

分子生物学

FEN ZI SHENG WU XUE

邵金荣 叶林柏 编著

武汉大学出版社

67
65

Y-57/11

分子生物学

郜金荣 叶林柏 编著



武汉大学出版社



A0292687

图书在版编目(CIP)数据

分子生物学/郜金荣, 叶林柏编著. --武汉: 武汉大学出版社, 1999. 1
ISBN 7-307-02623-6

I. 分… II. ①郜… ②叶… III. 分子生物学 IV. Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (98) 第 20355 号

武汉大学出版社出版

(430072 武昌 珞珈山)

湖北科学技术出版社黄冈印刷厂印刷

(436100 湖北省黄冈市宝塔大道 85 号)

新华书店湖北发行所发行

1999 年 1 月第 1 版 1999 年 1 月第 1 次印刷

开本: 787×1092 1/16 印张: 21.75

字数: 521 千字 印数: 1—2000

ISBN 7-307-02623-6/Q·64 定价: 23.00 元

本书如有印装质量问题, 请寄承印厂调换

第一章 绪 论

一个世纪以来，许多生物学家认为活细胞具有生命力，假如细胞一旦被弄破，这些生命力就随之丧失。因此这些生命论者们认为要想获得有关生命的知识，莫过于对完整细胞进行研究。正如后来科学发展情况所证实的，他们的想法是错误的。当人们第一次决定去打开活细胞并研究其内的各种活动（workings）时，分子生物学就诞生了。

分子生物学这一术语是在 1945 年被 William Astbury 首次使用的，他所指的是生物大分子的化学和物理结构的研究。那时生物化学家们已经发现了许多细胞内基本的化学反应、某些特异的反应和蛋白质的结构对于特定的细胞具有重要意义。但是分子生物学的发展必须有待于通过对一些简单的系统如细菌与噬菌体系统的研究来取得进展。虽然细菌和噬菌本身在生物学上是颇为复杂的，但是从细菌和噬菌体系统中获得有关基本生物学过程的情报要比从动物细胞中获得容易得多。通过这些系统科学家才确定 DNA 是包含细胞绝大部分（假如不是全部的话）遗传信息的分子。正是由于这一发现，才导致在 50 年代末和 60 年代初分子遗传学的崛起。

分子遗传学初期的成功和积累的大量研究资料，使科学家们能够把该领域的技术和强有力的逻辑思维方法应用于对肌肉和神经的功能、膜的结构、抗生素的作用模式、细胞的分化和发育以及免疫学等课题的研究。人们相信生命过程是一致的，也从而相信控制简单生物如细菌和病毒的活动的那些基本生物学原则也可以用于更复杂的细胞，只不过在细节方面可能有所不同而已，这个信念已被实验结果证明是完全正确的。

分子生物学是研究所有生物学现象的分子基础，从这个意义上可以说分子生物学包括所有的生物学。然而生物学中的某些课目，分子生物学家们并不把它列为分子生物学范畴。如果某种生物学反应就像一个标准的化学反应一样通过反应物的效果和产物的浓度被简单地调节，对这些调节的研究就属于生物化学的范围。但如果一个酶催化的反应是通过酶分子的结构改变而被调节，分子生物学家就把这类课题列入分子生物学范围。这类类似于把细胞内的化学成分的安排和结构的研究叫做细胞生物学。但当人们分离到了昆虫和某些原虫的行为突变体后，也要对其进行分子生物学分析，因此，分子生物学与生物学其他各分枝之间的界限越来越不明显了，也许有一天，生物学的微观研究不再重要，生物学统一的术语将再一次富有意义。

随着科学的不断发展，生物学与其他学科互相渗透越来越深入，物理和化学的理论、术语和方法不断地用于生物学研究。目前已经建立了分子生物学研究的方法、系统及一般的逻辑推理原则。这样就使分子生物学研究能迅速地向深度和广度发展。

分子生物学最早研究的两个问题就是遗传物质的鉴定和蛋白质合成的机制。一旦证明了 DNA 是遗传物质，立即就又产生了两个问题，DNA 是如何复制的和信息是如何从 DNA 获得的；后一个问题很快被弄清楚了，并且弄清楚了蛋白质分子的氨基酸顺序都是

由 DNA 分子上的核苷酸所决定的。有关机制问题基本解决了，剩下的一些细节还需要进一步研究。

细菌中的蛋白质合成的机制与动物细胞中的虽然相关但不完全相同，这是显而易见的。在对细菌-噬菌体系统进行了 25 年的深入细致的研究之后，分子生物学技术已逐渐发展到利用更复杂的系统，例如将动物细胞用于分子生物学研究。建立细胞培养技术是对动物细胞早期研究的课题之一，使动物细胞在培养液中生长。由于诸多原因，这一技术进展很慢。大多数动物细胞在培养中至少 24 小时分裂一次，相比之下细菌的倍增过程则只需要 25 分钟。在 70 年代中期，人们已经意识到，通过集中力量对简单而又迅速生长的细胞的研究，可能会更快地获得动物细胞的分子生物学知识，这就像通过对更简单的细菌-噬菌体系统的研究在了解一些基本现象方面取得了最快进展一样。面包酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 是一种单细胞生物，它的倍增时间是 70 分钟，人们已经把它作为一种有价值的实验对象，因为它的大分子合成和调控机制与那些更为复杂的动物细胞近乎相同。

人们一旦较好地了解了基本合成机制问题之后，代谢调节问题就被提到议事日程上来了。细胞很少制造它们不需要的东西，但如果需要某种东西时，细胞在收到“需要”这种信号后就会很快合成这种东西。总的来说，这些信号的本质就在于所有的起始和终止信号的各自特性。在一些复杂的体系如 λ 噬菌体的生活史中，不是采用一般的方式来进行调控的。在这些体系中，时间顺序以及所有组分的合成的量都是预先决定的，而且一切都进行得非常有效。少数几种噬菌体系统以及它们的特征（尤其是大肠杆菌的噬菌体 λ 和 T7）已经被人们详细地研究过，人们对它们所有的起始、终止和调控因子大致都已搞清楚了。

许多细胞内物质在细胞内的浓度是高度守恒的，对允许哪些物质进入细胞也是高度选择性的，这些选择性取决于膜的理化性质、各种运载分子及泵系统。这些运输系统的特性、它们怎样进行工作以及不同的膜的结构等问题是人们一直在积极探讨和寻求答案的问题。

在分化了的动物细胞例如肌肉和神经细胞中，存在着许多神秘的问题。肌肉收缩是怎样发生的？电的刺激为什么能沿着神经细胞传递？电荷借助什么媒体通过神经细胞的细胞膜？为什么一种细胞产生血红蛋白而另一种细胞产生胰岛素？

分子生物学的最有价值和最有用的分枝之一是结构生物学，实际上它是现代分子生物学的发源地。没有一种结构是没有功能的，要了解一种生物大分子的功能，通常要先研究其结构。例如对 DNA 的结构的研究常导致认识突变并推测复制及遗传重组发生的可能。观察到多种多样形式的 RNA 打开了蛋白质生物合成的研究领域。蛋白质合成的机器——核糖体的特性已经被很清楚地了解了，在核糖体上蛋白质合成的步骤均已很清楚。tRNA 分子的三维结构的研究解释了 DNA 上遗传信息是如何被翻译到蛋白质的氨基酸顺序中去的。

目前，结构生物学有两个领域，一个是研究单个生物大分子的原子排列，另一个是研究生物大分子在巨大聚集物中的组织 (organization)。前者的典型例子是 DNA，其结构早已清楚。目前最流行的是研究蛋白质，焦点是搞清楚催化化学反应的酶分子的表面结构。生物化学家们急切地期待着每个酶分子有关这方面的研究资料。不幸的是获得在原子水平上的详细的分子结构仅靠又冗长又困难的 X 光衍射分析技术，分析一个结构往往需要很

长时间。第二个领域是研究生物大分子聚集物，有些结构如腱、头发和羊毛等已搞清楚。有关肌球蛋白（myosin）以及有关肌动蛋白（actin）和微管蛋白（tubulin）还遗留许多问题有待去积极地解决。技术的发展以及我们对结构作用的了解，使人们试图对含有不同类型大分子的聚集物的结构进行研究并解决一些问题，例如努力研究含有 DNA 和几种蛋白质的染色体和含有几种类型的蛋白质和脂蛋白的膜的结构。

另外有关真核生物基因的分子生物学研究也是当前一个十分活跃的领域。主要是研究真核基因的结构特点、真核基因表达的调控，并期望能建立一个像大肠杆菌中的乳糖操纵子那样的调控模型。当然这比研究大肠杆菌（*E. coli*）要困难得多。但如果一旦能解决真核生物的基因表达调控问题，那么就有可能解决衰老问题、遗传学疾病以及癌症等问题。真核基因的分子生物学研究其道路可能是漫长的，但肯定地说前景是美好的。

目 录

第一章 绪论	1
第二章 生物大分子	4
第一节 三类生物大分子的化学结构	4
第二节 决定蛋白质和核酸三维结构的非共价相互作用	5
第三节 研究生物大分子的基本方法	7
第四节 生物大分子的分子量测定	8
第三章 核酸	9
第一节 DNA 的物理化学结构	9
第二节 决定 DNA 结构的因素	10
第三节 复性	17
第四节 分子杂交	18
第五节 环状超螺旋 DNA	19
第六节 左手螺旋 DNA	21
第七节 RNA	21
第八节 核酸的水解	23
第九节 核酸的结构分析	25
第四章 蛋白质	31
第一节 蛋白质的结合位点和多亚基蛋白质	31
第二节 蛋白质活性的调节	33
第五章 生物大分子相互作用和复杂聚集物的结构	43
第一节 一种多蛋白装配体——胶原蛋白	43
第二节 复杂的 DNA 结构	46
第三节 DNA 与识别专一碱基顺序的蛋白质的相互作用	47
第四节 生物膜 (biological membranes)	51
第五节 复杂聚集物的自我装配	53
第六章 遗传物质	55
第一节 遗传物质的证明	55
第二节 遗传物质的性质	58

第三节	遗传物质—RNA	62
第四节	基因和基因组	62
第七章	DNA 复制	65
第一节	复制子	65
第二节	DNA 复制的机制	68
第三节	DNA 复制的酶学	73
第四节	复制过程	83
第五节	真核生物染色体复制	89
第六节	DNA 复制的调控	92
第八章	DNA 损伤修复和基因突变	94
第一节	避免差错的 DNA 损伤修复	94
第二节	避免差错的 DNA 损伤修复和基因突变	98
第三节	应急修复反应 (SOS)	99
第四节	诱变剂、诱变、基因突变和突变体	102
第五节	基因突变的校正	110
第九章	转录	112
第一节	RNA 的酶促合成	112
第二节	RNA 分子的种类及转录后加工	121
第三节	真核生物的转录和 RNA 加工	128
第十章	翻译	146
第一节	遗传密码的破译	146
第二节	摇摆假设	152
第三节	蛋白质生物合成的机制	152
第十一章	原核基因表达的调控	165
第一节	乳糖系统和操纵子模型	165
第二节	半乳糖操纵子	174
第三节	色氨酸操纵子	177
第四节	λ 噬菌体基因表达的调节	184
第五节	DNA 重排对基因表达的调节	191
第六节	sigma 因子对基因表达的调控	192
第七节	转录后的调控	196
第十二章	可转移的遗传因子	202
第一节	质粒 (plasmid)	202

第二节	转座因子·····	212
第三节	病毒及其与质粒、转座因子之间的关系·····	222
第十三章	同源 DNA 序列之间的遗传重组 ·····	225
第一节	同源重组的机制·····	225
第二节	转化中的重组·····	229
第三节	同源双链 DNA 分子之间的交换 ·····	232
第四节	同源重组模型·····	236
第五节	Rec A 和 Rec BC 蛋白在重组中的作用 ·····	241
第十四章	真核基因组及其基因表达调控 ·····	244
第一节	真核生物基因组·····	244
第二节	真核基因的结构·····	251
第三节	真核基因表达的调控·····	262
第十五章	细胞信号调控 ·····	285
第一节	细胞信号的一般概念·····	285
第二节	通过 G-蛋白关联受体进行的信号调控 ·····	287
第三节	通过酶关联细胞表面受体进行的信号调控·····	290
第四节	小分子信号调控·····	292
第五节	细胞对信号的反应·····	293
第十六章	癌分子生物学 ·····	295
第一节	癌发生的分子基础—DNA 序列改变 ·····	295
第二节	癌的发生和发展包括多种因素的协同作用·····	295
第三节	原癌基因和癌基因·····	296
第四节	原癌基因的激活·····	297
第五节	肿瘤抑制蛋白·····	301
第十七章	重组 DNA 与遗传工程 ·····	303
第一节	载体·····	303
第二节	工具酶·····	314
第三节	载体和外源 DNA 制备 ·····	319
第四节	连接反应·····	324
第五节	重组 DNA 转染细胞 ·····	327
第六节	重组 DNA 克隆的筛选和鉴定 ·····	331
第七节	真核基因克隆与表达·····	333

第一章 绪 论

一个世纪以来，许多生物学家认为活细胞具有生命力，假如细胞一旦被弄破，这些生命力就随之丧失。因此这些生命论者们认为要想获得有关生命的知识，莫过于对完整细胞进行研究。正如后来科学发展情况所证实的，他们的想法是错误的。当人们第一次决定去打开活细胞并研究其内的各种活动（workings）时，分子生物学就诞生了。

分子生物学这一术语是在 1945 年被 William Astbury 首次使用的，他所指的是生物大分子的化学和物理结构的研究。那时生物化学家们已经发现了许多细胞内基本的化学反应、某些特异的反应和蛋白质的结构对于特定的细胞具有重要意义。但是分子生物学的发展必须有待于通过对一些简单的系统如细菌与噬菌体系统的研究来取得进展。虽然细菌和噬菌本身在生物学上是颇为复杂的，但是从细菌和噬菌体系统中获得有关基本生物学过程的情报要比从动物细胞中获得容易得多。通过这些系统科学家才确定 DNA 是包含细胞绝大部分（假如不是全部的话）遗传信息的分子。正是由于这一发现，才导致在 50 年代末和 60 年代初分子遗传学的崛起。

分子遗传学初期的成功和积累的大量研究资料，使科学家们能够把该领域的技术和强有力的逻辑思维方法应用于对肌肉和神经的功能、膜的结构、抗生素的作用模式、细胞的分化和发育以及免疫学等课题的研究。人们相信生命过程是一致的，也从而相信控制简单生物如细菌和病毒的活动的那些基本生物学原则也可以用于更复杂的细胞，只不过在细节方面可能有所不同而已，这个信念已被实验结果证明是完全正确的。

分子生物学是研究所有生物学现象的分子基础，从这个意义上可以说分子生物学包括所有的生物学。然而生物学中的某些课目，分子生物学家们并不把它列为分子生物学范畴。如果某种生物学反应就像一个标准的化学反应一样通过反应物的效果和产物的浓度被简单地调节，对这些调节的研究就属于生物化学的范围。但如果一个酶催化的反应是通过酶分子的结构改变而被调节，分子生物学家就把这类课题列入分子生物学范围。这类似于把细胞内的化学成分的排列和结构的研究叫做细胞生物学。但当人们分离到了昆虫和某些原虫的行为突变体后，也要对其进行分子生物学分析，因此，分子生物学与生物学其他各分枝之间的界限越来越不明显了，也许有一天，生物学的微观研究不再重要，生物学统一的术语将再一次富有意义。

随着科学的不断发展，生物学与其他学科互相渗透越来越深入，物理和化学的理论、术语和方法不断地用于生物学研究。目前已经建立了分子生物学研究的方法、系统及一般的逻辑推理原则。这样就使分子生物学研究能迅速地向深度和广度发展。

分子生物学最早研究的两个问题就是遗传物质的鉴定和蛋白质合成的机制。一旦证明了 DNA 是遗传物质，立即就又产生了两个问题，DNA 是如何复制的和信息是如何从 DNA 获得的；后一个问题很快被弄清楚了，并且弄清楚了蛋白质分子的氨基酸顺序都是

由 DNA 分子上的核苷酸所决定的。有关机制问题基本解决了，剩下的一些细节还需要进一步研究。

细菌中的蛋白质合成的机制与动物细胞中的虽然相关但不完全相同，这是显而易见的。在对细菌-噬菌体系统进行了 25 年的深入细致的研究之后，分子生物学技术已逐渐发展到利用更复杂的系统，例如将动物细胞用于分子生物学研究。建立细胞培养技术是对动物细胞早期研究的课题之一，使动物细胞在培养液中生长。由于诸多原因，这一技术进展很慢。大多数动物细胞在培养中至少 24 小时分裂一次，相比之下细菌的倍增过程则只需要 25 分钟。在 70 年代中期，人们已经意识到，通过集中力量对简单而又迅速生长的细胞的研究，可能会更快地获得动物细胞的分子生物学知识，这就像通过对更简单的细菌-噬菌体系统的研究在了解一些基本现象方面取得了最快进展一样。面包酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 是一种单细胞生物，它的倍增时间是 70 分钟，人们已经把它作为一种有价值的实验对象，因为它的大分子合成和调控机制与那些更为复杂的动物细胞近乎相同。

人们一旦较好地了解了基本合成机制问题之后，代谢调节问题就被提到议事日程上来了。细胞很少制造它们不需要的东西，但如果需要某种东西时，细胞在收到“需要”这种信号后就会很快合成这种东西。总的来说，这些信号的本质就在于所有的起始和终止信号的各自特性。在一些复杂的体系如 λ 噬菌体的生活史中，不是采用一般的方式来进行调控的。在这些体系中，时间顺序以及所有组分的合成的量都是预先决定的，而且一切都进行得非常有效。少数几种噬菌体系统以及它们的特征（尤其是大肠杆菌的噬菌体 λ 和 T7）已经被人们详细地研究过，人们对它们所有的起始、终止和调控因子大致都已搞清楚了。

许多细胞内物质在细胞内的浓度是高度守恒的，对允许哪些物质进入细胞也是高度选择性的，这些选择性取决于膜的理化性质、各种运载分子及泵系统。这些运输系统的特性、它们怎样进行工作以及不同的膜的结构等问题是人们一直在积极探讨和寻求答案的问题。

在分化了的动物细胞例如肌肉和神经细胞中，存在着许多神秘的问题。肌肉收缩是怎样发生的？电的刺激为什么能沿着神经细胞传递？电荷借助什么媒体通过神经细胞的细胞膜？为什么一种细胞产生血红蛋白而另一种细胞产生胰岛素？

分子生物学最有价值和最有用的分枝之一是结构生物学，实际上它是现代分子生物学的发源地。没有一种结构是没有功能的，要了解一种生物大分子的功能，通常要先研究其结构。例如对 DNA 的结构的研究常导致认识突变并推测复制及遗传重组发生的可能。观察到多种多样形式的 RNA 打开了蛋白质生物合成的研究领域。蛋白质合成的机器——核糖体的特性已经被很清楚地了解了，在核糖体上蛋白质合成的步骤均已很清楚。tRNA 分子的三维结构的研究解释了 DNA 上遗传信息是如何被翻译到蛋白质的氨基酸顺序中去的。

目前，结构生物学有两个领域，一个是研究单个生物大分子的原子排列，另一个是研究生物大分子在巨大聚集体中的组织 (organization)。前者的典型例子是 DNA，其结构早已清楚。目前最流行的是研究蛋白质，焦点是搞清楚催化化学反应的酶分子的表面结构。生物化学家们急切地期待着每个酶分子有关这方面的研究资料。不幸的是获得在原子水平上的详细的分子结构仅靠又冗长又困难的 X 光衍射分析技术，分析一个结构往往需要很

长时间。第二个领域是研究生物大分子聚集物，有些结构如腱、头发和羊毛等已搞清楚。有关肌球蛋白（myosin）以及有关肌动蛋白（actin）和微管蛋白（tubulin）还遗留许多问题有待去积极地解决。技术的发展以及我们对结构作用的了解，使人们试图对含有不同类型大分子的聚集物的结构进行研究并解决一些问题，例如努力研究含有 DNA 和几种蛋白质的染色体和含有几种类型的蛋白质和脂蛋白的膜的结构。

另外有关真核生物基因的分子生物学研究也是当前一个十分活跃的领域。主要是研究真核基因的结构特点、真核基因表达的调控，并期望能建立一个像大肠杆菌中的乳糖操纵子那样的调控模型。当然这比研究大肠杆菌（*E. coli*）要困难得多。但如果一旦能解决真核生物基因表达调控问题，那么就有可能解决衰老问题、遗传学疾病以及癌症等问题。真核基因的分子生物学研究其道路可能是漫长的，但肯定地说前景是美好的。

第二章 生物大分子

一个典型的细胞含有 $10^4 \sim 10^5$ 种不同种类的分子。粗略地估计，其中，一半是分子量不超过几百 U 的无机离子和有机成分的小分子，另一些分子则非常巨大，分子量从 $10^4 \sim 10^{12}$ U，被称为生物大分子。这些大分子主要分为三类：蛋白质、核酸和多糖，它们分别是氨基酸、核苷酸和糖的多聚体。由于这些大分子常常能以多种方式被修饰，因此，生物大分子还可以分为亚类，如糖蛋白（携带有糖基的蛋白质）、脂蛋白（蛋白质携带有脂类）、脂多糖（多糖携带有脂）和糖基化核酸（核酸的碱基上携带有糖）。

生物大分子执行各种功能。例如，核酸贮存和携带遗传信息；多糖提供能量和组成植物和许多微生物的细胞壁；脂蛋白是组成细胞膜的主要成分，它是细胞维持内部环境的重要成分，并负责运输物质进出细胞；最通用的生物大分子——蛋白质，进行催化化学反应、调节信息的流量亦是许多结构亚基的成分。

有关生物大分子的性质方面的知识，对了解生命活动的过程是必须的。本章只简单地描述这三类大分子，并且也简单介绍用于研究生物大分子的几种最基本的方法。

第一节 三类生物大分子的化学结构

一、蛋白质

蛋白质是由若干个聚氨基酸（多肽）组成的多聚体。一个氨基酸可以看作是与一个羧基、一个氨基和一个侧链（R）连在一起的单个碳原子（ α 碳原子），这些侧链一般是碳链或碳环。多种功能基团可与这些侧链相接触。最简单的侧链是甘氨酸的羟基和丙氨酸的甲基。组成蛋白质的 20 种氨基酸中，只有脯氨酸在基本化学结构上不同于一般的氨基酸。在脯氨酸中，氮原子包括在环中，恰当地说，脯氨酸是一种亚氨基酸。由于脯氨酸的特殊结构，它引导多肽链拐弯，结果，在接近脯氨酸的地方明显地影响一个蛋白质的三维结构。

一个氨基酸的氨基与另一氨基酸的羧基反应形成二肽，两个氨基酸之间形成的这种链叫肽链。氨基酸被连续地连接在一起，形成一条线状多肽链。一般肽键数目超过 15 个时，此多肽就可以称为蛋白质。蛋白质也可由几个多肽链聚集而成。一个蛋白质是一个多聚体，在该多聚体中， α 碳原子和肽单位交替形成一个带侧链的有序排列的线状链，这个线状链称为该分子的骨架。每个蛋白质分子的两个末端的性质是截然不同的，一端有一自由的 $-\text{NH}_2$ ，称为氨基末端，另一端有一自由的羧基，称为羧基末端，两个不同的末端也常被分别称为 N 末端和 C 末端。

氨基酸侧链之间常以非共价键结合，但半胱氨酸的 $-\text{SH}$ 基是个例外。 $-\text{SH}$ 常与另

一个相同或不同的多肽链中半胱氨酸的-SH 反应形成二硫键 (S—S)，这对决定一个蛋白质的三维结构是重要的。许多蛋白质含有其氨基酸侧链基团复合物中螯合的金属离子，共同的金属离子是 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Fe^{3+} ，这些金属离子常常结合在组氨酸和谷氨酸上。

二、核酸

核酸是核苷酸的多聚体。每个核苷酸含有以下三种成分。

环状五碳糖，有核糖和脱氧核糖，核糖存在于 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-OH 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。

核糖的 1'碳原子上通过 N-糖苷键连接有嘌呤或嘧啶碱基。RNA 中有四种碱基，A (Adenine)、U (Uracil)、G (Guanine) 和 C (Cytosine)，DNA 中的四种碱基是：A、G、C 和 T (Thymine)。RNA 和 DNA 都含有 A、G 和 C，U 只在 RNA 中，而 T 只在 DNA 中，但此规则也有极罕见的例外，如一些 tRNA 分子中含有 T，而极少数噬菌体，其 DNA 含 U 而不含 T。

核糖的 5'碳原子上通过磷酸二酯键连接有磷酸基团，这些基团使核酸和核苷酸携带强大的负电荷。

核糖连结上碱基叫核苷 (nucleoside)，核苷再磷酸化后叫核苷酸 (nucleotide)。核酸中的核苷酸的连结方式是一个核苷酸的 5'磷酸和另一核苷酸中的 3'-OH 形成第二个磷酸酯键而共价连接，3'和 5'碳原子的这个磷酸都是酯化的，这样的单位常被称为磷酸二酯基团 (Phosphodiester Group)。

嘌呤和嘧啶碱基彼此之间不形成任何共价键，因此，一个多核苷酸含有一条糖—磷酸交替出现的骨架，这一骨架具有一个 3'-OH 末端和一个 5'-P 末端。在实验室里可制备 3'-P 和 5'-OH 的多核苷酸。

三、多糖

多糖是糖或糖的衍生物的多聚体 (最常见的是葡萄糖)，多糖是很复杂的分子，因为有时在许多对碳原子之间可能产生共价键，这样就有一个糖单位与两个以上的其他糖单位连接在一起的效应，结果将形成高度分枝的大分子，这些分枝结构有时很庞大，甚至用显微镜就可以观察到。例如，许多细菌和植物细胞的细胞壁就是由单个庞大的多糖分子构成的。

第二节 决定蛋白质和核酸三维结构的非共价相互作用

大分子的生物学性质主要是由非共价的相互作用来决定的。这些作用的结果使每个分子获得独特的三维结构。

一、无规则线团

线状多肽链和核酸链含有几种键，这些键中，有的可以自由旋转，在不存在任何链内互相作用的情况下，每个氨基酸或核苷酸将是自由旋转的。这种自由旋转只受到原子不能占据同一空间的限制。像这样一种链的三维构象叫无规则线团 (random coil)，它们是稍有点紧密的球形结构，这种结构由于受到溶剂分子的不停的碰撞而不断改变其形状。

核酸和蛋白质在天然状态下几乎不存在无规则线团，因为在组成这些链的各因素之间存在许多相互作用。这些相互作用是氢键、疏水相互作用、离子键以及范德华作用等，例如，氨基酸链具有所有四种类型的吸引相互作用，又如，核酸的碱基之间通过氢键和疏水作用相互吸引。但如果它们具有同一种电荷，它们之间就互相排斥。

二、氢键

生物系统中常见的氢键如下：① $\begin{array}{c} | \\ \text{C}=\text{O} \cdots \text{H}-\text{N} \\ | \end{array}$ ② $\begin{array}{c} | \\ -\text{C}-\text{OH} \cdots \text{O}=\text{C} \\ | \end{array}$ ③

$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{N}-\text{H} \cdots \text{N}=\text{C} \\ \diagdown \end{array}$ 。核酸中的氢键是由两条链之间的两个配对的核苷酸碱基之间形成的。

在双链 DNA 中，氢键相互作用是维持 DNA 双螺旋结构的主要因素。在蛋白质中，在邻接在一个肽键上的一个亚氨基上的氢原子和邻接在不同肽键的氧原子之间产生氢键，这些相互作用产生好几种特定的多肽构象。

三、疏水相互作用

疏水相互作用是指两个微溶于水的分子或分子的某些部分之间的相互作用。难溶于水的两个分子（可能是两个不同的分子）趋向于缔合。这个现象可以简单地解释如下，水分子相互形成氢键，一个分子如果能与水形成氢键，该分子可溶于水。一个不溶于水的分子引起相互形成氢键的水分子在此分子周围形成一层“壳” (shell)，水的有序化在热力学上降低了熵值。两个分开的不溶于水的分子将形成两个这样的“壳”，如果这两个分子接触，单个水“壳”将围住这两个分子，由于严格的几何学原因，这个围绕一对分子的水“壳”将比分别围绕一个分子的两个水“壳”所需有序水分子的数目的二倍要少。一般来说，如果微溶于水的分子相接触，那么，平均每个这种溶质分子的有序水分子的数目总是较少的。因此，微溶于水的分子成簇是符合热力学原则的。这种成簇的趋势叫做疏水相互作用。在疏水作用中是没有键形成的，只是成簇更有可能，或者换句话说，所有的分子包括溶剂和溶质的无序排列其熵值是比较大的。

核酸和蛋白质的许多成分有疏水性质，例如，核酸的碱基是些局部携带弱电荷的平面的有机环，这些局部的弱电荷足以维持溶解性，可是，那些大的难溶于水的有机环部分，引起水分子有序化，因此碱基趋向于成簇，最有效的成簇类型是碱基堆积。因碱基在链中是相邻的，所以堆积给于多聚核苷酸单链刚性，使之趋向于伸展态而不至于形成无规则线团。碱基堆积是决定核酸结构的重要因素。许多氨基酸侧链是难溶的，这会引发苯丙氨酸

的苯环堆积，丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸中烃链形成紧密的非堆积簇。由于这些氨基酸不是必需相邻的，疏水相互作用趋于把一个多肽链上远离的疏水部分带到一起。

四、离子键

离子键是不相同的电荷之间相互吸引的结果，若干氨基酸侧链已经离子化，带负电荷的羧基基团（门冬氨酸和谷氨酸）和带正电荷的氨基基团（赖氨酸、门冬酰氨和精氨酸），这些可以形成离子键，也趋向于将链中远离部分带到一起。离子相互作用也可以是排斥的，如两种相同的电荷之间。离子键是非共价相互作用中最强的一种，然而离子键可被极端 pH 所破坏，因为 pH 可改变基团的电荷，也可以被高浓度盐所破坏，这些盐离子将带电基团保护起来，使它们之间不能形成离子键。

五、范德华引力

范德华引力存在于所有分子之间，它们是长期偶极子和电子环流的结果。两个原子之间的吸引力相当于 $1/r^6$ ，其中， r 是两原子核之间的距离，所以吸引是很弱的力，而且只有当两个原子核很近时（ $1\sim 2\text{\AA}$ ）才会明显，如果两个外电子层重叠，一个强有力的排斥力也将起作用。范德华半径（Van der Waals radius）是吸引力和排斥力精确地达到平衡时的两原子核之间的距离。原子的范德华半径各不相同，如：

原子	半径 ($\text{\AA}$)
H	1.2
O	1.4
N	1.5
S	1.85
P	1.9
C	2.0

两个原子之间的相互作用常常不足以抵抗原子的热运动能，但如果一个分子中两个分开的区域形状准确互补，那么，多个原子的若干部分之间的范德华相互作用就足以将它们保持在一起。维持一个分子的三维结构常常是多种弱的相互作用同时起作用。

第三节 研究生物大分子的基本方法

一、速度沉降

沉降系数（sedimentation coefficient） $S = \text{速度} / \text{离心力}$ ，大多数大分子的 S 值在 1×10^{-13} 到 100×10^{-13} 秒之间，因为 Svedberg 发明了超离心，所以将 10^{-13} 秒叫做 1 个 Svedberg，即一个 S 。这在分子生物学中被普遍应用，例如，一个分子的 S 值是 30 个 Svedberg，该分子就是一个 30S 的分子。

二、区带离心 (zonal centrifugation)

是用蔗糖，偶尔也用甘油或其他溶液铺梯度，也常被称为蔗糖梯度离心（sucrose gra-

dient centrifugation)。

三、平衡离心 (equilibrium centrifugation)

在密度梯度中平衡离心，用 CsCl 制成梯度，离心达平衡时，不同密度的分子就停留在自己的密度处，形成不同的带，因而可以分离不同的分子。

四、电泳 (electrophoresis)

分子生物学中用的最多的方法是凝胶电泳 (gel electrophoresis)。

五、电镜 (electron microscopy) 观察

用电镜可以观察和测定某些生物大分子的分子量。

第四节 生物大分子的分子量测定

一、DNA 的分子量测定

凝胶电泳法最适合用于 DNA 分子量 $M < 5 \times 10^6$ U 的分子量测定。该方法是用已知分子量的 DNA 分子作为标准样品，电泳后根据分子量和迁移率的关系，作出标准曲线，再根据目的样品 DNA 的迁移率，算出其分子量。

中等大小的 DNA 分子 ($M = 5 \times 10^6 \sim 100 \times 10^6$ U) 的分子量测定最好用电镜法。根据双链 DNA 分子的长度和分子量的关系 ($1 \mu\text{m} = 2 \times 10^6$ U)，可在电镜照片上量出分子长度再计算其分子量。

大的 DNA 分子 ($M > 100 \times 10^6$ U) 的分子量测定最好用速度沉降法，即测其 S 值。

二、蛋白质的分子量测定

对蛋白质的分子量测定最方便的方法是聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE)。