

# 现代生物学导论

## VI 基因的秘密b (书上第五章、第十二章)

闫永彬

Yong-Bin YAN, Ph.D.  
清华大学 生命科学学院



YAN

1

### <基因的秘密>两次课的主要内容

- 1 基因的发现
- 2 基因和基因组
- 3 DNA半保留复制
- 4 RNA的组成和作用
- 5 遗传密码的破译 (看书了解)
- 6 转录及蛋白质的合成 (重点)
- 7 基因表达调控 (看书了解)
- 8 DNA相关生物技术 (看书了解)



YAN

2

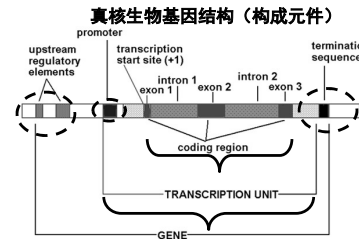
- Nirenberg和Khorana  
1968年 诺贝尔奖
- 无细胞系统 (cell-free system)

1. 连续性、方向性
2. 起始和终止密码子
3. 简并性
4. 普遍性与特殊性
5. 同义、错义、移码突变

第二核苷酸		U	C	A	G
第一核苷酸 (5'端)	U	UUU 苯丙氨酸 (Phe) UUC 苯丙氨酸 (Phe) UUA 亮氨酸 (Leu) UUG 亮氨酸 (Leu)	UCU 丝氨酸 (Ser) UCC 丝氨酸 (Ser) UCA 亮氨酸 (Leu) UCG 亮氨酸 (Leu)	UAU 酪氨酸 (Tyr) UAC 酪氨酸 (Tyr) UAA 终止密码 UAG 终止密码	UGU 半胱氨酸 (Cys) UGC 半胱氨酸 (Cys) UGA 终止密码 UGG 色氨酸 (Trp)
	C	CUU 亮氨酸 (Leu) CUC 亮氨酸 (Leu) CUA 亮氨酸 (Leu) CUG 亮氨酸 (Leu)	CCU 脯氨酸 (Pro) CCC 脯氨酸 (Pro) CCA 脯氨酸 (Pro) CCG 脯氨酸 (Pro)	CAU 组氨酸 (His) CAC 组氨酸 (His) CAA 谷氨酰胺 (Gln) CAG 谷氨酰胺 (Gln)	CGU 精氨酸 (Arg) CGC 精氨酸 (Arg) CGA 精氨酸 (Arg) CGG 精氨酸 (Arg)
	A	AUU 异亮氨酸 (Ile) AUC 异亮氨酸 (Ile) AUA 异亮氨酸 (Ile) AUG 甲硫氨酸 (Met) 起始密码	ACU 苏氨酸 (Thr) ACC 苏氨酸 (Thr) ACA 苏氨酸 (Thr) ACG 苏氨酸 (Thr)	AAU 天冬酰胺 (Asn) AAC 天冬酰胺 (Asn) AAA 赖氨酸 (Lys) AAG 赖氨酸 (Lys)	AGU 丝氨酸 (Ser) AGC 丝氨酸 (Ser) AGA 精氨酸 (Arg) AGG 精氨酸 (Arg)
	G	GUU 缬氨酸 (Val) GUC 缬氨酸 (Val) GUA 缬氨酸 (Val) GUG 缬氨酸 (Val)	GCU 丙氨酸 (Ala) GCC 丙氨酸 (Ala) GCA 丙氨酸 (Ala) GCG 丙氨酸 (Ala)	GAU 天冬氨酸 (Asp) GAC 天冬氨酸 (Asp) GAA 谷氨酸 (Glu) GAG 谷氨酸 (Glu)	GGU 甘氨酸 (Gly) GGC 甘氨酸 (Gly) GGA 甘氨酸 (Gly) GGG 甘氨酸 (Gly)
		U	C	A	G
		3'	3'	3'	3'



YAN



Exon 外显子：编码蛋白质的核苷酸片段。  
Intron 内含子：不能编码蛋白质的核苷酸片段。内含子也被认为是一类进化遗迹，它们之所以能继续存在，是因为具有重新组合基因组中的外显子以形成新的基因的能力，即内含子能赋予其携带者有更大的进化潜力；具有调节的功能等。



YAN

4

### 6 转录及翻译

#### ■ 中心法则

DNA控制蛋白质的合成是通过RNA来实现的，即遗传信息由DNA转录到mRNA，后者决定蛋白质的氨基酸序列。然后再在rRNA和tRNA的参与下，将信息再翻译成蛋白质。这就是遗传学中的“中心法则”。

转录      翻译  
DNA → RNA → 蛋白质  
逆转录

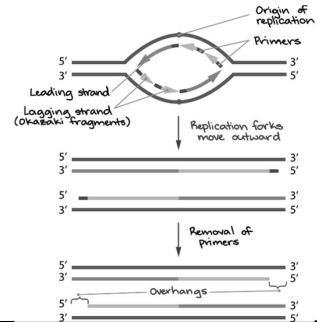
所以，遗传信息流是由DNA→RNA→蛋白质流动，但有些病毒RNA的也可自我复制（反转录或逆转录）



YAN

5

### 了解 ➢ 端粒酶和端粒



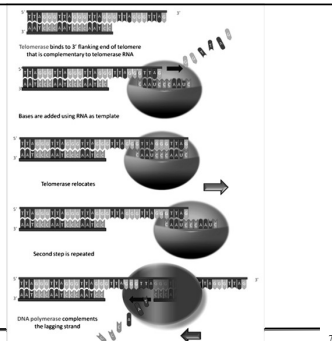
YAN

6

### 了解

#### ➢ 端粒酶和端粒

- Some eukaryotic cells contain an enzyme with reverse transcription (逆转录) activity called telomerase. Telomerase carries an RNA template from which it synthesizes a repeating sequence of DNA. This repeated sequence of DNA is called a telomere and can be thought of as a "cap" for a chromosome.



YAN

7

### 了解

#### The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1975

David Baltimore, Renato Dulbecco, Howard M. Temin

#### The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1975

Nobel Prize Award Ceremony

David Baltimore

Renato Dulbecco

Howard M. Temin



David Baltimore Renato Dulbecco Howard M. Temin

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1975 was awarded jointly to David Baltimore, Renato Dulbecco and Howard Martin Temin "for their discoveries concerning the interaction between tumour viruses and the genetic material of the cell".



YAN

8

真核细胞中，由DNA控制的蛋白质合成涉及两个基本过程：

- 第一步，DNA的遗传信息转录到mRNA中，发生在细胞核中；
- 第二步，将mRNA的信息翻译成蛋白质是发生在细胞质中。

但在原核生物中遗传信息的转录和翻译是在同时同地（胞质中）。

ZHEU-SLS  
YAN

■ 6.1 转录 (transcription) 和转录后加工 (post-transcriptional processing/modifications)

- 转录发生在细胞核中，以DNA分子为模板（模板链），在启动子的控制下，按照碱基互补的原则，合成一条单链的RNA即mRNA，DNA分子携带的遗传信息被转移到RNA分子中。其过程与DNA的复制基本相似的。
- 转录的开始与终止是由启动子和终止子控制的。

ZHEU-SLS  
YAN

转录的基本过程包括：

1. RNA聚合酶识别启动子，并与模板DNA结合；
2. 基因转录的起始；
3. mRNA链的延长；
4. 转录的终止。

ZHEU-SLS  
YAN

• 转录基本过程

ZHEU-SLS  
YAN

➢ 启动子 (Promoter) 是RNA聚合酶特异性识别和结合的DNA序列。启动子是基因的一个组成部分，控制基因表达（转录）的起始时间和表达的程度。启动子就像“开关”，决定基因的活动。

ZHEU-SLS  
YAN

➢ 延伸

ZHEU-SLS  
YAN

➢ 终止子 (Terminator) 在转录终止点前有一段回文序列。回文序列的两个重复部分(每个7~20bp)由几个不重复的bp节段隔开。回文序列的对称轴一般距转录终止点16~24bp。

富含GC区 富含AT区

DNA (编码链) 5'-CCCACAGCCGCGCAGTTCGCTGGCGGGCAATTTAACTTTTAAATG-3'  
DNA (模板链) 5'-GGGTGTCGGCGGTCAAGGCGACCGCGCTAAATTTGAAAGAAATTAAT-3'  
mRNA (转录) 5'-CCCACAGCCGCGCAGTTCGCTGGCGGGCAUUUU-OH-3'

茎环结构 (发夹结构)

5' -CCCACA AUUUU-OH-3'

ZHEU-SLS  
YAN

了解 Specificity: enhancer-promoter (增强子-启动子) contacts via transcriptional factors (转录因子)

Cis-regulatory/acting elements (CRE, 顺式作用元件): a more accurate replacement of the word enhancer

trans-acting factors (TF, 反式作用因子): now (1) binding DNA in a sequence-specific manner and (2) regulating transcription

Understanding long-range E-P contacts

Hafner, A., Boettiger, A. The spatial organization of transcriptional control. Nat Rev Genet (2022).  
https://doi.org/10.1038/s41576-022-00526-0  
Cell, Volume 172, Issue 4, 8 February 2018, Pages 650-665

ZHEU-SLS  
YAN

**了解** Cell identity as a transcription-factor-driven emergent property

**Modifiers**

- Soluble factors (e.g. cytokines)
- Cell-to-cell contacts
- Metabolites
- Others

**Components**

3D conformation  
Epigenome  
TFs  
Transcriptome

**Emergent property**

Cell identity

Nature volume 569, pages 345–354 (2019)  
https://www.nature.com/articles/s41586-019-1182-7

ZHEU-SLS  
YAN

**了解** 经典孟德尔遗传学无法解释

- 同卵双胞胎，基因组一样
- 不改变基因的基础上，环境的影响可能会被遗传（工蜂和蜂王）

Mario F. Fraga, et al. (2005) *PNAS* vol. 102 10604

ZHEU-SLS  
YAN

**了解** 环境信号如何产生可遗传的影响  
(表观遗传学, epigenetics; 表观基因组, epigenome)

环境信号（营养物质、激素、尼古丁等）以化学分子的形式，经过一系列细胞内生化反应之后，被传递到细胞核内。环境因素可能会通过对遗传物质（染色体中的DNA和组蛋白，RNA等）的修饰或结构改变，从而产生不改变DNA序列可遗传的影响。表观遗传学信息提供了何时、何地、以何种方式去应用遗传信息的指令。

**Starvation-Induced Transgenerational Inheritance of Small RNAs in *C. elegans***

Oliver Riedel, A. Li, Leah Hosh-Zare, Sant Anaya, ..., San-Yen Kuo, Gregory J. Hannon, Oliver Riedel · *Stress* 2014

DOI: https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.06.020

ZHEU-SLS  
YAN

**了解**

Genes that can be expressed

Genes inactivated by DNA methylation

● Methylated  
○ Unmethylated

ZHEU-SLS  
YAN

**真核生物细胞成熟mRNA的形成过程（转录后的加工）**

- 转录后新合成的mRNA是未成熟的mRNA，需要在特定部位剪接，最后形成较短的有功能的RNA。
- 原核生物中，DNA链上不存在内含子。

ZHEU-SLS  
YAN

**剪接体 (spliceosome) 和剪接**

- 前体信使RNA由多个内含子和外显子间隔形成，必须通过剪接体的作用去除内含子、连接外显子之后才能转变为成熟的信使RNA，这一步简称剪接 (splicing)
- 剪接体是一个巨大而又复杂的动态分子机器，由多个核RNA-蛋白复合物组装而成，具有识别mRNA前体的5'剪接位点和3'剪接位点和分支点、并完成剪接的各步催化反应
- 清华生命学院施一公研究组连续取得重大突破！感兴趣的同学可以参阅相关报道

ZHEU-SLS  
YAN

**剪接体 (spliceosome) 和剪接**

- 剪接体是一个巨大而又复杂的动态分子机器，由多个核RNA-蛋白复合物组装而成，具有识别mRNA前体的5'剪接位点、3'剪接位点和分支点、并完成剪接的各步催化反应

**了解**

ZHEU-SLS  
YAN

**剪接体 (spliceosome) 和剪接**

- RNA聚合酶和核糖体的结构解析曾分别获得2006年和2009年的诺贝尔化学奖。剪接体结构解析是世界结构生物学公认的难题
- 清华生命学院施一公研究组连续取得重大突破！感兴趣的同学可以参阅生命学院主页的相关报道

**了解**

Science, 2015/8/19  
Science, 2016/1/6  
Science, 2016/7/20  
Science, 2016/12/14  
Cell, 2017/5/12  
Cell, 2017/9/15  
Science, 2018/1/4

ZHEU-SLS  
YAN

**RNA transcription**

The diagram illustrates the process of RNA transcription in a eukaryotic cell. It shows a DNA double helix with a transcription bubble. RNA polymerase II is shown transcribing the DNA into a pre-mRNA strand. The pre-mRNA has a 5' cap (7-methylguanosine) and a 3' poly-A tail (polyuridylic acid). The diagram also shows the removal of introns and joining of exons to form a mature mRNA molecule. The mature mRNA is then translated into a protein by a ribosome.

**Key components and steps:**

- Transcription:** RNA polymerase II transcribes the DNA template into a pre-mRNA strand.
- 5' Cap:** The 5' end of the pre-mRNA is capped with 7-methylguanosine.
- 3' Poly-A Tail:** The 3' end of the pre-mRNA is polyadenylated with polyuridylic acid.
- Splicing:** Introns are removed, and exons are joined together to form a mature mRNA molecule.
- Translation:** The mature mRNA is translated into a protein by a ribosome.

Pre-mRNA, 前体mRNA

5' **exon** GU **intron** n t r o n **exon** AG 3'

Processing: splicing, capping, polyadenylation

Mature mRNA, 成熟mRNA

The structure of a typical human protein coding mRNA including the untranslated regions (UTRs)

Cap 5' UTR Start Coding sequence (CDS) Stop 3' UTR Poly-A

5' 3'

编码区 UTR: untranslated region 非翻译区

The diagram illustrates the classical and alternative splicing pathways for protein synthesis. At the top, a chromosomal DNA segment is shown with six exons (Exon 1 to Exon 6) and introns. Transcription of this DNA produces a primary RNA transcript containing all six exons. This transcript can follow two different pathways:

- Classical book:** The primary RNA transcript is spliced into a single mRNA (1-2-3-4-5-6). This mRNA is then translated into Protein 1.
- 可变剪接 (Alternative splicing):** The primary RNA transcript is spliced into three different mRNAs:
  - mRNA 1 (1-3-4-5-6) is translated into Protein 2.
  - mRNA 2 (1-3-5-6) is translated into Protein 3.
  - mRNA 3 (1-3-4-6) is translated into Protein 3.

The diagram shows that alternative splicing of a single gene can produce multiple different proteins (Protein 1, Protein 2, and Protein 3) from the same DNA template.

[illegible]

## 细胞外有没有RNA?

[illegible]

**Ada E. Yonath**  
Weizmann Institute  
of Science  
Rehovot, Israel

- 细胞中蛋白质的合成是一个严格按照mRNA上密码子的信息指导氨基酸单体合成为多肽链的过程，这一过程也称为mRNA的翻译。
- mRNA的翻译需要有mRNA、tRNA、核糖体、多种氨基酸和多种酶等的共同参与。
- 翻译过程(即多肽链的合成)包括起始、多肽链延长和翻译终止3个基本阶段。

### ■ 蛋白质的合成过程（翻译）

➢ 翻译开始时，核糖体小亚基先与mRNA的起始密码子（如AUG）部位和一个带有相应反密码子的特定tRNA相结合。接着核糖体大亚基与核糖体小亚基结合。起始tRNA处于核糖体的P位，下一个氨基酸由相应的氨酰tRNA携带进入到A位。

➢ A位氨基酸的氨基与P位氨基酸的的羧基之间形成肽键。起始tRNA与氨基酸脱离，P位的tRNA转移到E位后脱离核糖体。新形成的二肽的tRNA转移到已空出的P位上，A位又可以接受下一个氨酰tRNA。

➢ 随着翻译的进行及多肽链的延长，当mRNA上的终止密码子进入到核糖体的A位时，一种肽链释放因子（蛋白质）便与A位的终止密码子结合。多肽链与P位的tRNA水解分离，合成完毕的多肽链从核糖体中被释放出来，再折叠组装成有功能的蛋白质。

ZHU-SLS

YAN

33

➢ 翻译过程中，由于每一个氨基酸是严格按照mRNA模板的密码序列被逐个合成到肽链上，因此，mRNA上的遗传信息被准确地翻译成特定的氨基酸序列。

➢ 在细胞质中，翻译是一个快速过程，一段mRNA可以相继与多个核糖体相结合，同时连续进行多条同一种新肽链的合成。

ZHU-SLS

YAN

34

### Model for translation stimulation by 5'-3' interactions

mRNA环化促进翻译效率

ZHU-SLS

YAN

35

### 了解 ■ mRNA lifecycle

Yan-YS, WIREs RNA, 2014

ZHU-SLS

YAN

36

### ■ 基因表达调控（自学书上5.4）

真核生物基因表达的调控可以发生在不同的水平上：

- （1）转录水平的调控；
- （2）对前体mRNA的加工；
- （3）mRNA穿过核膜向细胞质运输的调控；
- （4）在细胞质中mRNA的稳定性调节和mRNA的选择性降解；
- （5）mRNA的选择性翻译和翻译速率的调节；
- （6）蛋白质产物的修饰、折叠与活化等。

ZHU-SLS

YAN

37

### ■ 6.3 DNA操作相关生物技术（书第十二章，主要看书了解即可）

➢ DNA重组技术

DNA重组技术，又称为基因或分子克隆技术，是基因工程的核心技术。是指将外源目的基因片段通过DNA连接酶的作用插入到质粒载体中的过程。该技术包括了一系列的分子生物学操作步骤，利用了多种相关技术。

DNA重组的起始过程本质上是一个酶促生化过程，DNA片段只有与载体重组并转入合适的宿主细胞中才能进行复制。

ZHU-SLS

YAN

38

### DNA重组相关技术

- ① 质粒；
- ② 工具酶；
- ③ 电泳技术；
- ④ PCR技术；
- ⑤ 分子杂交技术
- ⑥ .....

ZHU-SLS

YAN

39

### ① 质粒/载体

#### 质粒(Plasmid)基本概念

独立于染色体外的，能自主复制且稳定遗传的遗传因子。是一种环状的双链DNA分子。

存在于细菌、放线菌、真菌以及一些动植物细胞中，在细菌细胞中最多。


细菌质粒是用的最多的质粒类群，其大小从1K-200Kb，它们复制时利用宿主细胞复制自身基因组DNA的同一组酶系。

Plasmids are small circular DNA molecules that are found inside some prokaryotic cells.

ZHU-SLS

YAN

40



ZHU-SLS  
YAN


**载体 (Vector):**

用于携带重组DNA, 并且能够使外源DNA一起在寄主体内复制与表达的质粒 (运载工具)。

**具备的条件:**

- 在受体细胞中可以独立复制; 载体应具有能够在特定宿主细胞中独立自我复制的复制起始点, 保证插入的外源片段的复制;
- 并且具有多个限制性内切酶的单一位点, 即多克隆位点, 用于插入外源片段, 而又不破坏质粒本身的结构;
- 易于筛选和鉴定; 还具有易于筛选和检测的标记性基因, 如抗药性基因、酶基因或营养缺陷型等。

41




ZHU-SLS  
YAN

② 工具酶

DNA重组技术中对DNA的“精雕细刻”主要用酶作为工具。分子生物学研究过程中发现的酶, 许多都用作工具, 所以称在核酸及有关研究中像基本工具一样不可缺少的酶类为工具酶。这类酶包括限制性核酸内切酶、DNA聚合酶、DNA连接酶、末端修饰酶、RNA聚合酶、逆转录酶等。

42



ZHU-SLS  
YAN

■ 限制性核酸内切酶 (restriction endonuclease)


● 限制性核酸内切酶概念

- 从细菌中分离提纯的核酸内切酶, 可以识别并切开核酸序列特定位点——分子剪刀;
- 是一类能识别双链DNA分子特异性核酸序列的DNA水解酶。是体外剪切基因片段的重要工具, 所以常常与核酸聚合酶、连接酶以及末端修饰酶等一起称为工具酶;
- 限制性核酸内切酶不仅是DNA重组中重要的工具, 而且与电泳技术相结合还可以用于基因组酶切图谱的鉴定以及法医鉴定等。

Arber、Smith和Nathans因为在发现限制性内切酶方面开创性工作而共同获得了1978年的诺贝尔奖。

1978 Nobel Prize in Physiology or Medicine for the discovery of restriction endonucleases.

43



ZHU-SLS  
YAN

③ 电泳技术 (Gel Electrophoresis):


电泳的基本原理:

带电颗粒在电场的作用下, 向着与其电性相反的电极运动的现象称为电泳。

许多重要的生物分子, 如氨基酸、多肽、蛋白质、核酸等都具有可电离的基团, 它们在某个特定的pH值下可以带正电或负电, 在电场的作用下, 这些带电分子会向着与其所带电荷极性相反的电极方向移动。

电泳技术就是利用了这种性质, 使得将分离样品中由于各种分子带电性质以及分子本身大小、形状等性质的不同, 而产生不同的迁移率, 从而达到对样品进行分离、鉴定或提纯的目的。

44



ZHU-SLS  
YAN


④ 聚合酶链式反应 (PCR)

1) 多聚酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction, PCR):

是一种对特定的DNA片段在体外进行快速扩增的方法。

1985年 Kary Mullis及同事创立。随后借助于热稳定性Taq DNA聚合酶的发现 (1976年Chien等分离的热稳定性Taq DNA聚合酶), 使PCR自动化成为可能; 1987年Kary Mullis等完成了自动化操作装置, 使PCR技术进行实用阶段。1993年度, Kary Mullis因发明了“聚合酶链式反应”而获得诺贝尔化学奖。


45



ZHU-SLS  
YAN

- 原理类似于DNA的变性和复性过程, 即在高温 (93~95℃) 下, 待扩增的靶DNA双链受热变性成为两条单链DNA模板;
- 而后在低温 (37~65℃) 情况下, 两条人工合成的寡核苷酸引物与互补的单链DNA模板结合, 形成部分双链;
- 在Taq酶的最适温度 (72℃) 下, 以引物3' 端为合成的起点, 以单核苷酸为原料, 沿模板以引物5' → 3' 方向延伸, 合成DNA新链。
- 这样, 每一双链的DNA模板, 经过一次解链 (变性)、退火、延伸三个步骤的热循环后就成了两条双链DNA分子。
- 如此反复进行, 每一次循环所产生的DNA均能成为下一次循环的模板, 每一次循环都使两条人工合成的引物间的DNA特异区拷贝数扩增一倍, PCR产物得以2<sup>n</sup>的指数形式迅速扩增, 经过25~30个循环后, 理论上可使基因扩增10<sup>9</sup>倍以上, 实际上一般可达10<sup>6</sup>~10<sup>7</sup>倍。

46



ZHU-SLS  
YAN

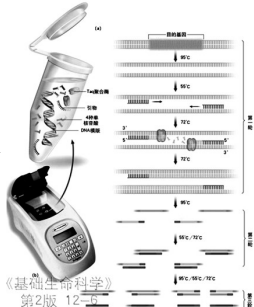
**聚合酶链式反应 (PCR)**

● 变性、退火、延伸三步曲

变性: 双链DNA解链成为单链DNA


退火: 部分引物与模板的单链DNA的特定互补部位配对和结合

延伸: 以目的基因为模板, 合成互补的新DNA链



《基础生命科学》  
第2版 12-1

47



ZHU-SLS  
YAN

⑤ 分子杂交

分子杂交是依据相应碱基配对而使两条链中互补的核苷酸序列部位的碱基相结合的过程。分子杂交即可以发生在DNA-DNA (Southern blot), 也可以发生在DNA-RNA之间 (Northern blot) 以及RNA-RNA之间 (In situ)。分子杂交的原理是依据于核酸的变性、复性及互补的特性;

分子杂交可以广泛应用于基因的筛选和定位、疾病诊断、病原物的鉴定、DNA指纹鉴定等领域。

48

了解

### ⑤分子杂交


在生物学研究中一般谈到分子杂交时，往往是指核酸的杂交。

- 分子杂交的概念

不同来源的DNA经加热变性成单链后（也包括单链的RNA），只要两条多核苷酸的碱基有一定数量能彼此互补，就可以经退火处理进行复性，形成新的杂交体，这种依据相应碱基配对而使两条链中互补的核苷酸序列部位的碱基相结合的过程被称为分子杂交。

分子杂交可在DNA与DNA、RNA与RNA或RNA与DNA的二条单链之间进行。

目前核酸杂交技术与其它技术相结合广泛应用于重组克隆的鉴定、特定基因的表达、基因定位、遗传病的检测、组织病理学的研究、生物分类、法医鉴定以及亲子鉴定等方面。




ZHU-SLS  
YAN

49

了解

- Southern杂交（Southern blot）

- Southern杂交基本方法是将DNA标本用限制性内切酶消化后，经琼脂糖凝胶电泳分离各酶解片段，然后经碱变性，将DNA从凝胶中转印至硝酸纤维素滤膜上，烘干固定后即可用于杂交。凝胶中DNA片段的相对位置在DNA片段转移到滤膜的过程中继续保持着。
- 附着在滤膜上的DNA与<sup>32</sup>P标记的DNA探针杂交，利用放射自显影术确定探针互补的每条DNA带的位置，从而可以确定在众多酶解产物中含某一特定序列的DNA片段的位置和大小。
- Southern blot 是研究DNA图谱的基本技术，在遗传诊断DNA图谱分析、特定基因组的分析及PCR产物分析等方面有重要价值。
- 纪念发明者Edward Southern, 1975




ZHU-SLS  
YAN

50

了解

- Northern杂交（Northern blot）

- Northern杂交这是一种将RNA从琼脂糖凝胶中转到硝酸纤维素膜上的方法。DNA技术由Southern于1975年创建，称为Southern杂交技术。RNA杂交技术正好与DNA相对应，故被趣称为Northern杂交，与此原理相似的蛋白质印迹技术则被称为Western blot。
- Northern杂交的RNA吸印与Southern杂交的DNA吸印方法类似，只是在进样前用甲酰胺、乙二胺或甲醛使RNA变性，而不用NaOH，因为它会水解RNA的2'-羟基基团。
- RNA变性后有利于在转印过程中与硝酸纤维素膜结合以及保持其单链状态。主要用于检测基因的表达情况。




ZHU-SLS  
YAN

51

了解

### 分子杂交技术的应用

- 分子杂交技术不仅广泛应用于科学研究方面，而且还主要用于遗传性疾病的诊断，如血红蛋白病的诊断、先天性遗传病的产前诊断等方面；
- 内源性病变基因研究如癌基因检测、基因突变、基因缺失或变异引起的疾病的基因诊断；
- 分子杂交技术也是诊断外源性病原体，如病毒、细菌、原虫等导致的疾病最常用的检测手段。
- 在法医检测中分子杂交技术应用于有关性别鉴别和DNA指纹谱的鉴定。可将核酸分子探针检测比喻为在柴草堆中去找一根针的神奇技术。



ZHU-SLS  
YAN


52

了解

- 在“DNA指纹”中的应用

在人类基因组DNA中存在高度变异的短的超变区，即数目变异的串联重复序列区（variable number of tandem repeats, VNTR），如（CA）<sub>n</sub>。这些短的重复顺序长度不一样，但它们都几乎都共有一种“核心顺序”。“核心顺序”长10~15bp。如果人工合成很短的重复顺序作为DNA分子杂交的探针，同经限制性内切酶酶切的人体DNA作Southern杂交，可以获得长度不等的杂交带。杂交带的数目和分子量大小几乎不可能有两个人会完全相同的，因此把这种杂交带的图型称为“DNA指纹”（DNA finger-printing），有意思的是DNA的杂交带型同指纹一样，也是每个人所特有的。

亲子鉴定，法医鉴定，遗传多样性分析等




ZHU-SLS  
YAN

53

了解

- “DNA指纹”与法医鉴定


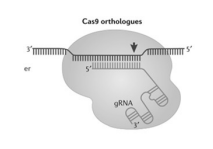
1985年Teffreys等将“DNA指纹”应用于法医鉴定。他们从血斑、精斑或新鲜毛发根部抽提微量DNA后作印迹杂交。从4年前的精斑、血斑样品中仍能提取出来未降解的DNA，从中提取DNA后可准确地做出鉴定，为法医鉴定提供一种新的有效方法。




ZHU-SLS  
YAN

54

### 基因编辑



- 大约有75000人美基因组位点和遗传疾病有关。
- 随着基因编辑快速发展，直接修改基因组治疗疾病带来了可能性，已经在动物模型上实现了治疗的人类遗传疾病的目的。
- 但是在大量细胞中同时诱导产生DNA双链断裂以及脱靶效应等，有可能损伤基因组——技术还在迅速进步。




ZHU-SLS  
YAN

55

### 关于基因编辑，如果想了解更多和英文好的话...

- Rees, H.A. & Liu, D.R. Base editing: precision chemistry on the genome and transcriptome of living cells. *Nat Rev Genet* (2018).
- Komor, A.C., Kim, Y.B., Packer, M.S., Zuris, J.A., Liu, D.R. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature* 533, 420-424 (2016).
- Gaudelli, N.M. et al. Programmable base editing of A→T to G→C in genomic DNA without DNA cleavage. *Nature* 551, 464-471 (2017).
- Jinek, M. et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 337, 816-821, (2012).
- Gaudelli, N. M. et al. Programmable base editing of A→T to G→C in genomic DNA without DNA cleavage. *Nature* 551, 464-471, (2017).
- Komor, A. C., Kim, Y. B., Packer, M. S., Zuris, J. A. & Liu, D. R. Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. *Nature* 533, 420-424, (2016).
- Grunevald, J. et al. Transcriptome-wide off-target RNA editing induced by CRISPR-guided DNA base editors. *Nature* 569, 433-437, (2019).

不想念英文，就去看2020诺奖的科普~



ZHU-SLS  
YAN

56

■ 合成生物学综合利用了设计理念和分子生物学工具



自行学习戴俊彪老师的演讲：  
[https://mp.weixin.qq.com/s/BEJrkxn\\_rQRSnZpRIIPug](https://mp.weixin.qq.com/s/BEJrkxn_rQRSnZpRIIPug)



57

■ 6.3 DNA相关生物技术（书第十二章）

- DNA相关技术的应用（自学了解）
- DNA相关技术的问题和挑战（自学了解）

正确利用基因操作相关技术；  
关注生物技术安全问题；  
保护基因信息的个人隐私问题。  
  
生物技术将会最终造福人类！



58

本章摘要

转录发生在细胞核中，以DNA为模板，按照碱基互补的原则，合成一条单链的RNA即mRNA，DNA携带的遗传信息被转移到RNA中。

mRNA中的遗传信息以3个碱基形成的遗传密码的形式决定肽链上一个特定的氨基酸。按照mRNA上密码子的信息指导氨基酸单体合成为多肽链的过程称为mRNA的翻译。

转录和翻译过程的重要事件要求掌握

基因表达调控、DNA损伤的修复以及生物技术等相关内容自学了解即可。自己关注了解最新的分子生物学技术。



59

# homework!

见网络学堂

下节课主要内容：生物膜（书3.3）



60