



GAODENG ZHIYE JIAOYU SHENGWU JISHULEI ZHUANYE XILIE JIAOCAI

• 高等职业教育生物技术类专业系列教材 •

# 现代基因操作技术

XIANDAI JIYIN CAOZUO JISHU

赵丽 陈红英 主编



YZLI 0890093190



中国轻工业出版社

高等职业教育生物技术类专业系列教材

# 现代基因操作技术

赵 丽 陈红英 主编



YZLI 0890093190

 中国轻工业出版社

## 图书在版编目 (CIP) 数据

现代基因操作技术/赵丽, 陈红英主编. —北京:  
中国轻工业出版社, 2010.9

高等职业教育生物技术类专业系列教材

ISBN 978-7-5019-7691-1

I. ①现… II. ①赵…②陈… III. ①基因-遗传工  
程-高等学校; 技术学校-教材 IV. ①Q78

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 135179 号

责任编辑: 石悦 江娟

策划编辑: 江娟 责任终审: 唐是雯 封面设计: 锋尚设计

版式设计: 王超男 责任校对: 李靖 责任监印: 马金路

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印刷: 三河市世纪兴源印刷有限公司

经销: 各地新华书店

版次: 2010 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

开本: 720 × 1000 1/16 印张: 17.75

字数: 357 千字

书号: ISBN 978-7-5019-7691-1 定价: 30.00 元

邮购电话: 010-65241695 传真: 65128352

发行电话: 010-85119835 85119793 传真: 85113293

网址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: [club@chlip.com.cn](mailto:club@chlip.com.cn)

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

090898J2X101ZBW

## 《现代基因操作技术》编委会

主 编：赵 丽 陈红英

副主编：连瑞丽 赵绪永 李宇伟

编 者：陈红英（河南农业大学）

连瑞丽（郑州牧业工程高等专科学校）

卢婷婷（郑州牧业工程高等专科学校）

李宇伟（郑州牧业工程高等专科学校）

赵 丽（郑州牧业工程高等专科学校）

赵绪永（郑州牧业工程高等专科学校）

## 前 言

21 世纪是生命科学的世纪, 高等职业教育肩负着培养高级应用型人才的重任, 近年来先后在高职院校开设了生物技术应用、基因重组技术等相关课程。然而高等职业院校的学生文化基础与本科院校不同, 培养目标也有区别。为保证学生快速掌握基因工程的理论与技术, 急需一本合适的教材。本教材围绕新时期我国高职高专教学需要, 为培养既具有一定理论基础, 又具有较强动手能力和创新精神的高级应用型人才而编写。本书在保证学生掌握基因操作基本理论的前提下, 结合生物科学的特点, 深入浅出地阐述了基因操作的基本理论与基本操作技术。强调实用性的同时, 还注重学生学习能力与科研能力的培养。

基因操作技术是一种分子生物学技术, 但不等同于分子生物学技术。分子生物学技术涉及范围更广、内容更多, 而基因操作技术则侧重于基因的分离、切割、连接、转化、筛选与鉴定等内容。本教材在全面论述基因和基因组基本概念的基础上, 详细地介绍了核酸提取, 基因扩增, 重组子的筛选、分离及鉴定方法; 系统地阐述了有关基因重组的常用工具酶、载体以及重组技术; 简要介绍了研究所需要的数据库及生物信息学软件; 并结合科研实际增加了应用实例, 充分体现了理论与实践的结合。本教材的附录部分包括基因操作技术实验室操作规范及注意事项, 常用培养基、试剂及溶液的配制, 常用试验设备的使用规则、方法等。

在本教材编写过程中, 参考了已出版的国内外分子生物学实验技术方面的书籍, 在此谨向这些书籍的编者致以深深的谢意。

本书编写人员都是活跃在生物学方面教学和科研第一线的年轻老师, 由于经验有限, 时间仓促, 书中难免存在不足之处, 敬请广大读者和有关专家指正。

# 目 录

|                  |     |
|------------------|-----|
| 第一章 基因与基因组       | 1   |
| 第一节 核酸的结构与功能     | 1   |
| 第二节 染色体的结构       | 8   |
| 第三节 遗传信息的传递      | 11  |
| 第四节 基因及其结构       | 31  |
| 第五节 基因组          | 34  |
| 第六节 基因的表达与调控     | 37  |
| 第二章 核酸提取技术       | 44  |
| 第一节 基本原理         | 44  |
| 第二节 DNA 的提取      | 46  |
| 第三节 RNA 的提取      | 51  |
| 第四节 核酸的定量与保存     | 55  |
| 第三章 基因扩增技术       | 59  |
| 第一节 基本原理         | 59  |
| 第二节 引物设计         | 59  |
| 第三节 反应体系         | 71  |
| 第四节 常用 PCR 技术    | 75  |
| 第五节 PCR 技术应用     | 86  |
| 第四章 电泳技术         | 88  |
| 第一节 基本原理         | 88  |
| 第二节 琼脂糖凝胶电泳      | 91  |
| 第三节 聚丙烯酰胺凝胶电泳    | 96  |
| 第四节 其他电泳技术       | 98  |
| 第五章 常用工具酶与基因工程载体 | 110 |
| 第一节 常用工具酶        | 110 |
| 第二节 常用基因工程载体     | 120 |
| 第六章 外源基因的克隆与表达   | 144 |
| 第一节 DNA 片段的体外连接  | 144 |
| 第二节 重组子导入宿主细胞    | 152 |
| 第三节 重组克隆的筛选与鉴定   | 154 |
| 第四节 外源基因的蛋白质表达   | 159 |

|                                                  |     |
|--------------------------------------------------|-----|
| 第五节 外源基因表达产物的检测 .....                            | 166 |
| 第七章 DNA 测序技术 .....                               | 169 |
| 第一节 Sanger 双脱氧链终止法测序 .....                       | 169 |
| 第二节 Maxam - Gilbert 化学降解法 .....                  | 173 |
| 第三节 DNA 序列测定的策略 .....                            | 176 |
| 第八章 生物信息学 .....                                  | 178 |
| 第一节 概述 .....                                     | 178 |
| 第二节 生物信息学的研究方法 with 内容 .....                     | 179 |
| 第三节 生物信息数据库与查询 .....                             | 184 |
| 第四节 序列比对和数据库搜索 .....                             | 195 |
| 第九章 基因操作技术应用 .....                               | 204 |
| 案例一 猪 $\alpha$ 干扰素基因克隆、原核表达及抗病毒活性研究 .....        | 204 |
| 案例二 淮南猪 <i>IL-2</i> 基因在昆虫细胞中的表达及生物学活性测定 .....    | 209 |
| 案例三 H5N1 亚型 AIV 河南株 <i>HA</i> 基因在重组禽痘病毒的表达 ..... | 215 |
| 第十章 实验部分 .....                                   | 223 |
| 实验一 动物基因组 DNA 的提取 .....                          | 223 |
| 实验二 PCR 扩增目的基因 .....                             | 224 |
| 实验三 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物 .....                       | 226 |
| 实验四 扩增目的基因片段的回收、酶切与连接 .....                      | 227 |
| 实验五 大肠杆菌感受态细胞的制备 .....                           | 230 |
| 实验六 转化 .....                                     | 232 |
| 实验七 质粒 DNA 的提取与定量 .....                          | 233 |
| 实验八 转化克隆的筛选和鉴定 .....                             | 235 |
| 实验九 外源基因在大肠杆菌中的诱导表达 .....                        | 238 |
| 实验十 SDS - PAGE 电泳检测表达蛋白 .....                    | 239 |
| 附录一 基因操作技术实验室操作规范及注意事项 .....                     | 242 |
| 附录二 细菌培养基的配制 .....                               | 244 |
| 附录三 常用溶液与配制 .....                                | 246 |
| 附录四 常用实验设备的使用规则、方法 .....                         | 257 |
| 参考文献 .....                                       | 269 |

# 第一章 基因与基因组

## 第一节 核酸的结构与功能

核酸 (nucleic acid) 是重要的生物大分子, 是生物化学与分子生物学研究的重要对象。由于核酸的结构和功能比较复杂, 分子很不稳定, 在细胞中的含量又比较小, 在四类生物大分子中, 它的研究开始最晚。核酸是遗传物质, 它们能从亲代传递到子代。核酸分为两大类: 脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 和核糖核酸 (ribonucleic acid, RNA)。RNA 根据其结构和功能的不同主要分为三类: 信使 RNA (messenger RNA, mRNA)、转运 RNA (transfer RNA, tRNA) 和核糖体 RNA (ribosomal RNA, rRNA)。DNA 是遗传信息的贮存和携带者, RNA 主要是转录、传递 DNA 上的遗传信息, 直接参与细胞蛋白质的生物合成。在真核细胞中, DNA 绝大部分 (约 98%) 存在于细胞核染色质中, 其余分布于细胞器 (如线粒体、叶绿体) 中; RNA 绝大部分 (约 90%) 分布在细胞质中, 其余分布在细胞核内。

### 一、核酸的化学结构

核酸是核苷酸的多聚体, 核苷酸是基本结构单元。每个核苷酸均含有碱基、戊糖和磷酸三种成分。戊糖, 有核糖和脱氧核糖, 核糖存在于核糖核酸 (RNA) 中, 脱氧核糖存在于脱氧核糖核酸 (DNA) 中。这两种核糖的区别在于脱氧核糖 2'-碳原子上的羟基被脱了氧, 只剩下 H。这个区别使得 DNA 比 RNA 更具化学稳定性。

DNA 中的四种碱基: A (腺嘌呤)、G (鸟嘌呤)、C (胞嘧啶) 和 T (胸腺嘧啶) (图 1-1)。RNA 中的四种碱基: A、G、C 和 U (尿嘧啶)。U 跟 T 结构相似, U 在 5-碳原子上连接的是一H, 而 T 在 5-碳原子上连接的是—CH<sub>3</sub>。

核糖的 1'-碳原子上通过 N-糖苷键连接嘌呤或嘧啶碱基成为

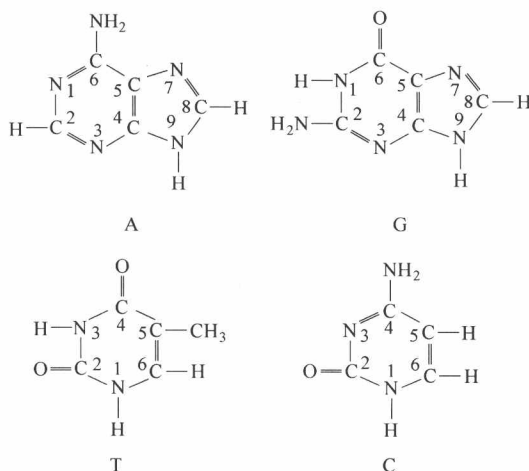


图 1-1 碱基



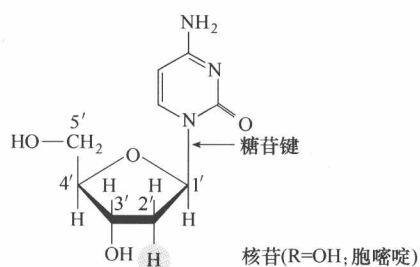


图 1-2 核苷

核苷 (图 1-2)。

核苷再磷酸化后称为核苷酸 (图 1-3)。核酸中核苷酸的连接方式是一个核苷酸的 3'-羟基和另一个核苷酸中的 5'-磷酸形成第二个磷酸酯键而共价连接, 即 3'和 5'-碳原子上的磷酸都是酯化的, 因此被称为磷酸二酯键, 磷酸二酯键相连而成的链状聚合物即为多聚核苷酸 (图 1-4)。

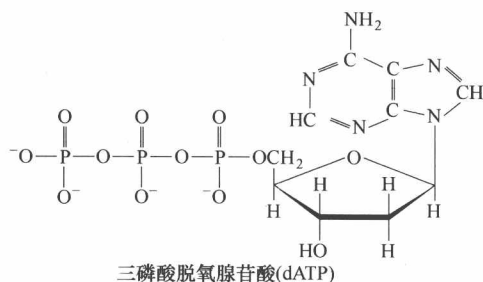


图 1-3 核苷酸

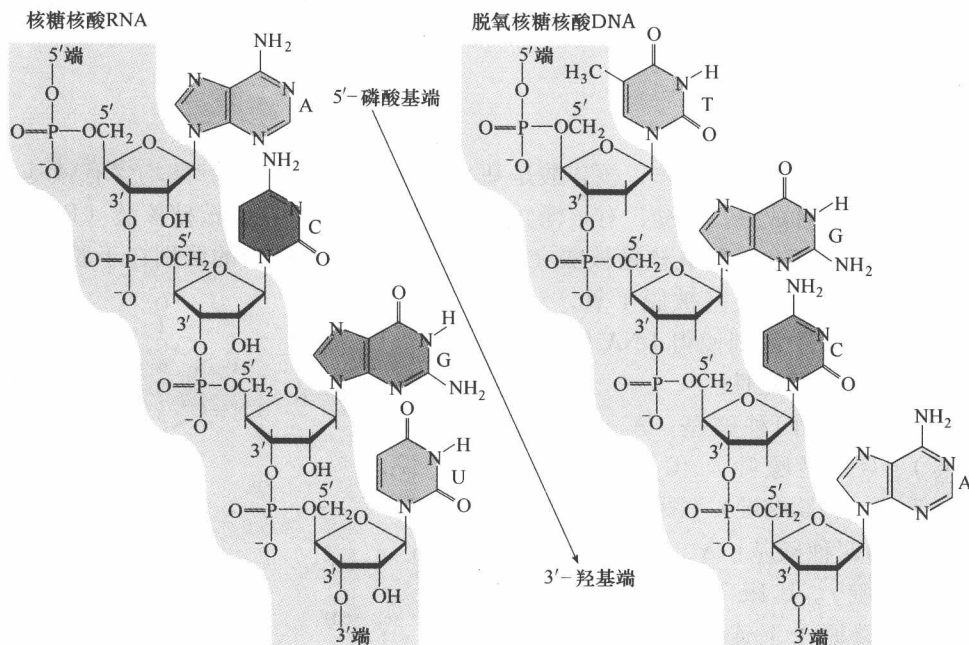


图 1-4 多聚核苷酸

嘌呤和嘧啶碱基彼此之间不形成任何共价键, 因此, 一个多聚核苷酸含有一条糖与磷酸交替出现的骨架, 这一骨架具有一个 3'-OH 末端和 5'-P 末端。

## 二、DNA 的结构与功能

### (一) DNA 的碱基组成特点

DNA 的碱基组成有下列一些特点。

(1) 各种生物的 DNA 分子中腺嘌呤与胸腺嘧啶的物质的量相等, 即  $A = T$ ; 鸟嘌呤与胞嘧啶的物质的量相等, 即  $G = C$ 。因此, 嘌呤碱的总数等于嘧啶碱的总数, 即  $A + G = C + T$ 。

(2) DNA 的碱基组成具有种属特异性, 即不同生物种属的 DNA 具有各自特异的碱基组成, 如人、牛和大肠杆菌的 DNA 碱基组成比例是不一样的。

(3) DNA 的碱基组成没有组织器官特异性, 即同一生物体的各种不同器官或组织 DNA 的碱基组成相似。比如牛的肝、胰、脾、肾和胸腺等器官的 DNA 碱基组成十分相近而无明显差别。

(4) 生物体内的碱基组成一般不受年龄、生长状况、营养状况和环境等条件的影响。这就是说, 每种生物的 DNA 具有各自特异的碱基组成, 与生物的遗传特性有关。

DNA 碱基组成的这些规律称为 Chargaff 规则, 这些规则为研究 DNA 双螺旋结构提供了重要依据。

### (二) 一级结构

DNA 是由许多脱氧核糖核苷酸通过磷酸二酯键连接起来的多聚核苷酸。DNA 分子中脱氧核糖核苷酸的排列顺序, 称为 DNA 的一级结构。它是形成二级结构和三级结构的基础。

### (三) 二级结构

DNA 的二级结构是一个双螺旋结构, 其结构模型于 1953 年由美国的 Watson 和英国的 Crick 两位科学家共同提出, 从本质上揭示了生物遗传性状得以世代相传的分子奥秘。其基本内容如下。

(1) 主干链反向平行 DNA 分子是一个由两条平行的脱氧多核苷酸链围绕同一个中心轴盘曲形成的右手螺旋结构, 两条链行走方向相反, 一条链为  $5' \rightarrow 3'$  走向, 另一条链为  $3' \rightarrow 5'$  走向。磷酸基和脱氧核糖基构成链的骨架, 位于双螺旋的外侧; 碱基位于双螺旋的内侧。碱基平面与中轴垂直。

(2) 侧链碱基互补配对 两条脱氧多核苷酸链通过碱基之间的氢键连接在一起。碱基之间有严格的配对规律: A 与 T 配对, 其间形成两个氢键; G 与 C 配对, 其间形成三个氢键。这种配对规律, 称为碱基互补配对原则 (图 1-5)。每一碱基对的两个碱基称为互补碱基, 同一 DNA 分子的两条脱氧多核苷酸链称为互补链。

(3) 双螺旋立体结构 DNA 双螺旋的直径为 2nm, 一圈螺旋含 10 个碱基对, 每一碱基平面间的轴向距离为 0.34nm, 故每一螺旋的螺距为 3.4nm, 每个

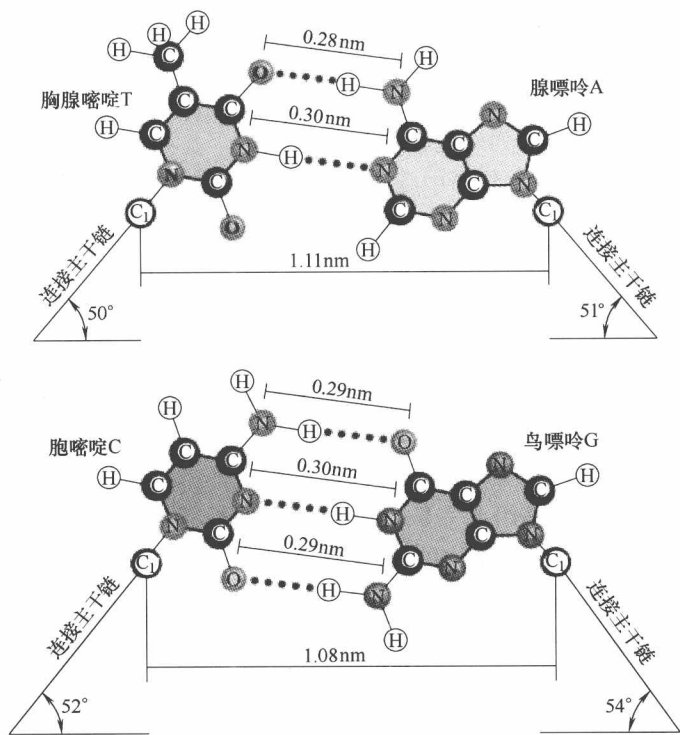


图 1-5 碱基互补配对

碱基的旋转角度为  $36^\circ$  (图 1-6)。维持 DNA 结构稳定的力量主要是碱基对之间的堆积力，碱基对之间的氢键也起着重要作用。

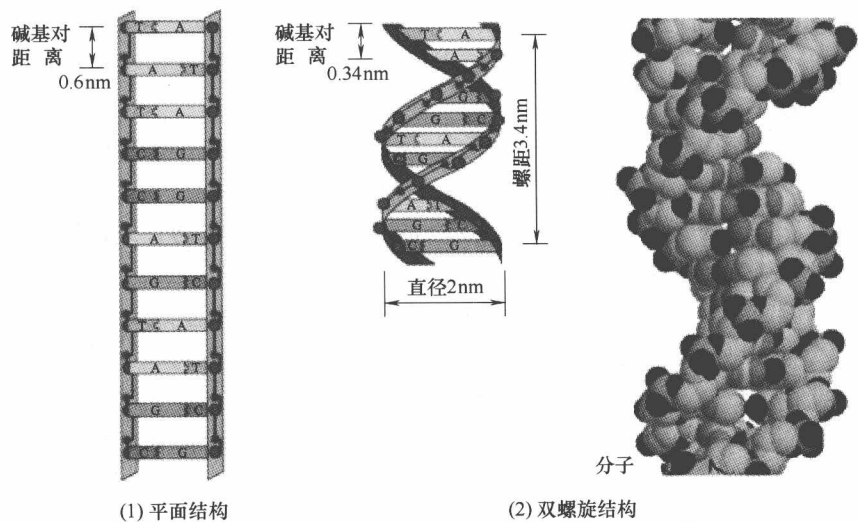


图 1-6 DNA 结构模型

#### (四) 三级结构

DNA 双螺旋进一步盘曲形成更加复杂的结构,称为 DNA 的三级结构。绝大部分原核生物的 DNA 都是共价封闭的环状双螺旋分子,这种双螺旋分子还需再次螺旋化形成超螺旋结构(图 1-7)。超螺旋是 DNA 三级结构的最常见的形式。超螺旋方向与双螺旋方向相反,使螺旋变松者,称为负超螺旋;超螺旋方向与双螺旋方向相同,使螺旋变紧者,称为正超螺旋。

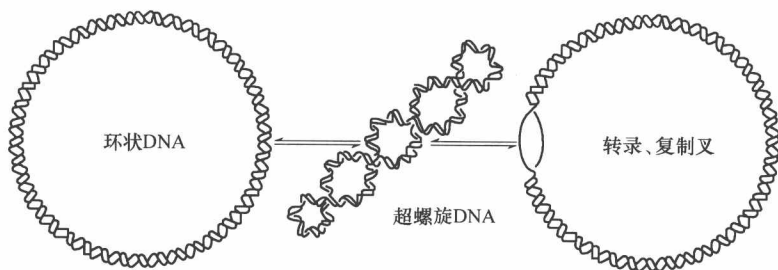


图 1-7 环状 DNA 结构示意图

在真核生物的染色质中, DNA 的三级结构与蛋白质的结合有关。构成染色质的基本单位是核小体。核小体由核小体核心和连接区组成(图 1-8)。核小体

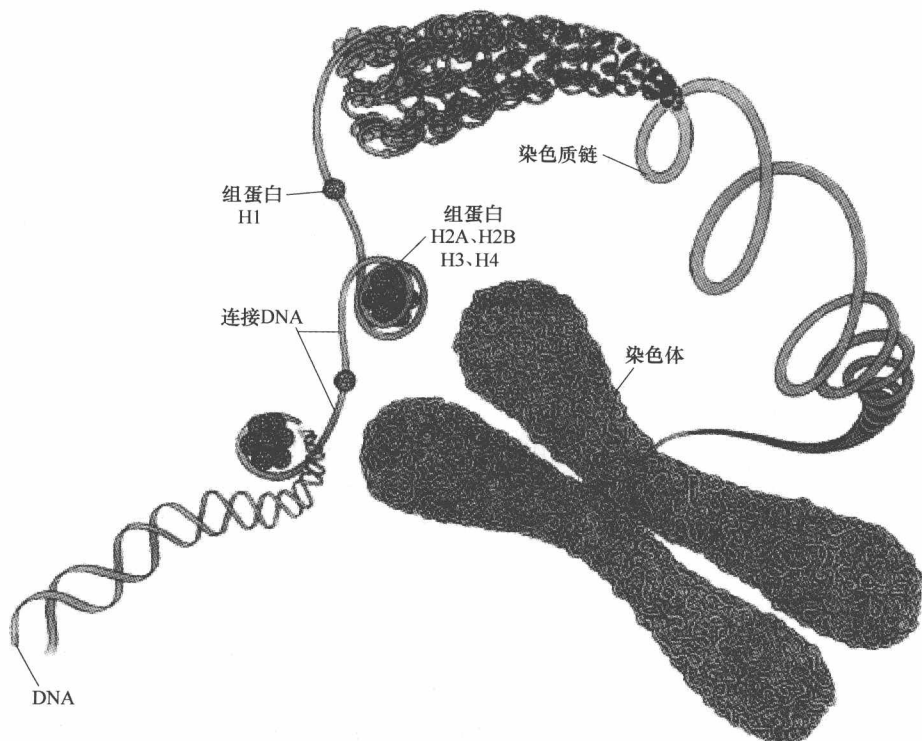


图 1-8 核小体结构示意图

核心由组蛋白八聚体（由 H2A、H2B、H3、H4 各两分子组成）和盘绕其上的一段约含 146 碱基对（base pair, bp）的 DNA 双链组成，连接区含有组蛋白 H1 和一小段 DNA 双链（约 60 个碱基对）。核小体彼此相连成串珠状染色质细丝，染色质细丝螺旋化形成染色质纤维，后者进一步卷曲、折叠形成染色单体。这样，DNA 的长度被压缩至近万分之一。

### 三、RNA 的结构与功能

RNA 分子中相邻的两个核糖核苷酸也是以 3', 5'-磷酸二酯键连接形成多聚核糖核苷酸链。RNA 的一级结构是指多聚核糖核苷酸链中核糖核苷酸的排列顺序。RNA 分子是单链结构，其核苷酸残基数目在数十至数千，相对分子质量一般在数百至数百万。

RNA 的多核苷酸链可以在某些部分弯曲折叠，形成局部双螺旋结构，此即 RNA 的二级结构。在 RNA 的局部双螺旋区，腺嘌呤（A）与尿嘧啶（U）、鸟嘌呤（G）与胞嘧啶（C）之间进行配对，无法配对的区域以环状形式突起。这种短的双螺旋区域和环状突起称为发夹结构。RNA 在二级结构的基础上进一步弯曲折叠就形成各自特有的三级结构。

#### （一）tRNA 的结构特点

tRNA 含 70 ~ 100 个核苷酸残基，是相对分子质量最小的 RNA，占 RNA 总量的 16%，现已发现有 100 多种。tRNA 的主要生物学功能是转运活化了的氨基酸，参与蛋白质的生物合成。

各种 tRNA 的一级结构互不相同，但它们的二级结构都呈三叶草形。这种三叶草形结构的主要特征是，含有四个螺旋区、三个环和一个附加叉。四个螺旋区构成四个臂，其中含有 3'末端的螺旋区称为氨基酸臂，因为此臂的 3'末端都是 C-C-A-OH 序列，可与氨基酸连接。三个环分别用 I、II、III 表示。环 I 含有 5, 6-二氢尿嘧啶，称为二氢尿嘧啶环（DHU 环）。环 II 顶端含有由三个碱基组成的反密码子，称为反密码环；反密码子可识别 mRNA 分子上的密码子，在蛋白质生物合成中起重要的翻译作用。环 III 含有胸苷（T）、假尿苷（ $\psi$ ）、胞苷（C），称为 T $\psi$ C 环，此环可能与结合核糖体有关。tRNA 在二级结构的基础上进一步折叠成为倒“L”字母形的三级结构（图 1-9）。

tRNA 分子中稀有碱基的数量是所有核酸分子中比例最高的，这些稀有碱基的来源是转录之后经过加工修饰形成的。

#### （二）mRNA 的结构特点

mRNA 的含量最少，约占 RNA 总量的 2%。mRNA 一般都不稳定，代谢活跃，更新迅速，半衰期短。mRNA 分子中从 5'末端到 3'末端每三个相邻的核苷酸组成的三联体代表氨基酸信息，称为密码子。mRNA 的生物学功能是传递 DNA 的遗传信息，指导蛋白质的生物合成。细胞内 mRNA 的种类很多，分子大小不

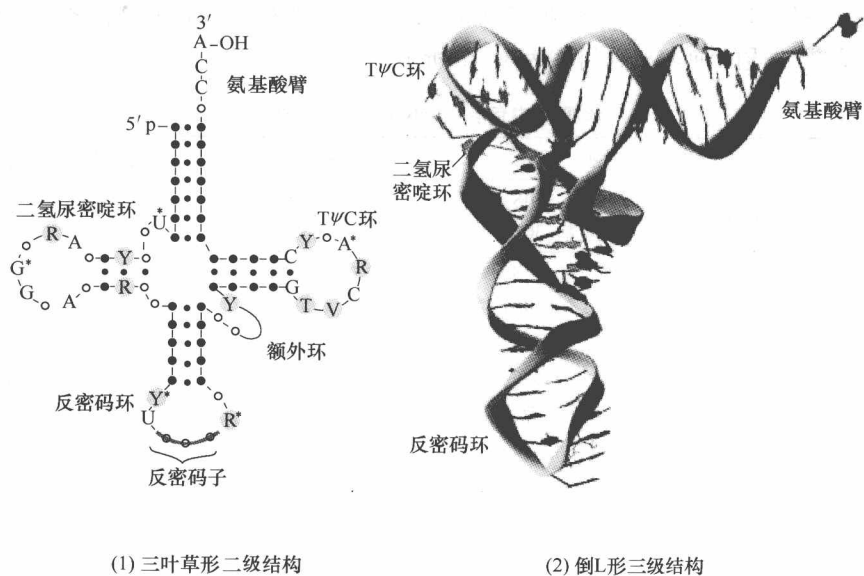


图 1-9 tRNA 的二级结构和三级结构

一，由几百至几千个核苷酸组成。真核生物 mRNA 的一级结构有如下特点。

(1) mRNA 的 3' 末端有一段由 30 ~ 200 个核苷酸残基组成的多聚腺苷酸 (polyA)。此段 polyA 不是直接从 DNA 转录而来，而是转录后逐个添加上去的。有人把 polyA 称为 mRNA 的“靴”。原核生物一般无 polyA 结构。此结构与 mRNA 由细胞核转移到细胞质及维持 mRNA 的结构稳定有关，它的长度决定 mRNA 的半衰期。

(2) mRNA 的 5' 末端有一个 7-甲基鸟嘌呤核苷三磷酸 ( $m^7Gppp$ ) 的“帽”式结构。此结构在蛋白质的生物合成过程中可促进核蛋白体与 mRNA 的结合，加速翻译起始速度，并增强 mRNA 的稳定性，防止 mRNA 从头水解。

在细胞核内合成的 mRNA 初级产物被称为不均一核 RNA (hnRNA)，它们在核内被迅速加工、剪接成为成熟的 mRNA 并透出核膜到细胞质。

### (三) rRNA 的结构特点

rRNA 是细胞中含量最多的 RNA，约占 RNA 总量的 82%。rRNA 单独存在时不执行其功能，它与多种蛋白质结合成核糖体，作为蛋白质生物合成的“装配机”。

rRNA 的相对分子质量较大，结构相当复杂，目前虽已测出不少 rRNA 分子的一级结构，但对其二级结构、三级结构及其功能的研究还需进一步的深入。原核生物的 rRNA 分三类：5S rRNA、16S rRNA 和 23S rRNA。真核生物的 rRNA 分四类：5S rRNA、5.8S rRNA、18S rRNA 和 28S rRNA。S 为大分子物质在超速离心沉降中的一个物理学单位，可间接反映相对分子质量的大小。原核生物和真核

生物的核糖体均由大、小两种亚基组成。以大肠杆菌和小鼠肝为例，各亚基所含 rRNA 和蛋白质的种类和数目如表 1-1 所示。

| 表 1-1                      核糖体中包含的 rRNA 和蛋白质 |          |             |        |
|----------------------------------------------|----------|-------------|--------|
| 来    源                                       | 亚    基   | rRNA 种类     | 蛋白质种类数 |
| 原核生物(大肠杆菌)                                   | 大亚基(50S) | 5S、23S      | 31     |
|                                              | 小亚基(30S) | 16S         | 21     |
| 真核生物(小鼠肝)                                    | 大亚基(60S) | 5S、5.8S、28S | 49     |
|                                              | 小亚基(30S) | 18S         | 33     |

过去认为，大亚基的蛋白质具有酶的活力，促使肽键形成，故称为转肽酶。20 世纪 90 年代初，H. F. Noller 等证明大肠杆菌的 23S rRNA 能够催化肽键的形成，才证明核糖体是一种核酶，从而根本改变了传统的观点。核糖体催化肽键合成的是 rRNA，蛋白质只是维持 rRNA 构象，起辅助的作用。

## 第二节    染色体的结构

### 一、染色质的化学组成

染色质由 DNA、组蛋白、非组蛋白及少量 RNA 组成，DNA 与组蛋白是染色质的稳定成分，非组蛋白与 RNA 的含量则随细胞的生理状态和细胞类型不同而变化。在大鼠肝细胞染色质中，组蛋白与 DNA 含量之比近于 1:1，非组蛋白与 DNA 之比是 0.6:1，RNA 与 DNA 之比为 0.1:1。

#### (一) 染色质 DNA

染色质 DNA 分子携带着两类不同的遗传信息：一类是负责蛋白质氨基酸组成的信息，以三联体密码子 (triplet) 方式进行编码，巧妙地解决了在有限的小空间贮存大量遗传信息的矛盾；另一类是关于基因选择性表达的信息，在高等哺乳动物中，细胞中编码 DNA 序列在基因组只占很小的比例，占 5% ~ 15%，其余占基因组 90% 左右的 DNA 则是编码基因选择性表达的遗传信息，这种选择性表现在不同的物种和个体在发育的不同阶段、不同的组织器官和不同的细胞类型中以及不同的外界环境下，各种基因是关闭还是表达、表达量多少，都是各不相同的。

#### (二) 染色质蛋白质

染色质蛋白质主要包括两类：一是组蛋白 (histone)，与 DNA 非特异性相结合；另一类是非组蛋白 (nonhistone)，又称序列特异性 DNA 结合蛋白，负责 DNA 遗传信息的组织、复制和阅读。

##### 1. 组蛋白 (histone)

组蛋白是构成真核生物染色质的主要蛋白质成分，是富含带正电荷的赖氨酸

(Lys) 和精氨酸 (Arg) 的碱性蛋白质。组蛋白通过带正电荷的氨基 (N) 末端区域与带负电荷的 DNA 骨架链相互作用。染色质中的组蛋白有五种, 在功能上可分为两组: 一是核心组蛋白 (core histone), 包括 H2A、H2B、H3、H4 组蛋白; 二是 H1 组蛋白。

## 2. 非组蛋白 (nonhistone)

非组蛋白主要是指染色体上与特异 DNA 序列相结合的蛋白质, 所以又称序列特异性 DNA 结合蛋白 (sequence specific DNA binding proteins)。

非组蛋白具有如下特性: 多样性与组织特异性; 与 DNA 结合的特异性; 功能多样性。从而有利于协助启动 DNA 复制、控制基因转录、调节基因表达。

## 二、染色质的类型

染色质根据其形态特征和染色性能可分为两种类型: 常染色质 (euchromatin) 和异染色质 (heterochromatin)。常染色质是指在间期细胞核内, 对碱性染料着色浅、染色质纤维折叠压缩程度低、处于较为伸展状态的染色质, 多存在于核质中。异染色质是指在间期细胞核内, 对碱性染料着色深、染色质纤维折叠压缩程度高、处于聚缩状态的染色质。异染色质常以高度有序的结构形式存在于细胞核的周边部位。异染色质又分为结构异染色质 (constitutive heterochromatin) 和兼性异染色质 (facultative heterochromatin)。

## 三、染色质包装的结构模型

1974 年, Kornberg 等人发现核小体是染色质包装的基本结构单位, 提出染色体结构的“串珠”模型。

### (一) 染色质的基本结构单位——核小体

核小体 (nucleosome) 是染色质的基本结构单位。每个核小体单位包括 200bp 左右的 DNA 超螺旋、一个  $(H2A - H2B - H3 - H4)_2$  组蛋白八聚体 (histone octamer) 以及一个分子的组蛋白 H1。核小体核心颗粒由 146bp 的核心 DNA 超螺旋盘绕组蛋白 1.75 圈而成, 由 0 ~ 80bp、典型长度 60bp 的连接 DNA (linker DNA) 相连, 与组蛋白 H1 结合将两端封住, 稳定核小体结构 (图 1-8)。

### (二) 染色质的高级结构

由 DNA 与组蛋白包装成核小体, 在组蛋白 H1 介导下, 核小体彼此连接形成直径约为 10nm 的核小体串珠结构, 这仅仅是形成染色质的一级结构。核小体串珠结构进一步螺旋化, 每周螺旋 6 个核小体, 形成外径 30nm, 内径 10nm, 螺距 11nm 的螺线管 (solenoid), 这是染色质包装的二级结构。螺线管进一步螺旋化, 形成直径为 0.4 $\mu$ m 的圆筒状超螺线管 (supersolenoid), 成为染色质包装的三级结构。超螺线管进一步螺旋折叠, 形成长 2 ~ 10 $\mu$ m 的染色单体 (chromatid), 即染色体包装的四级结构。由于染色质 DNA 的多级螺旋化, 使几厘米长



的 DNA 形成几微米长的染色体，其长度约为原来的 1/8400（图 1-10）。

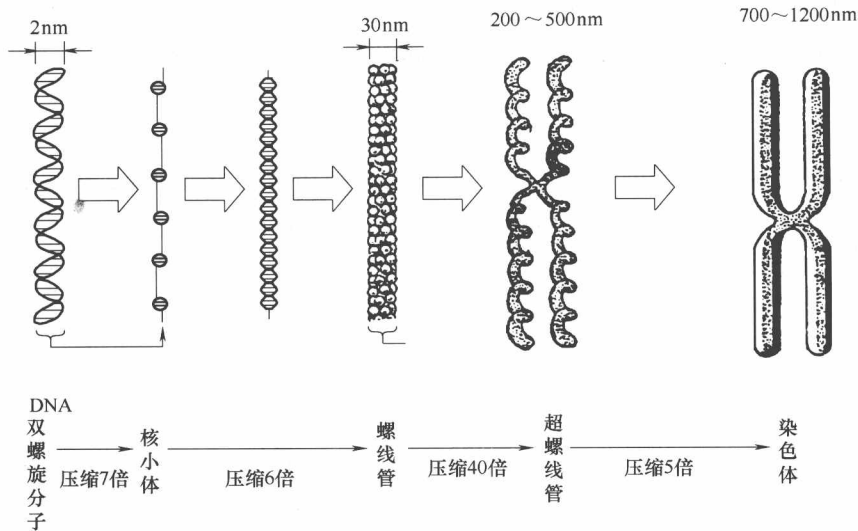


图 1-10 从 DNA 到染色体水平的压缩包装过程

四、染色体的形态、结构和数目

（一）染色体的形态和结构

细胞分裂过程中，染色体的形态和结构会发生一系列规律性变化，其中以中期染色体形态表现最为明显和典型，它由两条相同的姐妹染色单体（sister chromatid）构成，彼此以着丝粒（centromere）相连。

染色体各部的结构包括如下几种。

（1）着丝粒与动粒（又称着丝点，kinetochore） 着丝粒是染色体的最显著特征，碱性染料染色着色浅，且表现缢缩，所以也叫主缢痕（primary constriction）。着丝粒连接两个染色单体，并将染色单体分为两臂，较长的称为长臂（q），较短的称为短臂（p）。

（2）次缢痕（secondary constriction） 除主缢痕外，在染色体上其他的浅染缢缩部位称为次缢痕。其数目、位置和大小是染色体重要的形态特征，可作为鉴定染色体的标记。

（3）随体（satellite） 指位于染色体末端的球形染色体节段，通过次缢痕区与染色体主体部分相连接。随体的有无和大小等也是染色体的重要形态特征，有随体的染色体称为 Sat 染色体。

（4）核仁组织区（nucleolar organizing region, NOR） 核仁组织区位于染色体的次缢痕部位。染色体核仁组织区是 rRNA 基因所在部位，与间期细胞的核仁形成有关。