



中国科学院教材建设专家委员会规划教材  
全国高等医药院校规划教材

# 医学分子生物学

Medical Molecular Biology

◎单可人 官志忠 主编



科学出版社

014008036

Q7-43  
24

中国科学院教材建设专家委员会规划教材  
全国高等医药院校规划教材

# 医学分子生物学

## Medical Molecular Biology

主 编 单可人 官志忠

副主编 杨 明 周建奖

编 者 (以姓氏汉语拼音为序)

官志忠 何 燕 齐晓岚

单可人 肖 雁 谢 渊

杨 明 赵 艳 周建奖



科学出版社

北京



北航

C1694349

Q7-43  
24

020206410

· 版权所有 侵权必究 ·

举报电话:010-64030229;010-64034315;13501151303(打假办)

### 内 容 简 介

本书主要作为医学各专业研究生的教材,共有14章,重点介绍分子生物学的基本理论、技术及其医学中的应用。本书内容包括DNA和RNA的结构、功能、表达及调控,基因产物——蛋白质分子与其他生物分子的构建与装配,蛋白质的翻译、细胞间通讯与信号转导、细胞增生和凋亡的关系,分子生物学实验技术和基因工程在医学中的应用,DNA、RNA及蛋白表达水平的基本检测原理,重组DNA技术及基因功能分析基本方法,基因与疾病、基因诊断和基因治疗,生物信息学在医学分子生物学中的应用。本书每一章节后都附有小结,归纳重点,以便学习者能够快速搜索查找到相关的重点内容。

#### 图书在版编目(CIP)数据

医学分子生物学 / 单可人, 官志忠主编; —北京: 科学出版社, 2014. 1  
中国科学院教材建设专家委员会规划教材·全国高等医药院校规划教材  
ISBN 978-7-03-039125-4

I. 医… II. ①单… ②官… III. 医学-分子生物学-医学院校-教材  
IV. Q7

中国版本图书馆CIP数据核字(2013)第270168号

责任编辑:邹梦娜 / 责任校对:赵桂芬

责任印制:肖 兴 / 封面设计:范璧合

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

安泰印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2014年1月第一版 开本:787×1092 1/16

2014年1月第一次印刷 印张:18 1/2

字数:435 000

定价:50.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

# 前 言

分子生物学是当前生命科学中发展最快的一门新兴边缘学科,它与其他学科的广泛交叉和渗透促使其得到较为广泛地应用。分子生物学的发展为人类认识生命现象带来了前所未有的机会,也为人类利用和改造生物创造了极为广阔的前景。随着 21 世纪生物“基因组计划”的实施,分子生物学的主要内容得到极大充实和扩展,特别是在阐明基因的结构、复制、表达和突变等生物共性规律方面获得令人振奋的进展。

贵阳医学院分子生物学重点实验室的教学团队在多年的教学过程中,面对来自不同专业、不同学科背景和不同层次的学生,深切地感受到同学们渴望掌握分子生物学的基本理论与研究方法、急盼跟踪其最新进展和动向的求知欲望。为了适应当前医学的发展和培养高素质研究生的需要,本教材从分子生物学定义开启,即以 DNA 和 RNA 这两类生物大分子为主线,由浅入深地介绍这些生物大分子的结构、功能、表达及调控。同时,叙述基因产物——蛋白质分子与其他生物分子如何构建与装配成细胞的结构、并行使细胞的有序生命活动的规律;较为系统地描述了蛋白质的翻译、细胞间通讯与信号转导、细胞增生和凋亡。另外,医学研究需借助于大量研究技术和方法,而医学分子生物学需体现较强的实验技术特性和基因工程在医学中的应用。为此,本教材亦介绍了 DNA、RNA 及蛋白表达水平的基本检测原理、重组 DNA 技术以及基因功能分析的基本方法。近年来越来越多的研究结果显示,在医学上除了外伤,人体各种疾病的发生都可能与一种或多种基因有关,因而本教材较为重点地阐述了基因与疾病、基因诊断和基因治疗方面的内容。最后,本书也简要地介绍了生物信息学在医学分子生物学中的应用。

本教材以硕士研究生为主要对象,以较简明的形式概括了分子生物学的核心内容,全面重点地阐述了分子生物学的基本理论、技术和在医学中的应用。由于水平有限,书中难免有不当之处,敬请批评指正。

贵阳医学院 单可人 官志忠  
2013 年 7 月

# 目 录

前言	
第一章 绪论	(1)
第一节 分子生物学的含义	(1)
第二节 分子生物学的主要研究内容	(1)
一、核酸的分子生物学	(1)
二、蛋白质的分子生物学	(2)
三、细胞通讯和信号转导的分子生物学	(2)
四、分子生物学与其他学科的关系	(2)
第三节 分子生物学发展简史	(2)
一、分子生物学形成的基础阶段	(2)
二、分子生物学的早期研究和发展阶段	(3)
三、分子生物学的深入发展阶段	(4)
第四节 医学分子生物学研究的内容	(6)
一、医学分子生物学的发展	(6)
二、分子生物学与医学	(7)
第二章 基因、基因组及基因组学	(9)
第一节 基因	(9)
一、基因的概念	(9)
二、遗传信息的中心法则	(13)
第二节 基因组	(15)
一、基因组的概念	(15)
二、病毒基因组	(16)
三、原核生物基因组	(17)
四、真核生物基因组	(18)
第三节 基因组学	(22)
一、基因组学的概念、研究内容与医学	(22)
二、结构基因组学	(24)
三、功能基因组学	(26)
四、比较基因组学	(28)
五、表观基因组学	(28)
第三章 转录和转录组学	(33)
第一节 转录	(33)
一、RNA 聚合酶	(34)
二、启动子识别	(35)
三、转录的机制	(36)

第二节 信使 RNA .....	(37)
第三节 真核生物的 RNA 加工 .....	(38)
一、5'加帽和 3'多聚腺苷酸化 .....	(38)
二、间隔序列的剪接 .....	(38)
三、转录和 RNA 加工的偶联 .....	(39)
四、RNA 剪接的机制 .....	(40)
五、内含子突变的效应 .....	(42)
第四节 转录组学 .....	(43)
第四章 翻译和蛋白质组学 .....	(45)
第一节 翻译 .....	(45)
一、无义介导衰变 .....	(45)
二、起始 .....	(46)
三、延伸 .....	(48)
四、释放 .....	(50)
五、蛋白质的折叠 .....	(51)
第二节 复合翻译单位 .....	(53)
一、多核糖体 .....	(53)
二、多顺反子 mRNA .....	(54)
第三节 标准遗传密码 .....	(54)
一、遗传密码的破解 .....	(55)
二、标准密码的特性 .....	(55)
三、转移 RNA 和氨酰-tRNA 合成酶 .....	(56)
四、无义抑制 .....	(57)
第四节 蛋白质组与蛋白质组学 .....	(59)
第五章 基因的表达调控 .....	(61)
第一节 原核生物基因的表达调控 .....	(62)
一、原核生物基因表达调控的特点 .....	(62)
二、原核生物基因表达在转录水平的调控 .....	(63)
三、原核生物基因表达在翻译水平的调控 .....	(73)
第二节 真核生物基因的表达调控 .....	(75)
一、真核生物基因表达调控的特点 .....	(76)
二、真核生物基因在染色质水平的调控 .....	(80)
三、真核生物基因在转录水平的调控 .....	(82)
四、真核生物基因在转录后水平的调控 .....	(83)
五、真核生物基因在翻译水平的调控 .....	(86)
第六章 细胞间通讯与信号转导 .....	(88)
第一节 细胞通讯 .....	(88)
一、细胞通讯原理及意义 .....	(88)
二、细胞间联络方式 .....	(88)
第二节 细胞信号转导 .....	(91)

(84) 一、信号转导受体及分类 .....	(91)
(84) 二、细胞内关键信号转导分子 .....	(92)
(84) 三、信号在细胞内的转换和传递机制 .....	(94)
(84) 第三节 主要细胞信号转导途径 .....	(95)
(84) 一、细胞内受体介导的信号转导 .....	(95)
(87) 二、离子通道受体介导的信号转导 .....	(96)
(87) 三、G 蛋白偶联受体介导的信号转导 .....	(97)
(87) 四、单次跨膜受体介导的信号转导 .....	(101)
(84) 第四节 细胞信号转导功能与医学 .....	(105)
(84) 一、细胞信号转导异常与疾病 .....	(105)
(84) 二、细胞信号转导分子与药物作用靶位 .....	(106)
<b>第七章 细胞增生和凋亡的分子机制 .....</b>	<b>(108)</b>
(85) 第一节 细胞增生的分子机制 .....	(108)
(85) 一、细胞周期概述 .....	(108)
(85) 二、细胞周期关卡 .....	(109)
(85) 三、调控细胞周期进程的蛋白质 .....	(109)
(85) 四、调控蛋白协同作用 .....	(113)
(85) 五、细胞周期进程的负调控 .....	(114)
(85) 六、生长因子对细胞周期的调控 .....	(114)
(85) 第二节 细胞凋亡的分子机制 .....	(115)
(85) 一、细胞凋亡概述 .....	(115)
(85) 二、细胞凋亡机制 .....	(115)
(85) 三、凋亡相关调节蛋白 .....	(117)
(85) 四、两种主要的凋亡信号转导途径 .....	(118)
<b>第八章 DNA、RNA 及蛋白表达水平的基本检测原理 .....</b>	<b>(121)</b>
(86) 第一节 DNA 检测方法及其原理 .....	(121)
(86) 一、DNA 序列测定 .....	(121)
(86) 二、分析基因拷贝数变化的方法 .....	(124)
(86) 三、基因在染色体上位置的分析 .....	(131)
(86) 第二节 RNA 表达水平检测原理 .....	(132)
(86) 一、RNA 的种类和测定意义 .....	(132)
(86) 二、mRNA 测定方法 .....	(133)
(86) 三、DNA 微阵列技术 .....	(138)
(86) 第三节 蛋白质水平的检测方法及其原理 .....	(139)
(86) 一、蛋白印迹法 .....	(139)
(86) 二、流式细胞术分析特定蛋白质 .....	(139)
(86) 三、免疫组织化学方法 .....	(140)
<b>第九章 重组 DNA 技术 .....</b>	<b>(142)</b>
(86) 第一节 重组 DNA 技术的发展历程及定义 .....	(142)
(86) 一、重组 DNA 技术的发展历程 .....	(142)

二、重组 DNA 技术相关定义	(144)
第二节 重组 DNA 技术中常用的工具酶和载体	(145)
一、限制性核酸内切酶	(145)
二、基因克隆中的工具酶	(149)
三、基因克隆中常用的克隆载体	(151)
四、基因克隆中的表达载体	(157)
第三节 重组 DNA 技术的基本过程	(159)
一、目的基因的获取	(159)
二、载体的选择	(161)
三、目的基因与载体的连接	(162)
四、重组 DNA 分子导入宿主细胞	(163)
五、重组 DNA 导入宿主细胞后的筛选和鉴定	(165)
六、克隆基因在宿主细胞内的表达	(169)
第十章 基因功能分析基本方法	(172)
第一节 生物信息学预测基因功能	(172)
一、同源性与进化分析	(172)
二、同源性分析提供基因功能信息	(173)
三、生物信息学预测蛋白质功能	(174)
第二节 基因功能失活分析基因功能	(174)
一、基因敲除技术	(175)
二、反义 RNA 技术	(178)
三、RNAi 技术	(179)
第三节 基因功能获得探索基因功能	(183)
一、转基因动物模型	(183)
二、基因转染技术	(184)
第四节 其他基因功能分析技术	(185)
一、定点诱变技术	(185)
二、报道基因和免疫细胞化学	(186)
第十一章 基因与疾病	(189)
第一节 基因与疾病概述	(189)
一、基因疾病	(189)
二、疾病基因与遗传易感性	(189)
三、基因突变与疾病	(190)
第二节 单基因疾病	(193)
一、常染色体显性遗传疾病	(193)
二、常染色体隐性遗传疾病	(195)
三、性连锁遗传病	(197)
第三节 多基因复杂性状疾病	(197)
一、多基因复杂性状疾病	(198)
二、癌症发生的多基因多因素机制	(200)
三、其他疾病及易感基因	(203)



第十二章 基因诊断 .....	(205)
第一节 基因诊断概述 .....	(205)
一、基因诊断的定义 .....	(205)
二、基因诊断的基础 .....	(205)
三、基因诊断的特点 .....	(205)
第二节 基因诊断中常用的分子生物学技术 .....	(206)
一、核酸分子杂交 .....	(206)
二、PCR 及其相关技术 .....	(208)
三、DNA 序列测定 .....	(212)
四、DNA 芯片技术 .....	(212)
第三节 基因诊断策略 .....	(213)
一、通过致病基因检测诊断疾病 .....	(214)
二、通过连锁遗传标志检测诊断疾病 .....	(214)
三、通过表型克隆建立疾病基因诊断指标 .....	(215)
四、通过基因表达定量分析诊断疾病 .....	(215)
第四节 遗传病的基因诊断 .....	(215)
一、遗传病基因诊断的基本策略 .....	(216)
二、常见遗传病基因诊断技术 .....	(216)
第五节 肿瘤的基因诊断 .....	(220)
一、肿瘤基因诊断的基本策略 .....	(220)
二、易位染色体和融合基因检测 .....	(220)
三、肿瘤相关基因检测 .....	(221)
四、肿瘤相关病毒基因检测 .....	(222)
五、肿瘤标志物基因或 mRNA 的检测 .....	(223)
第六节 感染性疾病的基因诊断 .....	(223)
一、感染性疾病基因诊断的特点及其策略 .....	(223)
二、基因诊断技术诊断病毒感染性疾病 .....	(224)
三、基因诊断技术诊断细菌感染性疾病 .....	(225)
四、基因诊断技术诊断寄生虫感染性疾病 .....	(225)
第七节 基因诊断在法医学上的应用 .....	(226)
第十三章 基因治疗 .....	(229)
第一节 基因治疗的基本策略 .....	(229)
一、基因置换 .....	(229)
二、基因添加 .....	(230)
三、基因干预 .....	(230)
四、自杀基因治疗 .....	(230)
五、免疫基因治疗 .....	(230)
第二节 基因转移技术 .....	(231)
一、基因转移的生物学方法 .....	(231)
二、基因转移的非生物学方法 .....	(234)
三、基因治疗的靶细胞 .....	(237)

第三节 基因干预技术 .....	(238)
一、反义 RNA .....	(238)
二、RNA 干扰技术 .....	(238)
三、核酶 .....	(239)
第四节 表达调控对基因治疗的影响 .....	(240)
一、基因内部的调节机制 .....	(241)
二、基因外部的调节机制 .....	(241)
三、病灶微环境对基因表达的影响 .....	(241)
四、治疗基因的诱导表达 .....	(242)
第五节 基因治疗的应用研究 .....	(242)
一、遗传病的基因治疗研究 .....	(242)
二、恶性肿瘤的基因治疗 .....	(243)
三、病毒性疾病的基因治疗研究 .....	(245)
四、其他疾病的基因治疗研究 .....	(245)
第六节 基因治疗的前景与问题 .....	(245)
第十四章 生物信息学在医学分子生物学中的应用 .....	(248)
第一节 生物信息学概况 .....	(248)
一、生物信息与生物信息学 .....	(248)
二、生物信息学发展简史 .....	(249)
第二节 生物数据库 .....	(249)
一、核酸序列数据库 .....	(250)
二、蛋白质序列数据库 .....	(252)
三、表观遗传学数据库 .....	(253)
四、其他数据库 .....	(254)
第三节 生物序列分析 .....	(254)
一、两序列分析 .....	(254)
二、多序列分析 .....	(260)
三、分子系统树 .....	(263)
四、比较基因组 .....	(267)
五、多态性分析 .....	(268)
六、基因功能注释 .....	(272)
第四节 基因表达分析 .....	(273)
一、基因表达序列标签数据分析 .....	(273)
二、基因芯片数据分析 .....	(274)
第五节 蛋白质结构分析 .....	(276)
一、蛋白质结构及其数据库 .....	(276)
二、蛋白质二级结构预测 .....	(276)
三、三级结构预测 .....	(276)
主要参考文献 .....	(278)
中英文名词索引 .....	(280)

# 第一章 绪 论

## 第一节 分子生物学的含义

生物学的发展经历了一个漫长的研究过程,最早人们从研究动物和植物的形态、解剖和分类开始,以后逐步地对细胞、遗传、生理、生化及免疫机制等进行了深入细致的研究。1938年,Weaver 在洛克菲勒基金会理事会年终报告中首次采用“分子生物学”这一术语,到了20世纪50年代,生物学以生物大分子的结构与功能等为研究目标,分子生物学即开始成为独立的学科。

分子生物学(molecular biology)是从分子水平研究生命现象、生命的本质、生命活动及其规律的科学。分子生物学研究的内容是核酸、蛋白质等所有生物大分子的形态、结构、功能以及重要性、规律性和相互关系的科学,是人类从分子水平上真正揭开生物世界奥秘,由被动地适应自然界转向主动地改造和重组自然界的基础科学。当人们认识到同一生物不同世代之间的连续性是由生物自身所携带的遗传物质所决定的,科学家为揭示这些遗传密码所进行的努力就成为人类征服自然界的一部分,而以生物大分子为研究对象的分子生物学就迅速地成为现代生物学和医学等领域里最具活力的科学。

从广义上讲,蛋白质、核酸等生物大分子结构和功能研究都属于分子生物学的范畴。例如,蛋白质的结构、运动和功能,酶的作用机制和动力学,膜蛋白的结构、功能和细胞通讯与信号转导等跨膜运输都属于分子生物学的研究内容。不过当前人们通常采用狭义的概念,将分子生物学的范畴偏重于核酸(DNA 和 RNA)的分子生物学,主要研究基因的复制、表达和调节控制的过程。当然,其中也涉及与这些过程有关的蛋白质和酶等结构和功能的研究。

## 第二节 分子生物学的主要研究内容

分子生物学的主要研究内容有:核酸的分子生物学、蛋白质的分子生物学、细胞信号转导的分子生物学及分子生物学与其他学科的关系。

### 一、核酸的分子生物学

核酸的分子生物学研究核酸(DNA 和 RNA)的结构及其功能。由于20世纪50年代以来,生物化学、生物学、遗传学、细胞生物学等学科的迅速发展,核酸的分子生物学已形成了比较完整的理论体系和研究技术,是目前分子生物学中内容最丰富的一个领域。其研究内容包括核酸基因、线粒体基因的结构,基因组的结构,遗传信息的复制、转录与翻译,核酸存储的信息突变与修复,基因表达调控和基因工程技术,基因诊断和基因治疗的发展和运用等。其中,遗传信息传递的中心法则(central dogma)是其理论体系的核心。

## 二、蛋白质的分子生物学

蛋白质的分子生物学研究执行各种生命功能的生物大分子——蛋白质的结构与功能。随着人类基因组测序工作的进展,人们开始越来越关注这些基因编码的蛋白质的结构、功能。因此,产生了蛋白质组学(proteomics)。蛋白质组学是研究基因组编码的全部蛋白质的结构、性质和功能的学科,近年来在认识蛋白质的结构及其与功能关系方面取得了一定的进展,蛋白质组学在疾病病因学中的重要作用使得蛋白质的分子生物学在人类疾病分子发病机制的研究中有着极为重要的价值。

## 三、细胞通讯和信号转导的分子生物学

细胞通讯和信号转导是机体内一部分细胞发出信号,另一部分细胞接收信号并将其转变为细胞功能变化的过程。构成生物体的每一个细胞的分裂与分化及其各种功能的完成均依赖于外界环境所赋予的各种指示信号。在外源信号的刺激下,细胞可以将这些信号转变为一系列生物化学和分子生物学变化,例如蛋白质构象的转变、蛋白分子的磷酸化等,从而使其增殖、分化及分泌状态等一系列改变适应内外环境的需要。信号转导研究的目标是阐明这些变化的分子机制,明确每一种信号转导与传递的途径及参与该途径的所有分子的作用和调节方式以及认识各种途径间的网络控制系统。信号转导机制的研究在理论和技术方面与上述核酸及蛋白质分子有着紧密的联系,是当前分子生物学发展最迅猛的领域之一。

## 四、分子生物学与其他学科的关系

分子生物学是由生物化学、生物物理学、生理学、遗传学、微生物学、细胞生物学、免疫学以及信息科学等多学科相互渗透、综合融会而产生并发展起来的。它虽产生于上述各个学科,但已形成其独特的理论体系和研究手段,成为一个独立的学科。其中,生物化学与分子生物学关系最为密切,传统生物化学的核心内容是代谢,包括糖类、脂类、氨基酸、核苷酸以及能量代谢等与生理功能的联系。分子生物学则着重阐明生命的本质,主要研究核酸、蛋白质等生物大分子的结构与功能、生命信息的传递和调控等。国际生物化学学会和中国生物化学学会现均已分别改名为国际生物化学与分子生物学学会和中国生物化学与分子生物学学会。

## 第三节 分子生物学发展简史

20世纪诞生和发展的分子生物学,按其重大的突破和进展可大致地划分为三个阶段。

### 一、分子生物学形成的基础阶段

1859年,达尔文(C. Darwin)在他著名的《物种起源》一书中提出了自然选择学说,第一次指出了生物性状的可遗传性、在自然选择压力下的可变性以及不同物种之间的相关性。

这一学说对生物学研究产生了巨大的影响。1865年,孟德尔(G. J. Mendel)认为生物体内有某种遗传颗粒或遗传单位,能够从亲代传递到子代,孟德尔根据豌豆性状遗传杂交实验结果认为,遗传性状是由成对的遗传因子决定的。1909年丹麦生物学家约翰逊(W. Johannsen)给孟德尔的“遗传因子”一词起了一个新名字,即基因(gene)。1869年,瑞士生物学家米舍尔(F. Miescher)在德国图宾根大学实验室,在研究细胞核内的化合物时发现了DNA。而在1857年,巴斯德(L. Pasteur)由于发现了细菌而在自然科学史上留下丰功伟绩,但是他的“活力论”观点,即认为细菌的代谢活动必须依赖完整细胞的想法,阻碍了生物化学的进一步发展。直至1890~1900年,Suchner兄弟证明酵母提出液可使糖发酵之后,科学家们才认识到细胞的活动原来可以再拆分为更细的成分加以研究。1915年,美国遗传学家摩尔根(T. H. Morgan)等在孟德尔遗传定律基础上建立了染色体学说,与此同时,被湮没达35年之久的孟德尔遗传定律(1865),又重新被发现,使遗传学的研究引起了科学界的重视。20世纪初期,物理学家、生物化学家、细胞生物学家、遗传学家和微生物学家协同工作并各自沿着两条并行不悖的路线进行研究。一派是以英国的阿斯特伯里(W. T. Astbury)等为代表的结构学派(structurists),主要采用X射线衍射技术研究蛋白质和核酸的空间结构,认为只有搞清楚生物大分子的三维结构,才能阐明生命活动的本质。另一学派称为信息学派,主要进行遗传信息研究。遗传信息的创始人之一,德国原子物理学家德尔布吕克(M. Delbruck),由于致力于遗传学研究,从德国来到美国摩尔根的遗传学实验室。1938年,他以噬菌体为研究对象,把噬菌体看成最小的遗传单位,研究其遗传信息的表达和调控。所以这一派也称为噬菌体学派。1944年,分子生物学研究的最重要成果是证明了遗传的物质基础是DNA而不是蛋白质,埃弗里(O. T. Avery)等证明了使肺炎球菌由粗糙型转为光滑型的转化因子是DNA。随后,噬菌体学派的赫尔希(A. Hershey)和蔡斯(M. Chase)进一步提出了更加令人信服的证据,他们用蛋白质上标记了放射性硫的噬菌体感染细菌,发现只有噬菌体的DNA被“注射”到细菌体内并在其中繁殖,而蛋白质则留在细胞之外。但在当时,由于科学界对DNA的结构尚少研究,所以还无从知道何以DNA能成为遗传的物质基础。

## 二、分子生物学的早期研究和发展阶段

第二阶段是发现DNA的双螺旋结构,这个划时代的发现正是结构学派和信息学派汇合所结出的硕果,至此,关于生物大分子结构和信息的研究才紧密地结合起来。1953年沃森(J. Watson)和克里克(F. Crick)借助于几个实验室的研究成就,根据DNA的X线衍射图谱、由化学分析得到的A、T、G、C 4种碱基比例的规律以及嘌呤碱和嘧啶碱的一些物理化学数据,建立了DNA双螺旋结构模型,用分子结构的特征解释生命现象的最基本问题之一——基因(DNA)复制的机制,从而真正开始从分子水平研究生命活动,生物学研究进入了分子生物学时代。在这以后的年代里,DNA的研究始终占据着分子生物学的中心地位。在短短的20年里,就有mRNA的发现以及DNA聚合酶、RNA聚合酶、限制性核酸内切酶、连接酶、质粒等一系列重大发现。1965年,法国科学家莫诺(J. L. Monod)和雅可布(F. Jacob)提出并证实了“操纵子学说”并获得了诺贝尔生理学或医学奖。1961年克里克(F. Crick)等确立了每三个核苷酸决定一个氨基酸的密码子,其通用性被证明,并于1966年破译了全部64个密码子。密码子的发现和破译证明了遗传信息的流动方向是DNA→RNA→蛋白质,这就是生物遗传的中心法则。中心法则的建立,使分子生物学作为一门科学初步形成了它的理论体

系,即生物大分子的结构与功能、基因的表达和基因表达调控。

### 三、分子生物学的深入发展阶段

20世纪70年代后,以基因工程技术的出现作为新的里程碑,标志着人类从认识生命本质并能主动改造生命的新时期开始。其间的重大成就包括以下几方面。

#### (一) 重组 DNA 技术的建立和发展

分子生物学理论和技术发展的积累出现了基因工程技术。1967~1970年袁(R. Yuan)和史密斯(H. O. Smith)等发现的限制性核酸内切酶为基因工程提供了非常有力的工具;1972年贝里(Bery)等将SV-40病毒DNA与噬菌体P22 DNA在体外重组成功,转化大肠杆菌,使本来在真核生物中合成的蛋白质可以在细菌中合成,打破了种属界限;1977年伯格(P. Boyer)等首先将人工合成的生长激素释放抑制因子14肽的基因重组入质粒,成功地在大肠杆菌中合成了抑制因子14肽;1978年坂仓(Itakura)等使人生长激素191肽在大肠杆菌中表达成功;1979年美国基因技术公司用人工合成的人胰岛素基因重组转入大肠杆菌中合成人胰岛素。至今我国已有重组人干扰素、人白介素2、人集落刺激因子、重组人乙型肝炎病毒疫苗等多种基因工程药物和疫苗进入生产或临床试用,世界上还有几百种基因工程药物及其他基因工程产品在研制中,成为当今医药业和工农业发展的重要方向,将对医学和工农业发展作出新贡献。

转基因动植物和基因剔除植物的成功是基因工程技术发展的结果。1982年Palmiter等将克隆的生长激素基因导入小鼠受精卵细胞核内,培育出比原小鼠个体大几倍的“巨鼠”,引发了科技工作者创造优良品家畜的热情;我国水生生物研究所将生长激素基因转入鱼受精卵,得到的转基因鱼的生长显著加快、个体增大;转基因猪也正在研制中;另外,用转基因动物能获取治疗人类疾病的重要蛋白质,如导入了凝血因子IX基因的转基因绵羊分泌的乳汁中含有丰富的凝血因子IX,能有效地用于血友病治疗。在转基因植物方面,1994年比普通西红柿保鲜时间更长的转基因西红柿进入了市场;1996年转基因玉米、转基因大豆相继投入商品生产,美国最早研制得到抗虫棉花,我国科学家将自己发现的蛋白酶抑制剂基因转入棉花获得抗棉铃虫的棉花株。全球已有25个国家批准了24种转基因作物商业化种植,种植面积由1996年的170万公顷增加到2009年的1.34亿公顷,增长了79倍。

基因诊断与基因治疗是基因工程在分子医学领域发展的一个重要方面。人类历史上第一例基因治疗方案应用于一患腺苷脱氨酶(ADA)缺乏症的4岁女孩。ADA缺陷将导致T淋巴细胞和B淋巴细胞发育受阻,患者发生重症联合免疫缺陷。1990年,美国批准了ADA缺陷的基因治疗方案,获得成功。我国也在1994年用导入人凝血因子IX基因的方法成功治疗了乙型血友病的患者。我国用作基因诊断的试剂盒已有近百种。基因诊断和基因治疗正在发展之中。

这时期基因工程的迅速进步得益于许多分子生物学新技术的不断涌现,包括核酸的化学合成从手工发展到全自动合成,20世纪90年代全自动核酸序列测定仪的问世。1985年PE-Cetus公司穆利斯(Mullis)等发明的聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)的特定核酸序列扩增技术,更以其高灵敏度和特异性被广泛应用,对分子生物学的发展起到重大的推动作用。

## (二) 基因组研究的发展

目前分子生物学已经从研究单个基因发展到研究生物整个基因组的结构与功能。1977年桑格(Sanger)测定了噬菌体  $\Phi$ X174-DNA 全部 5375 个核苷酸的序列;1978年 Fiers 等测出猴空泡 SV-40 病毒 DNA 全部 5224 对碱基序列;20 世纪 80 年代  $\lambda$  噬菌体 DNA 48502 碱基对的序列全部测出;一些小的病毒包括乙型肝炎病毒、艾滋病病毒等基因组的全序列也陆续被测定;1996 年测定出了大肠杆菌基因组 DNA 的全序列长  $4 \times 10^6$  碱基对。测定整个生物基因组核酸的全序列无疑对理解这一生物的生命信息及其功能有极大的意义。1990 年人类基因组计划(Human Genome Project, HGP)开始实施,这是生命科学领域有史以来全球性最庞大的研究计划,2000 年 6 月 26 日公布测定出了人基因组全部 DNA  $3.3 \times 10^9$  碱基对的序列。

## (三) 单克隆抗体及基因工程抗体的建立和发展

1975 年 Kohler 和 Milstein 发现将小鼠骨髓瘤细胞和绵羊红细胞免疫的小鼠脾细胞进行融合,形成的杂交细胞既可产生抗体,又可无限增殖,从而创立了单克隆抗体杂交瘤技术。人们利用这一细胞工程技术研制出多种单克隆抗体,为许多疾病的诊断和治疗提供了有效的手段。20 世纪 80 年代以后随着基因工程抗体技术相继出现,如单域抗体、单链抗体、嵌合抗体、重构抗体、双功能抗体等,为广泛和有效地应用单克隆抗体提供了广阔的前景。

## (四) 基因表达调控机制

最早由法国科学家莫诺(J. L. Monod)和雅可布(F. Jacob)提出的操纵子学说打开了人类认识基因表达调控的窗口。在分子遗传学基本理论建立的 20 世纪 60 年代,人们主要认识原核生物基因表达调控的一些规律,70 年代以后才逐渐认识了真核生物基因组结构和调控的复杂性。1977 年最先发现猴空泡 SV-40 病毒和腺病毒中编码蛋白质的基因序列是不连续的,这种基因内部的间隔区(内含子)在真核生物基因组中普遍存在,并逐渐认识了真核生物基因组的结构和基因表达调控。1981 年切赫(T. R. Cech)等发现四膜虫 rRNA 的自我剪接,从而发现核酶(ribozyme)。20 世纪 80 ~ 90 年代,科学家开始认识到基因表达调控机制是真核生物基因的顺式调控元件与反式转录因子、参与蛋白质间的分子识别与相互作用的根本所在。

## (五) 细胞信号转导机制研究

细胞信号转导机制的研究起源于 20 世纪 50 年代。1957 年,美国科学家 Earl Sutherland 发现 cAMP 可作为细胞外刺激(第一信使)的信号分子来调节糖代谢过程;1965 年提出第二信使学说,这个学说是人们认识受体介导和细胞信号转导的第一个重要里程碑。细胞信号转导领域研究的另一项重大的进展也来自于对糖代谢过程的研究。美国科学家 Edwin Krebs 与 Edmond Fischer 在研究糖原合成和分解时发现了蛋白激酶磷酸化。蛋白激酶磷酸化是细胞信号转导最重要和最普遍的调节形式,因此,该项工作于 1992 年获诺贝尔生理学或医学奖。美国科学家 Alfred G. Gilman 与 Martin Rodbell 在 G 蛋白的鉴定和功能研究方面作出了卓越的贡献,而 G 蛋白在 G 蛋白偶联受体介导的细胞信号转导中起着重要的作用,该工作获 1994 年诺贝尔生理学或医学奖。20 世纪 70 年代中期以后,癌基因和抑癌基因的发现、蛋白酪氨酸激酶的发现及其结构与功能的深入研究、各种受体蛋白的克隆和结构功能

的探索等,使细胞信号转导的研究有了更飞速的发展。如今,人类对某些细胞中的一些信号转导途径已经有了初步的认识,尤其是在免疫活性细胞对抗原的识别及其活化信号的传递途径方面和细胞增殖控制方面等形成了一些基本的概念,当然要达到最终目标还需相当长时间的探索。

## 第四节 医学分子生物学研究的内容

医学分子生物学是分子生物学的一个重要分支,它主要研究人体以及人类疾病相关生物的生物大分子的结构、功能、相互作用及其同疾病发生、发展的关系和人体的生长、发育、衰老、死亡等生命现象。近年来研究发现,除了外伤,人体各种疾病的发生,都是与一种或多种基因有关,而且常涉及细胞间通讯和细胞内信号转导。因此,医学分子生物学主要研究人体发育、分化、疾病和衰老的分子基础,细胞增殖调控的分子基础,人体三大功能调控系统(神经系统、内分泌系统和免疫系统)的分子基础,研究基因的结构异常或调控异常与疾病发生、发展之间的关系;同时,应用分子生物学理论和技术体系开展疾病的基因诊断和基因治疗、生物制药以及卫生防疫。

### 一、医学分子生物学的发展

在分子生物学较为成熟的理论和重要技术形成之前,生物化学家和遗传学家对疾病的研究已经开始接触到疾病的本质。1949年,鲍林(Li. C. Pauling)发现镰状细胞贫血病的病因是血红蛋白结构改变所致;1956年,杰罗姆勒琼(Jerome LeJeune)发现21三体综合征是由21号染色体三体突变引起的,从而鉴定出第一个染色体病。随后的医学分子生物学研究才真正解释了疾病的本质,即基因变异或基因缺陷是疾病的根本原因。

1969年 Robert Huebner 和 George Todaro 提出了癌基因学说。他们认为细胞癌变是由病毒基因组中的癌基因引起的,癌基因是病毒基因组的一部分。1976年,Stehelin 发现癌基因。

1978年,美籍华裔科学家简悦威(Kam Y. M.)第一次利用DNA多态性与致病基因的关联性,成功地对镰状细胞贫血进行了产前诊断,开创了基因诊断技术在临床应用的新时代。

1981年,第一个转基因(生长激素基因)小鼠构建成功,建立了疾病动物模型的工作基础。

1982年,世界上第一个基因工程产品——人胰岛素问世。

1983年,第一次在染色体上定位致病基因,亨廷顿(Huntington)舞蹈症的致病基因被定位于第4号染色体(4p16.3)。

1986年,完成第一个人类致病基因的定位克隆。慢性肉芽肿病(chronic granulomatous disease, CGD)为单基因遗传病,以炎症损害为特征。波士顿儿童医院的研究组在不知道基因编码产物的情况下完成了基因的定位和克隆。这是第一例通过定位克隆技术分离得到人类致病基因。

1990年,进行了第一例真正意义上的基因治疗,采用腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)基因来治疗ADA基因缺陷引起的严重复合型免疫缺陷症(severe complex immune deficiency syndrome, SCID)的患者。这一治疗病例的成功使得基因治疗迅速开展起来。



1994年,第一个乳腺癌基因被发现。

1995年,完成流感病毒基因组测定,这是第一个完成的病原微生物基因组测序,也是第一个完整生物基因组的测序。

1995年,携带人类阿尔茨海默病(Alzheimer's disease)的转基因鼠被开发。

2000年,诺贝尔生理学或医学奖授予瑞典科学家卡尔松,美国科学家格林加德及坎德尔,以表彰他们在“人类脑神经细胞间信号的相互传递”方面获得的重要发现。

2009年,美国北卡罗来纳大学8月5日发布新闻公报称,该校研究人员通过使用一种新的成像技术,首次破译出完整的人类艾滋病病毒(human immunodeficiency virus, HIV)基因组结构。该研究成果刊登在2009年8月6日的《自然》杂志上。

## 二、分子生物学与医学

### (一) 医学研究到了分子水平

20世纪50年代以前,经典的生物学是从生物表型的变化描述和归纳生命活动的某些规律。当时的医学研究状况也是基本如此。所谓基因还只是抽象的概念,表型的分子基础也未查明。而分子生物学的研究才使医学各个学科上升到基因、分子水平,从而出现了分子微生物学、分子免疫学、分子生理学、分子病理学、分子药理学、分子神经病学、分子内科学、分子影像学等全新的领域。不仅是理论研究,临床上基因诊断和基因治疗也在探索 and 实践中。

### (二) 癌症的研究

目前,全世界有许多医学专家在进行癌症研究,癌基因的发现是近年来医学分子生物学研究的重大成果。以前在癌症病因学上有各种不同的学说。由各种内外因素导致的癌基因激活或异常表达很可能就是癌症发生的根本原因。癌基因本来是生物体正常的基因成分之一,它有什么样的生理功能,是怎么被调控的,异常表达和激活的机制是什么,癌基因产物和生长因子之间是否有关联,机体是否存在着抑癌基因和生长的负调节因子等,这些都是当前医学研究的热点。癌症分子发病机制的研究最根本目的是降低癌症的发病率和死亡率,使癌症发生复杂的生物性、理化性和遗传性因素都殊途同归,并在这一机制的指导下实现癌症有效治疗的飞跃。

### (三) 遗传病、多基因疾病

随着医学分子生物学研究的日益深入,有关遗传病的一些概念正在发生变化。首先,这类疾病不再像过去认为的那么罕见。至今发现,按照孟德尔方式遗传的遗传病已达3000余种。如果涉及疾病易感性和基因变异的关系,遗传病范围会更加扩大,例如易患心脏病、肺气肿、高血压、高胆固醇血症、糖尿病、变态反应和胃溃疡等多基因疾病的致病基因正在得到分离和研究,有的研究者认为甚至癌症也可归属于遗传病的范畴,其根本原因在于DNA的损伤、变异及缺陷等。此外,分子生物学技术正在逐步扩大产前基因诊断和遗传病基因诊断的范围。因此,检查出某种疾病的易感基因对于个人健康是十分宝贵的信息,也是针对疾病发生危险因素采取预防措施的科学依据。在治疗上,过去对遗传病只能是对症疗法,从理论