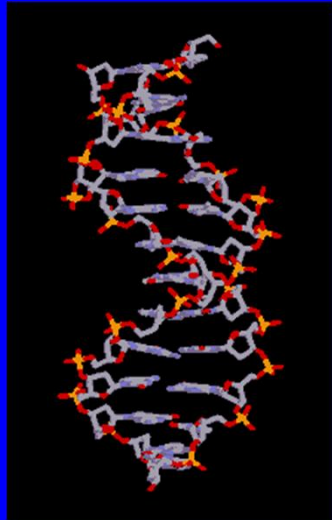


# 华东理工大学



## 分子生物学课程



*Welcome*

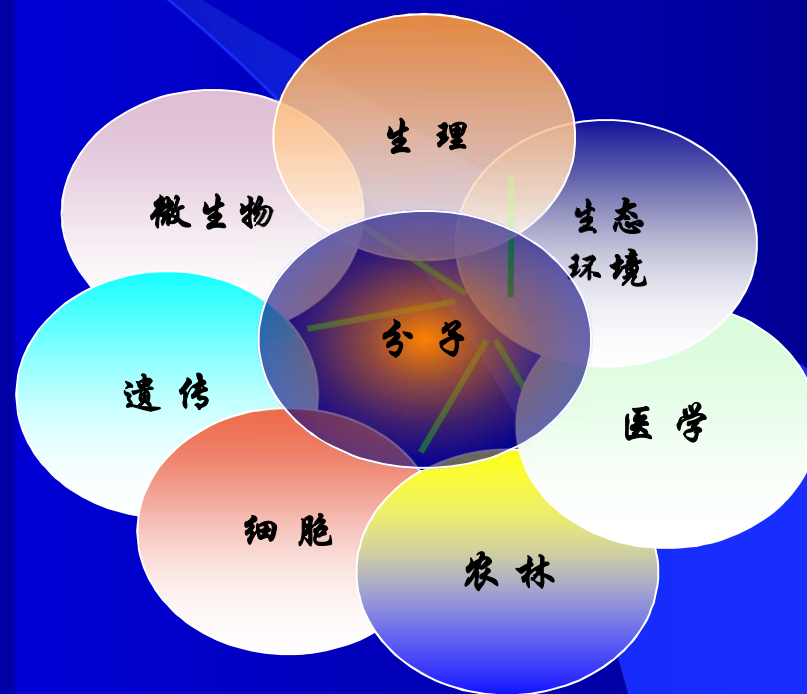
任课教师：赵健

# 透过分子看世界

生物科学研究—宏观或微观水平  
分子水平上研究生命现象

# 现代生命科学共同语言

- 遗传学
- 发育生物学
- 微生物学
- 细胞生物学
- 神经生物学
- 免疫学
- 药理学
- 病理学



分子生物学在生命科学中的主导地位  
及对推动整个生命科学发展作用

# 分子生物学的延伸

分子生物学几乎渗透到生物学所有领域

分子结构生物学  
分子发育生物学  
分子神经生物学  
分子育种学  
分子肿瘤学

分子细胞生物学  
分子免疫学  
分子病毒学  
分子生理学  
分子考古学

分子数量遗传学  
分子生态学  
分子进化学  
.....

# 分子分类学

分类学—非常传统的学科：对物种鉴定不断精细，群体越来越庞大，难度系数也越来越高。  
取材样本不完整，比如待鉴定的植物只有茎叶  
利用不同物种之间所存在的基因组变异—分子钟

## 分子进化学

精通分子生物学，实验设计方案从分子水平思考，对生物的任何表征从分子角度去理解  
可以使你的生物科学研究如虎添翼

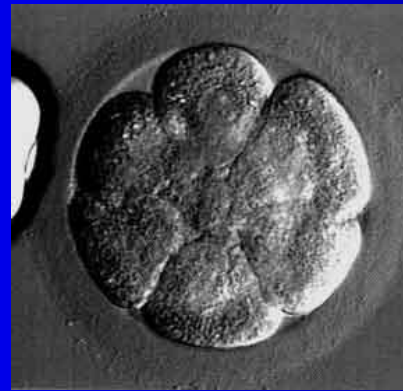


# 发育生物学

Fertilized egg



8-cell embryo



从分子到复杂的生物个体

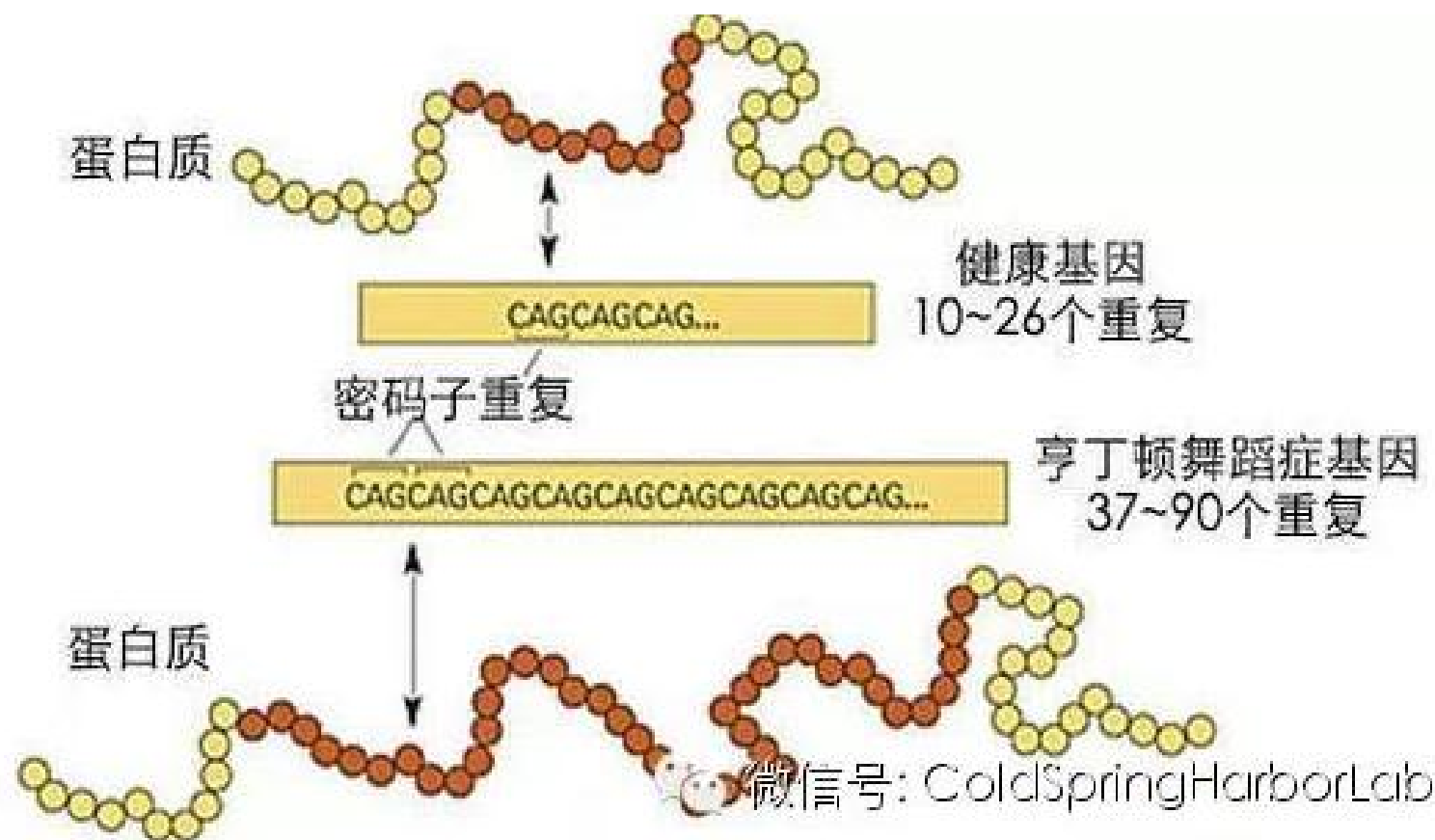
“未知的距离”

~100 trillion cells each

基因如何按一定的时空关系选择性地表达  
特定蛋白，从而控制细胞分化与个体发育？  
果蝇胚胎发育的扰动实验



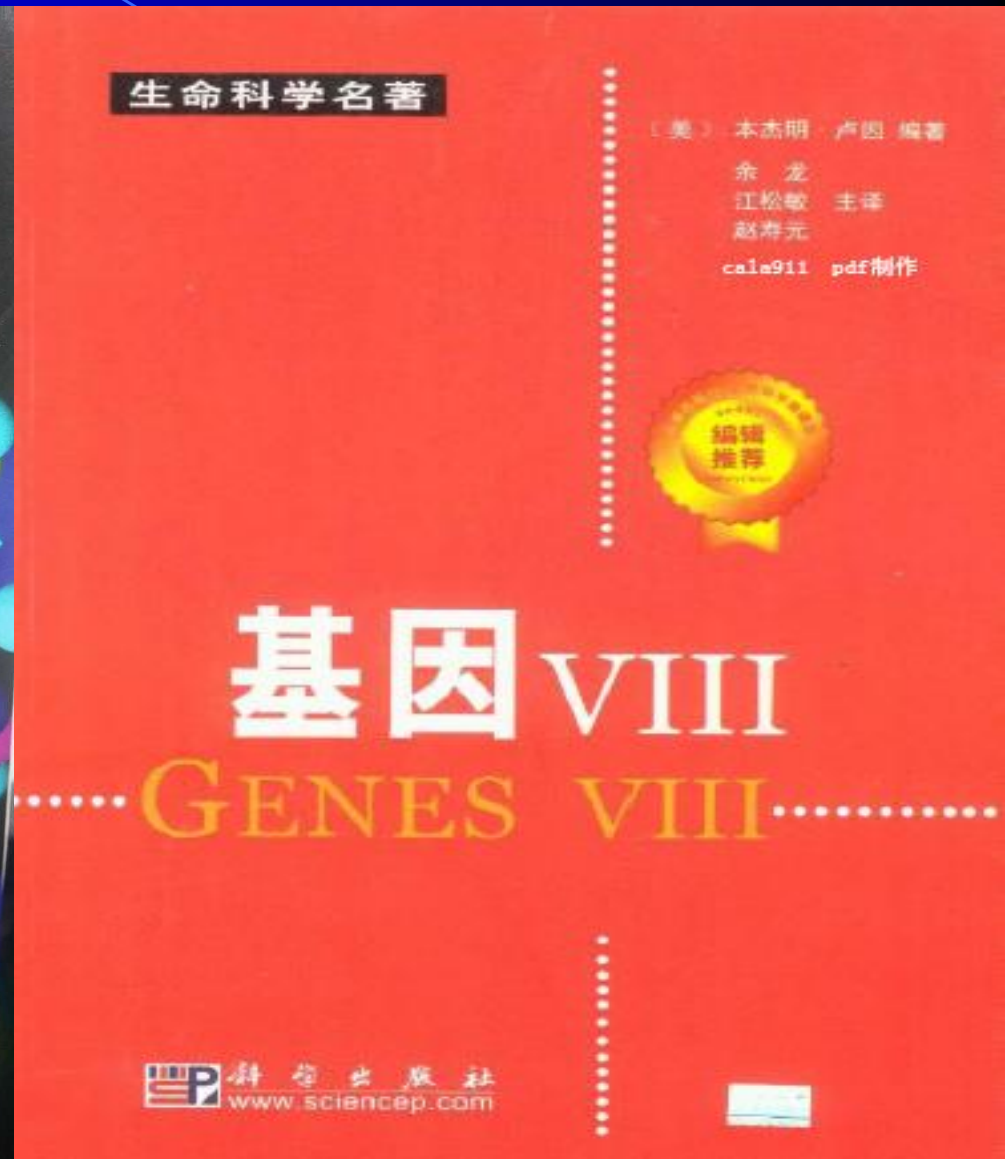
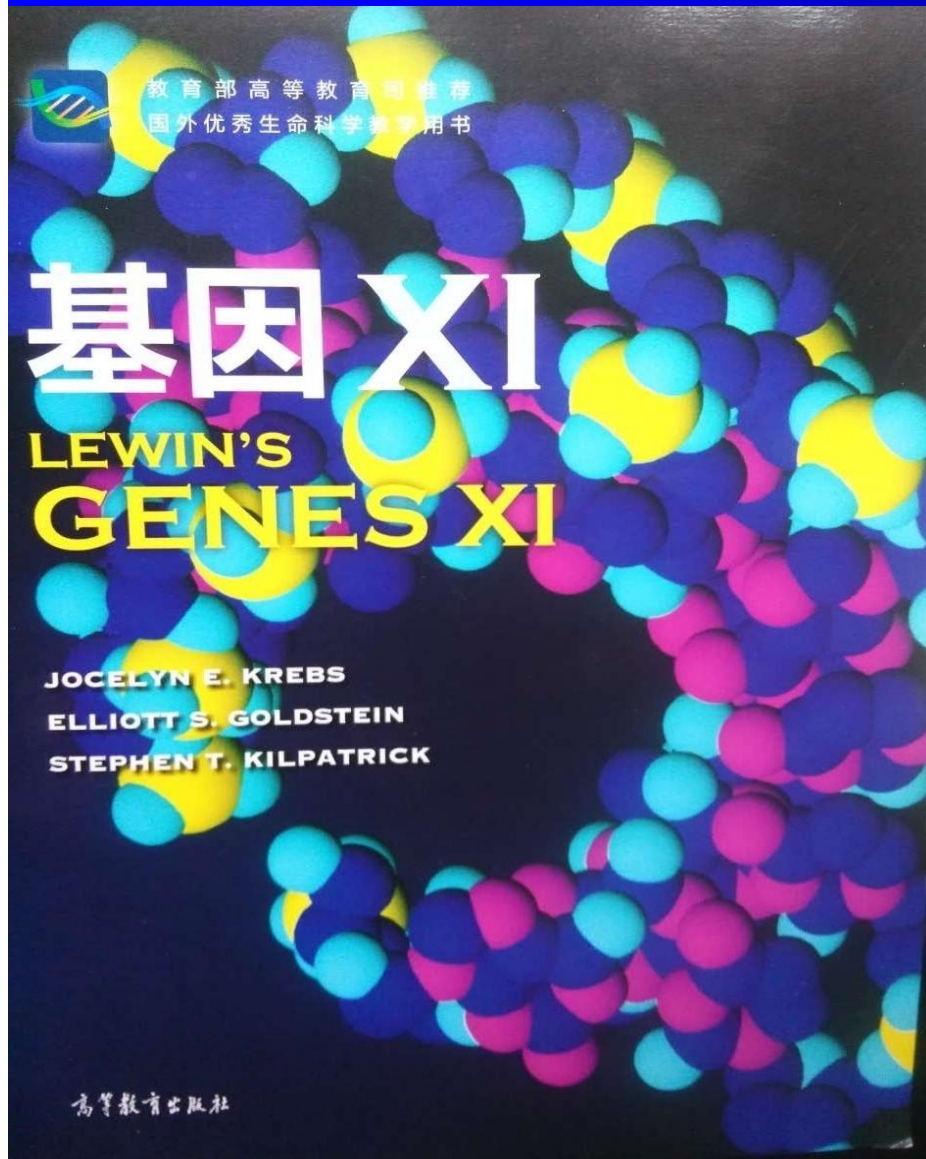
# 遗传病诊断



密码子重复导致亨丁顿舞蹈症。

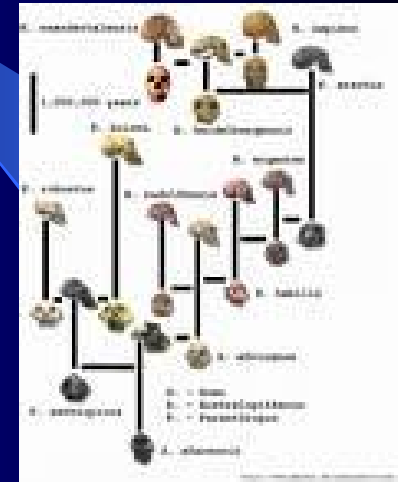
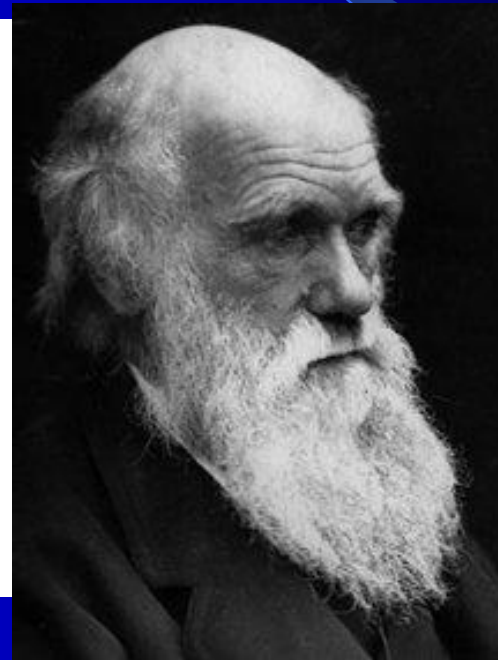
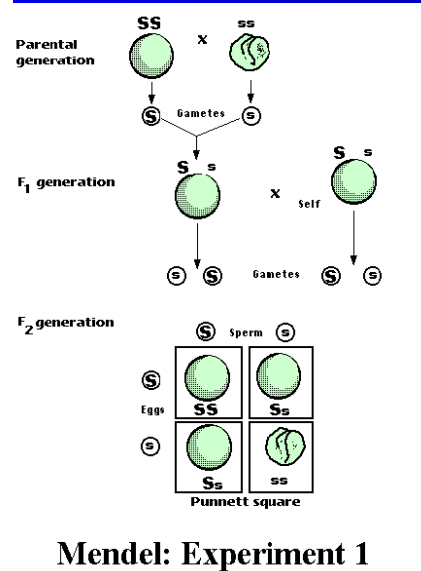
在与亨丁顿舞蹈症 (Huntington's disease) 有关的基因编码中, CAG重复了很多次。如果在复制过程中多溜进去一套CAG碱基对, 校对机制便有可能检查不出来, 因为两边都有很多重复的CAG。多一个CAG的结果是产生的蛋白质多了一个氨基酸。幸运的是这个蛋白质有一定灵活性, 可以容纳些许多余。只有当变异的长度超过一个关键值时才会发病。而由于错误会逐代积累, 亨丁顿舞蹈症在子代身上会比父代更加严重。

# 基因？





# Scientist and Science



孟德尔（1822-1884），奥地利人，遗传学的奠基人，天主教神父  
遗传学的两个基本规律，即分离规律和自由组合规律

# 基因-生命的密码

- 1866年Mendel 开创遗传学，Factor: 因子 控制颜色
- 1909年: 丹麦遗传学家W. Johansen将孟德尔遗传因子命名为 **gene 基因** （谈家桢先生） **计量单位**
- 基因在哪里？最早看到它的表现形式是从果蝇的唾液腺发现了染色体的形状（1880年德国的Flemming发现染色体）
- 1910-1925年摩尔根利用果蝇做研究材料，证明基因是呈直线排列的遗传单位

# 基因的发展

---

- 1869年，瑞士的Miescher在研究伤口脓细胞化学成分的过程中发现核素
- 二十世纪初美国的Levene确定以核苷酸连接为基础的核酸一级结构
- 瑞典的Caspersson等证明染色体含核酸和蛋白质，但当时生物化学家都以为DNA无特异性、缺乏信息携带能力

# 肺炎球菌型间转化实验

1942年11-12月，Oswald T. Avery, Colin MacLeod 与 Maclyn McCarty 得到转化物质，元素分析其氮和磷含量都相同于

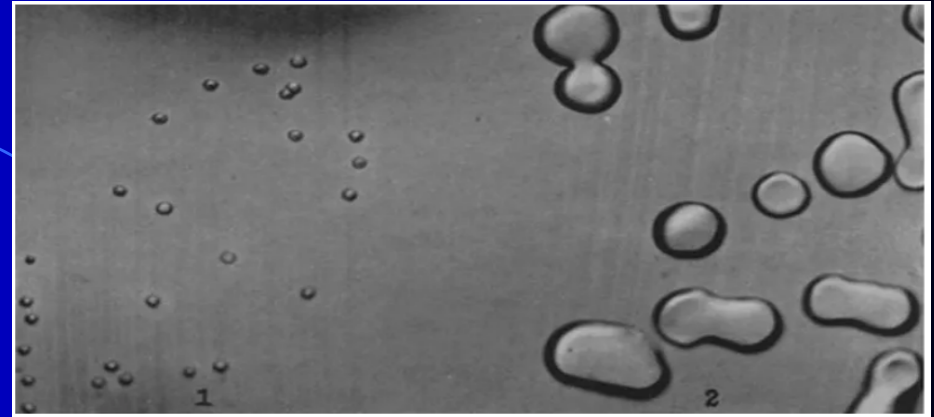
**DNA**

1943年4月 Avery 给洛克菲勒科学顾问委员会的报告中写道：

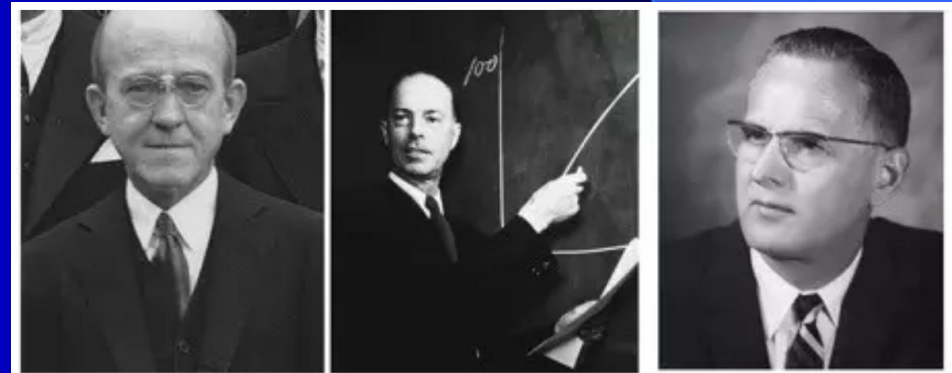
转化因子--核酸—可比为基因 (**gene**)

确定了**DNA**是真正的遗传物质，非蛋白质；抗原为多糖

无心插柳，最后成荫；医学研究副产品

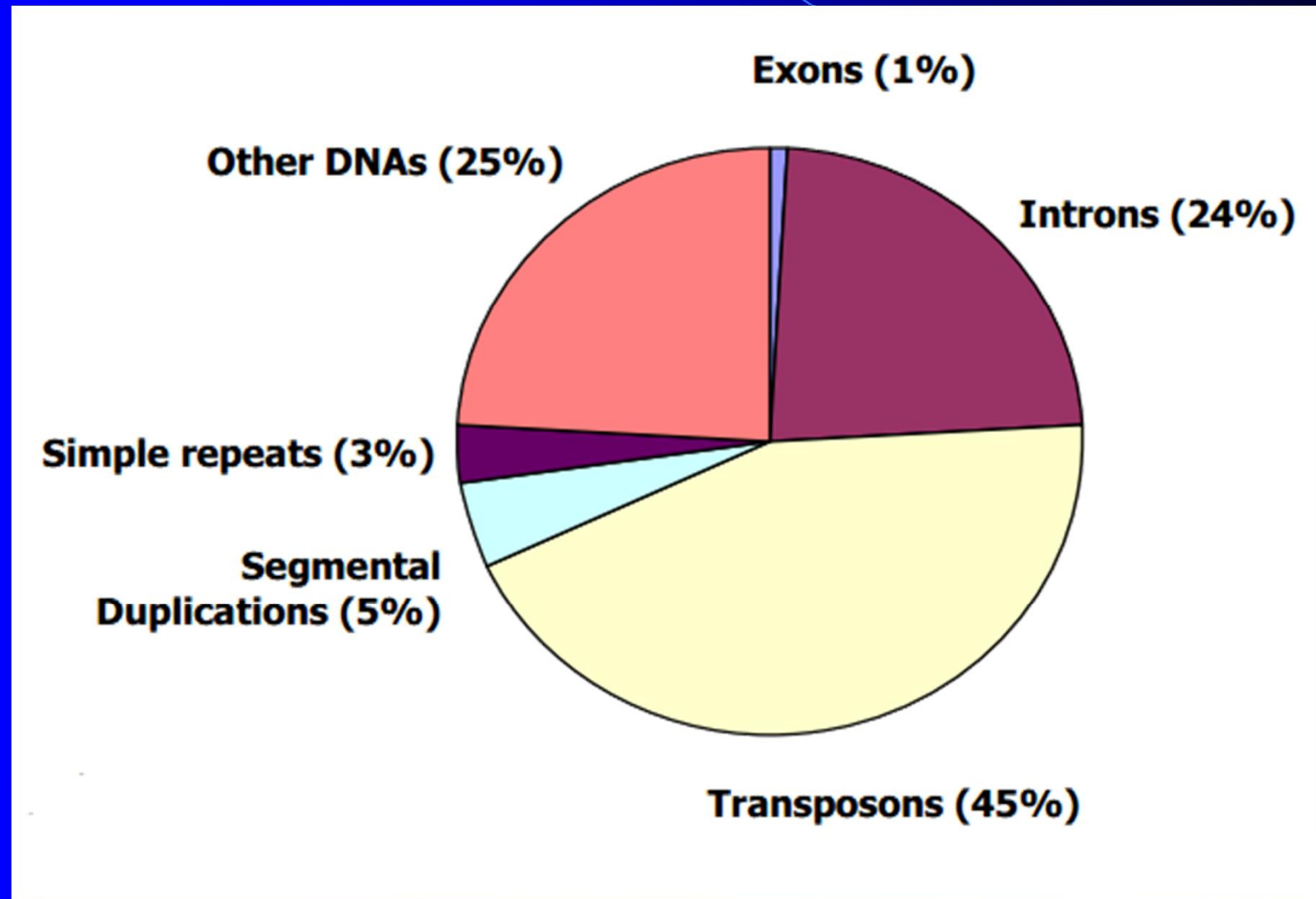


左：不致病的II型R类肺炎球菌  
右：致病的III型S类肺炎球菌



1944年Avery、MacLeod、McCarty共同发表论文，一般认为与Watson和Crick (1953) 并列为二十世纪生物学最重要的文章

# 转座子

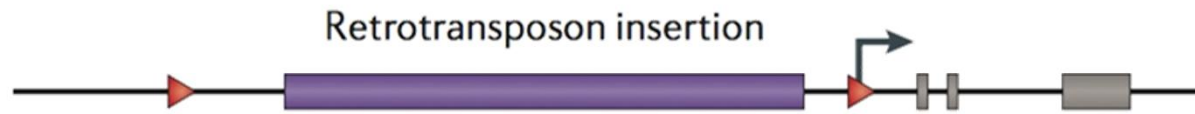




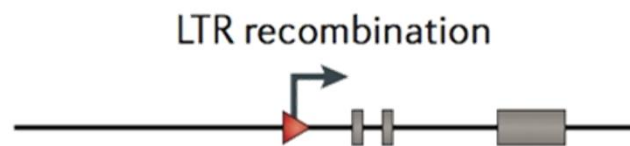
**Navalina**



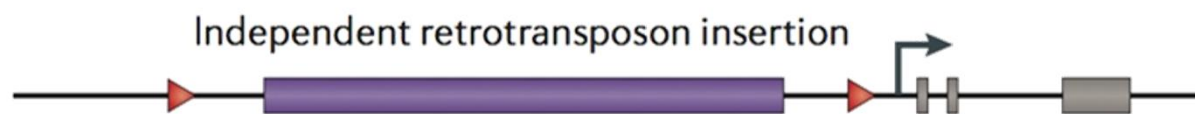
**Tarocco**



**Maro (I)**



**Jingxian**



# 跳跃基因

1950年B. McClintock  
发现玉米中的Ac-Ds系统



1983.

Barbara McClintock (86y)

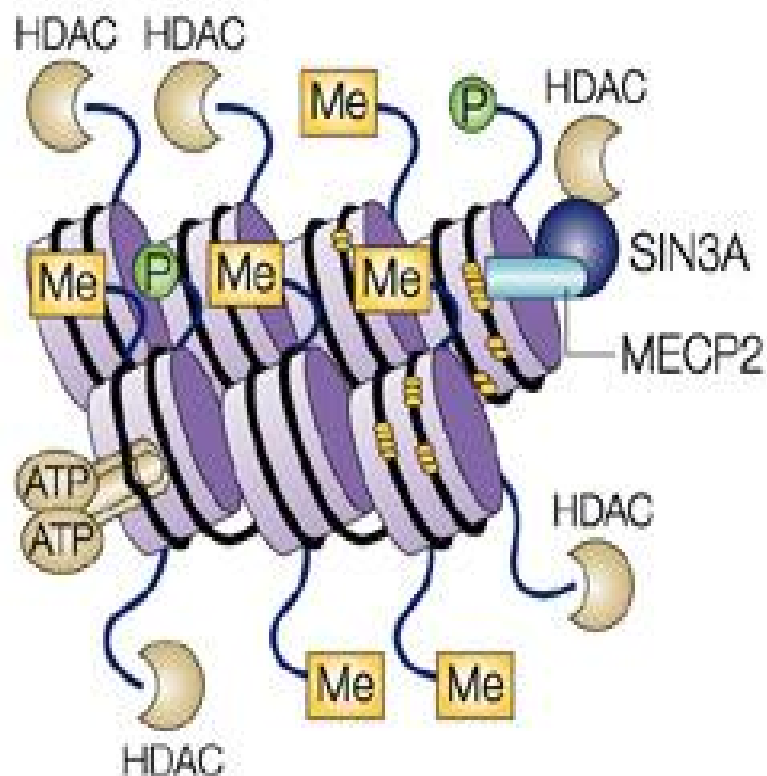
DNA transposable element



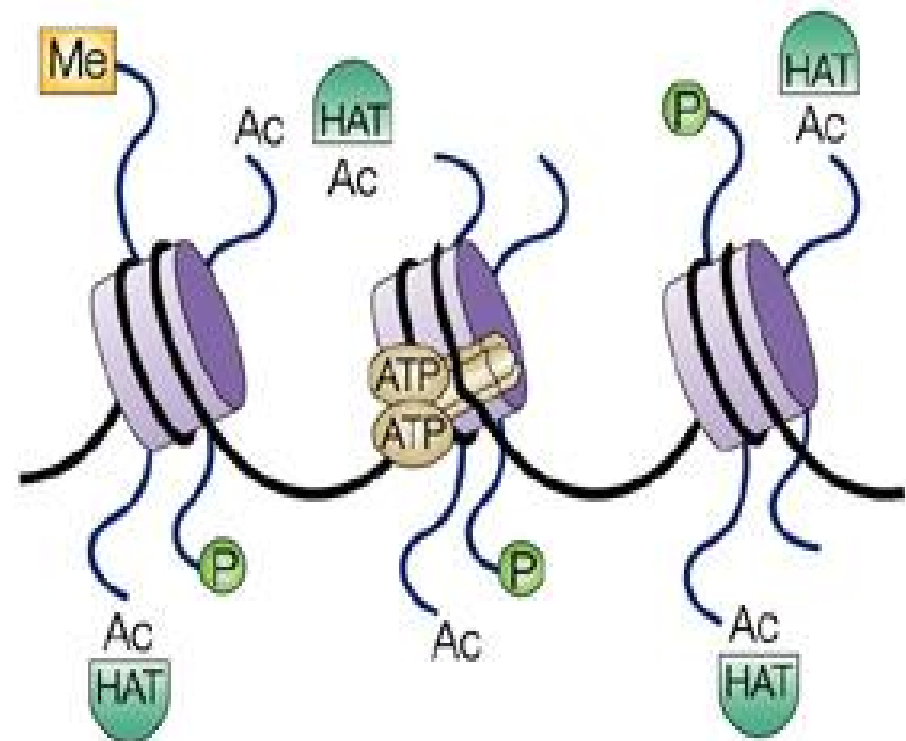
Johnstone 2002

# Epigenetic Mechanisms

**a** Closed chromatin: transcriptional repression



**b** Open chromatin: transcriptional activation





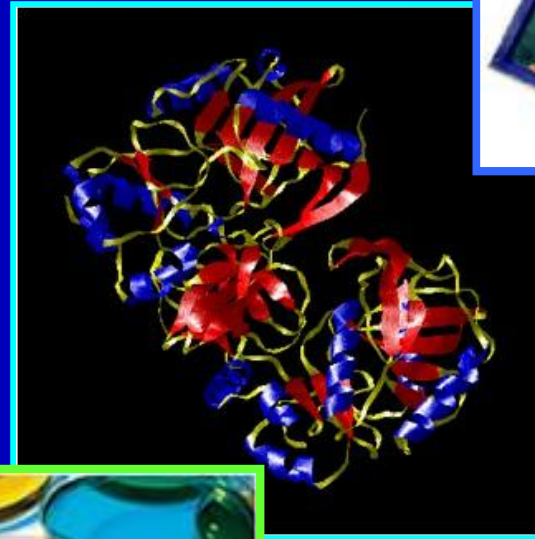


酶(粉色)在信使RNA(蓝色)上放置一个化学标记(金色)

英国剑桥大学的Tony Kouzarides报道了一种新mRNA修饰和一种导致白血病的相关酶  
怀疑还有更多的（mRNA修饰和酶）与白血病有联系 2019.7

# 分子生物学

- 学习方法-理解
- 上课内容-核心
- 参考书
- 重点-课件







“十五”国家级规划教材

# 基础 分子生物学

第3版

主编 郑用琰

高等教育出版社

普通高等教育“十五”国家级规划教材

# 基础分子生物学

Fundamental  
Molecular  
Biology

主编 郑用琰



高等教育出版社  
Higher Education Press

B



4<sup>th</sup> edition by Ha  
Berk, S. Lawrence  
Matsudaira

y Harvey Lodish,  
cott, Paul  
and James Darnell

# MOLECULAR CELL BIOLOGY

Lodish  
Berk  
Kaiser  
Krieger  
Bretscher  
Ploegh  
Amon  
Martin

Eighth  
Edition

FOURTH EDITION

## MOLECULAR CELL BIOLOGY



教育部高等教育出版社  
国外优秀生命科学教材用书

## 基因 XI LEWIN'S GENES XI

JOCELYN E. KREBS  
ELLIOTT S. GOLDSTEIN  
STEPHEN T. KILPATRICK

Media Connected

高等教育出版社

# 分子生物学

---

分子生物学是研究核酸、蛋白质等生物大分子的形态、结构特征及其重要性、规律性和相互关系的科学

从分子水平上真正揭示生物界的规律  
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学科

The purpose of **Molecular Biology of the genes** is to provide a firm foundation for understanding how DNA functions as the template for biological complexity.

分子生物学定义

生物大分子结构和功能研究

分子生物学和分子遗传学的区别

分子遗传学主要侧重于研究核酸的结构与功能

# 分子生物学主要研究方法

---

生化方法：分离纯化，离心，电泳，层析等

分子生物学方法：

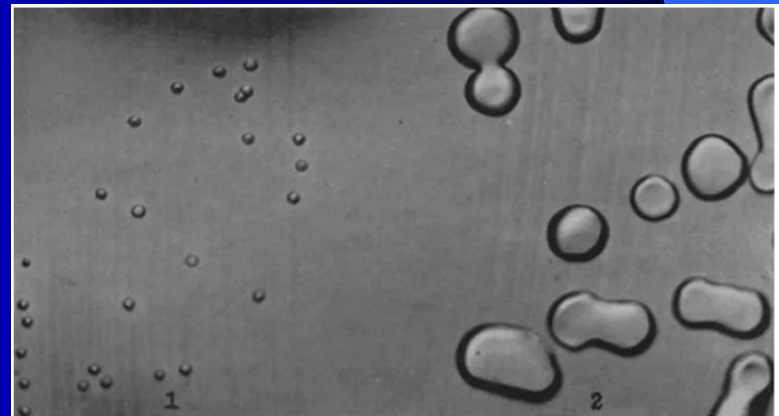
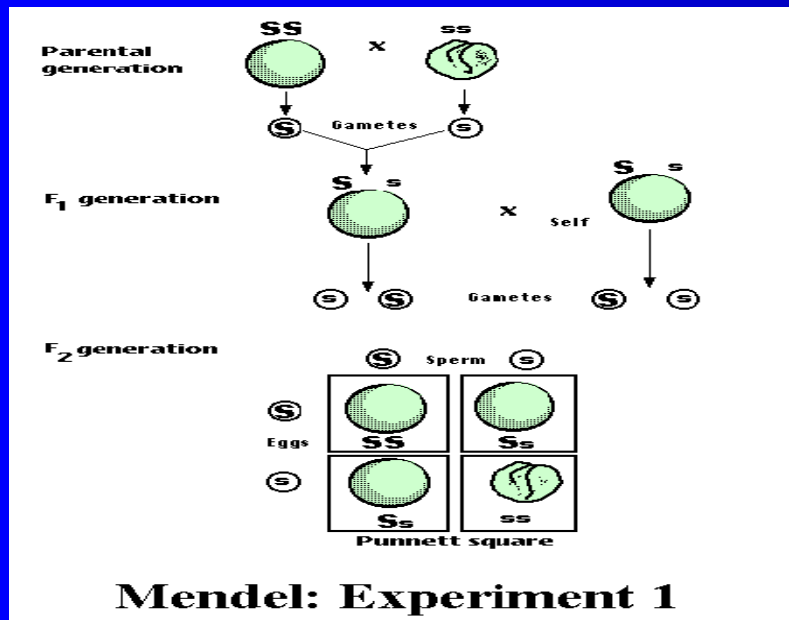
模型分析、推理

定点突变，体外重组，PCR，测序

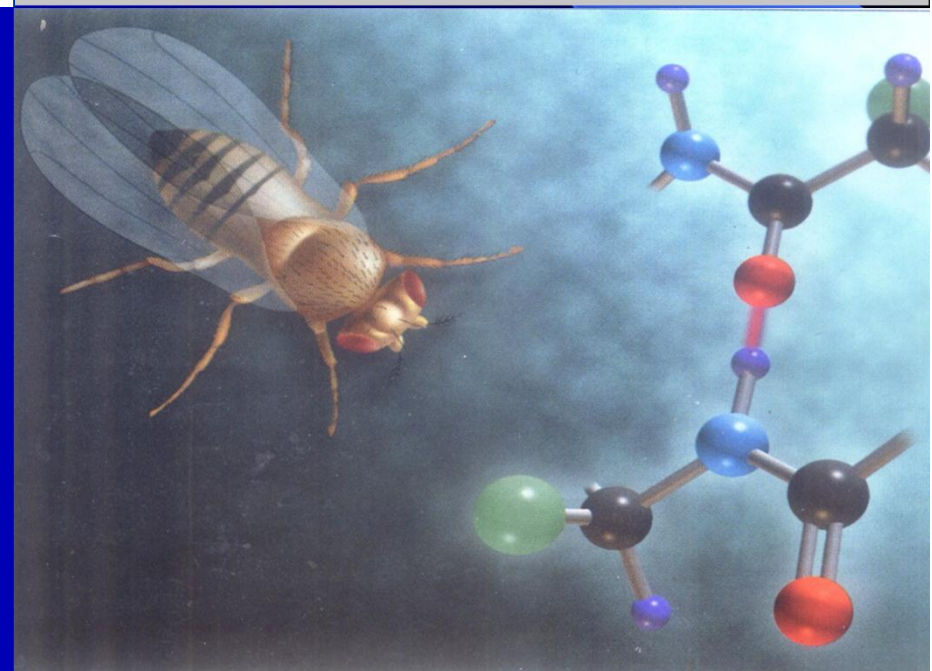
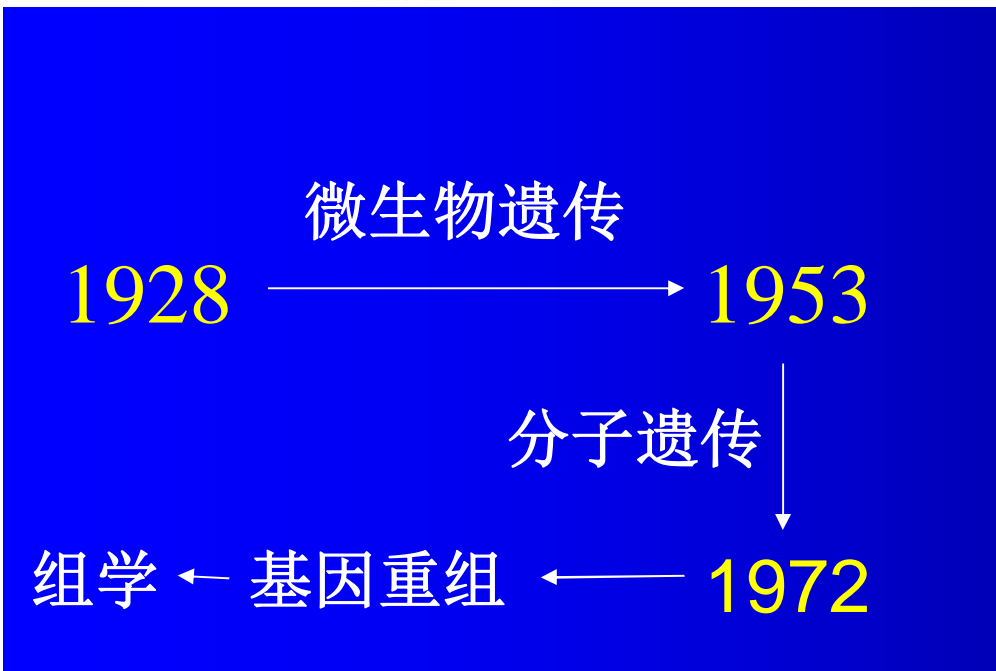
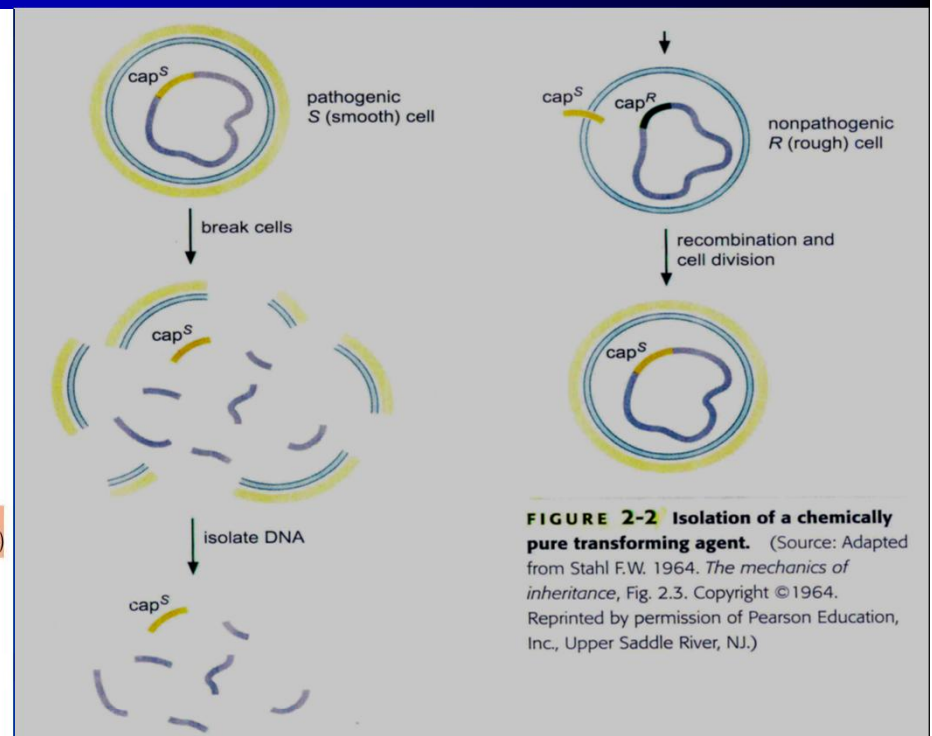
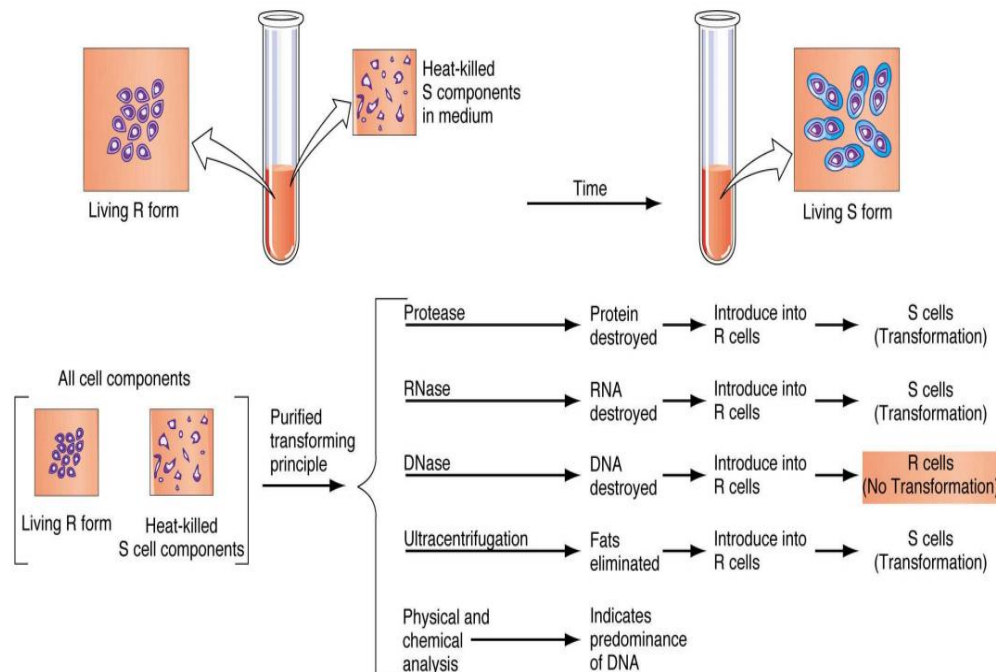
分子杂交，体外表达，RNA干扰 基因编辑等

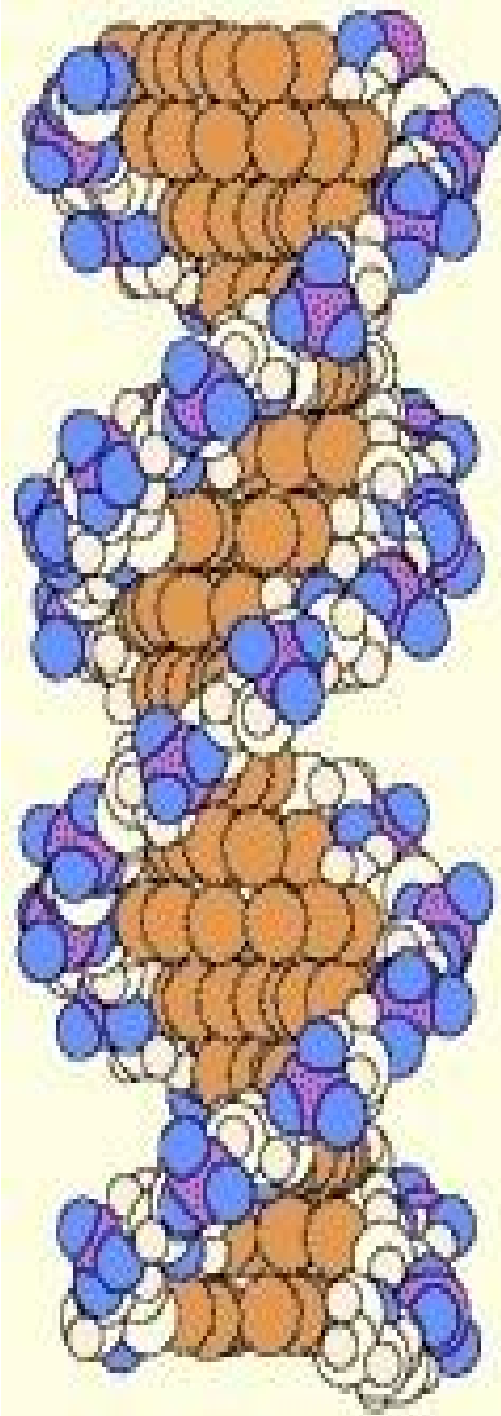


# 遗传学发展简史



1868  $\longrightarrow$  1928  
经典遗传





小沟

大沟

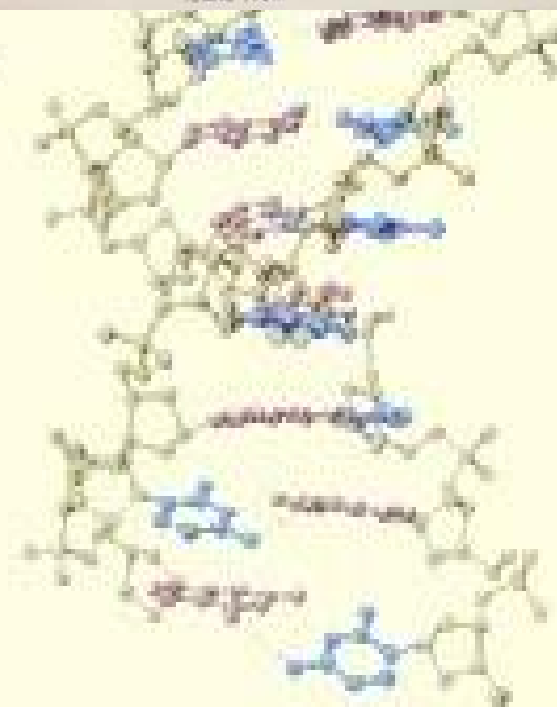


3.4nm

1953年，发现了DNA双螺旋的沃森只是个刚刚离开校门的大学生，克里克是个不得志的物理学家，说到学识造诣，他们并不是诺贝尔奖桂冠最合适的人选，但是独一无二的开阔眼界和敏捷思维，使沃森和克里克当之无愧地获得了1962年诺贝尔奖。



克里克与沃森



# 全球第一座“DNA”大桥





# 分子生物学简史

---

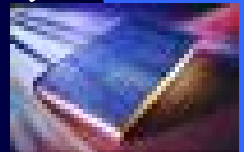
**Watson . Crick . 1953年建立DNA的双螺旋模型**

1953 Benzer, S. 建立了染色体的精细作图方法和互补测验。提出了“顺反子”概念

Ochoa, S. 等首次发现了多核苷酸磷酸化酶并体外合成多聚核苷酸

1956 Volkin, E. 和Astrachan, L. 首次发现噬菌体T2的mRNA

1956 Gierer, A. 和Schramm, G. 发现烟草花叶病毒遗传物质是RNA





# 分子生物学简史

---

1958: Meselson, M. 和 Stahl, F.W 用同位素标记  
证实DNA的半保留复制

1961 Jacob, F.和Monod, J.提出了操纵子模型

Crick, F.H.C., Barrett, L., Brenner, S. 等  
证实 遗传密码为三联密码;

Nirenberg, M.W. 和Matthei, J.H. 建立了无  
细胞合成体系



# 分子生物学简史

---

1962 Gierer, A.; Warrur, J.R. 及 Stachelin 三个课题组分别发现多核糖体

1964 Nirenberg 等通过三联体结合实验破译全部有义密码子

Holliday, R. 提出了 DNA 重组模型

1966 Crick, F.H.C. 提出反密码子的摆动学说

1971 Temin, H.M., Mizutani, S. 和 Baltimore, D .

- 同时发现了 RNA 反转录酶



# 分子遗传学发展大事记

---

- 1977 Sanger, Gilbert 建立测序方法
- Sharp和Roberts 发现内含子
- 1979 Wang, A. H-J和 Rich, A. 提出Z-DNA模型
- 1980 Botstein, D. 等用限制性片段长度的多态性构建人类遗传学连锁图
-

# 跳跃基因

1950年B. McClintock  
发现玉米中的Ac-Ds系统



1983.

Barbara McClintock (86y)

DNA transposable element







限制性核酸内切酶的发现及其在分子遗传学中的应用



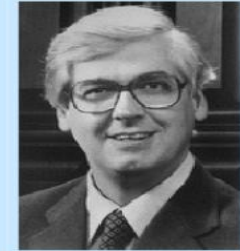
阿尔伯  
Werner Arber

瑞士生物学家  
巴塞尔 Biozentrum 大学  
1929~



内森斯  
Daniel Nathans

美国微生物学家  
霍普金斯大学医学院  
1931~



史密斯  
Hamilton O. Smith

美国微生物学家  
霍普金斯大学医学院  
1931~

发现并应用限制性内切核酸酶绘制了  
**SV40基因图谱，1978年获诺贝尔奖**



1972年 Berg等: PNAS  
构建第一个DNA重组分子:  
利用EcoRI和连接酶获得了  
SV40和噬菌体DNA杂合的分子



# 分子重组时代

---

70年代初 Graessmann等 显微注射法转移基因

1972年 Grahant等 磷酸钙介导DNA转移过程

1972年 P.Berg: 构建第一个DNA重组分子  
2种病毒DNA的重组

1973年 S.S.Cohen: 第一个基因克隆实验

1977年 H.W.Boyer, 第一个基因工程产品  
somatostatin 生长素释放抑制因子

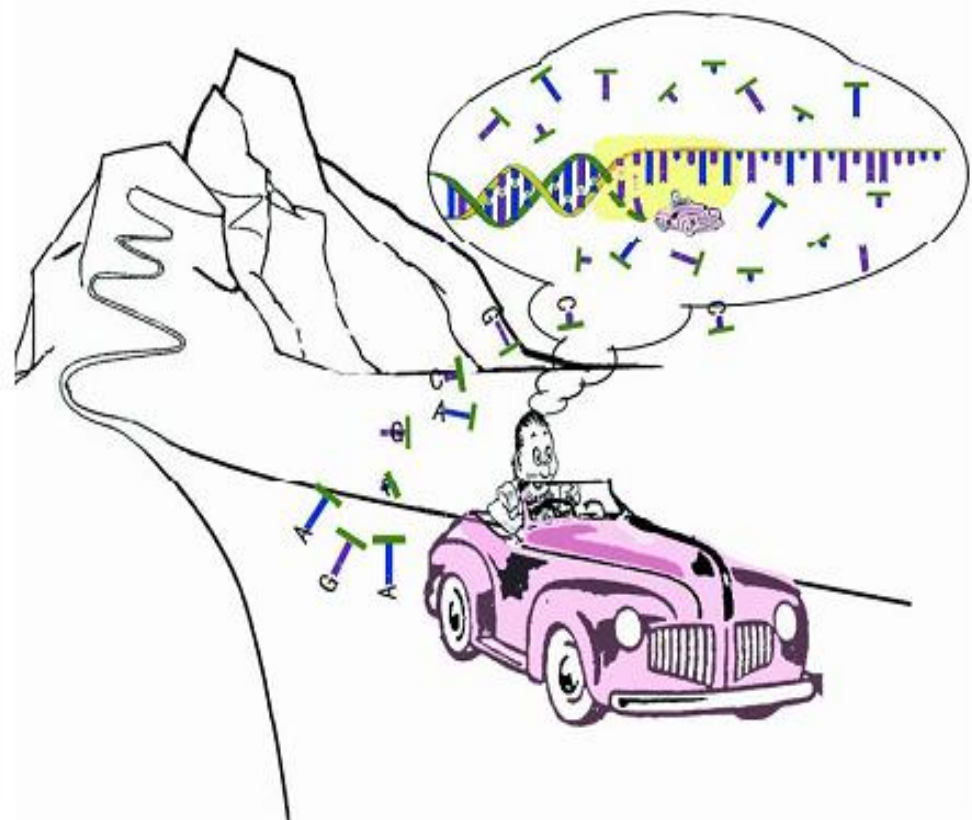
1978年 Chang,A.C.Y. 等首次将真核基因 (dhfr)  
在细菌中进行表达

# 80年代的代表性研究领域

---

- ❖ 基因工程产品的开发应用
- ❖ 定点突变的研究与应用
- ❖ 癌基因的发现
- ❖ DNA-蛋白质分子相互作用
- ❖ PCR技术的出现

**"for his invention of the polymerase chain reaction (PCR) method"**



**Kary B. Mullis** 1944 -

# 90年代的代表性研究领域

—发育生物学的发展

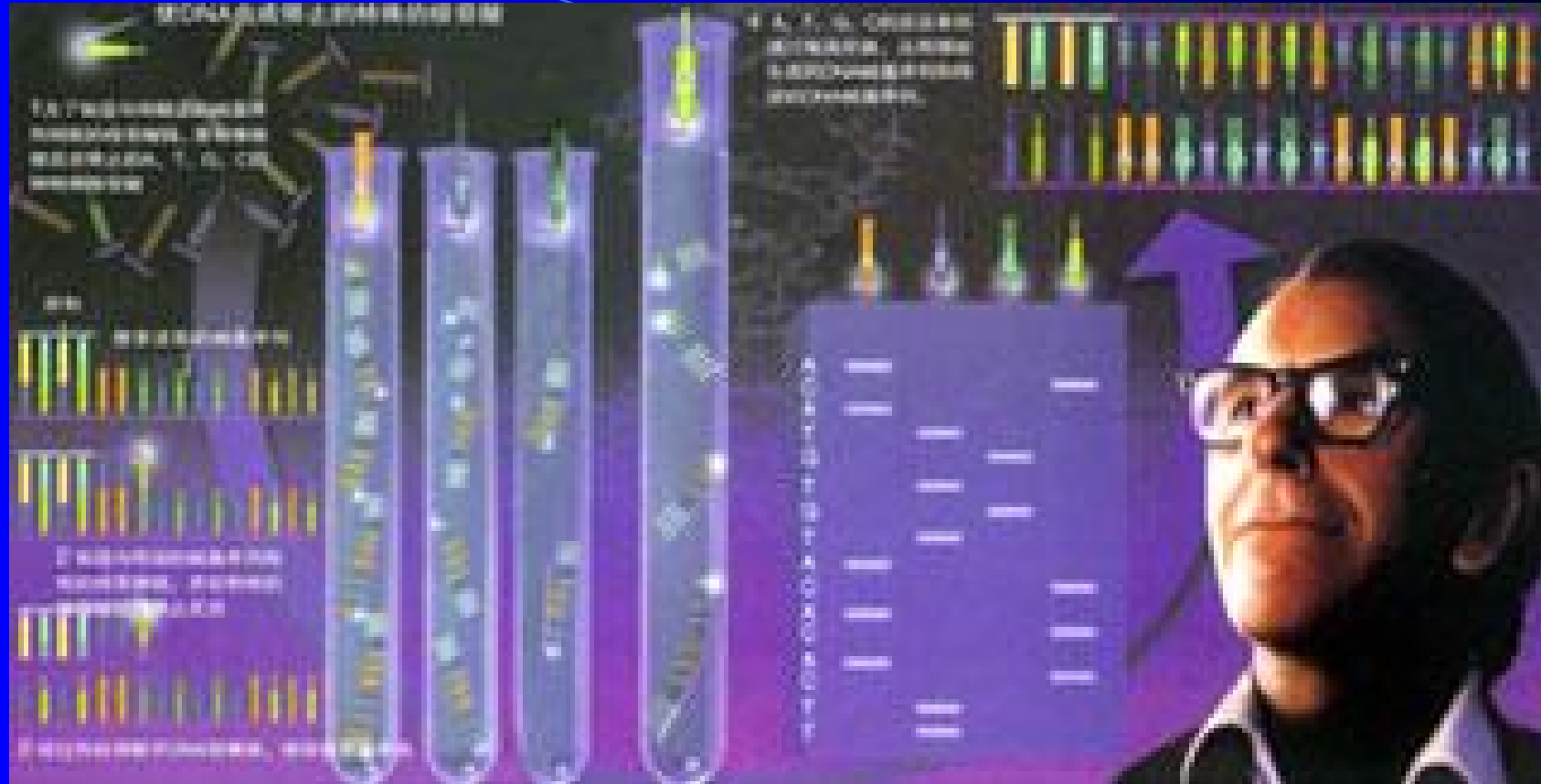
➤ 1997年2月 苏格兰 Wilmut 绵羊

“多利”的克隆

➤ 为发育生物学研究开拓了新的空间







基于桑格开发的DNA自动定序机使一周（24小时运转）解  
读100万甚至几百万个碱基成为可能

1998 Sanger F. 等完成线虫的基因组测序

# 解读生命的“天书” — HGP

---

- ❖ 基因组一指的是生物体内的所有DNA
- ❖ 人类基因组计划—人体23对染色体中所有DNA序列
- ❖ 共由31.647亿个碱基对，3万—3.5万个基因
- ❖ 生命天书由30多亿个字写成，如果将这30多亿字排版到一张报纸上，那么大约需要20万页纸才能排完这部巨著



# 生命天书的盲区

---

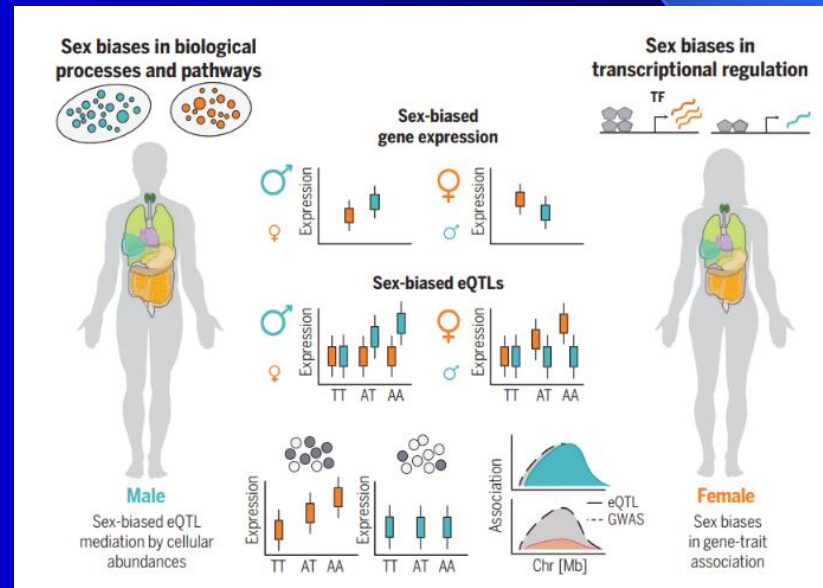
- ❖ 20年前基因组草图完成测序后，人类以为可以解码基因组中蕴藏的秘密，找到不同疾病的根源
- ❖ 人类的基因组只有1%-2%介绍了生命元件-蛋白序列
- ❖ 剩余98%-99%，则决定了这些元件是否制造、何时制造、制造多少、如何调控.....



# 基因调控的遗传学

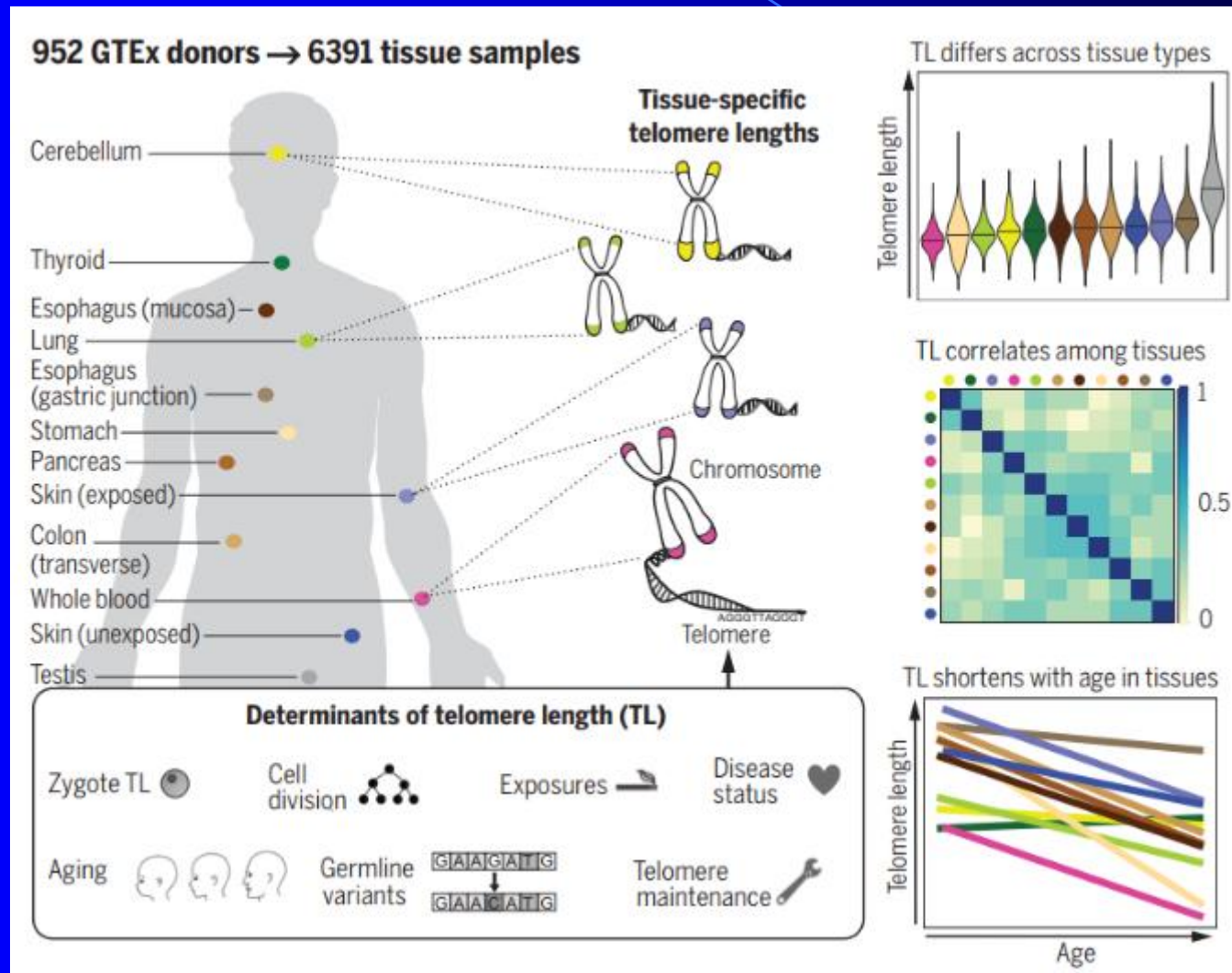


2010年启动了“基因型-组织表达”（1.5亿美元），目前**Science**、**Nature**等期刊发表了15篇论文  
数据库包含了超过**900**人的数万件组织样本进行了基因RT-PCR分析





# 不同组织端粒长度不同



# 分子生物学诺贝尔奖

- 
- **Morgan T.H.**      美      1933      1910年发现连锁定律,奠定了遗传的染色体学说
  - **Beadlr G.W.**      美      1958      1941年建立“基因—酶”学说
  - **Ochoa S.**      美      1959      1955年发现多聚核苷磷酸化酶
  - **Kornberg A.**      美      1959      1956年发现DNA聚合酶
  - **Watson . Crick .** 美      1962      1953年建立DNA的双螺旋模
  - **Jacob , Monod.** 法      1965      1961年提出乳糖操纵子模型
  - **Rous F.P.**      美      1966      1910年发现鸟类中的致癌病毒

# 分子生物学领域诺贝尔奖

---

- Ni renberg M. W. 美 1968 1964年破译遗传密码
- Khorana H. G. 美 1968 1965年破译遗传密码
- Delbruck M. D. 美 1969 1953年证实噬菌体的遗传物质
- Temin H. 美 1975 1970发现RNA病毒的反转录酶
- Sanger F. 英 1980 1977年建立“ 加 减”法测序
- Berg P. 美 1980 1972建立体外重组技术
- Mullis K. B 美 1993 1985年建立PCR技术

# 分子生物学领域诺贝尔奖

- McIntock B. 美 1983 1950年发现转座和转座因子
- Cech T. R. 美 1989 1981年发现RNA的自体拼接
- Altman S. 美 1989 1971年分离了RNase P并阐明了tRNA前体5'端的加工
- Smith M. 美 1993 1984年建立定点突变技术
- Sharp P. A. 加 1993 1977年发现断裂基因
- Gilman A. G 美 1994 1977细胞信息传递中G蛋白
- Lewis E. B. A 美 1995 1978年发现了控制果蝇分节的基因家族—Hox基因



# 分子生物学诺贝尔奖

Prusiner S.B	美	1997	1977年发现朊病毒
Blobel G.	美	1999	1975建立了信号假说
Hartwell L.H	美	2001	1973控制细胞周期基因
查德-阿克塞尔等		2004	气味受体和嗅觉
Craig C. Mello等		2006	RNAi
钱永健		2008	GFP-现代生物学的北斗星
伊丽莎白等		2009	端粒酶
大禹良典		2016	细胞自噬
化学奖：泛素降解 (2004)			
核糖体结构和功能的研究 (2009)			

# 导论：中心法则探讨

---

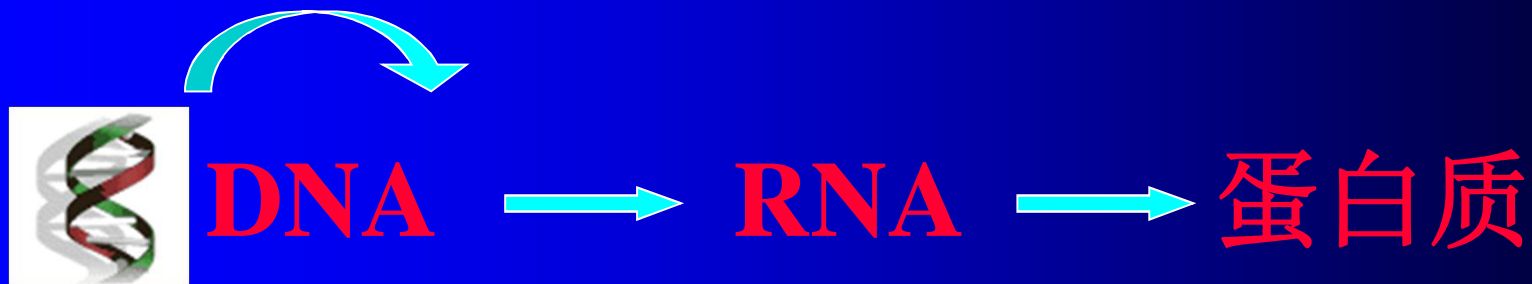
科学预见\*→分子生物学诞生

## 中心法则的提出和修正

遗传物质：能独立的自我复制(第一过程)

对细胞的特异性有高度影响(第二过程)

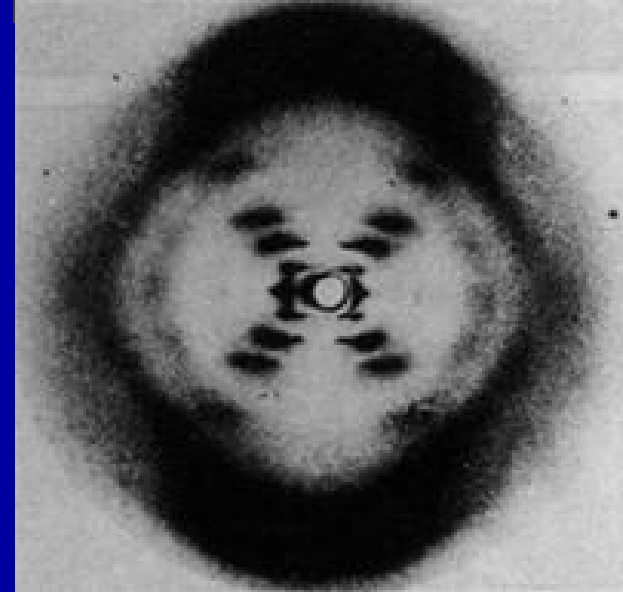
1958年 Crick提出



# DNA纤维X-光衍射照片

---

1952年，Wilkins  
和Franklin用高度  
定向的DNA纤维作出  
高质量的X-光衍射  
照片



# DNA的反向平行双螺旋模型

- 1953年，Watson和Crick提出DNA的反向平行双螺旋模型
- 1962年，Watson和Crick共获诺贝尔化学奖
- 



On February 28, 1953, in this (Eagle) pub in Cambridge, James Watson and Francis Crick announced their discovery of the structure of DNA by saying:

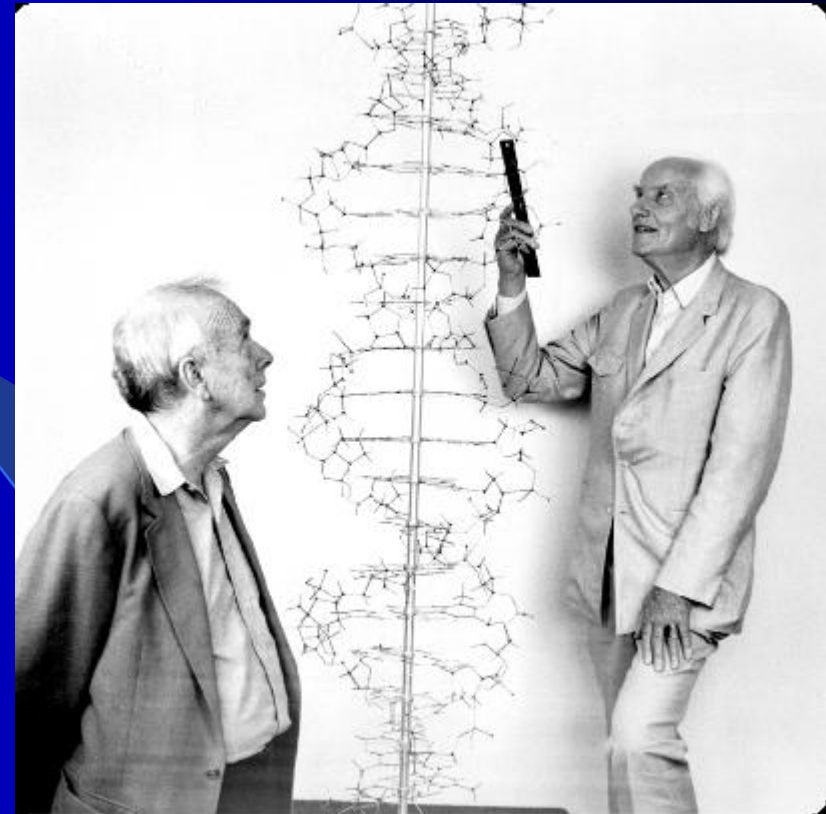
**“We have discovered the secret of life!”**



***"We have discovered the secret of life!"***



1953



1993

# 中心法则要点

Crick: ....我本人的思想是基于两个基本原理，我称之为序列假说 (sequence hypothesis) 和中心法则 (central dogma)...

sequence hypothesis :

核酸片段的特异性完全由其碱基序列所决定，而且这种序列是某一蛋白质氨基酸序列的密码。

central dogma :

信息一旦进入蛋白质，它就不可能再输出

1970 Temin : Nature 《Central Dogma Reverse》

# 逆中心法则？

---

- Reverse transcription  
Temin H. m Nature 1970 (226):1211
- Splitting gene  
Phillip Sharp . 1977
- Untranslated sequence  
Huang W.M. Science 1988 (239): 4843
- RNA alternative splicing  
Christopher W. Ann. rev. Genet. 1989(23) : 527
- RNA editing  
Cech T. R. Cell 1991 (64): 667

Intron PolyA

# 中心法则遇到的挑战

蛋白质的遗传信息不一定来自核酸

- 以蛋白质为模板的肽链合成（抗菌肽 非DNA模板）
- 遗传信息的翻译后加工

eg: ConA

N-29肽 —— N端半分子 —— 15个残基的连接肽 —— C端半分子 —— 9肽-C

Asn-N-糖苷键高甘露糖型

- 切割，糖基化
- N段及C端均从C端切去一段小肽
- 原来的N端和C端连接

非DNA信息的加工过程



# 朊病毒的发现



- 1950: 新几内亚岛富雷族 每个村都有妇女死于 Kuru病。
- 1961 富雷 男: 女 2: 1
- 1963 美国农场 病貂 大猩猩 Kuru

## 医源性疾病:

- 1971 女 角膜营养不良症 一年半后发作CJD
- 1974 女 抗菌性癫痫 电极 二年后发作CJD
- 1976 爱丁堡遗传学家迪金森 生长激素
- 1963 NIH 激素与脑下垂体计划 20万儿童  
National Institutes of Health
- 1984-1996 全球 80人死亡 美国86年停用

# 诺贝尔奖竞猎大赛

---

- 加得赛克的预言 （慢病毒）
- 生化学家兼神经学家普西纳Stanley Prusiner  
1972 加州大学旧金山分校 神经科大夫 29岁  
CJD 化学家  
申请项目分离羊骚痒症致病因子：  
病毒学                      羊              老鼠              仓鼠  
合作kuilu临床研究

82 Science :

引起羊骚痒症的传染性新蛋白质粒子

# ●Prion的化学性质

---

- 蛋白酶K处理瘙痒因子可降低其侵染性
- 核糖核酸酶A及DNA酶却不能使其失活
- 核酸修饰剂对其侵染性没有影响
- 氨基酸化学修饰剂对其侵染性有抑制作用
- 蛋白质变性剂(如用3mol /L尿素处理该因子), 可使其侵染性不可逆地失活
- 对煮沸、辐射、紫外线等物理因子也有抵抗力。高压蒸气134℃~138℃60分钟可减少传染性但不能全部灭活

# ●蛋白质的传染性

---

- 提纯的Prion具有典型蛋白质紫外吸收光谱
- $A_{280}/A_{260}$ 比值为1.41
- 0.75%核酸, 按其分子量为28000计算, 每个提纯的Prion蛋白分子中只能含有不到一个核苷酸
- 用各种现代方法未能得到Prion有核酸的证据
- 以上这些特性都表明瘙痒因子为蛋白质
- 1997 Prusiner Prion  
强调蛋白质的传染性



# Prion的结构

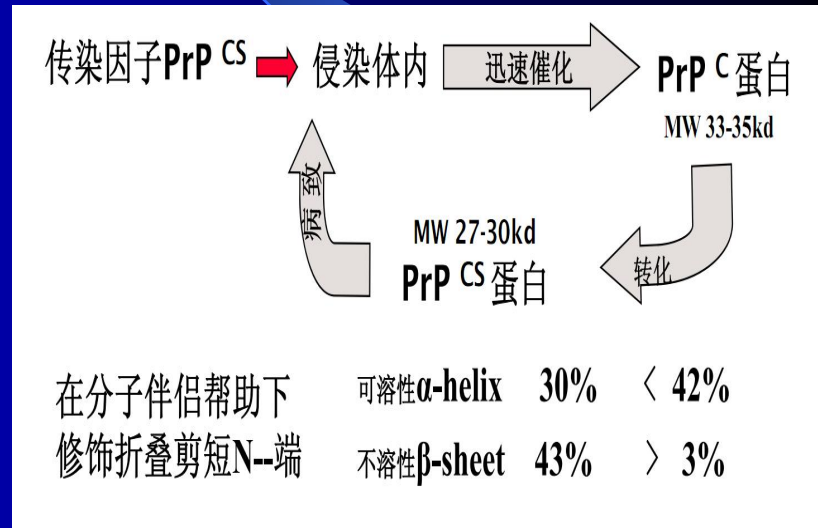
- **PrpSC**: 研究Prion常以绵羊瘙痒因子为模型, 致病的绵羊瘙痒因子称为PrpSC

- **PrpC**: 正常动物大脑中只有PrpC
- PrpSC N端较PrPC 少67aa

- 二级结构?

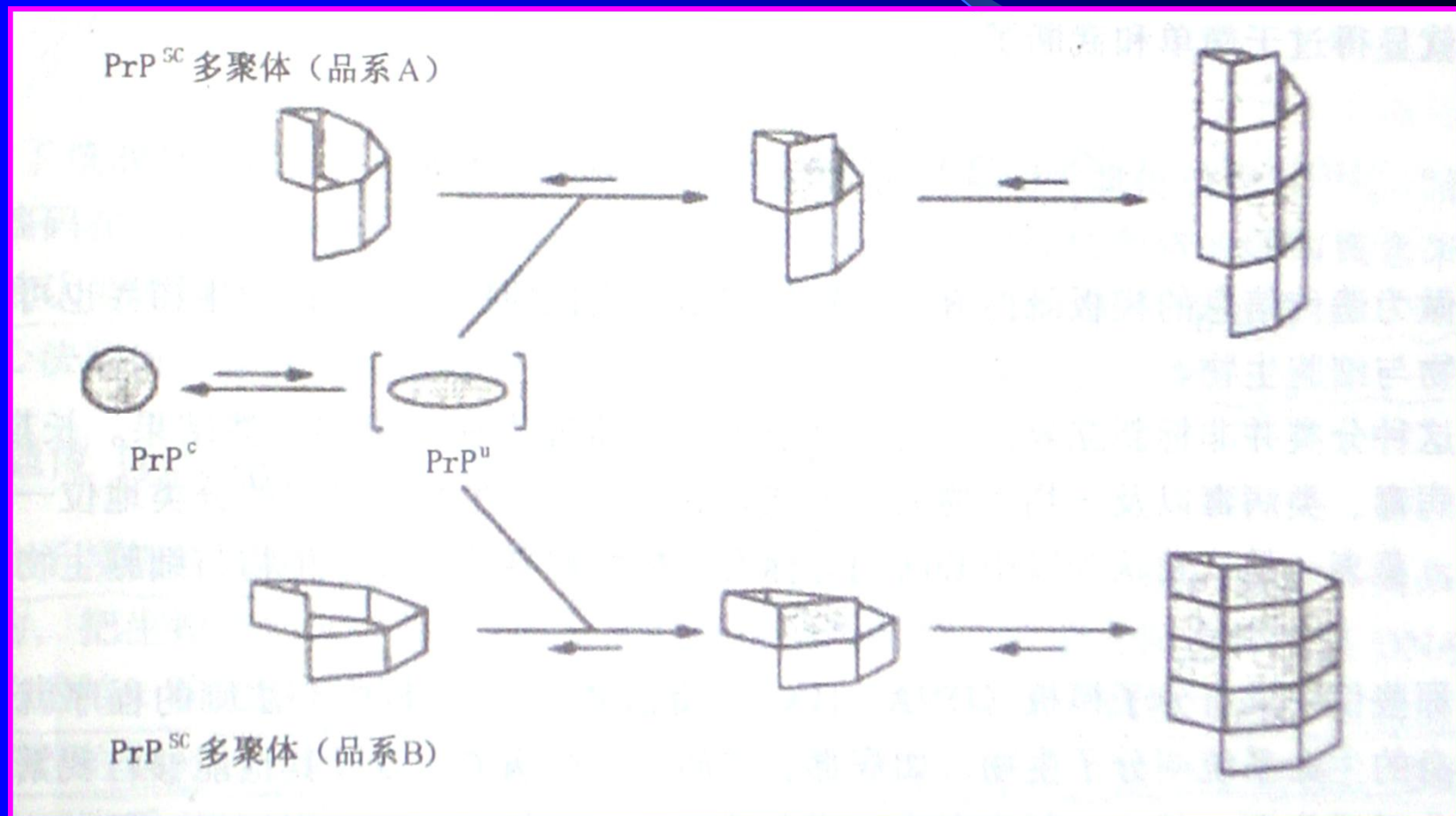
- **PrpC及PrpSC**立体构象:

- PrpC  $\alpha$  螺旋高达42%,  $\beta$  折叠仅3%,
- PrpSC却相反,  $\alpha$  螺旋基本丧失, 仅剩3%, 而  $\beta$  折叠则高达43%。



“分子构象病”

# Prion繁殖的成核依赖的 蛋白质多聚化模型



# 中心法则遇到的挑战续

---

## ➤ RNA的信息不完全来自DNA——模糊基因

eg: 锥虫的cox III 中167个位点上398个U  
插入, 9个删除.

探针: 60%RNA编辑. gRNA

## ➤ DNA水平的重排——转座

