段。通常意义上的生物分子是指那些携带遗传信息的核酸和在遗传信息传递及细胞内、细胞间通讯等生物过程中发挥着重要作用的蛋白质等生物大分子。这些生物大分子均具有较大的相对分子质量,由简单的小分子核苷酸或氨基酸排列组合而成,具有复杂的空间结构,通过彼此之间的相互作用能够形成各种复杂多变的功能系统。生物大分子承载着各种生命信息,是构成生物的多样性以及精确控制生物个体生长发育的物质基础。因此,从传统角度上看,蛋白质和核酸的结构与功能研究是分子生物学的基础,阐明其复杂结构,进而揭示其结构与功能之间的关系是分子生物学的主要任务。

近年来,随着现代化学和物理学理论、技术和方法的应用,分子生物学的研究领域得到了进一步扩展,研究理念正在发生革命性的改变,分子生物学的研究正在从注重对单一组分的研究向组学(omics)以及不同组学层面相互整合的方向转变,表现出了结构与功能的多层面整合的特点,同时也催生了以分子生物学为基础的系统生物学(systems biology)和整合生物学(integrative biology)的诞生。

从生物体的物质基础上看,所有生物体中的有机大分子都是以碳原子为核心,并以不同方式通过共价键形式与氢、氧、氮及磷构成有序的功能分子。由此可见,在分子水平上,生物体具有以下几个特征:①构成生物体有机大分子的单体在不同生物中都是相同的;②生物体内一切有机大分子的建成都遵循着各自特定的规则;③某一特定生物体所拥有的核酸及蛋白质分子决定其自身属性。而这些特征也是分子生物学研究得以实现的前提和基础。

与其他学科比较,分子生物学与生物化学及生物物理学有着十分密切的关系,但各自具有自身学科特征。一般认为彼此之间的主要区别在于:①生物化学和生物物理学是用化学和物理学的方法研究分子水平、细胞水平、整体水平乃至群体水平等不同层次的生物学问题,而分子生物学则侧重在分子(包括多分子体系)水平上研究生命活动的普遍规律;②分子生物学着重研究分子水平上的生物大分子,主要是蛋白质、核酸、脂质体系以及部分多糖及其复合体系,

而对于一些小分子物质在生物体内的转化则往往归属生物化学范畴;③分子生物学研究的主要目的是在分子水平上阐明整个生物界所共有的基本特征,即生命现象的分子本质,而研究某一特定生物体或某一种生物体内的某一特定器官的物理、化学现象或变化,则属于生物物理学或生物化学的范畴。

1.2 分子生物学的主要研究内容

自 20 世纪 50 年代以来,分子生物学历长期处于生物学研究的前沿,是当代生命科学与技术发展的生长点。分子生物学涉及范围广泛,研究内容包罗万象,粗略归纳主要有 DNA 重组技术、基因表达调控与细胞信号转导和生物大分子结构与功能等几个方面。如果考虑到分子生物学的基本物质基础和基本特征,则其研究范畴包括:①生物大分子的化学组成、三维结构,以及大分子之间的相互作用;②生物大分子结构与功能的关系,以及生物学现象产生的分子生物学过程;③生物大分子在细胞成分中的组织结构方式,活细胞在合成大分子时的物理化学过程;④生物信息传递和代谢调节的分子生物学过程。

1.2.1 DNA 重组技术

DNA 重组技术(DNA recombination technology)是 20 世纪 70 年代初兴起的分子操作技术,是分子生物学的核心技术体系。通过 DNA 重组技术,可将不同的 DNA 片段(如某个基因或基因的一部分)定向连接,并使其在特定的受体细胞中复制和表达,从而使受体细胞产生出新的遗传性状,其实质就是对生命现象和生命过程进行人工模拟。目前,该技术已成为当今研究生物体复杂生命活动的基本方法。该技术是核酸化学、蛋白质化学、酶工程及微生物学、遗传学、细胞学等多个学科交叉、融合的结晶,而限制性核酸内切酶、DNA 连接酶及其他工具酶的发现与应用则是 DNA 重组技术得以建立的关键。

DNA 重组技术作为现代分子生物技术发展中最重要成就之一,其产生使人类可以根据自己的需求选择目的基因实现体外重组,以达到改良和创造新的生物品种,改造自然世界或治疗疾病的目的。这一技术的建立极大地推动了基础研究,是当代生命科学前沿研究的技术基础。从经典分子生物学角度看,分子生物学研究的核心问题是遗传信息的传递和控制,也即基因的表达与调控。其中,无论是对启动子的研究(包括调控元件或称顺式作用元件),还是对转录因子的克隆及分析,都离不开重组 DNA 技术的应用。同时,随着整个人类基因组的核酸序列的解析,大量未知功能的基因采用重组 DNA 技术来进行研究,使揭示人类生命奥秘的活动进入快车道。

DNA 重组技术不受亲缘关系限制,因此其产生对生物学和医学产生了巨大影响,采用基于 DNA 重组技术的基因工程将可以设计出许多新的基因转移载体,推动基因治疗的进程。此外,DNA 重组技术也为分子遗传学和遗传育种研究开辟了崭新的途径。该技术一经建立便被快速用于定向改造某些生物体的基因组结构,从而获得可遗传的被人工作修饰的生物体,如转基因(transgenic)和基因敲除(gene knockout)动物,以及转基因植物。

1.2.2 基因表达调控

基因表达调控,也称核酸分子生物学,主要研究核酸的结构及其功能。由于核酸的主要作

用是携带和传递遗传信息,因此分子遗传学(molecular genetics)是其主要组成部分。基因表达调控的研究内容包括核酸、基因组的结构,遗传信息的复制、转录与翻译,核酸存储的信息修复与突变,基因表达调控和基因工程技术的发展和应用等。遗传信息传递的中心法则(central dogma)是其理论体系的核心。随着核酸研究领域的迅速发展,目前基因表达调控研究已经形成了比较完整的理论和技术体系,是现代分子生物学内容最丰富的一个领域。

细胞内蛋白质分子参与并控制着细胞各种代谢活动,而决定蛋白质结构和合成时序的信息都由核酸(主要是脱氧核糖核酸)分子编码,表现为特定的核苷酸序列,所以基因表达实质上始终被认为是遗传信息的转录和翻译。在个体生长发育过程中生物体遗传信息的表达按一定的时序发生变化(时序调节, time series regulation),并随着内外环境的变化而不断加以修正(环境调控, environmental regulation)。原核生物的转录和翻译在同一时间和空间内发生,而真核生物转录和翻译过程在时间和空间上都被分隔开,且在转录和翻译后都有复杂的信息加工过程,其基因表达的调控可以发生在各种不同的水平上,因此真核细胞的基因表达调控主要表现在信号传导研究、转录因子研究及 RNA 加工三个方面。

真核基因具有特定的结构。在基因 5' 端上游的特定序列可以和不同的基因表达调控蛋白结合,这些特定核苷酸序列构成了基因表达的核心序列,与通常称为转录因子的蛋白质分子专一结合,从而保证目的基因在特定的时间与空间表达蛋白质分子。当基因转录成 pre-mRNA 后,除了在 5' 端加帽及 3' 端加多聚 A(poly(A))之外,还要将隔开各个相邻编码区的内含子剪去,使外显子(编码区)相连后成为成熟 mRNA。研究发现,有许多基因不是将它们的内含子全部剪去,而是在不同的细胞或不同的发育阶段有选择地剪接其中部分内含子,因此生成不同的 mRNA 及蛋白质分子,从而成为基因表达调控复杂性和遗传多样性的分子基础。真核基因在结构上的不连续性是近半个世纪以来生物学研究的重大发现之一。

实际上,基因的表达会在不同层面上受到多种调控分子的影响,其中细胞信号转导对基因表达调控具有特别重要的意义。当细胞接受外界信号刺激后,可以引起细胞内一系列生物分子的结构变化和下游基因的表达。在信号分子的刺激下,细胞将会产生一系列的分子级联事件和生物化学变化,例如蛋白质构象与结构的转换、蛋白质的磷酸化以及蛋白质与蛋白质相互作用的变化,激活转录因子,进而调控不同基因的表达,以适应内外环境变化的需要。这些分子级联事件即所谓的细胞信号转导,其分子间的相互联系即细胞信号转导通路。有学者将细胞信号转导作为基因表达调控研究的重要内容,其研究重点是揭示不同信号分子引发细胞信号系统变化的分子机理,明确各种细胞信号转导与传递的途径,并阐明相关途径中所有参与分子的功能作用和调节方式,并认识和解析各种途径间的网络控制系统及其对基因表达调控的影响。作为近 20 年分子生物学研究的另一个热点和发展最迅速的一个领域,细胞信号转导通路与基因表达调控的有机整合将遗传信息传递的中心法则从 DNA—RNA—蛋白质的单方向调控方式扩展到细胞信息传递—细胞功能调控—基因表达—细胞表型响应的多途径调控,从而扩大了对遗传信息调节方式和基因表达调控途径的认识。

此外,真核细胞基因表达调控还表现了对 DNA 甲基化、组蛋白修饰和非编码 RNA 等表观遗传领域的深入认识。由于生物计算和信息技术的发展,基因表达调控的研究正在呈现着高通量和整体性特征。

1.2.3 生物大分子结构与功能

蛋白质、核酸和多糖是 3 类主要的生物大分子(biopolymer 或 biomacromolecule),它们在

生物体内由相对分子质量较小的基本结构单位首尾相连聚合而成。这些多聚物在分子结构和生理功能上有很大差别,然而也具有基本的共同特征。从分子结构上看,主要表现在:①这些生物大分子都有方向性,例如蛋白质链(或称肽链)、核酸链和糖链,但方向性的体现各不相同;②它们都有各具特征的高级结构,正确的空间构象是生物大分子执行生物功能的必要前提。从功能上看,主要表现在:①它们都可以在生物体内由简单的结构合成,与相应的生物小分子之间的转换,通常通过脱水缩合,或加水分解;②在活细胞中,3类生物大分子密切配合,共同参与生命过程,很多情况下形成生命活动必不可少的复合大分子,如核蛋白、糖蛋白。通常把研究生物大分子特定的空间结构及结构的动态变化与功能关系的科学称为结构分子生物学(structural molecular biology),其理论基础是任何一个生物大分子,无论是核酸、蛋白质还是多糖,在发挥生物学功能时必须具备两个前提:第一,要拥有特定的空间结构(三维结构);第二,在其发挥生物学功能的过程中必定存在着结构和构象上的变化。从结构上看,基本结构单位的排列顺序构成了生物大分子的一级结构,生物大分子需要在其一级结构的基础上方可形成复杂的空间结构,从而产生特定的生物功能。

DNA 的一级结构是脱氧核糖核苷酸在 DNA 分子中的排列顺序,不同的排列顺序蕴藏着生命的遗传信息。脱氧核糖核苷酸在形成核苷酸链的基础上,进一步构建成具有双螺旋结构的 DNA 分子,后者影响着 DNA 与蛋白质的相互识别。DNA 双螺旋结构的扭曲盘旋所形成的特定空间结构构成了 DNA 的高级结构,也即超螺旋结构(图 1-1)。超螺旋结构将随环境的变化产生构象的改变,在负超螺旋、松弛 DNA 和正超螺旋之间相互转换。这种超螺旋结构既可以保证 DNA 分子能够通过形成高度致密状态而被容纳在狭小的细胞内,同时又可以通过推动 DNA 结构的转换,从而满足功能上的需要。例如,负超螺旋分子所受的张力会引起互补链分开导致局部变性,而有利于 DNA 的复制和基因的转录。除 DNA 外,生物体还存在着另一类核酸——RNA, RNA 的种类繁多,但其结构具有保守性,例如作为 tRNA 二级结构的三叶草形结构和作为其三级结构的 L 形结构均具有高度的保守性。

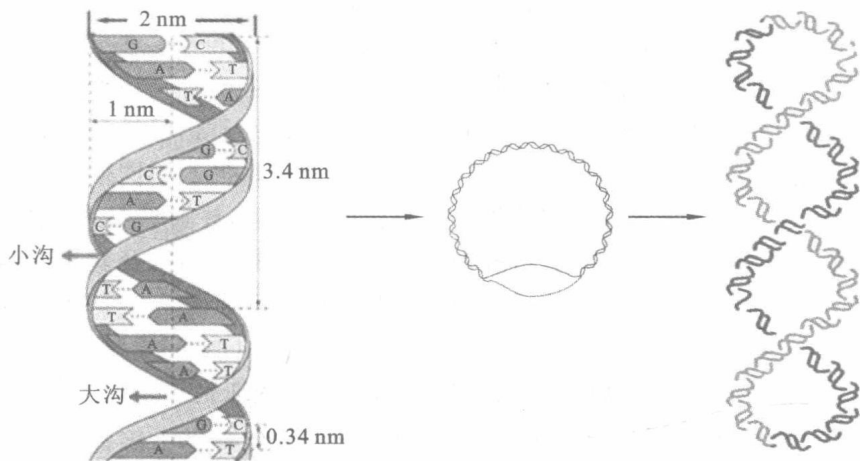


图 1-1 DNA 的双螺旋和超螺旋结构

生物大分子结构与功能研究的一个重点是研究执行各种生物学功能的蛋白质结构与功能、蛋白质修饰方式,它包括结构测定,揭示结构运动变化规律,以及建立结构与功能相互关系等研究内容。除了蛋白质的一级结构(肽链序列)和以 α 螺旋、 β 折叠为主体的二级结构外,蛋白质的三级结构对蛋白质功能的影响是生物大分子结构与功能研究的核心工作之一(图1-2)。

与其他生物大分子一样,蛋白质的空间构象一般取决于蛋白质的一级结构,而空间构象则决定着蛋白质的生物学功能。如果多肽或蛋白质一级结构相似,其折叠后的空间构象以及功能也具有相似性。但实际上,在有些情况下,蛋白质的一级结构并不是决定蛋白质空间构象的唯一因素。已经有实验证实,除一级结构外,溶液的环境条件、影响新生肽链折叠的分子伴侣或折叠酶均是蛋白质空间构象的影响因素。如果蛋白质的空间构象出现异常,将产生蛋白质构象病,如朊病毒病就是蛋白质构象病的典型代表。

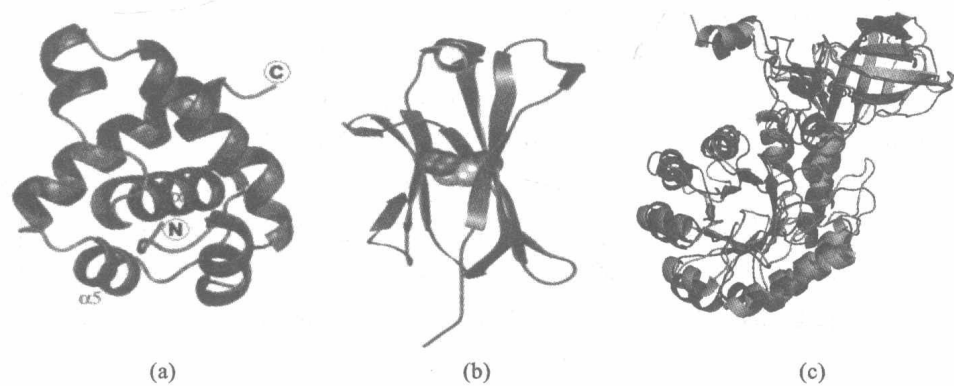


图 1-2 蛋白质 α 螺旋和 β 折叠的二级结构和三级结构

蛋白质是基因功能的执行者,其(包括酶)分子结构与功能的关系始终是分子生物学的核心内容之一。蛋白质的生物活性取决于其特定的化学修饰,一旦蛋白质的化学修饰发生改变,将会导致蛋白质生物功能的丧失,例如化学修饰试剂与酶的某些必需基团发生化学反应,便会造成酶活性的丧失。重要的化学修饰包括磷酸化、乙酰化、甲基化、泛素化修饰等,属于蛋白质的翻译后修饰内容。这些化学修饰是蛋白质发挥正常功能的重要环节,经过特殊修饰的蛋白质通常可定位在特定的位置,与特异的蛋白质相互作用,行使特殊的功能。而且,化学修饰还是研究蛋白质结构与功能关系的一种重要手段,在蛋白质特别是酶的结构与功能研究中,曾经起过十分重要的作用。

在活细胞中,蛋白质的定位、转位、翻译后修饰以及蛋白质-蛋白质相互作用共同决定着蛋白质的功能,是细胞生长、分化和凋亡及重大疾病发生和发展的重要分子基础。蛋白质的功能与其空间定位密切相关,且通过在不同亚细胞环境里的转位而发挥作用。蛋白质-蛋白质的相互作用是高度动态的,通过动态的相互作用形成大的复合体,在特定的时间和空间环境下完成特定的功能。因此,如果要阐明一种蛋白质的功能,往往需要系统研究蛋白质的定位、转位、翻译后修饰及蛋白质-蛋白质动态相互作用的规律,认识细胞中某一生理活动中相关功能蛋白质的作用及机制。

在生物大分子结构与功能研究中,研究三维结构及其运动规律的通用手段是 X 射线衍射的晶体学,也称蛋白质晶体学;其次是用二维核磁共振和多维核磁研究溶液中的生物大分子结构,也有人用电镜三维重组、电子衍射、中子衍射和各种频谱学方法研究生物大分子的空间结构。截至目前,在结构分子生物学的研究中,人们较为集中的研究主要涉及蛋白质分子自身的三维结构与功能、蛋白质分子相互作用中的三维结构变化与功能、核酸和蛋白质相互作用的结构与功能的研究。这些研究和发现为人类认识生物大分子参与生命活动的规律提供了必要的指导,而对大量生物糖分子和脂类分子的结构与功能的研究还是尚未完全开拓的领域。

1.3 分子生物学的发展简史

分子生物学的发展历程,可以追溯到 19 世纪中叶。1847 年 Schleiden 和 Schwann 提出细胞学说,揭示了细胞是动物、植物等生命个体的基本结构和功能单位。19 世纪末,经典遗传学创始人 Mendel 提出的遗传定律首先为人类对性状遗传的产生提供了理论认识。著名遗传学家 Morgan 于 20 世纪初提出的基因学说进一步将“性状”与“基因”偶联起来,构筑了分子遗传学的基石。1936 年,Sumner 通过蛋白质化学研究证实了酶是蛋白质。因此,细胞生物学、遗传学和基于核酸化学与蛋白质化学的生物化学构成了分子生物学的三大支撑学科。

分子生物学作为一门相对独立的科学体系始于 20 世纪 30 年代,这一时期的胶体化学、生物物理学、放射生物学以及晶体学等学科渐趋成熟,许多化学家与物理学家为了从更基本的层次来理解生命现象,试图从分子的性质来解释所衍生出来的生命现象,并且尤其关注于两种主要的巨型分子——核酸和蛋白质。“分子生物学(molecular biology)”即源于 1938 年 Weaver 写给洛克菲勒基金会的报告,在该报告中首次提到了此名词,意指从物理学及化学角度来解释生命现象的概念。此后,Willian Astbury 在使用 X 射线分析 DNA 纤维的结构时引用了此名词,并自称为分子生物学家。

现代分子生物学产生的标志是 20 世纪 50 年代 DNA 双螺旋结构的发现,在 20 世纪 70 年代所产生的基因重组(gene recombination)与克隆技术(clone technology)的推动下,分子生物学在最近 40 年得到了蓬勃发展,推动了人类对微观世界认识的不断深入。

根据分子生物学的发展历程,研究者一般将分子生物学的发展分为三个时期,即现代分子生物学产生的准备和酝酿时期、现代分子生物学的建立和发展时期以及初步认识生命本质并开始改造生命的深入发展时期。

1.3.1 现代分子生物学产生的准备和酝酿时期

这个时期始于 19 世纪后期到 20 世纪 50 年代初。在这一时期,关于蛋白质是生命的主要基础物质和 DNA 是生命体基本的遗传物质的两个重大理论突破使人类对生命本质的认识有了根本性的改变。

1. 确定蛋白质是生命的主要基础物质

19 世纪末,Buchner 兄弟证明酵母无细胞提取液能使糖发酵产生酒精,第一次提出“酶(enzyme)”的概念,将酶定义为生物催化剂。20 世纪 20—40 年代提纯和结晶了包括尿素酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶、黄酶、细胞色素 c、肌动蛋白等在内的具有催化活性的蛋白质,证明了酶的本质是蛋白质。随后陆续发现物质代谢、能量代谢、消化、呼吸、运动等许多生命的基本现象都与蛋白质(主要是酶)相关,并可以用提纯的酶或蛋白质在体外实验中重复出来。在此期间对蛋白质结构的认识也有较大的进步,为确定蛋白质是生命的主要基础物质起到了决定性的作用。此阶段的代表性工作包括:1902 年 Emil Fisher 证明蛋白质结构是多肽,40 年代末 Sanger 创立二硝基氟苯(DNFB)法、Edman 发展了异硫氰酸苯酯法分析肽链 N 端氨基酸,1953 年 Sanger 和 Thompson 完成了第一个多肽分子——胰岛素 A 链和 B 链的氨基酸全序列分析(图 1-3),由此开创了蛋白质序列分析的先河。其中,由于结晶 X 射线衍射分析技术的发展,1950 年 Pauling 和 Corey 提出了 α -角蛋白的 α 螺旋结构模型。因此,在这个阶段对蛋白质

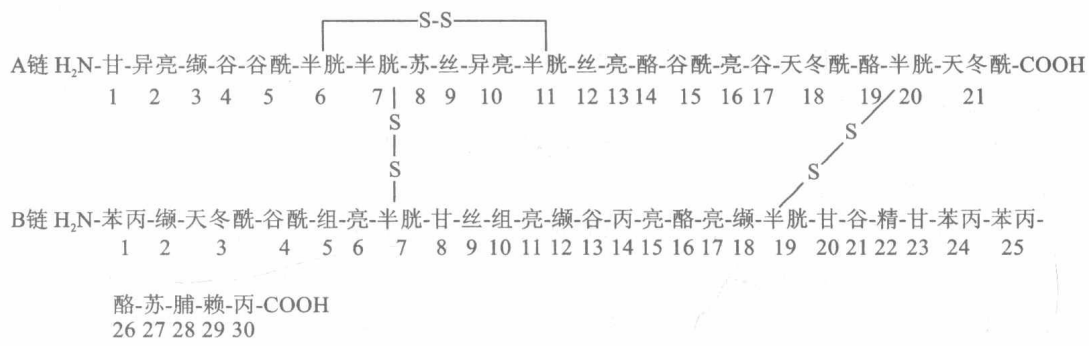


图 1-3 牛胰岛素的 A 链、B 链氨基酸序列

一级结构和空间结构都有了较为充分的认识。

2. 确定生物遗传的物质基础是 DNA

DNA 作为生命体的遗传物质,最早发现于 1869 年。F. Miescher 在这一年首次分离了 DNA,并将其称为核素(nuclein)。20 世纪 20—30 年代已确认自然界有 DNA 和 RNA 两类核酸,并阐明了核苷酸的组成。但是,由于当时对核苷酸和碱基的定量分析不够精确,得出 DNA 中 A、G、C、T 含量是大致相等的结论,因而曾长期认为 DNA 结构只是“四核苷酸”单位的重复,不具有多样性,不能携带更多的信息,而当时更多研究是将蛋白质作为携带遗传信息的候选分子。40 年代后,来自实验的数据使人们从核酸的功能和结构两个方面有了更深入的认识。1940 年,George Beadle 与 Edward Tatum 证明了基因与蛋白质之间的关系,并因此将生物化学与遗传学联系起来。他们所建立的模式生物粉色面包霉菌(*Neurospora crassa*),成为后来的分子生物学发展主题。1944 年 O. T. Avery 等证明了肺炎球菌转化因子是 DNA;1952 年 A. D. Hershey 和 M. Chase 用 DNA ³⁵S 和 ³²P 分别标记 T₂ 噬菌体的蛋白质和核酸,感染大肠杆菌的实验进一步证明了 DNA 是遗传物质。在对 DNA 结构的研究上,1949—1952 年 S. Furbery 等的 X 射线衍射分析阐明了核苷酸并非平面的空间构象,提出 DNA 具有螺旋样结构的假设;1948—1953 年 Chargaff 等用新的层析和电泳技术分析组成 DNA 的碱基和核苷酸量,积累了大量的数据,提出了 DNA 碱基组成 A=T、G=C 的 Chargaff 规则,为碱基配对的 DNA 结构认识打下了基础。1953 年,James Watson 和 Francis Crick 在 Rosalind Franklin 及 Maurice Wilkins 研究的基础上,发现了 DNA 双螺旋结构,提出 DNA 双螺旋结构模型,这成为现代分子生物学诞生的标志。

1.3.2 现代分子生物学的建立和发展时期

这一阶段是从 20 世纪 50 年代初到 70 年代初,以 1953 年 Watson 和 Crick 提出的 DNA 双螺旋结构模型作为现代分子生物学诞生的里程碑,开创了分子遗传学基本理论建立和发展的黄金时代。DNA 双螺旋结构发现的深刻意义在于:确立了核酸作为信息分子的结构基础,提出了碱基配对是核酸复制、遗传信息传递的基本方式,最后确定了核酸是遗传的物质基础。这一发现为认识核酸与蛋白质的关系及其在生命中的作用打下了最重要的基础。在此期间的重要进展包括建立遗传信息传递的中心法则和在深层次上认识蛋白质的结构和功能。

1. 遗传信息传递中心法则的建立

Crick 在提出 DNA 双螺旋结构模型后,迅速将研究重点转向生物学结构所具有的功能意义,并于 1958 年提出了遗传信息传递的中心法则。同年 Weiss 及 Hurwitz 等发现了依赖于