



基础分子生物学

第一章 绪论

朱玉贤

网站 www.jpk.pku.edu.cn/jpkpku/course/fzswx



现代分子生物学的基本要求

熟知核酸的基本生物化学特性；

熟知生物信息的储存与表达过程；

掌握**DNA**、**RNA**和蛋白质的基本代谢过程，特别是基因的一般结构与生物功能，基因活性的修饰与调节；

掌握分子克隆与**DNA**重组的基本技术与原理，了解现代分子生物学基本研究方法，了解基因治疗与基因组学的新成果，新进展。



主要参考书

- 1、朱玉贤、李毅 《现代分子生物学》
第二版（2002）
- 2、 Benjamin Lewin --Genes VII
- 3、 Brown --Genomes (1999)
- 4、 Lehninger: Principles of Biochem.
(2000)



一、现代分子生物学史中的主要里程碑

孟德尔的遗传学规律最先使人们对性状遗传产生了理性认识，而Morgan的基因学说则进一步将“性状”与“基因”相耦联，成为分子遗传学的奠基石。



**Gregor
Mendel**

(1822-1884).

**The Father of
Genetics**

NLPE&PGE

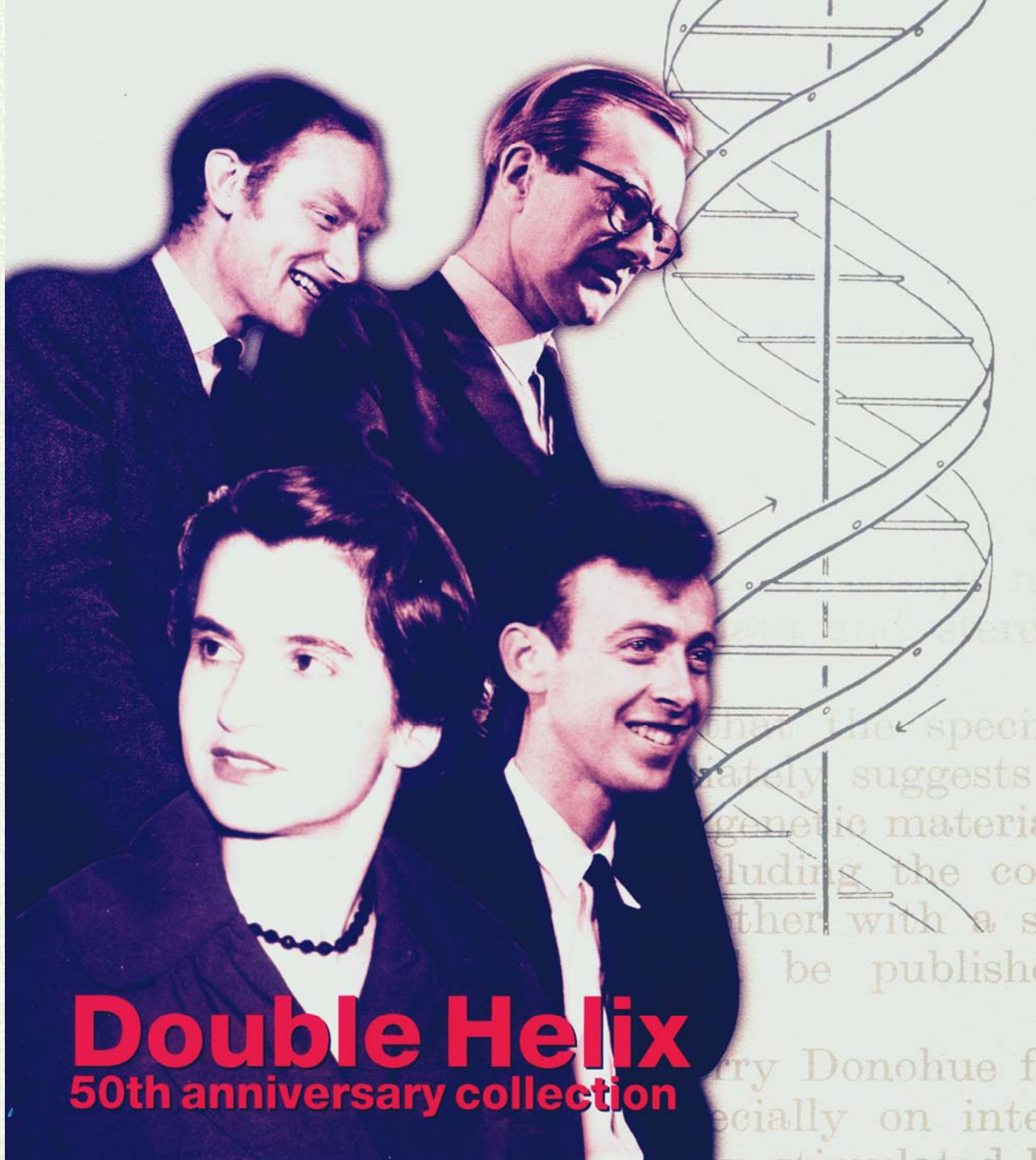


1910年，德国科学家**Kossel**第一个分离了腺嘌呤，胸腺嘧啶和组氨酸。

1959年，美国科学家**Uchoa**第一次合成了核糖核酸，实现了将基因内的遗传信息通过**RNA**翻译成蛋白质的过程。

同年，**Kornberg**实现了试管内细菌细胞中**DNA**的复制。

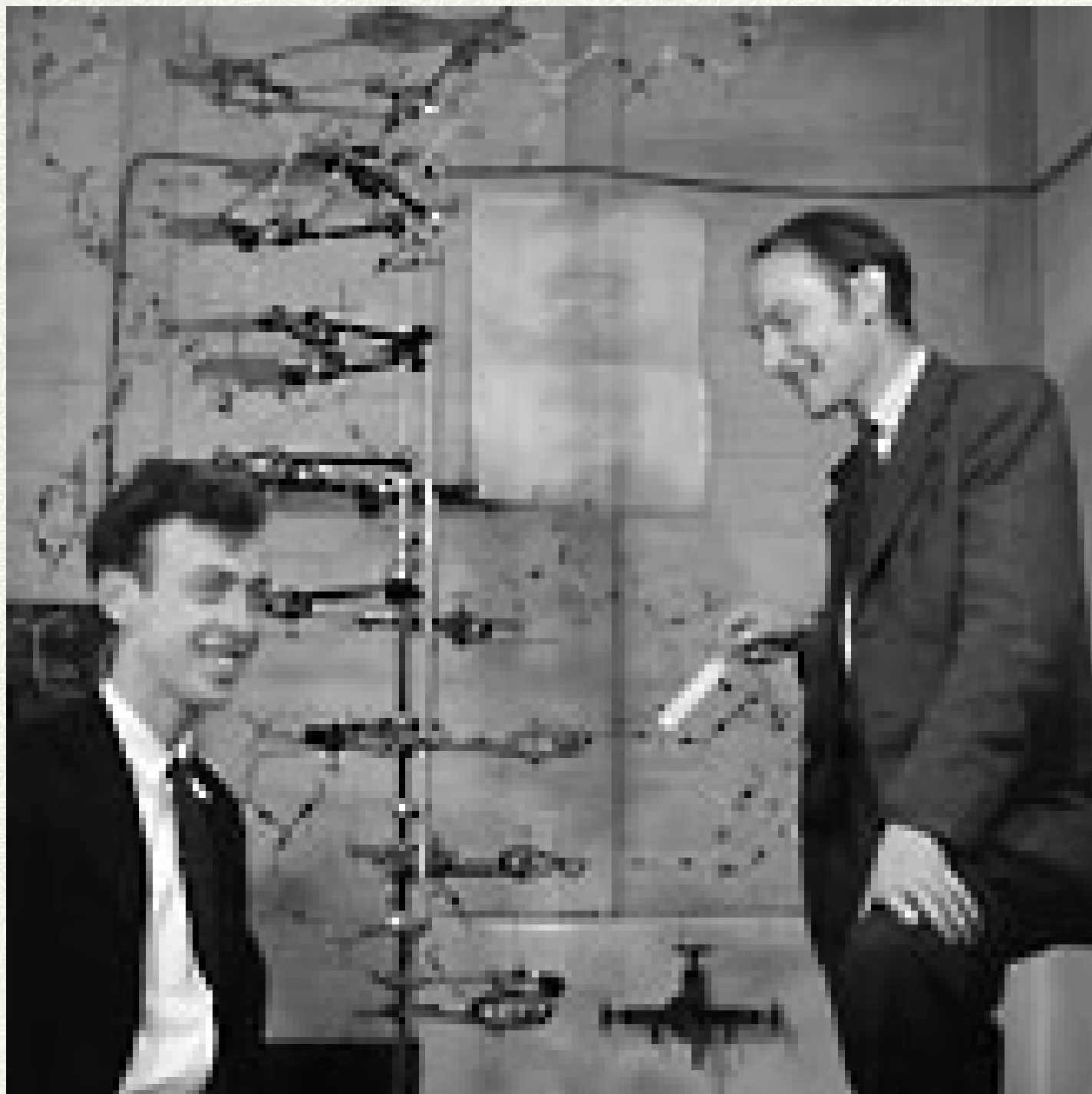
1962年，**Watson**和**Crick**因为在**1953年**提出**DNA**的反向平行双螺旋模型而与**Wilkins**共获**Noble**生理医学奖，后者通过**X**射线衍射证实了**Watson-Crick**模型。



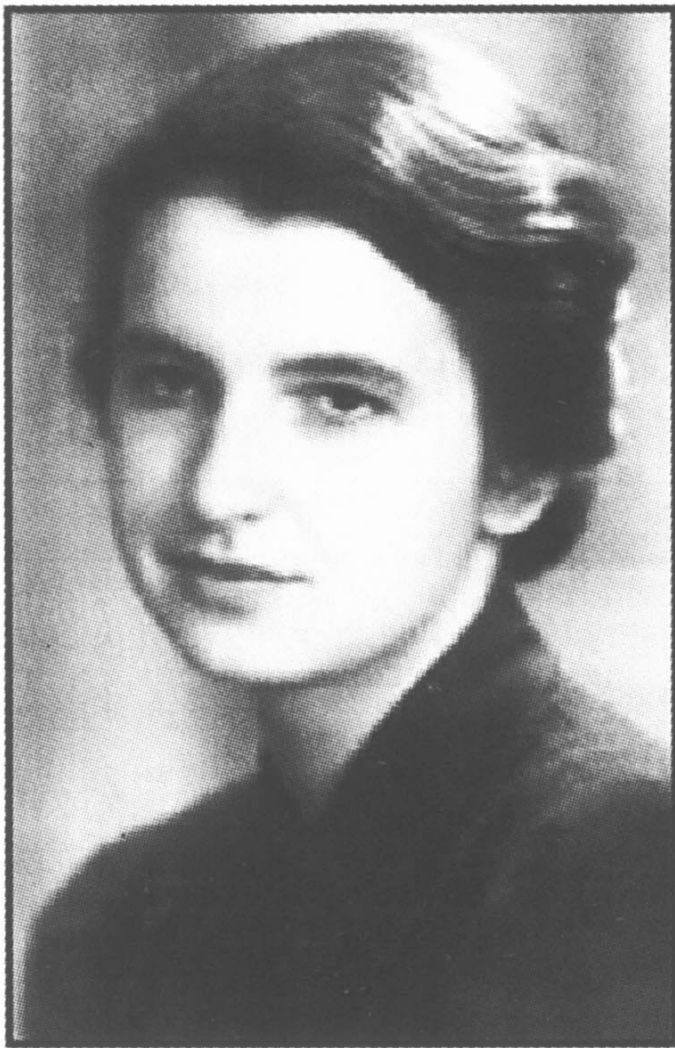
Double Helix

50th anniversary collection

VLPE&PGE



PE&PGE



Rosalind E.
Franklin

1920-1958

罗莎琳·富兰克林

(Rosalind Elsie Franklin, 1920—1958)

(图像来自于 www.spartacus.schoolnet.co.uk)

NLPE&PGE



Watson和Crick所提出的脱氧核糖酸双螺旋模型，为充分揭示遗传信息的传递规律铺平了道路。



1965年，法国科学家**Jacob**和**Monod**提出并证实了操纵子（**operon**）作为调节细菌细胞代谢的分子机制。

他们还推测存在一种与**DNA**序列相互补、能将它所编码的遗传信息带到蛋白质合成场所并翻译产生蛋白质的**mRNA**（信使核糖核酸）。

1972年，Paul Berg（美）第一次进行了**DNA**重组。

1977年，Sanger和Gilbert（英）第一次进行了**DNA**序列分析。



1987年，McClintock由于在**50年代**提出并发现了可移动遗传因子（**jumping gene**或称**mobile element**）而获得**Nobel**奖。



Barbra McClintock

NLPE&PGE



1993年，美国科学家**Roberts**和**Sharp**因发现断裂基因（**introns**）而获得**Nobel**奖；**Mullis**由于发明**PCR**仪而与加拿大学者**Smith**（第一个设计基因定点突变）共享**Nobel**化学奖。

此外，**Griffith**（1928）及**Avery**（1944）等人关于致病力强的光滑型（**S**型）肺炎链球菌**DNA**导致致病力弱的粗糙型（**R**型）细菌发生遗传转化的实验；



Hershey 和 Chase (1952) 关于DNA是遗传物质的实验;

Crick于1954年所提出的遗传信息传递规律 (即中心法则) ;

Meselson 和 Stahl (1958) 关于DNA半保留复制的实验;

Yanofsky 和 Brenner (1961) 年关于遗传密码三联子的设想都为分子生物学的发展做出了重大贡献。



图 1-2 遗传信息传递的中心法则



我国生物科学家吴宪20世纪20年代与汪猷、张昌颖等人一道完成了蛋白质变性理论、血液生化检测和免疫化学等一系列有重大影响的研究。

20世纪中下叶，我国科学家相继实现了人工全合成有生物学活性的结晶牛胰岛素，解出了三方二锌猪胰岛素的晶体结构，采用有机合成与酶促相结合的方法完成了酵母丙氨酸转移核糖核酸的人工全合成。



二、分子生物学的主要研究内容与基本定理

主要研究内容：

一切生物体中的各类有机大分子都是由完全相同的单体，如蛋白质分子中的20种氨基酸、DNA及RNA中的8种碱基所组合而成的。

DNA重组技术（基因工程）

基因表达调控（核酸生物学）

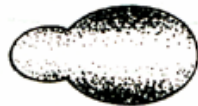
生物大分子结构功能（结构分子生物学）



DNA
直径 2.0nm, 每个
碱基对 0.34nm



球状蛋白
相对分子质量
 5.0×10^4 , 直径 5nm



细菌 RNA 聚合酶
相对分子质量 5.0×10^5
体积 $9\text{nm} \times 9\text{nm} \times 16\text{nm}$



核小体
相对分子质量 3.0×10^5
体积 $6\text{nm} \times 11\text{nm} \times 11\text{nm}$



核糖体
相对分子质量 2.5×10^6
体积 $20\text{nm} \times 20\text{nm} \times 23\text{nm}$



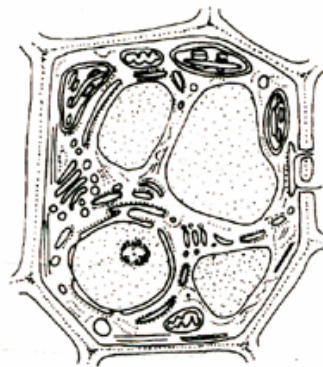
大肠杆菌细胞
长 $1.7\mu\text{m}$
宽 $0.65\mu\text{m}$



人染色体(中等)
长 $5\mu\text{m}$
宽 $1\mu\text{m}$



人成纤维细胞
直径 $10\mu\text{m}$



植物细胞
直径 $10 \sim 100\mu\text{m}$

图 1-3 生物体内各种大分子、亚细胞结构及原核、真核细胞的大小比较



基本定理:

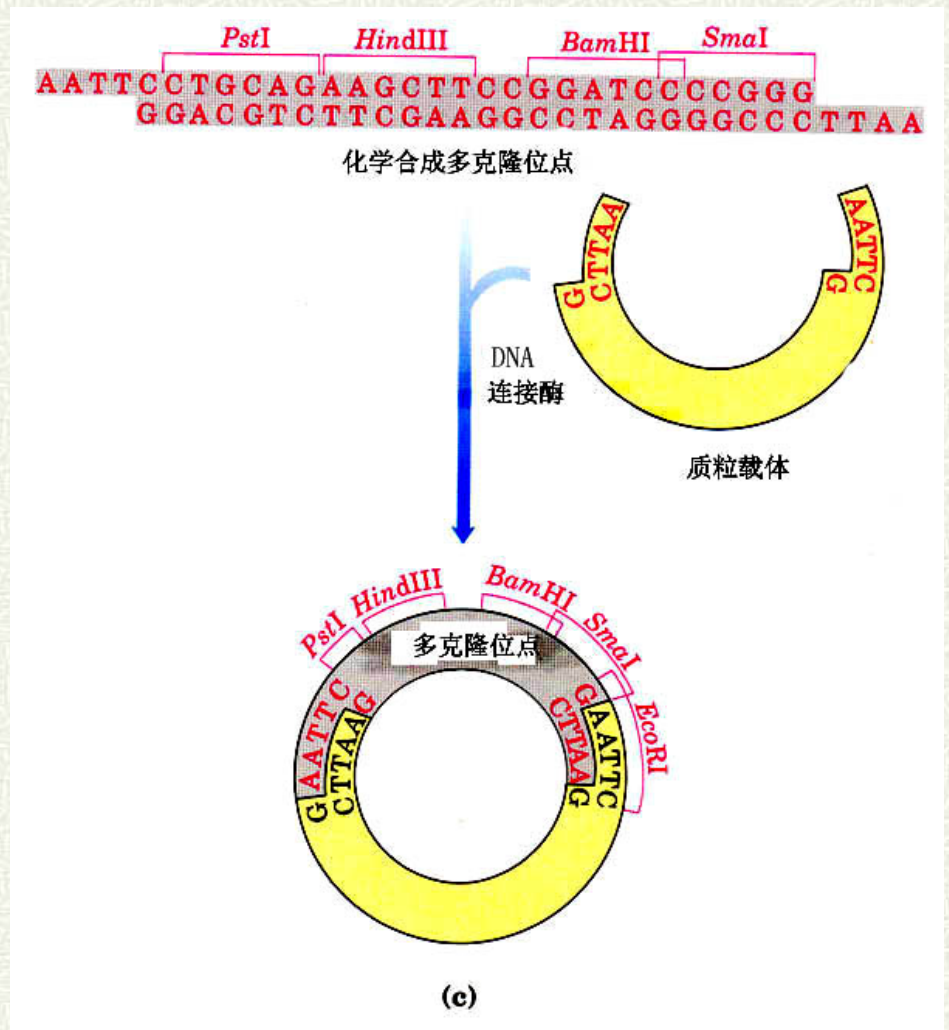
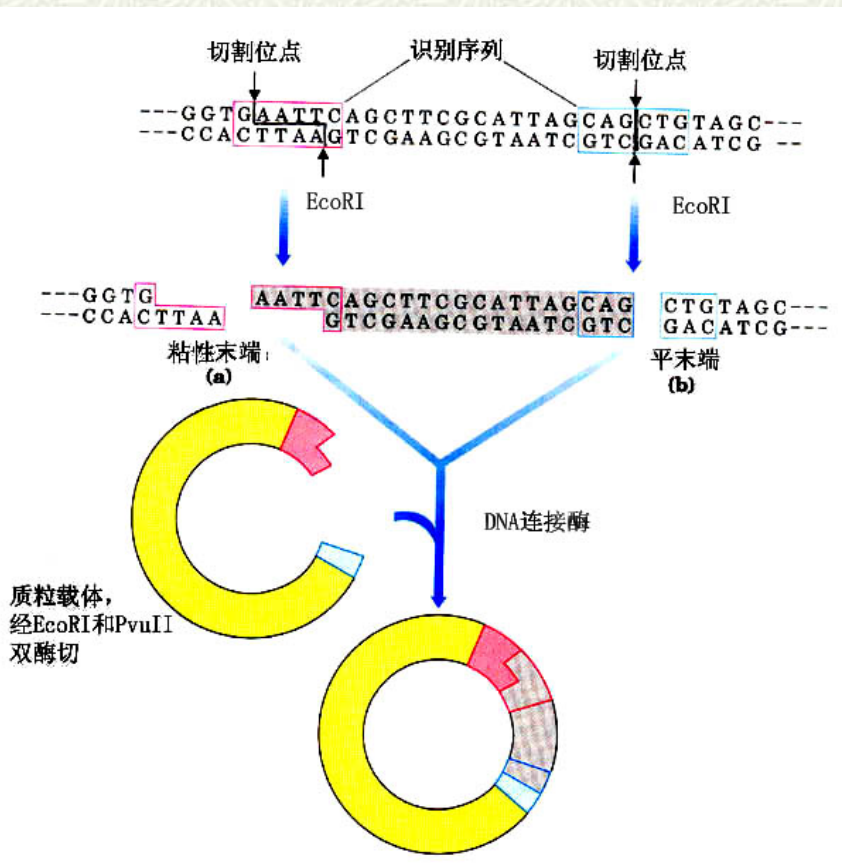
- 1.构成生物体有机大分子的单体在不同生物中都是相同的;
- 2.生物体内一切有机大分子的建成都遵循着各自特定的规则;
- 3.某一特定生物体所拥有的核酸及蛋白质分子决定了它的属性。



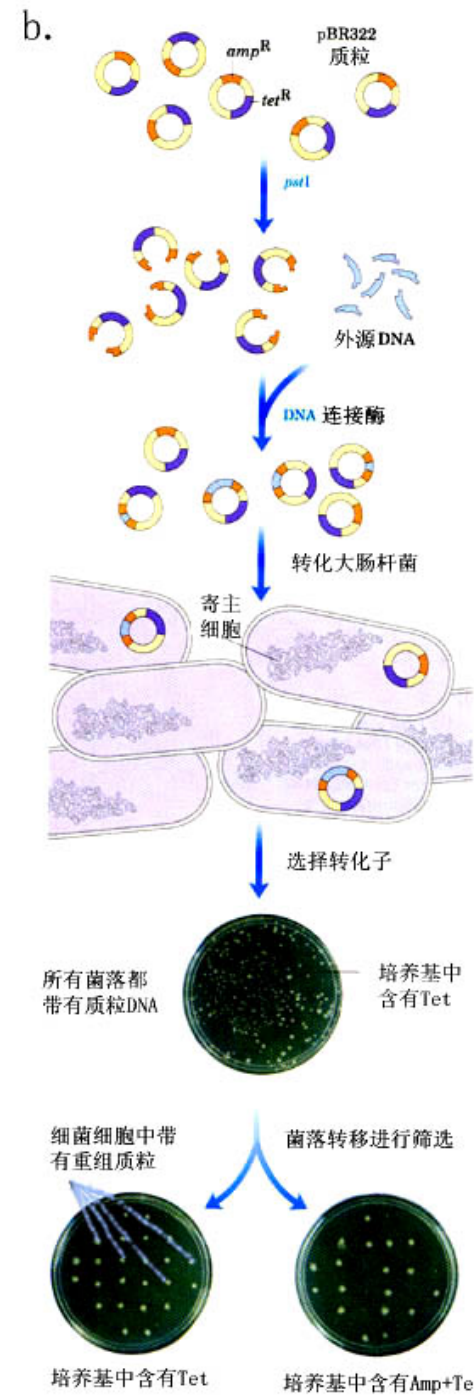
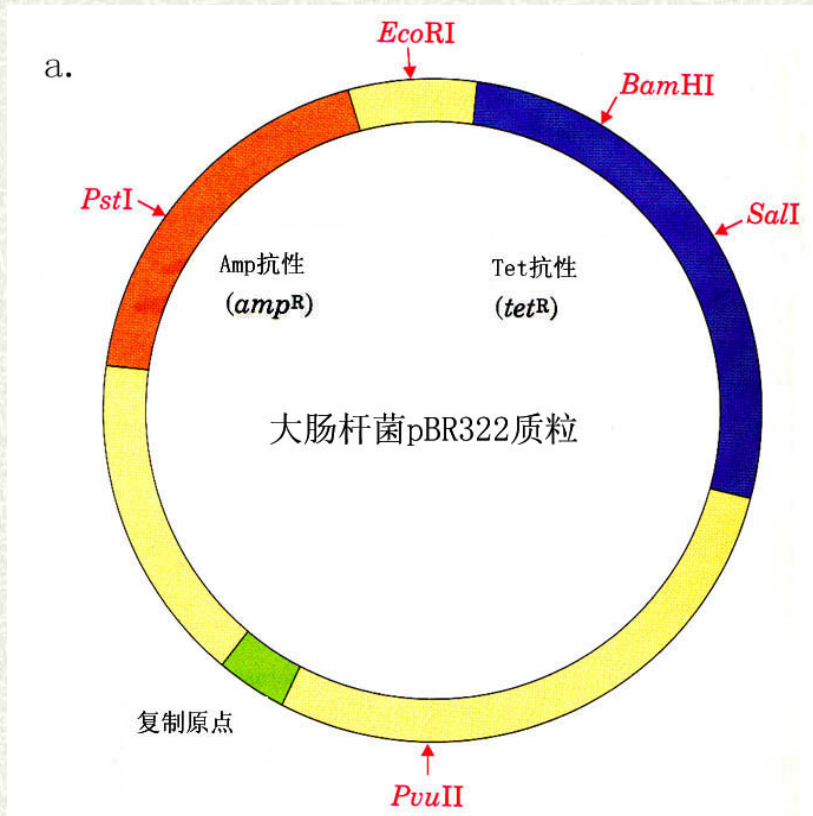
1、DNA重组技术

是20世纪70年代初兴起的技术科学，目的是将不同DNA片段（基因或基因的一部分）按照人们的设计定向连接起来，在特定的受体细胞中与载体同时复制并得到表达，产生影响受体细胞的新的遗传性状。

DNA重组技术是核酸化学、蛋白质化学、酶工程及微生物学、遗传学、细胞学长期深入研究的结晶，而限制性内切酶DNA连接酶及其他工具酶的发现与应用则是这一技术得以建立的关键。



通过DNA连接酶把不同的DNA片段连接成一个整体。a. DNA的粘性末端; b. DNA的平末端; c. 化学合成的具有EcoRI粘性末端的DNA片段。



重组DNA操作过程示意图



根 癌 土 壤 农 杆 菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 侵 染 植 物 细 胞 后 能 将 其 Ti (tumor inducing) 质 粒 上 的 一 段 DNA (T-DNA) 插 入 到 被 侵 染 细 胞 的 基 因 组 ， 并 能 稳 定 地 遗 传 给 后 代 ， 植 物 的 遗 传 转 化 (植 物 基 因 工 程) 技 术 随 之 得 到 迅 速 发 展 。



2、基因表达调控研究

蛋白质分子控制了细胞的一切代谢活动，而决定蛋白质结构和合成时序的信息都由核酸（主要是脱氧核糖核酸）分子编码，所以，基因表达实质上就是遗传信息的转录和翻译过程。



3、结构分子生物学

研究三维结构及其运动规律，研究生物大分子特定的空间结构及结构的运动变化与其生物学功能的关系。

X射线衍射的晶体学（又称蛋白质晶体学）

二维和三维核磁共振法液相结构

电镜三维重组、电子衍射、中子衍射和各种频谱学方法研究生物高分子的空间结构。



一个生物大分子，无论是核酸、蛋白质或多糖，在发挥生物学功能时，必须具备两个前提：

1. 拥有特定的空间结构（三维结构）；
2. 在它发挥生物学功能的过程中必定存在着结构和构象的变化。



三、证明DNA就是遗传物质的主要历史事件

多少年来，人们反复提出的几个与一切生命现象有关的问题：

- 1.生命是怎样起源的？
- 2.为什么“有其父必有其子”？
- 3.动、植物个体是怎样从一个受精卵发育而来的？



1847年，Schleiden和Schwann提出“细胞学说”，证明动、植物都由细胞组成。

孟德尔在1857年到1864年间，用产生圆形种子的豌豆同产生皱皮种子的植株杂交，得到几百粒全是圆形的F₁代种子。

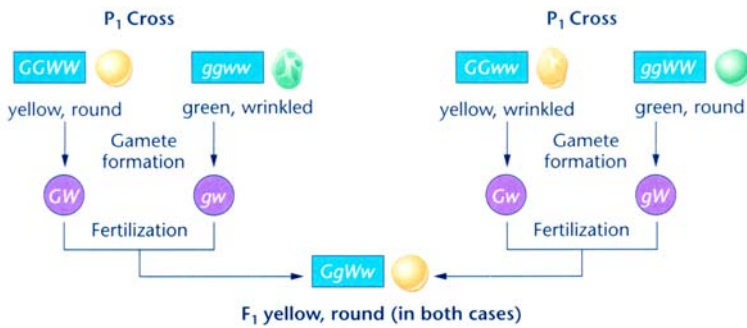
第二年，他种植了253粒F₁圆形种子并进行自交，得到7324粒F₂种子，其中5474粒圆形，1850粒皱皮，圆皱比为3:1。



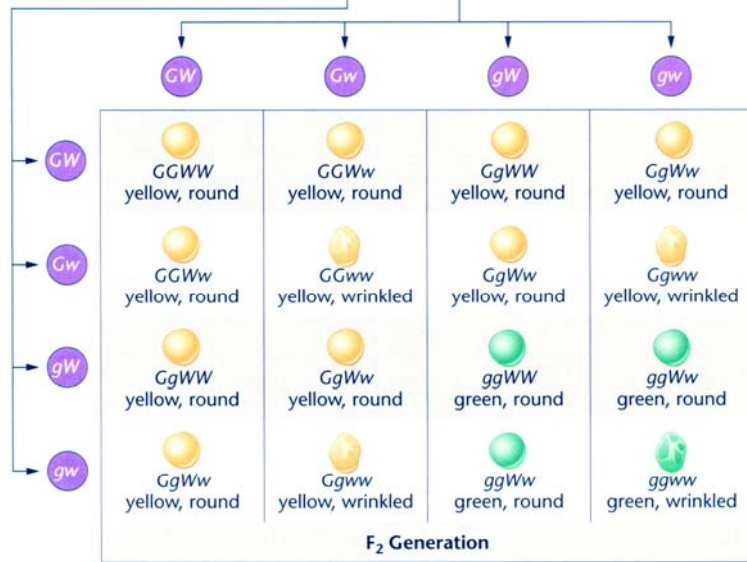
用黄色圆形豌豆与绿色皱皮豌豆做杂交，发现 F_1 种子全是黄色圆形的。

自交产生556粒 F_2 代种子中，黄色圆形315粒，黄色皱皮121，绿色圆形108，绿色皱皮32。

四种类型接近于9:3:3:1。



F₁ cross GgWw X GgWw



F ₂ Genotypic ratio	F ₂ Phenotypic ratio
1/16 GGWW	9/16 yellow, round
2/16 GGWw	
2/16 GgWW	
4/16 GgWw	
1/16 GGww	3/16 yellow, wrinkled
2/16 Ggww	
1/16 ggWW	3/16 green, round
2/16 ggWw	
1/16 ggww	1/16 green, wrinkled

绿-黄×圆-皱

F₂代=9:3:3:1



孟德尔总结出生物遗传的两条基本规律：

第一，当两种不同植物杂交时，它们的下一代可能与亲本之一完全相同，他把这一现象称为统一律。

孟德尔认为，生物的每一种性状都是由遗传因子控制的，这些因子可以从亲代到子代，代代相传。



遗传因子在体细胞内是成对存在的，一个来自父本，一个来自母本，只有在形成配子时单独存在。

有些遗传因子以显性（**dominant**）形式存在，能在杂种一代得到表达；有些因子呈隐性（**recessive**）状态，只有当父、母本同时含有这一因子时，才得到表现。



第二，将不同植物品种杂交后的 F_1 代种子再进行杂交或自交时，下一代就会按照一定的比例发生分离，因而具有不同的形式，他把这一现象称为分离规律。



在孟德尔遗传学基础上，**Morgan**又提出了基因学说。

1910年，**Morgan**和他的助手们发现了第一只白眼雄果蝇，称为突变型。正常情况下，果蝇都是红眼的，称为野生型。**Morgan**将白眼雄果蝇与红眼雌果蝇交配，所产生的 F_1 代不论雌雄，全为红眼果蝇（孟德尔的统一规律！）。



这些 F_1 果蝇互相交配所产生的 F_2 有红眼也有白眼，但所有白眼果蝇都是雄性的，说明该性状与性别有联系。

Morgan的这一连锁遗传规律与孟德尔的遗传性状独立分离规律是背道而驰的！

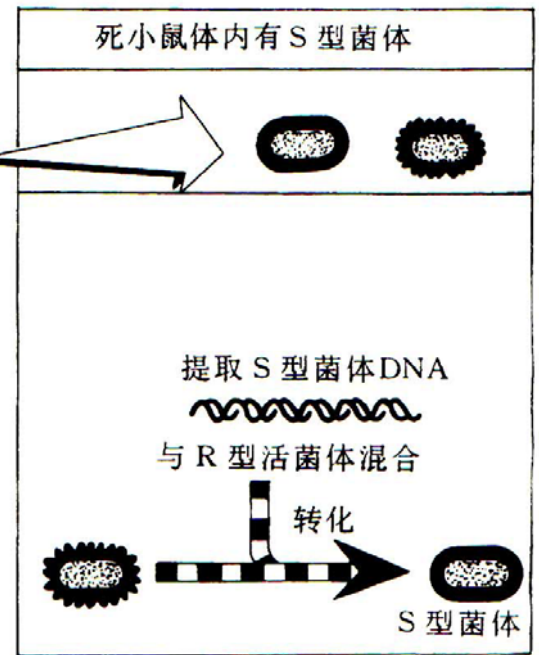
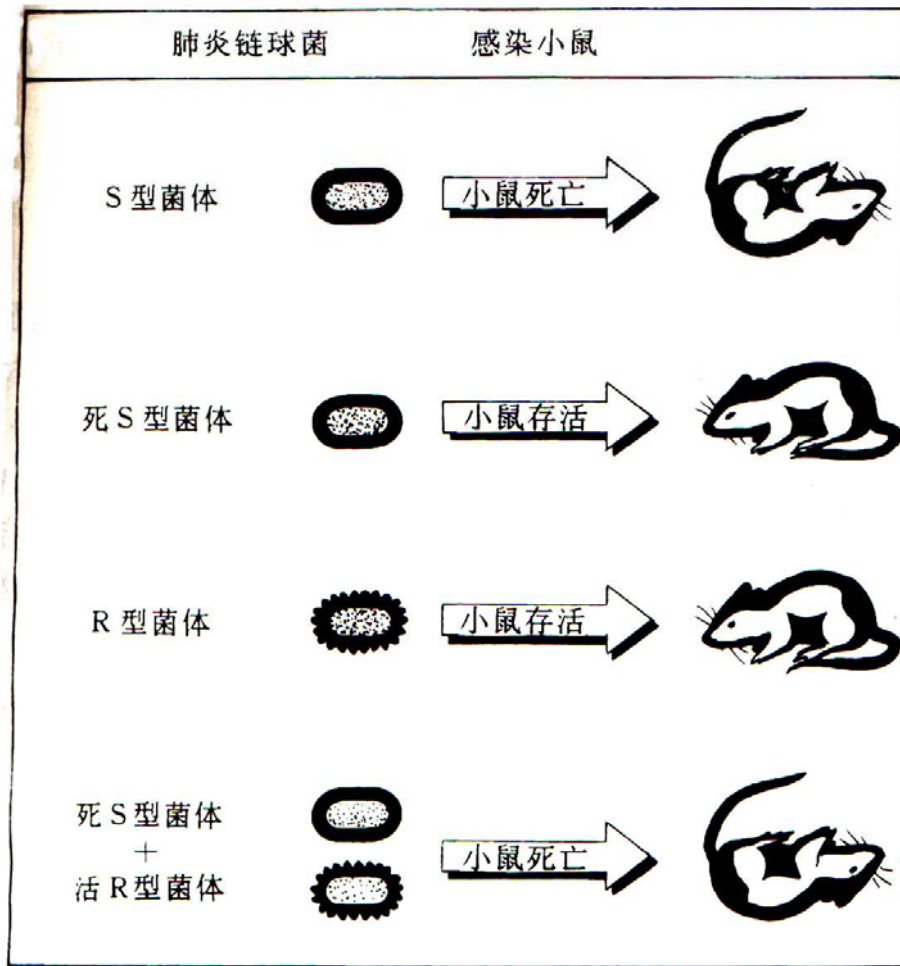
当所研究的两个基因位于同一染色体上而又距离较近时，**Morgan**的连锁遗传规律起主导作用。

当所研究的两个基因位于不同染色体上时，孟德尔的独立分离规律起主导作用。



1928年，英国科学家**Griffith**等人发现，具有光滑外表的**S**型肺炎链球菌能使小鼠发病，具有粗糙外表的**R**型细菌没有致病力。荚膜多糖能保护细菌免受动物白细胞的攻击。

首先用实验证明基因就是**DNA**分子的是美国著名的微生物学家**Avery**。他首先将光滑型致病菌（**S**型）烧煮杀灭活性以后再侵染小鼠，发现这些死细菌自然丧失了致病能力。





解剖死鼠，发现有大量活的S型细菌。他们推测，死细菌中的某一成分——转化源（transforming principle）将无致病力的细菌转化成病原细菌。

进一步的实验表明，DNA就是转化源。死细菌DNA指导了这一可遗传的转化，从而导致了小鼠死亡。Avery等人的工作树立了遗传学理论上全新的观点——DNA是遗传信息的载体。



美国冷泉港卡内基遗传学实验室科学家 **Hershey** 和他的学生 **Chase** 在 **1952** 年从事噬菌体侵染细菌的实验。噬菌体专门寄生在细菌体内，它的头、尾外部都是由蛋白质组成的外壳，头内主要是 **DNA**。



噬菌体侵染细菌的主要过程如下：

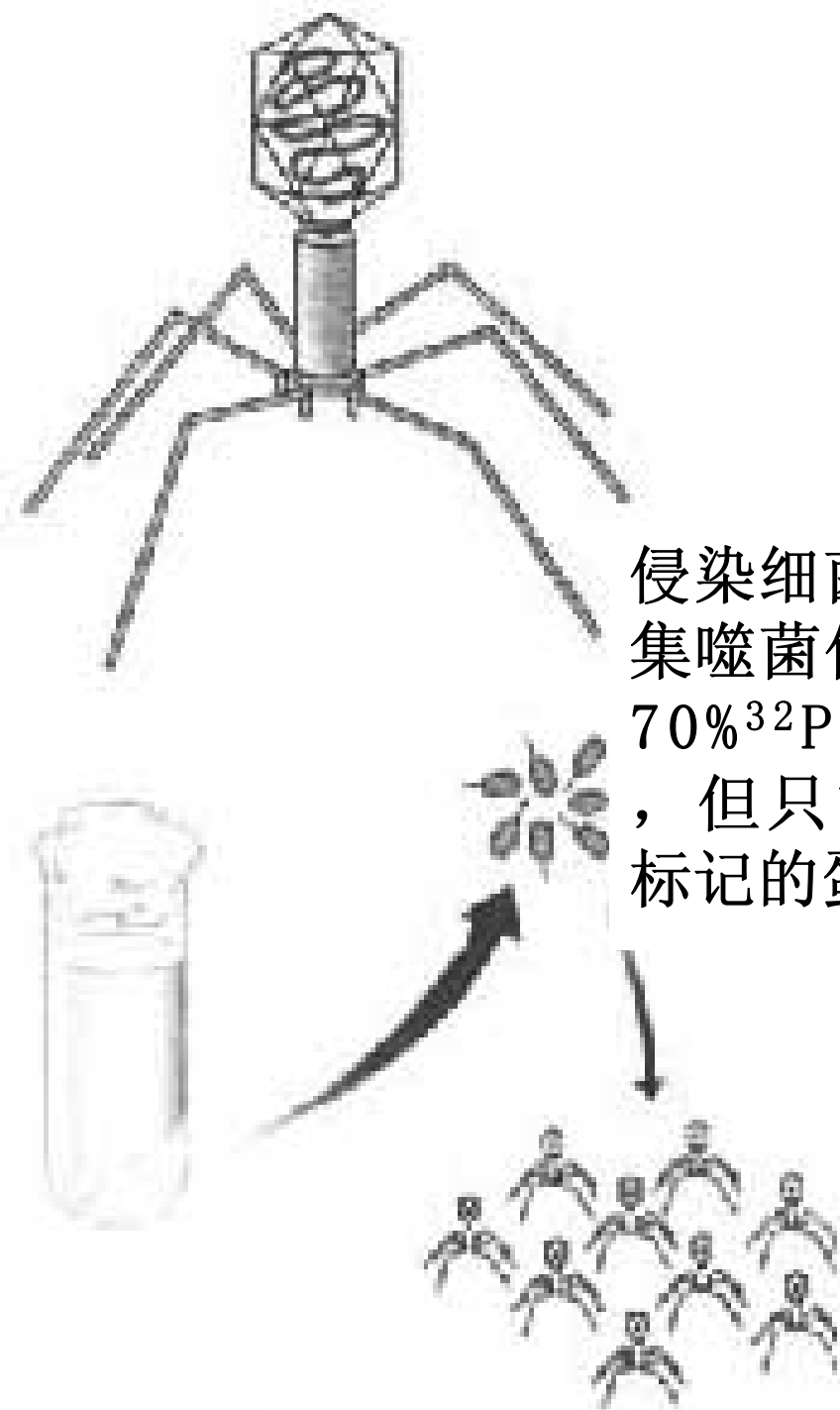
- ①噬菌体尾部的末端（基片、尾丝）吸附在细菌表面；
- ②噬菌体通过尾轴把**DNA**全部注入细菌细胞内，噬菌体的蛋白质外壳则留在细胞外面；
- ③利用细菌的生命过程合成噬菌体自身的**DNA**和蛋白质；
- ④用新合成的**DNA**和蛋白质组装成与亲代完全相同的子噬菌体；
- ⑤细菌解体，释放子代噬菌体，侵染其他细菌。



T2噬菌体

用 ^{32}P 标记DNA
用 ^{35}S 标记蛋白

如果侵染细菌后让噬菌体复制一代，那么，新生代噬菌体中50%的DNA链上带有 ^{32}P 标记，而噬菌体总蛋白中只有不到1%仍带有 ^{35}S 标记。



侵染细菌后立即收集噬菌体，可得到70% ^{32}P 标记的DNA，但只能得到20%标记的蛋白质。



那么，DNA到底是什么样的呢？

Avery在1944年的报告中这样写道：当溶液中酒精的体积达到9/10时，有纤维状物质析出；如稍加搅动，这种物质便会像棉线绕在线轴上一样绕在硬棒上，溶液中的其他成分则以颗粒状沉淀留在下面。溶解纤维状物质并重复沉淀数次，可提高其纯度。这一物质具有很强的生物学活性，初步实验证实它很可能就是DNA（谁能想到！）。



对DNA分子的物理化学研究导致了现代生物学翻天覆地的革命，这更是Avery所没有想到的！



本章参考文献

Watson & Crick, Nature 171, 964-967, 1953

Wilkins et al., Nature 171, 738-740, 1953

Watson & Crick, Nature 171, 737-738, 1955

Meselson & Stahl, PNAS 44, 671-682, 1958

Crick et al., Nature 192, 1227-1232, 1961

Avery et al., J. Exp. Med., 79, 197-158, 1944

Hershey & Chase, J. Gen. Physiol., 36, 39-56, 1952