

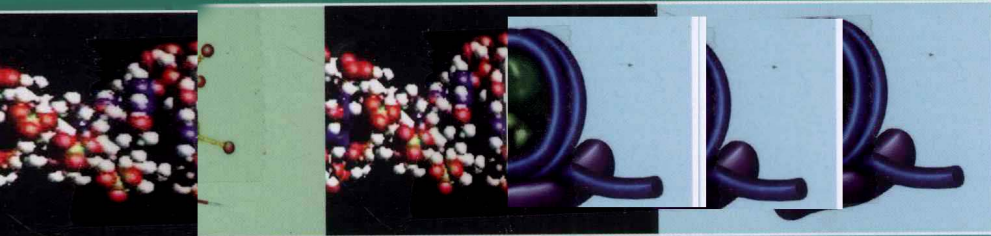


21世纪高等职业教育规划教材
生物学系列

基因操作技术

J I Y I N C A O Z U O J I S H U

■ 主编 汪 峻



教育部直属师范大学
华中师范大学出版社

SHENGWUXUE

基因操作技术

主 编：汪 峻(湖北生物科技职业学院)
副主编：王锋尖(鄖阳师范高等专科学校)
鞠守勇(武汉职业技术学院)
赵玉清(湖北生态工程职业技术学院)
编 者：冯 亮(中国地质大学)
徐 锐(湖北生物科技职业学院)
万 莎(湖北生物科技职业学院)
汤文浩(湖北生物科技职业学院)
方绪凤(湖北生物科技职业学院)

华中师范大学出版社

内 容 提 要

本书是为高职高专院校生物技术类专业编写的专业课教材,系统而简洁地介绍了基因操作技术的基本原理、基本操作和实际应用。

全书共分为7个项目,内容包括基因与基因组、基因操作的基本过程、核酸的分离纯化技术、目的基因克隆技术、DNA体外重组技术、目的基因的表达与鉴定、生物信息技术。每个项目配有技能目标、实训、项目小结、复习思考题,以便学生更好地学习和掌握有关技能。本书兼顾理论和应用,内容丰富,深入浅出,图文并茂,旨在培养学生应用知识的能力和实际操作的能力。

本书可供生物技术、生物工程、制药工程等生物类专业作为教材使用,亦可供相关技术人员参考。

新出图证(鄂)字 10 号

图书在版编目(CIP)数据

基因操作技术/汪峻 主编. —武汉:华中师范大学出版社,2010.8

ISBN 978-7-5622-4311-3

I. 基… II. ①汪… III. 基因—遗传工程 IV. ①Q78

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 089890 号

基 因 操 作 技 术

主 编:汪 峻

选题策划:华中师范大学出版社第二编辑室

电 话:027—67867362

出版发行:华中师范大学出版社 ©

地 址:武汉市武昌珞喻路152号

邮 编:430079

销售电话:027—67863426 67867076 67863040

67867371 67861549

邮购电话:027—67861321

传 真:027—67863291

网 址:<http://www.ccnpupress.com>

电子信箱:hscbs@public.wh.hb.cn

责任编辑:肖 颖

责任校对:张晶晶

封面设计:罗明波

印 刷 者:武汉湖印印务有限责任公司

督 印:章光琼

开本/规格:787mm×960mm 1/16

印 张:12

字 数:235千字

版次/印次:2010年8月第1版 2010年8月第1次印刷

印 数:1—3 100

定 价:22.00元

欢迎上网查询、购书

敬告读者:欢迎举报盗版,请拨打举报电话027—67861321。



前言

20 世纪 70 年代,美国生物化学家科恩等将体外重组的 DNA 分子导入大肠杆菌中进行复制,从此拉开了基因工程的序幕。21 世纪是生命科学的世纪,基因操作技术的不断突破,使人类数千年来的梦想正在逐一变成现实。蓬勃发展的基因工程在工业、农业、医药、国防、能源和环保等诸多领域取得了累累硕果,极大地推动了社会进步和经济发展。

高等职业教育作为高等教育发展中的一个类型,肩负着培养高技能人才的使命。在《国家中长期教育改革和发展规划纲要(2010—2020 年)》中,我国政府明确提出把职业教育放在更加突出的位置。近年来许多高职院校开设了《分子生物学》或者《基因工程》相关课程,然而目前有关基因工程的教材主要对象为本科生和研究生,大多侧重于理论,并不适合高等职业教育的培养目标。当前急需一本适合高职学生,关于基因工程的理论与技术的教材。因此,编者在参考多种相关教材和专著后,编写了这本《基因操作技术》教材,供高职院校生物类专业使用。

本书的特色是注重讲清基本知识、基本技术,理论与实践相结合,注重培养学生的应用与动手能力。在编写过程中,适当降低理论知识的深度和广度,并结合多年教学工作中探索任务驱动、项目导向等教学模式获得的经验,加强应用性、实践性、前沿性,与职业要求紧密结合。本教材以基因操作的基本过程为主线,内容涉及基因与基因组、核酸的分离纯化技术、目的基因克隆技术、DNA 体外重组技术、目的基因的表达与鉴定和生物信息技术等,图文并茂,讲解深入浅出。每个项目配有技能目标、实训、项目小结、复习思考题,以便学生更好地学习和掌握有关技能。

本教材项目 1 由王锋尖(郧阳师范高等专科学校)编写,项目 2 由汪峻(湖北生物科技职业学院)编写,项目 3 由鞠守勇(武汉职业技术学院)和冯亮(中国地质大学)编写,项目 4 由赵玉清(湖北生态工程职业技术学院)编写,项目 5 由徐锐(湖北生物科技职业学院)编写,项目 6 由万莎和汤文浩(湖北生物科技职业学院)编写,项目 7 由方绪凤(湖北生物科技职业学院)编写。

本教材的编写广泛参考和引用了众多专家、学者的著作和论文,限于篇幅未能一一列出,特向原作者致以诚挚的谢意。本教材在编写过程中得到了华中师范大学出版社的大力支持和编辑审定人员的精心运作,在此一并表示衷心感谢。



随着生命科学技术的发展,基因操作技术也在迅速发展,人工合成生命在本书编写之际业已诞生。受编者水平所限,本书难以囊括所有的相关知识与技术;同时考虑到高职教学的特点,编者仅选择基因操作中通用的基本技术与方法加以介绍。由于时间紧迫,书中不足和错漏之处在所难免,敬请广大读者批评指正。

编 者

2010年6月



目 录

项目 1 基因与基因组	1
任务 1.1 核酸的结构与功能	1
1.1.1 核酸的化学结构	1
1.1.2 DNA 的结构与功能	3
1.1.3 RNA 的结构与功能	5
1.1.4 核酸的理化性质	6
任务 1.2 基因与基因组	8
1.2.1 基因概念的发展	8
1.2.2 基因的结构特征	10
1.2.3 染色体	12
1.2.4 基因组	14
任务 1.3 遗传信息的传递	17
1.3.1 复制	17
1.3.2 转录	20
1.3.3 翻译	22
任务 1.4 基因表达调控原理	24
1.4.1 原核生物基因表达调控机制	25
1.4.2 真核生物基因表达调控机制	26
项目小结	28
复习思考题	29
项目 2 基因操作的基本过程	30
任务 2.1 基因操作的基本概念	30
任务 2.2 基因操作的基本过程	33
项目小结	37
复习思考题	37
项目 3 核酸的分离纯化技术	38
任务 3.1 基因组 DNA 的分离纯化	38
3.1.1 植物组织基因组 DNA 的提取	38
3.1.2 动物组织及血液中基因组 DNA 的提取	41
3.1.3 线粒体 DNA 的提取:碱变性法提取线粒体 DNA	43
3.1.4 细菌基因组 DNA 的制备:SDS 法提取细菌总 DNA	44



3.1.5 病毒 DNA 的制备	45
3.1.6 质粒 DNA 的分离纯化	47
实训 1 碱裂解法制备小量细菌质粒 DNA	49
任务 3.2 RNA 的分离纯化	50
3.2.1 总 RNA 的分离纯化	50
3.2.2 mRNA 的分离纯化:oligo(dT)纤维素柱法	56
任务 3.3 核酸的检测与保存	59
3.3.1 紫外分光光度法	59
实训 2 紫外分光光度法测定核酸含量	60
3.3.2 凝胶电泳法	61
实训 3 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA	65
3.3.3 核酸的保存	66
项目小结	67
复习思考题	68
项目 4 目的基因克隆技术	69
任务 4.1 目的基因的扩增	69
4.1.1 PCR 基本原理	69
4.1.2 PCR 反应体系与编程	71
4.1.3 引物设计	77
4.1.4 常用 PCR 技术类型	79
实训 4 PCR 扩增目的基因	87
任务 4.2 载体及其改造	88
4.2.1 常用载体	88
4.2.2 常用工具酶	99
实训 5 质粒 DNA 的酶切	105
实训 6 琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段	106
项目小结	110
复习思考题	110
项目 5 DNA 体外重组技术	111
任务 5.1 重组 DNA 的构建	112
5.1.1 相同黏性末端的连接	113
5.1.2 平末端的连接	116
5.1.3 不同黏性末端的连接	117
5.1.4 人工黏性末端的连接	118
5.1.5 人工接头法连接	120



5.1.6 T/A 克隆连接	121
5.1.7 重组 DNA 构建应注意的事项	121
实训 7 DNA 片段连接	123
任务 5.2 重组 DNA 的转化	124
5.2.1 重组质粒转化大肠杆菌	124
5.2.2 重组 DNA 转染真核细胞	127
实训 8 大肠杆菌感受态细胞的制备	129
实训 9 重组质粒的转化	130
任务 5.3 重组子的筛选与鉴定	131
5.3.1 遗传学检测法	131
5.3.2 物理检测法	134
5.3.3 核酸分子杂交检测法	135
5.3.4 免疫学检测法	136
5.3.5 核酸序列分析法	137
实训 10 转化子筛选与鉴定	139
项目小结	140
复习思考题	140
项目 6 目的基因的表达与鉴定	141
任务 6.1 目的基因的表达	141
6.1.1 目的基因在原核系统中的表达	141
6.1.2 目的基因在真核系统中的表达	148
实训 11 目的基因在大肠杆菌中的诱导表达	150
任务 6.2 目的蛋白的鉴定	151
6.2.1 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳	151
6.2.2 Western 杂交	155
6.2.3 等电聚焦电泳	159
6.2.4 双向电泳	162
实训 12 SDS-PAGE 检测表达蛋白质	164
项目小结	166
复习思考题	166
项目 7 生物信息技术	167
任务 7.1 生物信息学概念	167
任务 7.2 生物信息数据库	167
7.2.1 基因和基因组数据库	168
7.2.2 蛋白质数据库	168



任务 7.3 数据的查询与提交	170
7.3.1 数据查询	170
7.3.2 向 Genbank 提交序列数据	172
7.3.3 序列文件格式	172
任务 7.4 序列比对与数据库搜索	173
7.4.1 序列两两比对	174
7.4.2 多序列比对	175
7.4.3 数据库搜索	175
项目小结	179
复习思考题	179
附 录	180
参考文献	183



项目 1 基因与基因组

✱ 技能目标

✧ 能认识核酸的结构与功能，并在基因操作中运用核酸的理化性质。

✧ 能认识基因概念的发展，并比较不同生物体中基因的结构及基因组的异同。

✧ 能认识复制、转录、翻译的基本过程，并运用到基因操作过程中。

✧ 能认识原核与真核生物基因表达调控的机理，并运用到有关基因表达的操作中。

任务 1.1 核酸的结构与功能

核酸 (nucleic acid) 是由单核苷酸与单核苷酸首尾相连即以核苷酸为基本单位而形成的多聚化合物。天然存在的核酸有两大类，即脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 和核糖核酸 (ribonucleic acid, RNA)。作为一类最重要的生物信息大分子，核酸有复杂的结构和重要的功能。

1.1.1 核酸的化学结构

核酸完全水解产生戊糖（核糖或脱氧核糖）、碱基（嘌呤碱和嘧啶碱）和磷酸。核酸部分水解则产生核苷 (nucleoside) 和核苷酸 (nucleotide)。每个核苷分子含一分子碱基和一分子戊糖，一分子核苷酸部分水解后除产生核苷外，还有一分子磷酸。核酸的逐步水解过程如图 1-1 所示。

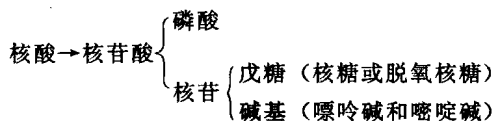


图 1-1 核酸的水解产物



1. 戊糖和碱基

核酸中的戊糖有核糖 (ribose) 和脱氧核糖 (deoxyribose) 两种, 均为 β -呋喃型。核酸分子中的碱基均为含氮杂环化合物, 嘌呤碱主要有腺嘌呤 (adenine, A) 和鸟嘌呤 (guanine, G), 嘧啶碱主要有胞嘧啶 (cytosine, C)、尿嘧啶 (uracil, U) 和胸腺嘧啶 (thymine, T)。DNA 分子中含 A, T, G, C 四种碱基, RNA 分子中含 A, U, G, C 四种碱基。除了这五种碱基以外, 在一些核酸中还存在其他的碱基, 它们绝大多数是上述碱基的衍生物, 由于在核酸中的含量一般很低, 所以被称为稀有碱基, 如次黄嘌呤、二氢尿嘧啶等。

构成核酸的戊糖和碱基的结构式如图 1-2 所示。

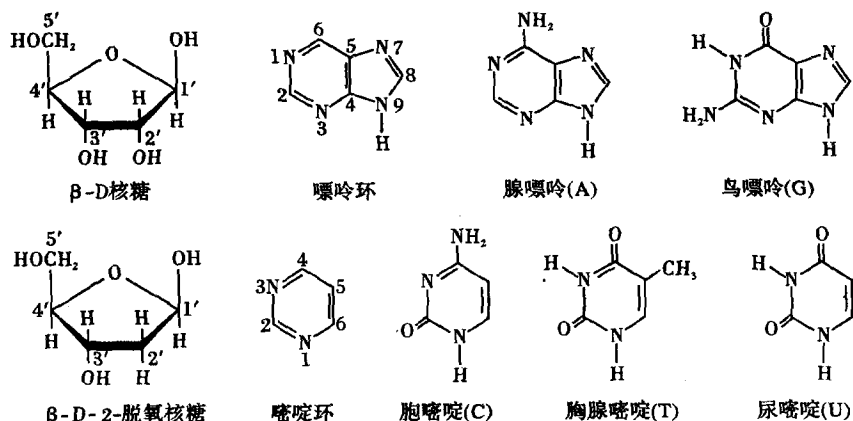


图 1-2 构成核酸的戊糖和碱基的结构式

2. 核苷和核苷酸

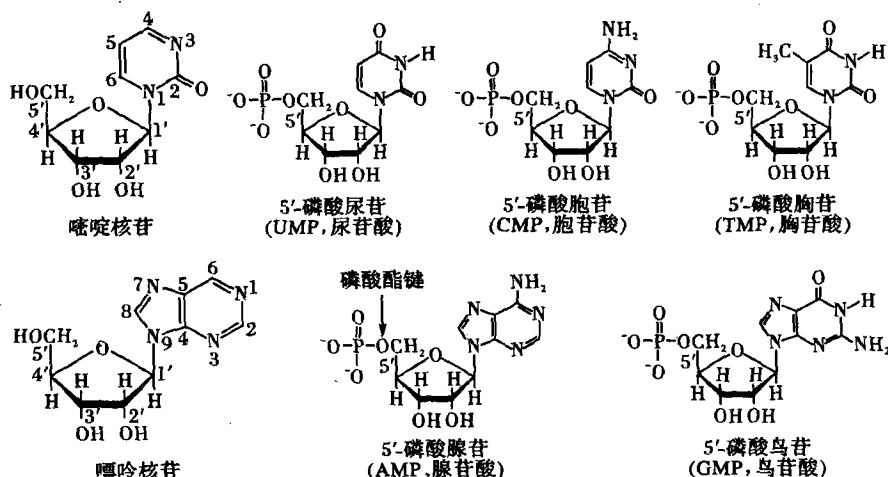


图 1-3 核苷和核苷酸的结构式



核苷是由戊糖与碱基生成的糖苷，由戊糖分子 C_1' 上的羟基与嘧啶碱 N_1 或嘌呤碱 N_9 上的氢化合成水而形成 $C_1'-N$ 糖苷键。核苷酸为核苷的磷酸酯，是核苷中戊糖分子 C_5' 羟基与磷酸缩合成酯键而构成的。核苷和核苷酸的结构式如图 1-3 所示。核酸就是单个核苷酸分子之间通过 $3'$ 、 $5'$ -磷酸二酯键首尾相连而构成的多核苷酸长链。

1.1.2 DNA 的结构与功能

DNA 为构成染色质的主要成分，而组成 DNA 基本结构的四种脱氧核苷酸可以在 DNA 中反复出现，由于出现的数目及排列顺序不同，因此可形成各种不同的 DNA 分子结构。DNA 的主要功能是作为生物体遗传信息的携带者。

1. DNA 的一级结构

DNA 的一级结构是指 DNA 分子中脱氧核苷酸的排列顺序及其连接方式。DNA 由四种脱氧核苷酸 (dNMP) 通过 $3'$ 、 $5'$ -磷酸二酯键相连而成，即链中每个脱氧核苷酸的 $3'$ -羟基和相邻核苷酸的 $5'$ -磷酸缩合而彼此相连。由相间排列的戊糖和磷酸构成 DNA 分子的主链，而代表其特性的碱基则看成是有次序地连接在其主链上的侧链基团，如图 1-4 所示。由于 DNA 分子中脱氧核苷酸以一定的方式相连，因此每条链具有两个不同的末端，戊糖 $5'$ 位带有游离磷酸基的叫 $5'$ 末端， $3'$ 位带有游离羟基的叫 $3'$ 末端，这样核酸分子也就具有特殊的方向性，通常以 $5' \rightarrow 3'$ 方向为正向。

由于 DNA 中脱氧核苷酸彼此之间的差别只在于碱基部分，因此碱基顺序也就代表了脱氧核苷酸的顺序。DNA 的一级结构中，不同碱基可按不同的次序排列，不同的碱基序列可用于编码贮存大量遗传信息。形成生物界千变万化的各种性状的遗传信息都是以特定的碱基序列贮存在 DNA 分子中的。

2. DNA 的二级结构

DNA 的二级结构是沃森 (Watson J D) 和克里克 (Crick F H C) 于 1953 年提出的著名的双螺旋 (double helix) 模型。这个模型显示 DNA 结构有如下特点：

① 两条多聚脱氧核苷酸单链反向平行排列，即一条链的走向是 $5' \rightarrow 3'$ ，另一条链为 $3' \rightarrow 5'$ 。两条链的脱氧核糖与磷酸构成骨架，而碱基位于两条链的内侧，如图 1-4 所示。

② 两条链的碱基以 $A \cdot T$ ， $G \cdot C$ 方式互补配对， $A \cdot T$ ， $G \cdot C$ 之间分别形成两个、三个氢键。

③ 两条以氢键结合的反向平行链构成双螺旋状态，碱基与螺旋轴基本垂直。DNA 双螺旋每上升一圈包括 10 个碱基对，螺旋直径为 2 nm，螺距为 3.4 nm。沿着螺旋中心轴方向看去，双螺旋结构上有两个凹槽，一条较宽深，称为大沟，一条较窄浅，称为小沟。



④ 维持 DNA 双螺旋结构稳定的因素主要是碱基的堆积力和氢键。在双螺旋内，横向稳定靠两条链间互补碱基的氢键，纵向稳定则靠碱基平面间的堆积力，后者显得更为重要。

DNA 独特的二级结构包含了遗传物质复制等重要机制的奥秘。

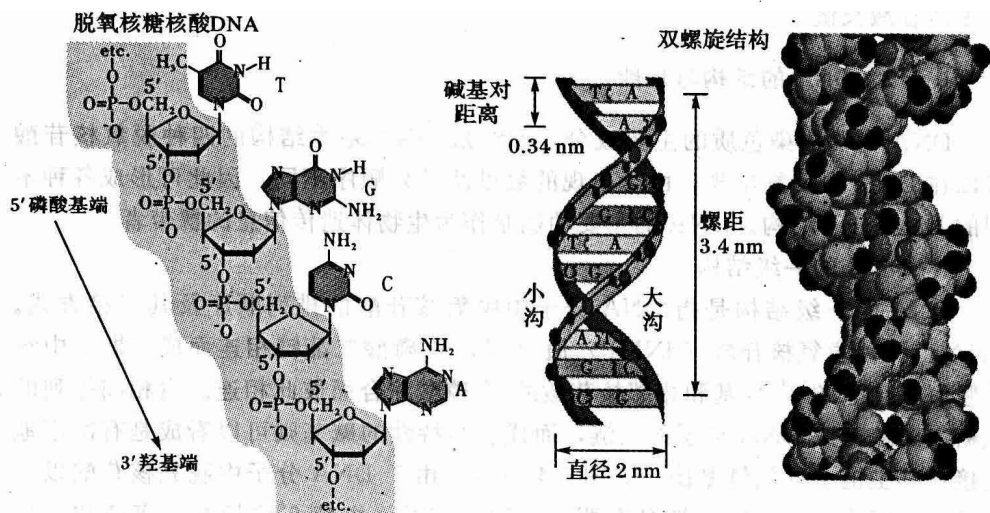


图 1-4 DNA 的一级结构和二级结构

3. DNA 的三级结构

在细胞中，DNA 双螺旋还可以进一步盘曲形成更加复杂的结构，这称为 DNA 的三级结构。DNA 的三级结构具有多种形式，其中以超螺旋形式 (supercoil) 最常见，如图 1-5 所示。生物体闭环 DNA 都以超螺旋形式存在，如细菌质粒、病毒、线粒体 DNA。

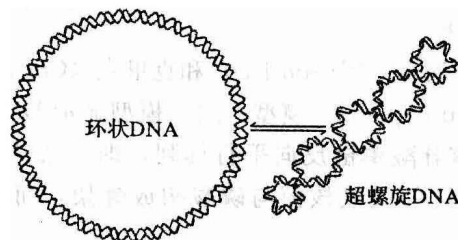


图 1-5 DNA 的超螺旋结构

DNA 超螺旋结构可能具有以下生物学意义：DNA 双链经过盘绕压缩比松弛性 DNA 更为紧密，体积变得更小，在细胞的生命活动中更能保持 DNA 结构的稳定；影响 DNA 双螺旋的解链过程，从而影响与其他大分子如酶、蛋白质的结合。



1.1.3 RNA 的结构与功能

DNA 是遗传信息的载体,一般来说,遗传信息的作用通常由蛋白质的功能来体现。但 DNA 并非蛋白质合成的直接模板,合成蛋白质的模板是 RNA,即在 DNA 和蛋白质之间, RNA 起着中介作用。

与 DNA 相比, RNA 种类繁多,一般以单股链存在,但在自身卷曲折叠的过程中,能配对的地方形成局部双螺旋,不能配对的地方形成凸环,此即二级结构。此外, tRNA 还具有明确的三级结构。

细胞中的 RNA 主要有三类,即核糖体 RNA、信使 RNA 和转运 RNA,它们均在细胞核中合成,合成后在细胞质中发挥作用,并具有不同的结构特点与功能。

1. 核糖体 RNA

核糖体 RNA (ribosomal RNA, rRNA) 为分子大小不均一的一组 RNA,是蛋白质合成机器——核糖体的组成成分,参与蛋白质的合成。

原核生物 16S rRNA 的 3' 端有一段保守序列 ACCUCCU,它是 mRNA 的识别位点。但在真核生物 18S rRNA 上未找到类似的序列。在原核生物 5S rRNA 和真核生物的 5.8S rRNA 的相应位置上均有 CGAAC 序列,可与 tRNA 上 T ψ C 环上的核苷酸互补,这是 tRNA 与 rRNA 相互识别、相互作用的部位。

此外, rRNA 上有很多 rRNA 之间识别结合部位及与蛋白质相互作用部位。这些部位对核糖体维持结构及行使功能都很重要。

2. 信使 RNA

信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 是将细胞核 DNA 分子中的遗传信息携带到细胞质的载体,并在那里作为蛋白质合成的直接模板,决定合成蛋白质多肽链中氨基酸的排列顺序。真核生物 mRNA 的主要结构特点是:在 5' 末端有一个 7-甲基鸟嘌呤核苷三磷酸的起始“帽子结构”,这与蛋白质生物合成的起始有关;3' 末端有一个多聚腺苷酸的 polyA “尾巴”,这与增加转录活性有关。原核生物的 mRNA 分子一般 5' 末端无“帽子结构”,3' 末端无 polyA “尾巴”。

3. 转运 RNA

已经发现有 100 多种能按模板 mRNA 上的密码顺序将活化的特异氨基酸转移到核糖体上的 RNA,即它们作为活化氨基酸载体参与蛋白质的生物合成,因此被称为转运 RNA (transfer RNA, tRNA)。

tRNA 是由 70~90 个核苷酸组成的小分子 RNA。整个结构呈三叶草形,如图 1-6 所示,由三个茎环(分别称 D 环、T ψ C 环、反密码环)结构和一个氨基酸接受臂组成,某些 tRNA 还有一额外环。其三维构象呈倒 L 形。tRNA 在蛋白质合成过程中的功能是通过其 3' 端的氨基酸接受臂 CCA 序列中 A 的 3'-OH 同由 mRNA 上密码子所限定的氨基酸上的羧基脱水缩合共价相连,形成氨基



酰-tRNA。这种相连不但使携带着特定氨基酸的 tRNA 通过它的反密码环上的反密码子与 mRNA 上相应的密码子相识别、配对，将 mRNA 上的核苷酸序列转变为多肽链上的氨基酸序列，而且由于在氨基酸羧基端同 tRNA 之间所形成的高能键，使氨基酸活化，使其能同新生肽链上的氨基酸形成肽键。

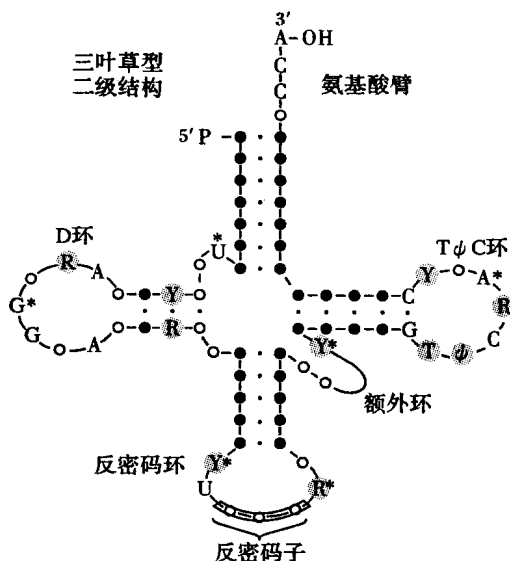


图 1-6 tRNA 的二级结构模型

1.1.4 核酸的理化性质

1. 两性解离

核酸既含有呈酸性的磷酸基团，又含有呈弱碱性的碱基，故为两性电解质，可发生两性解离。但磷酸的酸性较强，所以核酸具有较强的酸性。在一定的 pH 条件下，核酸上可解离的磷酸基和碱基依照各自的解离常数解离，从而使核酸带上电荷，则具有电泳行为。常用的电泳有琼脂糖 (agarose) 凝胶电泳和聚丙烯酰胺 (polyacrylamide) 凝胶电泳。

2. 紫外吸收

核酸组成中含有嘌呤、嘧啶碱基，因为这些环状结构中带有共轭双键，使核酸也具有强烈的紫外吸收性质。核酸的吸收光谱其最大吸收值在波长 260 nm 处 (常以 A_{260} 表示)。核酸的紫外吸收光谱除决定于其碱基组成外，还受到其二级结构的影响。当核酸变性时，双螺旋结构被破坏，碱基暴露出来，其紫外吸收随之增强，称为增色效应 (hyperchromic effect)。

核酸的紫外吸收特性可用于核酸的定量检测。因为蛋白质的吸收峰一般在 280 nm 处，所以也可用来鉴别核酸中的蛋白质杂质。



3. 沉降特性

溶液中的核酸分子在离心场中可以下沉。不同构象的核酸（线形、环形、超螺旋形）、蛋白质及其他杂质在超速离心机的强大离心场中，沉降的速率有很大差异，一般是 RNA > 环形 DNA > 蛋白质，所以可以用超离心法纯化核酸，或将不同构象的核酸进行分离，也可以测定核酸的沉降常数与相对分子质量。RNA 分离常用蔗糖梯度超离心，分离 DNA 时用得最多的是氯化铯梯度超离心。

4. DNA 的变性、复性与分子杂交

在某些理化因素（如温度、pH、离子强度等）作用下，DNA 双链的互补碱基对之间的氢键断裂，双螺旋解开，使 DNA 双螺旋结构松散，变成单链的无规则线团的现象即为 DNA 的变性。因不涉及共价键的断裂，所以 DNA 变性只改变其二级结构，而不改变它的核苷酸排列。

加热造成的变性称热变性，这是实验室最常用的 DNA 变性方法。如果在连续加热 DNA 的过程中以温度对 A_{260} 值作图，所得的曲线称为解链曲线，如图 1-7 所示。从图中可看出，DNA 的变性从开始解链到完全解开，是在一个相当窄的温度内完成的。在此温度内，紫外吸收值到达最大值一半时的温度，称为 DNA 的熔点或熔解温度（melting temperature, T_m ）。

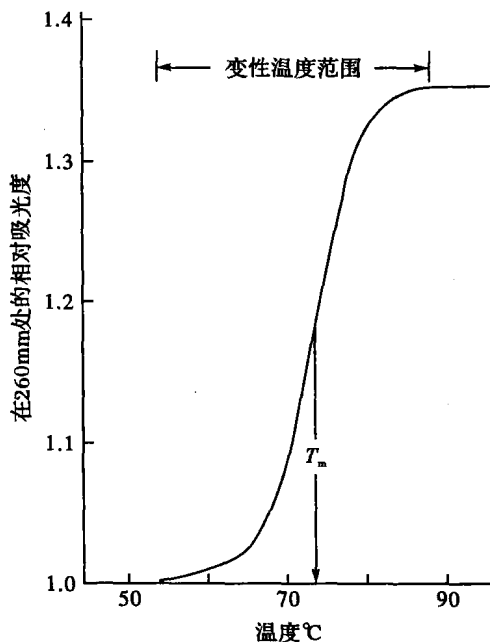


图 1-7 DNA 解链曲线

一种 DNA 分子 T_m 值的高低与其分子大小及所含碱基中的 G 和 C 所占比例有关。G≡C 含量越高， T_m 值越高，这是因为 G≡C 对比 A=T 对更为稳定。所



以测定 T_m 值可推算出 DNA 片段中 $G \equiv C$ 对的百分组成。其经验公式为： $(G \equiv C)\% = (T_m - 69.3) \times 2.44$ 。

RNA 分子中有局部的双螺旋区，所以 RNA 也可发生变性，但 T_m 值较低。

变性 DNA 在适当条件下，两条互补链可重新恢复天然的双螺旋构象，这种现象称为复性。热变性的 DNA 经缓慢冷却后即可复性，这一过程也叫退火 (annealing)。一般认为，比 T_m 值低 25°C 的温度是 DNA 复性的最佳条件。

在 DNA 变性后的复性过程中，如果将不同种类的 DNA 单链分子或 RNA 分子放在同一溶液中，只要两种单链分子之间存在着一定程度的碱基配对关系，在适宜的条件（温度及离子强度）下，就可以在不同分子间形成杂化双链。这种杂化双链可发生在 DNA 与 DNA 间，也可发生在 DNA 与 RNA 间或者 RNA 与 RNA 分子间，这种现象称为核酸分子杂交 (hybridization)。核酸分子杂交在核酸研究中应用较多，如 Southern Blot, Northern Blot, PCR 技术等。

任务 1.2 基因与基因组

1.2.1 基因概念的发展

1. 遗传因子

基因的概念最初来自孟德尔 (Mendel G J) 提出的“遗传因子”，他认为生物性状的遗传是由遗传因子所控制的，性状本身是不能遗传的，被遗传的是遗传因子。孟德尔所说的遗传因子只是代表决定某个性状遗传的抽象符号。1909 年，丹麦学者约翰逊 (Johannsen W L) 提出了“基因” (gene) 一词，代替了孟德尔的遗传因子，但也还没有提出基因的物质概念。

2. “三位一体”的基因概念

1910 年，摩尔根 (Morgan L H) 等通过果蝇杂交试验表明，染色体在细胞分裂时的行为与基因行为一致，从而证明基因位于染色体上，并呈直线排列，提出了遗传学的连锁交换规律，证明了性别决定是受染色体支配的。这样，代表特定性状的特定基因与某一条特定染色体上的特定位置联系起来，基因不再是抽象的符号，而是在染色体上占有一定空间的实体，从而赋予基因以物质的内涵。根据摩尔根的理论，遗传就是位于染色体上的粒子单位——基因的传递，每一个基因是一个物质实体，并认为基因控制相应的性状，基因可以发生突变，基因之间可以发生交换，由此提出基因既是一个功能单位，是一个突变单位，也是一个交换单位的“三位一体”的基因概念。

3. 基因的化学本质是 DNA (有时是 RNA)

1928 年，格里菲斯 (Griffith F) 利用肺炎双球菌为实验材料，首次发现了