

fen zi sheng wu xue

分子生物学

赵武玲 ● 主编



中国农业大学出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

分子生物学

赵武玲 主编

中国农业大学出版社
· 北京 ·

图书在版编目(CIP)数据

分子生物学/赵武玲主编. —北京:中国农业大学出版社,2010.8

ISBN 978-7-5655-0030-5

I. ①分… II. ①赵… 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(2010)第 111319 号

书 名 分子生物学

作 者 赵武玲 主编

策划编辑 赵 中

封面设计 郑 川

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

电 话 发行部 010-62731190,62818525

编辑部 010-62732617,2618

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2010 年 8 月第 1 版 2010 年 8 月第 1 次印刷

规 格 787×1 092 16 开本 26.75 印张 658 千字

印 数 1~5 000

定 价 42.00 元

责任编辑 王彦平 冯雪梅

责任校对 王晓凤 陈 莹

邮政编码 100193

读者服务部 010-62732336

出 版 部 010-62733440

E-mail cbsszs@cau.edu.cn

图书如有质量问题本社发行部负责调换

编写人员

主 编	赵武玲(中国农业大学)
副 主 编	李国婧(内蒙古农业大学)
	李晚忱(四川农业大学)
编 者	(按姓氏拼音排序)
	柴有荣(西南大学)
	胡东维(浙江大学)
	刘惠荣(内蒙古农业大学)
	刘维权(中国农业大学)
	任东涛(中国农业大学)
	吴 琦(四川农业大学)
	杨冠宇(内蒙古农业大学)
	赵 赣(华南农业大学)
	朱利泉(西南大学)
主 审	种 康

前 言

分子生物学是从分子水平研究生命现象的科学,它已经渗透到很多其他的学科中,如细胞生物学、发育生物学、生理学、法医学等。分子生物学已经成为生物学领域的带头学科,并且发展十分迅速,新的知识、新的技术层出不穷。

当一个初学者面对这些浩如烟海的成果和知识的飞速进展,应该从哪里入手呢?答案就是从基础开始。基础是事物发展的根本和起点。对于分子生物学而言,基础是分子生物学中最重要的原理和基本概念,这些原理和概念对于大多数物种都适用。每年世界上都有成千上万的研究文章发表,其中相当多的内容涉及分子生物学。只有抓住这门课程的核心内容,理解它的基本原理,才能解释我们所遇到的生命现象。这个学科的知识在不断扩展,今后还会遇到新的现象,很可能超出了这本书介绍的范围。但是很多事例都可以用本书介绍的基本原理解释。

这就是本书的主旨。分子生物学课程是高等农业院校重要的课程之一。扎实的分子生物学基础对于学生在其他生物学领域的学习和研究起着十分重要的作用。

我们参考了大量的资料,结合多年的教学经验和最新的研究成果,本着注重基础,着眼于发展的精神,编写了这本《分子生物学》。希望我们的工作能够为学生和教师提供一本较好的教科书。

参加本教材编写的教师分别编写不同的章节:第一、四、五、六、十三和十四章由赵武玲、李晚忱、吴琦编写;第二章由任东涛编写;第三章、第十一章由赵赣编写;第七章由刘维权编写;第八章由李国婧、杨冠宇编写;第九章由赵武玲、柴有荣编写;第十章由朱利泉编写;第十二章由刘惠荣编写;第十五章由胡东维编写。

中国农业大学的吴玮、赵倩和胡剑老师参加了本书的校对,对此表示感谢。

由于编者水平的限制,错误之处在所难免,敬请读者不吝指正。

编者

2010年9月

目 录

第一章 绪论	1
一、分子生物学的概念	1
二、分子生物学的研究范畴	1
三、分子生物学的发展基础	3
四、如何学习分子生物学	6
参考文献	7
第二章 核酸的结构	8
第一节 DNA 是最普遍的遗传物质	8
第二节 DNA 的结构	10
一、核酸的化学组成	10
二、DNA 的双螺旋结构	13
三、DNA 双螺旋结构的多态性	14
第三节 DNA 的超螺旋结构与拓扑异构酶	17
一、DNA 的超螺旋结构	17
二、超螺旋结构的拓扑学特性	18
三、拓扑异构酶	19
第四节 RNA 的结构	21
一、RNA 的组成	21
二、RNA 的种类及结构	22
第五节 核酸的变性、复性及分子杂交	25
一、DNA 的变性和复性	25
二、分子杂交	27
小结	27
参考文献	27
第三章 基因组与染色体	28
第一节 基因的概念	28
一、基因的概念	28
二、基因的结构与分类	29
第二节 病毒基因组	30

一、病毒基因组的结构	30
二、病毒基因组的特点	30
第三节 原核生物基因组	31
一、原核生物基因组结构与特点	31
二、染色体外的遗传物质——质粒	32
第四节 真核生物基因组	33
一、真核生物基因组的特点	33
二、真核生物中的重复序列与非重复序列	36
三、基因家族和基因簇	42
四、假基因	43
五、真核生物基因的外显子与内含子	43
第五节 真核生物基因组的包装与染色体	45
一、形成核小体	45
二、形成螺线管结构	47
三、形成辐射环	47
第六节 细胞器基因组	49
一、线粒体基因组	49
二、叶绿体基因组	49
小结	51
参考文献	51
第四章 DNA 的生物合成	53
第一节 复制的单位——复制子	53
一、复制过程中的复制子	53
二、原核生物的复制子	54
三、真核生物的复制子	55
第二节 DNA 的合成	58
一、DNA 合成的化学	58
二、参与 DNA 复制的酶和蛋白质	61
三、复制起始	75
四、复制延长	83
五、复制终止	85
第三节 其他形式的 DNA 复制	88
一、噬菌体 DNA 的复制	88
二、线粒体 DNA 的复制	90
第四节 逆转录	91
一、还原病毒和逆转录	91
二、端粒与端粒酶	93
小结	95
参考文献	96

第五章 DNA 的损伤与修复	97
第一节 DNA 损伤与突变	97
一、DNA 的损伤	98
二、复制差错	103
三、DNA 的突变	104
第二节 DNA 的修复	105
一、直接修复	105
二、错配修复	106
三、切除修复	107
四、双链断裂修复	112
五、倾向差错修复	115
六、SOS 反应	115
小结	117
参考文献	117
第六章 DNA 重组	118
第一节 同源重组	118
一、同源重组的分子机制	119
二、原核生物中的同源重组	123
三、真核生物中的同源重组	128
四、基因转换	130
第二节 位点专一性重组	132
一、位点专一性重组的机制	132
二、参与位点专一性重组的酶和蛋白质	134
三、位点专一性重组的生物学功能	137
第三节 转座作用	139
一、转座作用的机制	141
二、细菌中的 DNA 转座子	143
三、真核生物中的 DNA 转座子	149
第四节 逆转座作用	152
一、还原病毒	152
二、含有 LTR 的逆转座子	153
三、不含 LTR 的逆转座子	154
四、以 RNA 为靶位点的逆转座	156
小结	157
参考文献	159
第七章 原核生物 RNA 的生物合成	160
第一节 RNA 合成的化学	161
一、RNA 合成的过程	161
二、DNA 双链中只有一条链被转录成 RNA	161

第二节 原核生物的启动子与 RNA 聚合酶	162
一、原核基因的启动子	162
二、原核生物 RNA 聚合酶的结构	164
三、原核生物 RNA 聚合酶的基因	166
第三节 原核生物 RNA 合成过程	166
一、转录的起始	166
二、RNA 链的延伸	168
三、转录的终止	169
第四节 σ 因子的替换与抗终止作用	171
一、 σ 因子的替换	171
二、转录的抗终止作用	172
小结	177
参考文献	177
第八章 原核基因表达调控	178
第一节 操纵子	179
一、操纵子	179
二、基因表达调控中的基本概念	181
第二节 乳糖操纵子	186
一、酶合成的诱导	186
二、乳糖操纵子结构	188
三、乳糖操纵子的负调控	189
四、乳糖操纵子的正调控	191
五、半乳糖操纵子	195
六、阿拉伯糖操纵子	197
第三节 色氨酸操纵子	199
一、色氨酸操纵子的结构	199
二、 <i>trp</i> 操纵子的阻遏系统	200
三、 <i>trp</i> 的弱化作用	201
第四节 严紧反应	205
一、(p)ppGpp 的合成	206
二、(p)ppGpp 的调控作用	206
第五节 自体调控	207
一、 λ 噬菌体	207
二、核糖体蛋白的自体调控	212
第六节 RNA 稳定性的调控	214
一、RNA 稳定性的调控	214
二、核开关	215
小结	216
参考文献	218

第九章 真核基因的转录	219
第一节 真核生物的 RNA 聚合酶	219
一、真核细胞具有 3 种 RNA 聚合酶	219
二、真核 RNA 聚合酶的结构	220
第二节 真核细胞的启动子	221
一、RNA 聚合酶 II 启动子.....	222
二、RNA 聚合酶 I 的启动子.....	224
三、RNA 聚合酶 III 的启动子.....	225
第三节 真核生物的转录因子	226
一、RNA 聚合酶 II 的转录因子.....	226
二、RNA 聚合酶 I 的转录因子.....	231
三、RNA 聚合酶 III 的转录因子.....	232
第四节 转录因子的结构特征与功能	232
一、转录因子的 DNA 结合域	233
二、转录因子的转录激活域	236
三、转录因子两种结构域之间的关系	236
小结.....	238
参考文献.....	238
第十章 前体 RNA 的加工	239
第一节 原核生物 RNA 的加工	239
一、原核生物 rRNA 前体的加工	240
二、原核生物 tRNA 前体的加工	241
三、原核生物 mRNA 前体的加工	242
第二节 真核生物 mRNA 前体非翻译区的修饰	243
一、5'-端帽子的形成及其功能	244
二、3'-端 poly(A) 的形成及其功能	246
第三节 四种内含子的剪接	249
一、真核生物的 mRNA 前体的剪接	249
二、第 II 类内含子的自我剪接	254
三、第 I 类内含子的自我剪接	254
四、酵母 tRNA 的剪接	256
第四节 其他形式的 RNA 剪接	258
一、mRNA 前体的可变剪接	258
二、mRNA 前体的反式剪接	260
三、RNA 编辑.....	262
第五节 具有催化活性的 RNA	265
一、RNA 催化活性的结构基础.....	265
二、几种详细研究过的核酶	266
小结.....	271

参考文献	271
第十一章 真核基因的表达调控	273
第一节 染色体水平上的基因表达调控	273
一、染色质结构	273
二、染色质的缺失	274
三、基因扩增	275
四、基因重排	276
五、染色质具有不同的 DNase 敏感性	276
第二节 染色质重塑	277
一、核小体重塑	277
二、染色体 DNA 的甲基化修饰	279
三、组蛋白共价修饰	281
四、非组蛋白	286
第三节 转录水平上的基因表达调控	286
一、DNA 上影响转录的远程作用位点	286
二、RNA 干扰	289
三、微小 RNA	291
第四节 翻译水平上的基因表达调控	291
一、5'-UTR 对翻译的调控	292
二、3'-UTR 对翻译的调控	293
三、起始密码子和终止密码子对翻译的调控	294
小结	295
参考文献	296
第十二章 蛋白质的合成	297
第一节 蛋白质合成中的 tRNA	298
一、tRNA 的一级结构	298
二、tRNA 的二级结构	298
三、tRNA 的三级结构	299
第二节 密码子	300
一、mRNA 是蛋白质合成的模板	300
二、遗传密码的破译	301
三、密码子的性质	303
第三节 核糖体 RNA 和核糖体	305
一、核糖体的组成	305
二、核糖体 RNA	305
三、核糖体的结构和活性位点	306
四、核糖体循环	308
五、核糖体的自我组装	308
第四节 参与蛋白质合成的辅助因子	309

一、起始因子	309
二、延伸因子	310
三、释放因子	310
第五节 原核生物的蛋白质合成	311
一、氨酰-tRNA 合成酶	311
二、肽链合成的起始	315
三、肽链合成的延伸	316
四、肽链合成的终止	320
五、翻译忠实性的保证	321
六、原核生物蛋白质合成的抑制剂	323
第六节 真核生物蛋白质合成	324
一、真核生物蛋白质合成的起始	324
二、真核生物肽链的延伸	327
三、蛋白质合成的终止	327
四、真核生物蛋白质合成的抑制剂	327
小结	328
参考文献	328
第十三章 蛋白质跨膜移位	330
第一节 蛋白质的共翻译移位	330
一、分泌蛋白质的跨膜移位	331
二、膜内在蛋白的移位	334
三、蛋白质的折叠与修饰	338
第二节 蛋白质的翻译后移位	343
一、蛋白质进入线粒体	344
二、蛋白质进入叶绿体	346
三、蛋白质进入过氧化体	346
四、物质通过核膜的移位	348
第三节 细菌中的蛋白质移位	353
一、蛋白质进入围膜间隙	353
二、蛋白质进入胞外介质	355
小结	355
参考文献	356
第十四章 囊泡流动的分子机制	357
第一节 高尔基复合体	358
一、高尔基复合体	358
二、末端糖基化作用	358
三、蛋白质部分水解	360
第二节 内质网与 TGN 之间的囊泡流动	361
一、囊泡的形成	361

二、COP II 囊泡	362
三、COP I 囊泡	365
四、囊泡融合	367
第三节 以 TGN 为起点的囊泡流动	370
一、包涵素囊泡	371
二、分泌囊泡	375
三、膜蛋白的分拣	375
第四节 受体调节的内吞作用	376
一、内吞囊泡	377
二、转铁蛋白进入细胞	377
三、被膜病毒和某些毒素利用内吞作用进入细胞	378
第五节 蛋白质降解	379
小结	382
参考文献	383
第十五章 分子生物学基本技术	384
第一节 目的基因克隆的策略	384
一、已知序列基因或同源基因	384
二、新基因的图位克隆技术	385
三、插入突变克隆新的功能基因	385
四、采用差异表达筛选方法克隆新基因	386
第二节 核酸杂交技术	386
一、核酸杂交的原理	386
二、核酸杂交的类型	387
第三节 聚合酶链式反应	388
一、聚合酶链式反应的基本原理	388
二、PCR 反应各种参数的确定	389
三、RT-PCR	389
四、实时定量 PCR	390
第四节 蛋白质印迹杂交	391
一、蛋白质样品的制备要求	391
二、蛋白质的电泳	391
三、蛋白质的转膜	392
四、免疫检测	392
五、斑点印迹杂交	393
第五节 基因芯片分析技术	393
一、基因芯片的基本结构	394
二、DNA 芯片的种类	394
三、芯片杂交与检测	394
四、杂交结果分析	396

第六节 基因生物学功能分析策略.....	396
小结.....	397
参考文献.....	397
索 引	399

第一章 绪 论

一、分子生物学的概念

分子生物学(molecular biology)是指对生物大分子结构与功能的研究,是从分子水平研究生命本质的科学。

20 世纪初期,现代科学技术迅速发展起来。当时的研究者们已经在细胞学、遗传学、生物化学和物理学等领域取得了大量的研究成果。到了 20 世纪中期,科学家们不但研究豌豆、果蝇、玉米等材料,也对一些简单的生物,如:细菌、噬菌体等做了深入的研究。所谓的简单只是与高等生物相比较而言,这些细菌和噬菌体其实也是相当复杂的。科学家发现:在大多数生物中,DNA 是主要的遗传信息载体;DNA 的结构使它的复制与修复近乎完美;DNA 的线状结构编码了蛋白质的三维结构。所有这些研究成果表明:那些控制简单生物的基本生物学原则对那些复杂的生物同样适用。从此,分子生物学真正发展起来。

从广义讲,蛋白质及核酸等生物大分子的结构与功能的研究都属于分子生物学的范畴,也就是从分子水平阐明生命现象和生物学规律,如蛋白质的结构、功能和运动;酶的作用机理和动力学;膜蛋白的结构、功能和跨膜运输等,都属于分子生物学的内容。

但是有些题目一般不属于分子生物学内容,如代谢中的某些反应,如果这些反应由反应物和产物的浓度来调节,一般就认为是典型的生物化学反应。另外,细胞结构与各种细胞成分的组织则属于细胞生物学。

从狭义讲,分子生物学偏重于核酸的分子生物学,主要研究基因或 DNA 的复制、转录、表达及调节控制等过程,其中也涉及与这些过程有关的蛋白质和酶的结构与功能的研究。

本书的内容也侧重于狭义分子生物学的概念。

二、分子生物学的研究范畴

半个世纪以来,分子生物学发展迅速,涉及的范围也很大,取得了丰硕的成果。概括起来,分子生物学的研究内容大致可以分为以下三类。

(一)核酸的结构

核酸的一级结构是指 DNA 链中脱氧核苷酸的排列顺序(或 RNA 链中核苷酸的排列顺序),它包含了核酸的全部信息,是遗传信息的结构基础。

核酸还可以形成高级结构。自从 B-DNA 的双螺旋结构被阐明以后,其他 DNA 的结构也被揭示出来。例如三链和四链 DNA、A-DNA 和 Z-DNA,真核生物的线粒体和叶绿体 DNA,原核生物中的质粒 DNA。随着 RNA 的发现,RNA 的结构,包括 tRNA、rRNA 和 mRNA 以及一些小分子 RNA 的结构得到了深入的研究。

基因和基因组的结构是人们非常关注的内容。真核生物具有内含子和外显子交替排列的割裂基因,真核生物的基因可能有许多拷贝,这些拷贝可能成簇排列,可能串联起来,可能位于基因组的不同染色体上。真核基因组中有许多序列并不编码蛋白质,还有一些多次重复的小片段。

现在,已经测定出很多生物的完整基因组序列,包括人类基因组的序列。人类基因组 DNA 的全序列为 3×10^9 碱基对,约含有 10 万个基因。但是要彻底了解这些基因的产物的功能,基因的表达调控机理,要理解 80% 以上非编码序列的作用等,都还要进行长期的艰苦研究。

生物大分子,包括核酸在进行各种生物功能时,空间结构会发生变化。因此,生物大分子的空间结构、空间结构的变化和生物大分子功能之间的关系也是分子生物学的研究内容之一。

(二)核酸的功能

说到核酸的功能,只是习惯的说法,并不十分准确。例如:DNA 的作用就是携带遗传信息,并不执行其他的功能。另外,只靠 DNA 分子本身其实什么也做不成,所有的 DNA 事务都是由蛋白质处理的。所谓“有功能的”或“有活性的”基因,是说一个基因具有完整的结构的、加工的和调控的信息等,可以精确地指导所要进行的生命过程。所有这些过程都包括了核酸与蛋白质间的识别与相互作用,蛋白质与蛋白质之间的相互作用。

核酸的功能包括:

DNA 复制的机理。这个部分的研究还包括了很多与复制有关的酶和蛋白质因子以及它们的结构与作用机理。DNA 突变和修复的分子机制以及 DNA 的重组机制也受到人们的关注。

DNA 转录成 RNA,与转录有关的酶,以及 RNA 前体的转录后加工是分子生物学的重要研究领域。从 RNA 反转录产生 DNA 是对中心法则的重要补充,现在已经成为分子生物学的重要技术之一。

由 DNA 转录出的 mRNA 是蛋白质合成的模板,mRNA 上的三联体密码子由携带了特定氨基酸的 tRNA 识别。64 个密码子中,61 个编码蛋白质中的氨基酸,3 个是肽链合成终止的信号。遗传密码的知识使我们从 DNA 的序列就能预测蛋白质的序列。

中心法则是分子生物学的基本理论体系。但是,中心法则的运行并不是机械的,运行的速度并不是一成不变的。生命体中所有的过程都要受到严格的甚至多重的调控,使细胞的代谢发生变化,以应对外界环境的改变。基因表达调控是分子生物学的重要领域之一。

(三)综合利用上述的研究成果

人们综合利用上述研究成果,衍生出了分子遗传学、基因工程、蛋白质工程等。为医学,农业,工业和环境保护等打开了新局面。

新技术的不断涌现促进了分子生物学的不断进步。例如:核酸的化学合成;限制性内切酶、连接酶等重要工具酶的发现;DNA 序列的快速测定;聚合酶链式反应(PCR)技术等,都为分子生物学向更广阔的领域发展提供了动力。现在,打破种属界限,将不同来源的 DNA 在体外重组,从而大量获得目标蛋白已经成为一种常规的操作。

转基因动植物的研究方兴未艾。用转基因动物能够获取治疗人类疾病的重要蛋白质,世界上有几百种基因工程药物及其他基因工程产品在研制中。基因诊断与基因治疗是基因工程

在医学领域发展的一个重要方面。在转基因植物方面,转基因玉米、转基因大豆已经相继投入商品生产。

当然,克隆技术还有其他一些问题需要研究。例如:转基因生物是否会引发的伦理学问题?在我国,转基因的作物是否具有自主知识产权?那些转基因农作物的商业化是否会增加农民的种植成本?转基因的农作物商业化是否会影响到我国的粮食安全?这些问题也需要给予关注。

三、分子生物学的发展基础

分子生物学是一门交叉学科,与其他学科互相促进,互相渗透。回顾分子生物学的发展历史,许多学科的成果都成为分子生物学发展的基础。分子生物学发展的历史充满着科学家的艰苦付出,也有很多逸闻趣事。

(一)遗传学基础

1859年,达尔文发表了《物种起源》,提出了适者生存的进化理论。他认为,动植物在长期的生命过程中会发生一些微小的变化,其中一些动植物积累了这些变化,对环境更加适应,从而得到更好的生存与繁衍。

1856—1864年,孟德尔(Mendel)的著名实验开创了现代遗传学,他提出了遗传的分离定律和独立分配定律,还提出了遗传因子的概念。1903年,Sutton用自己的工作解释了孟德尔的实验,并推测遗传因子是细胞中染色体的一个部分。尽管Sutton的试验并没有直接证明遗传的染色体理论,但非常重要,因为Sutton第一次把遗传现象与细胞学联系在一起。

1910年以后,摩尔根(Morgan)等人用果蝇作试验时发现有些基因在染色体上的距离近些,有些则远些。他们根据大量的试验构建了遗传图谱,并提出了连锁遗传规律。1915年摩尔根证实了遗传的染色体基础。

不同的基因可能会位于同一条染色体上产生遗传的连锁现象,然而连锁通常并不完全。Janssens提出了染色体交换理论,染色体在减数分裂过程的联会阶段,发生断裂,然后交叉连接起来,造成了不完全连锁。1931年,Barbara McClintock用玉米为材料证实了染色体的断裂重接。

一旦遗传的规律被阐明,就可以解释生物的变异现象和进化理论。但是,每个基因上发生的变化都很小,这些小的变化足以产生新的物种吗?Wright等人认为:由于地球的年龄很大,又由于选择的压力很温和,一些小的有利的性状足以积累起来形成新的物种。到20世纪40年代,生物学家Huxley、遗传学家Dobzhansky、古生物学家Simpson和鸟类学家Mayr从各自的研究结果出发,都证实经典遗传学与进化论确实是一致的。

(二)物理学与生物化学基础

几乎就在孟德尔的遗传定律刚刚发现以后,遗传学家就开始思考基因的化学结构,以及基因是如何工作的。但是在很长时间内都没有实质性的进展。因为当时无论是核酸还是蛋白质的结构都不清楚。

1927年,Muller和Stadler分别独立地发现了X射线可以诱导突变,由突变的频率可以估计一个基因的大小。以后的时间里,很多科学家都发现基因的突变可以影响到细胞中的蛋白质,由此发现基因与蛋白质之间具有一定的关系。此时,Beadle和Edward基于对红色面包