



《遗传学》

第九章 基因的分子基础与遗传学中心法则

授课教师：蒋嵩山

电子邮箱：jiangssh@mail.sysu.edu.cn

目 录

- 01 遗传物质本质研究的历史回顾
- 02 DNA复制
- 03 基因功能与基因精细结构的发现
- 04 基因的分子结构
- 05 遗传信息的传递与表达
- 06 遗传学中心法则

9.1 遗传物质本质研究的历史回顾

让时光倒流，回到20世纪初……

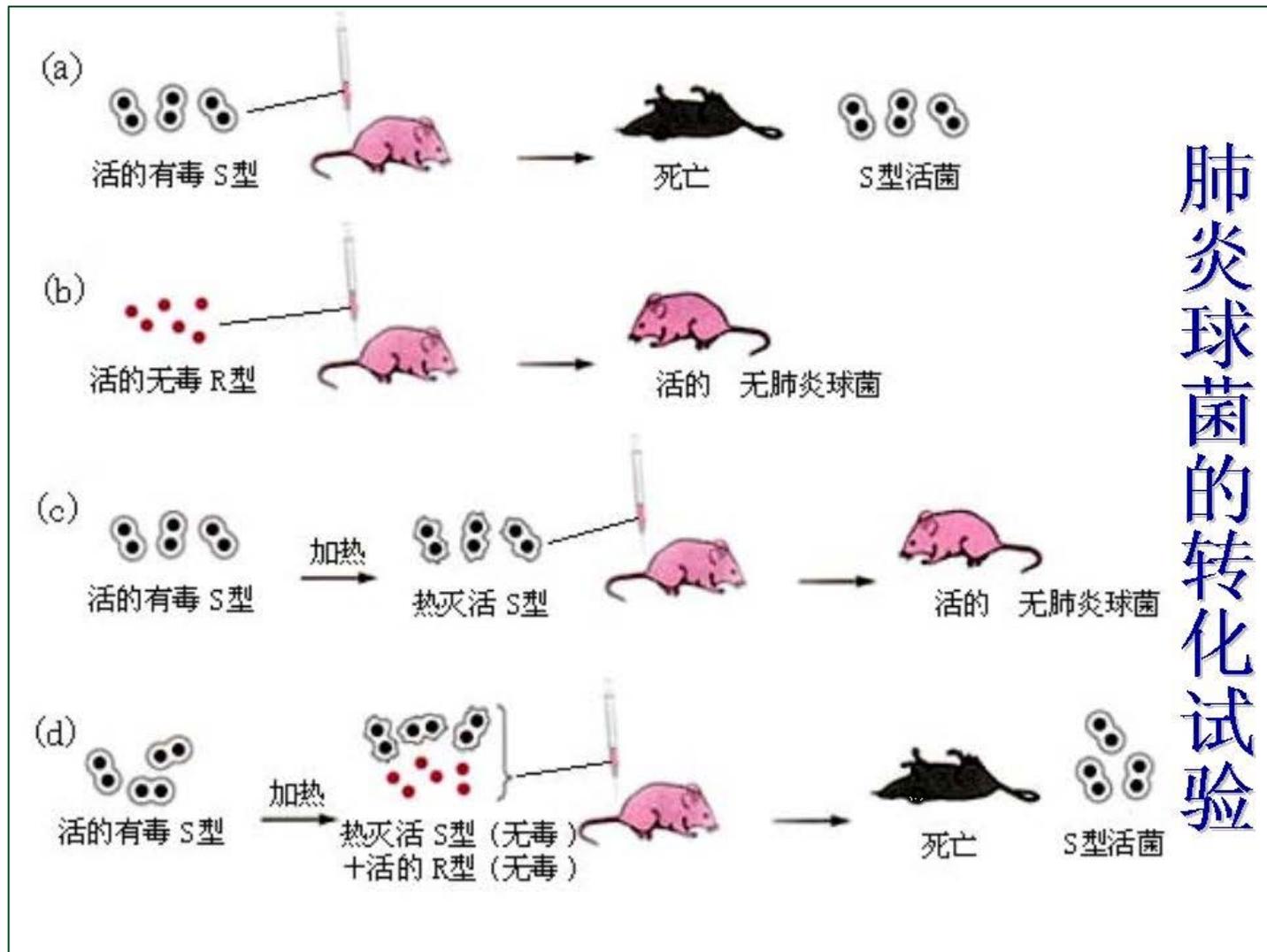
- 孟德尔发现了：遗传因子（即基因）决定了生物的性状。
- 摩尔根发现了：基因在染色体上呈线性排列。

那么，

- 基因是何物？是核酸还是蛋白质？
- 基因的物质结构和化学组成怎样？
- 基因是如何决定遗传性状的？

- 
- 认识到基因的化学本质是核酸而不是蛋白质，经历了一段漫长的历史过程。
 - 证明DNA是遗传物质的三个著名实验：
 - 1、肺炎双球菌转化实验
 - 2、噬菌体感染实验
 - 3、烟草花叶病毒重建实验

发现DNA的遗传功能，始于1928年格里菲斯 (F. Griffith) 所做的用肺炎球菌感染小鼠的实验。



两种肺炎双球菌的特征

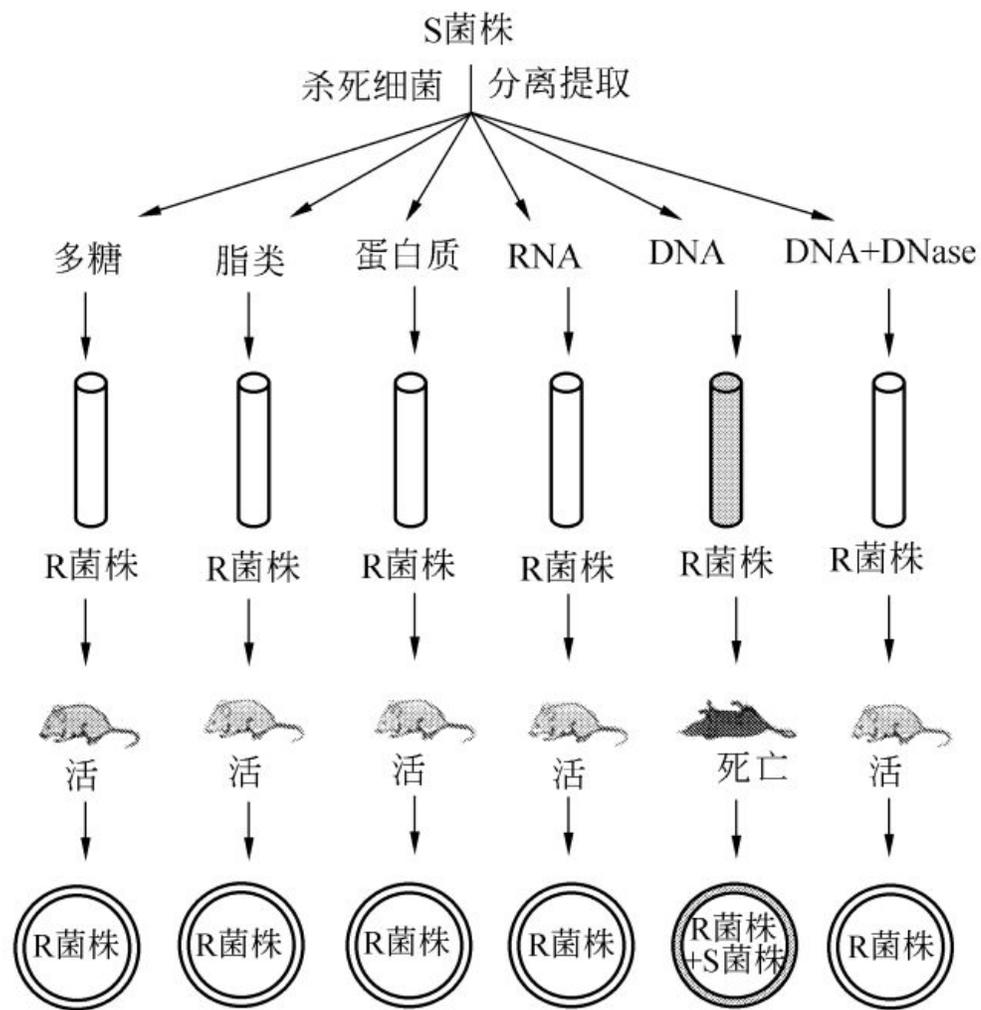
粗糙型 (R)	无荚膜、菌落粗糙、无毒
光滑型 (S)	有荚膜、菌落光滑、有毒

- 
- Griffith的转化实验证明了转化因子的存在

转化因子的化学本质是什么？

- 当时大部分生物化学家相信转化因子是蛋白质

Avery继续研究，并确定遗传物质是DNA：



Avery的体外转化实验

Avery通过肺炎球菌转化实验，证明了热杀死的S型细菌所释放的某种可使小鼠致死的转化因子是DNA而不是蛋白质，从而确定了遗传物质是DNA。

- 但当时的主流观点并不接受Avery 的DNA是遗传物质的观念，认为提取的DNA无论如何纯净，仍然可能有残余的蛋白质，蛋白质才是有活性的转化因子。
- 进一步的实验证明了DNA作为遗传信息载体的功能：
 - (1) 胰蛋白酶和糜蛋白酶不影响转化活性。
 - (2) RNA酶对转化活性无影响。
 - (3) 在加入DNA酶后，转化活性丧失。
 - (4) 越纯转化效率越高。

- 
- DNA是遗传物质化学本质的发现是基因研究上一个重要里程碑。但在当时，这项重要的发现并未引起足够的重视。Avery虽曾被提名为诺贝尔奖候选人，但当时评奖委员会认为“最好等到DNA的转化机理更多地为人们所了解的时候再说”。可是，当争议平息、诺贝尔奖评选委员会准备授奖之时，他已经去世了，给后人留下遗憾。



Alfred Day Hershey
(1908~1997)

1969年获诺贝尔生理学医学奖

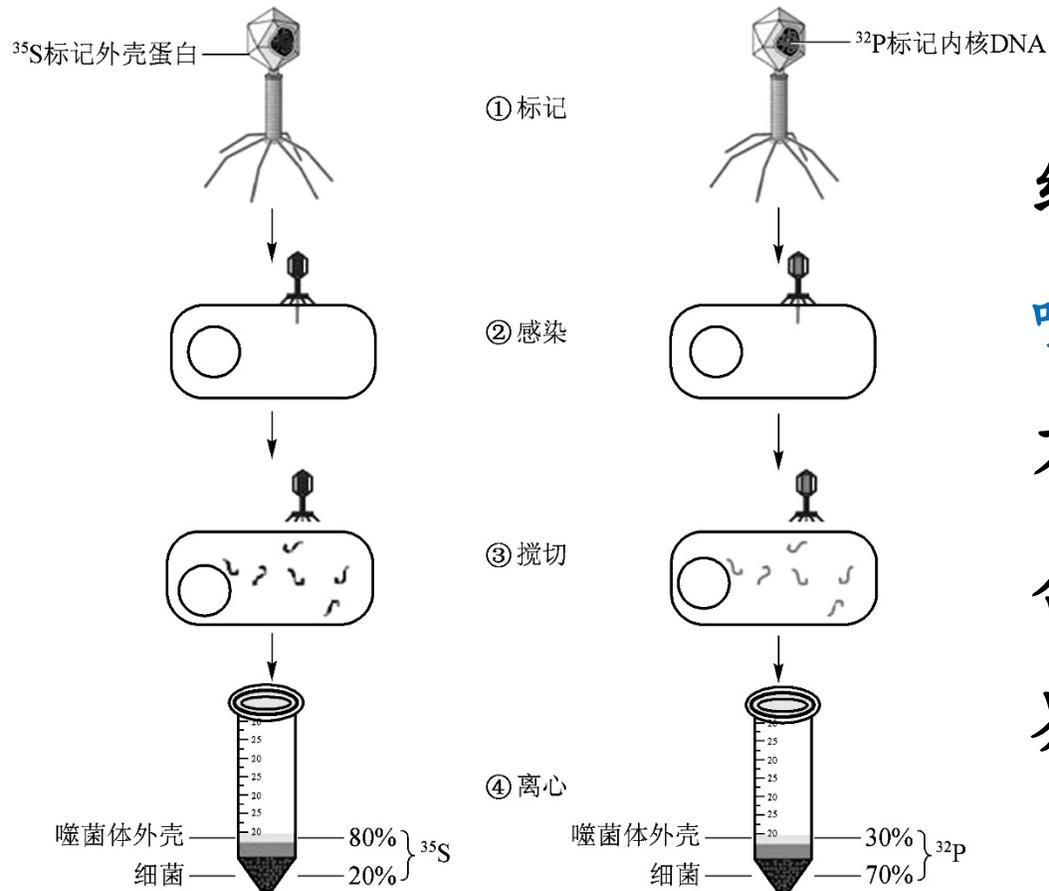
研究噬菌体的美国微生物学家Hershey等人在考虑，能否将蛋白质和DNA完全分开，单独观察DNA的作用呢？

1951年，R·Herriott提出一个十分富有启发性的假说：“病毒的作用可能像一个充满着转化因子的注射针。这样的病毒本身不会进入细胞，但它不仅用尾部接触寄生细胞，并可能通过酶的作用在细胞外膜上钻一小孔，然后病毒头部的DNA就钻入细胞。”

Hershey等受Herriott思路的启发设计了一个精巧的噬菌体感染实验。

Hershey等人的噬菌体感染实验

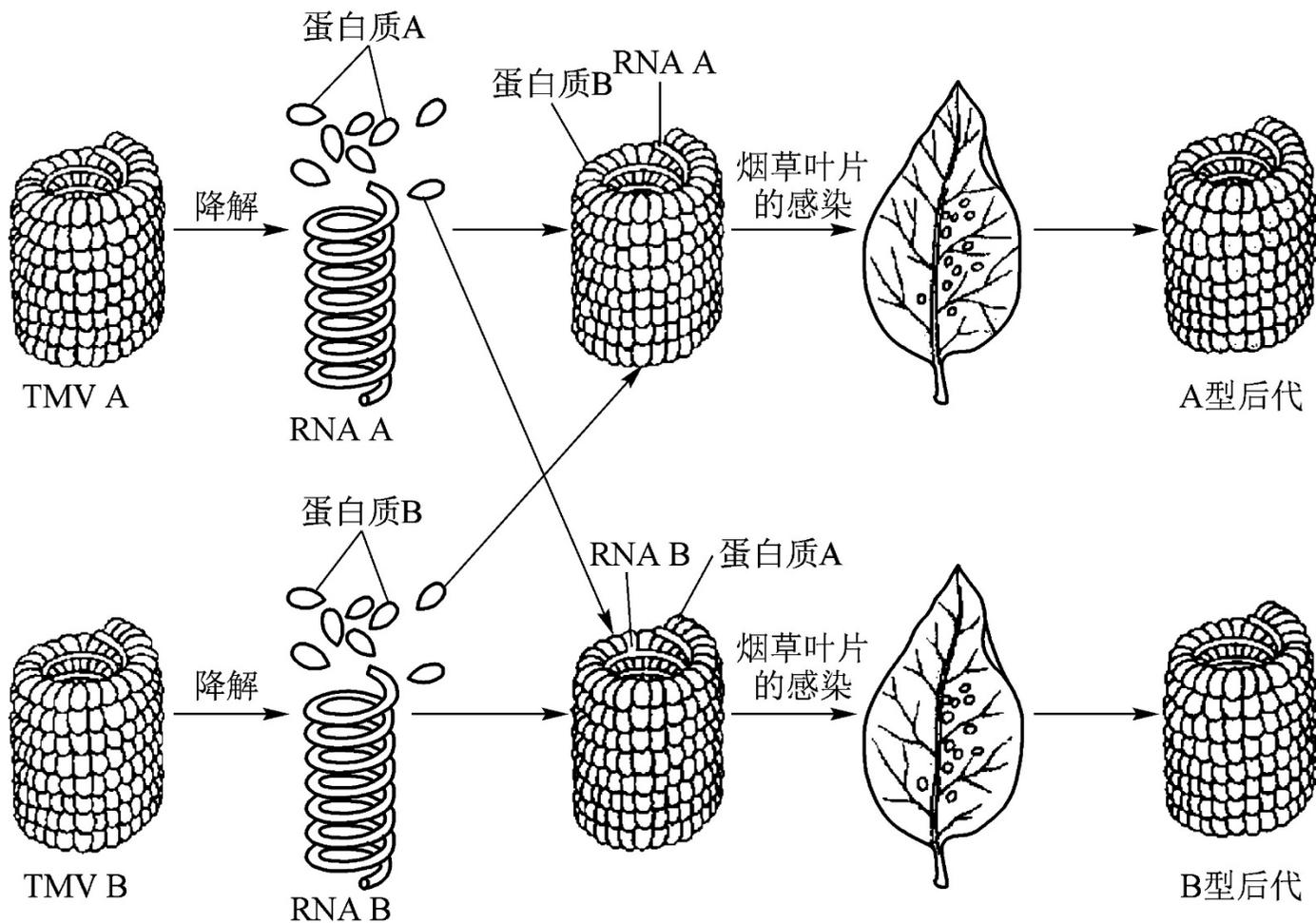
- ^{35}S 标记噬菌体蛋白质 → 感染未标记细菌 → 细菌无放射性
- ^{32}P 标记噬菌体DNA → 感染未标记细菌 → 细菌有放射性



结果确凿无疑地证明，进入寄主细胞内的是噬菌体DNA，而非蛋白外壳。噬菌体DNA不但包括噬菌体自我复制的信息，而且包括合成噬菌体蛋白质所需要的全部信息。科学界终于接受了DNA是遗传信息载体的理论。

烟草花叶病病毒的重建实验

A、B为产生
不同病斑的
病毒株系

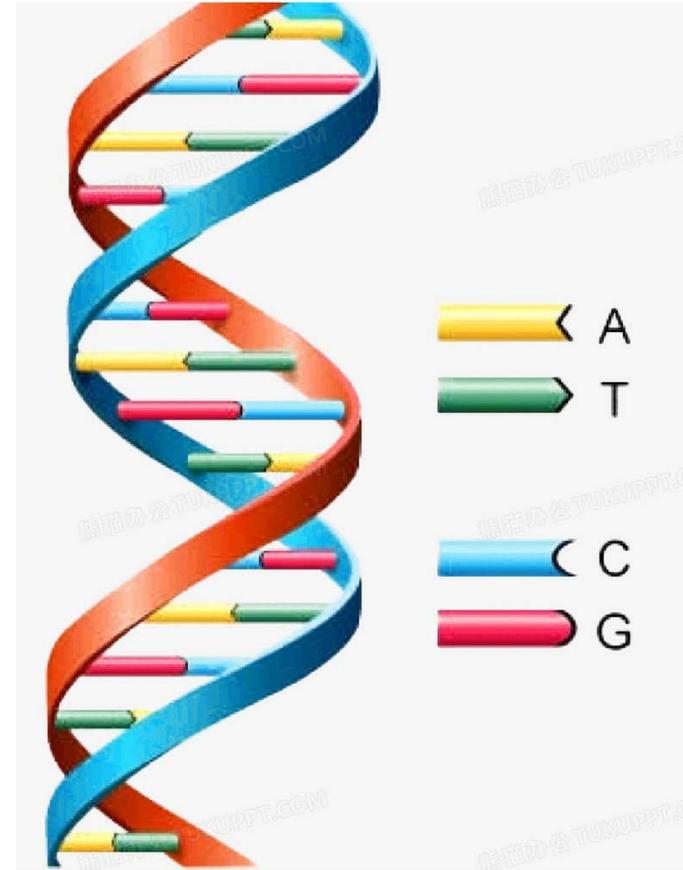


在无DNA的病毒中，RNA是遗传物质

- 
- 揭示遗传物质本质的三个著名实验：
 1. 肺炎双球菌转化实验
 2. 噬菌体感染实验
 3. 烟草花叶病毒重建实验
 - 以上实验结果逐步证明了：核酸才是遗传物质



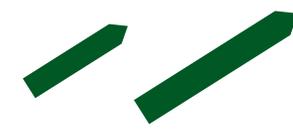
科学家为之痴狂，
艺术家为之灵感涌溢，
世界为之震撼.....



1953年4月25日，James Watson 和Francis Crick在《Nature》上发表DNA双螺旋结构。

DNA双螺旋的发现

- 至此，DNA作为遗传物质不再受到质疑。
- 生物学史上的里程碑。
- 分子生物学的誕生日。
- 为DNA复制提供了构型上的解释。



9.2

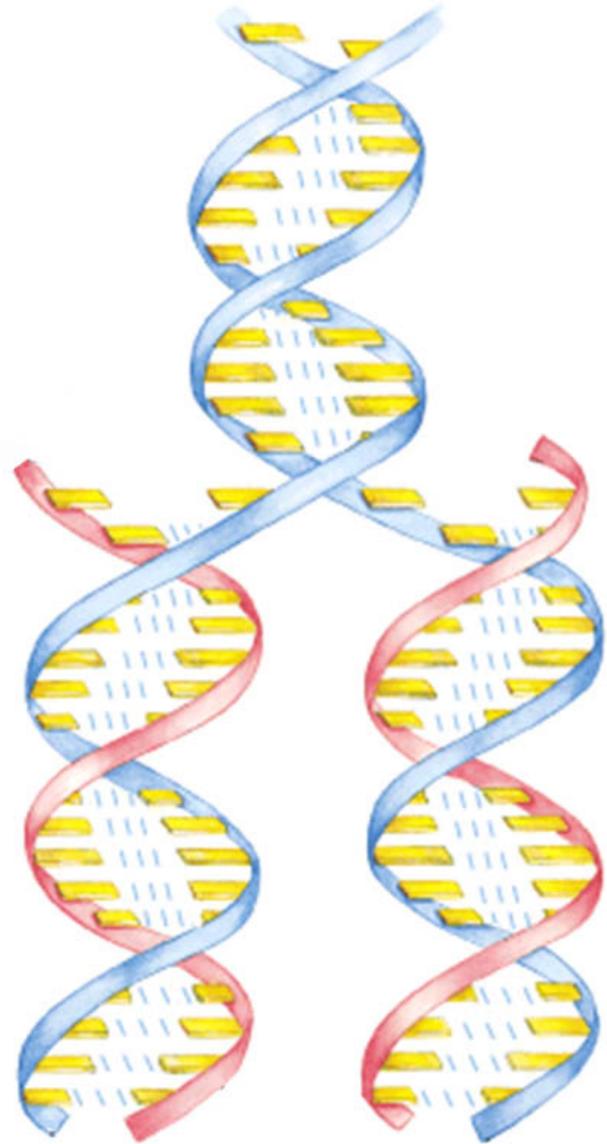
SECTION TWO

DNA 复制



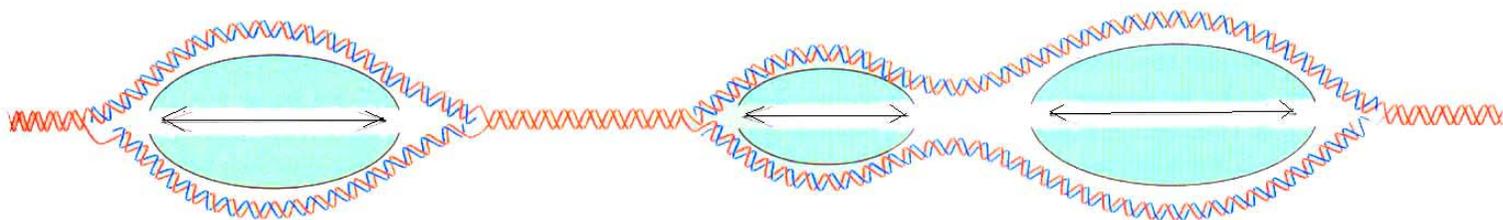
9.2 DNA复制

- 从分子水平来说，基因有3个基本特性：
 - (1) 基因可自体复制
 - (2) 基因决定性状
 - (3) 基因突变

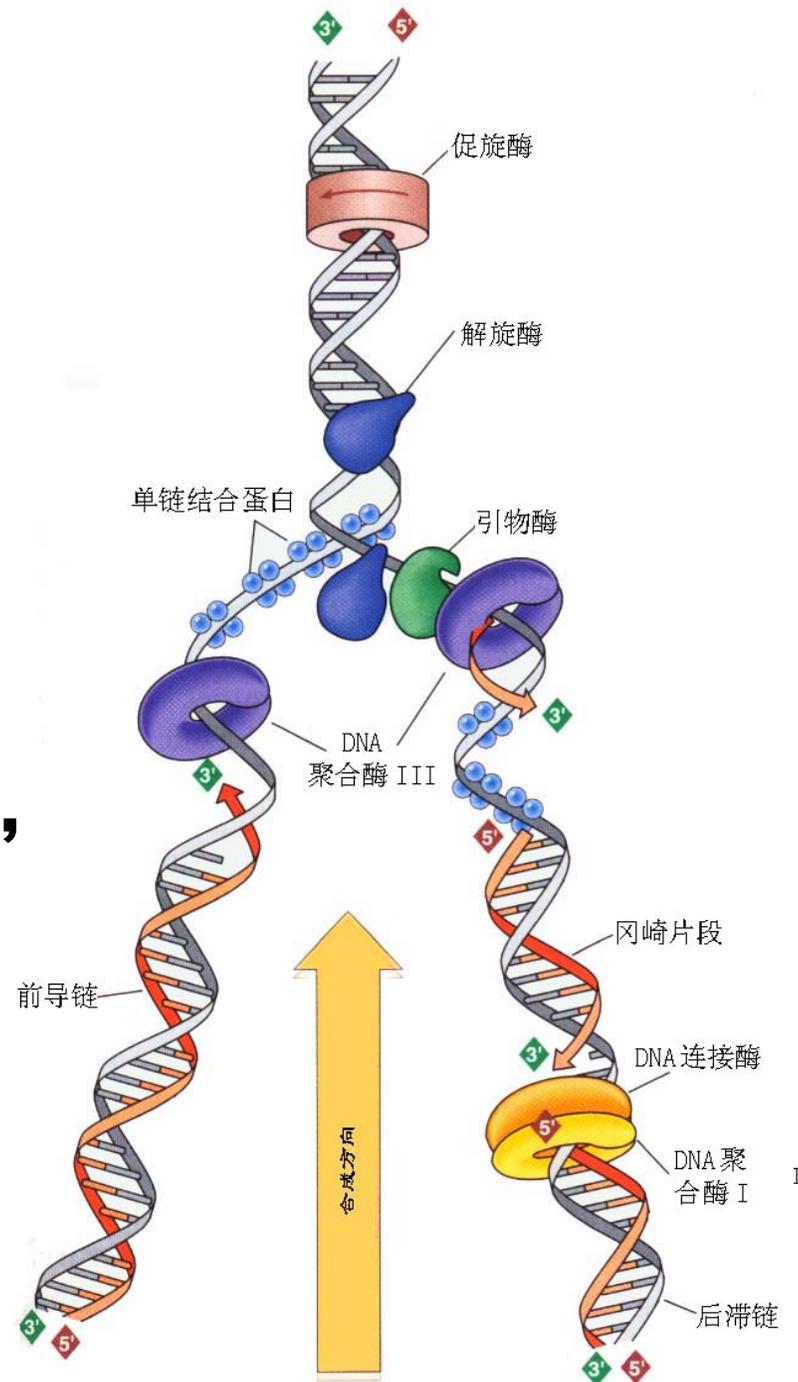


DNA复制的特点:

- 半保留复制
- 原核生物为单复制子，真核生物为多复制子
- 复制起始需要RNA作为引物
- 双向复制(也有例外)
- 半不连续复制：后随链不连续
- 需要许多蛋白的参与：解旋酶，DNA引物酶，DNA聚合酶，连接酶等

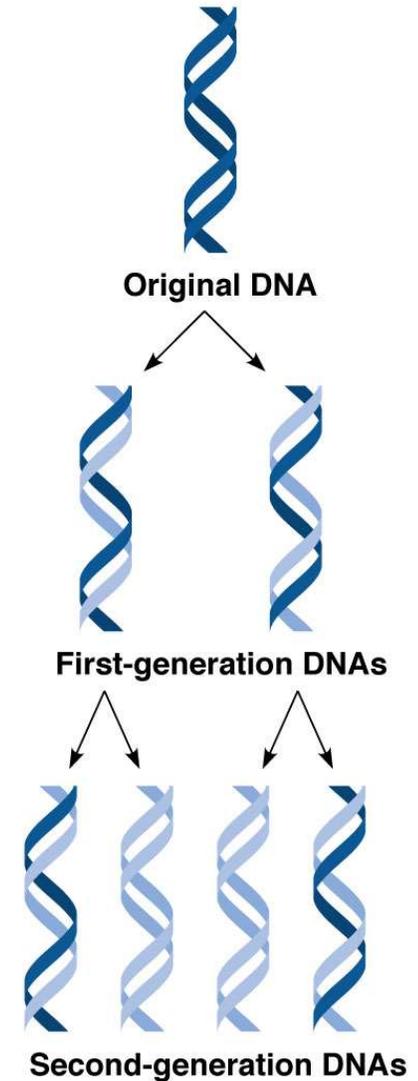
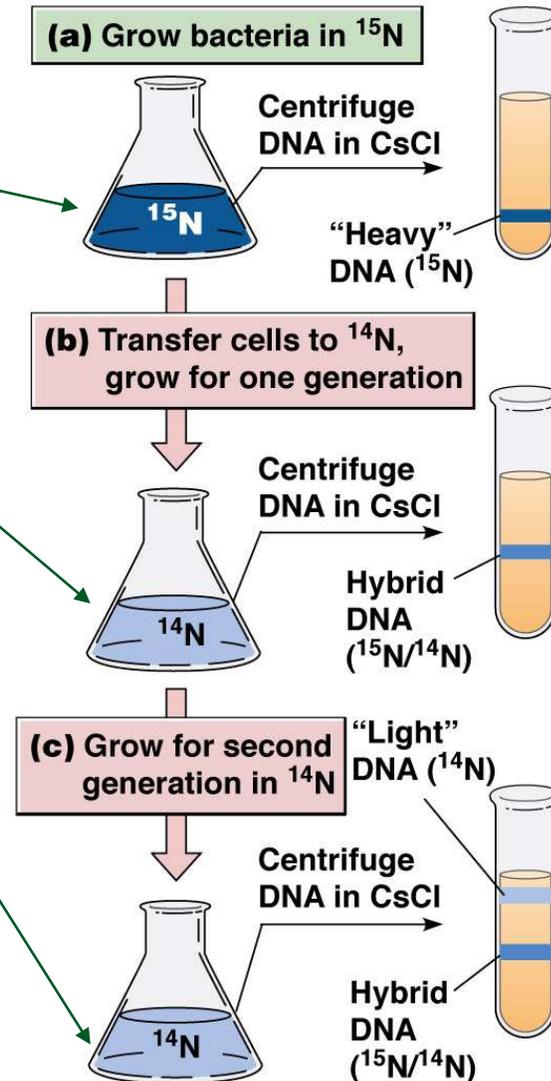
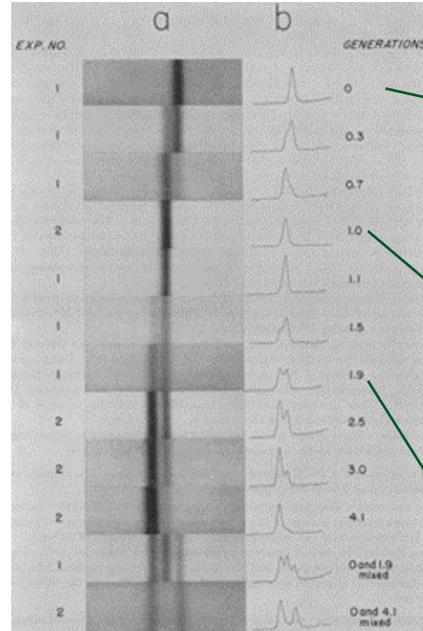


(引自A. G. Atherly *et al.*, 1999)



半保留复制

The Meselson-Stahl Experiment



Meselson and Stahl

THE REPLICATION OF DNA IN ESCHERICHIA COLI*

BY MATTHEW MESELSON AND FRANKLIN W. STAHL

GATES AND CRELLIN LABORATORIES OF CHEMISTRY,† AND NORMAN W. CHURCH LABORATORY OF CHEMICAL BIOLOGY, CALIFORNIA INSTITUTE OF TECHNOLOGY, PASADENA, CALIFORNIA

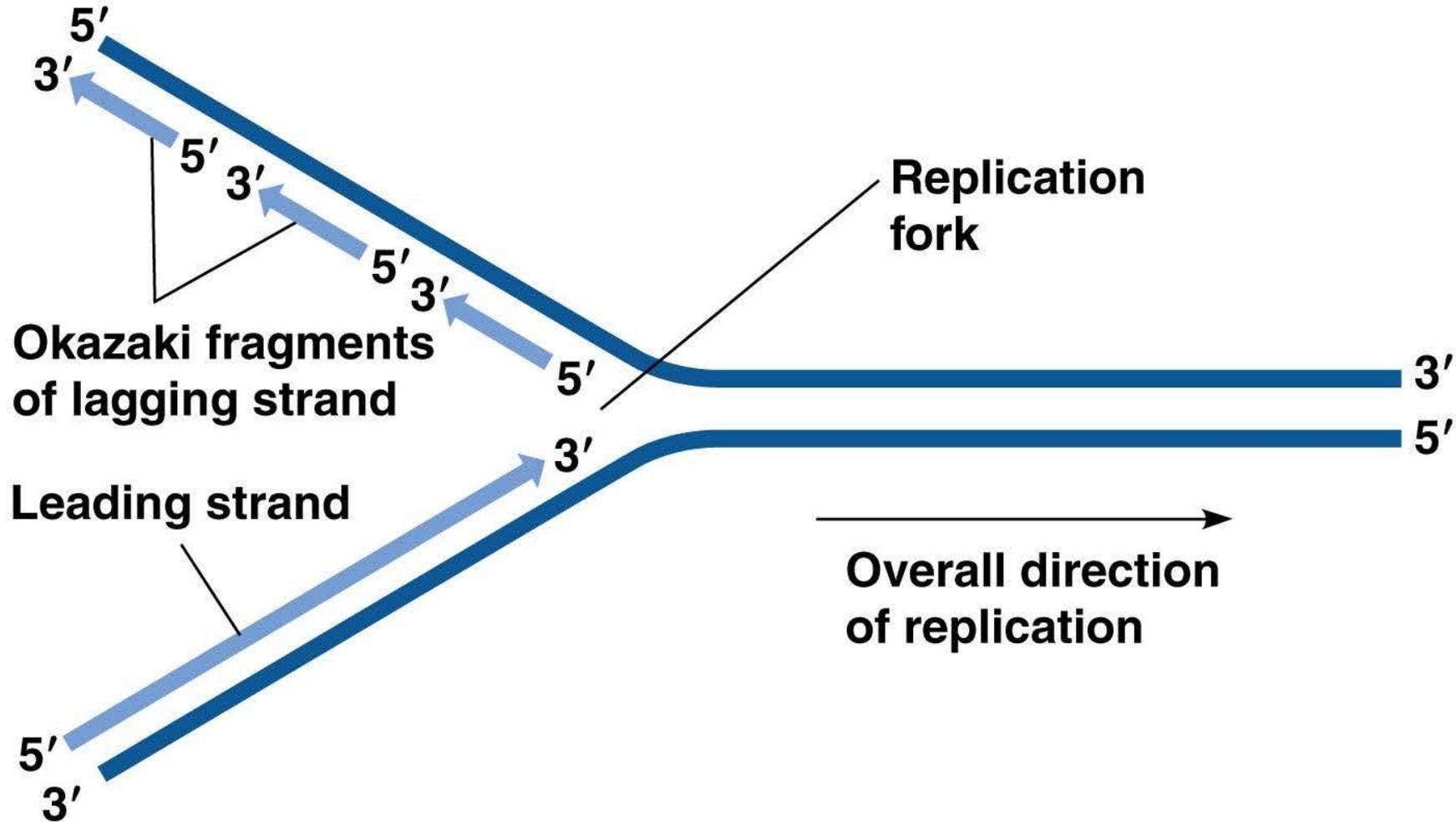
Communicated by Max Delbrück, May 14, 1968

Introduction.—Studies of bacterial transformation and bacteriophage infection¹⁻⁵ strongly indicate that deoxyribonucleic acid (DNA) can carry and transmit hereditary information and can direct its own replication. Hypotheses for the mechanism of DNA replication differ in the predictions they make concerning the distribution among progeny molecules of atoms derived from parental molecules.⁶

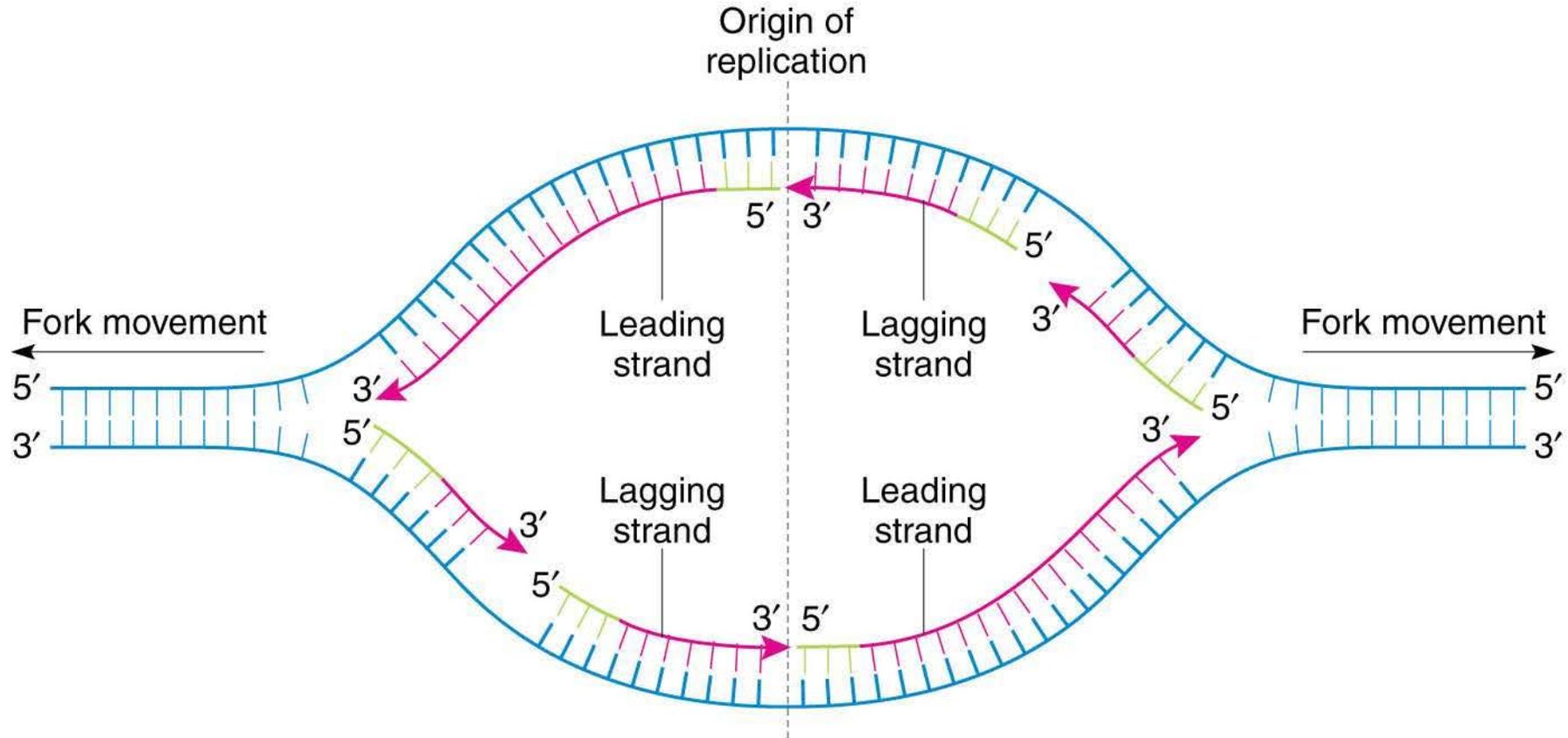
PNAS, 1958, 44 (7):671-682

© 2012 Pearson Education, Inc.

半不连续复制



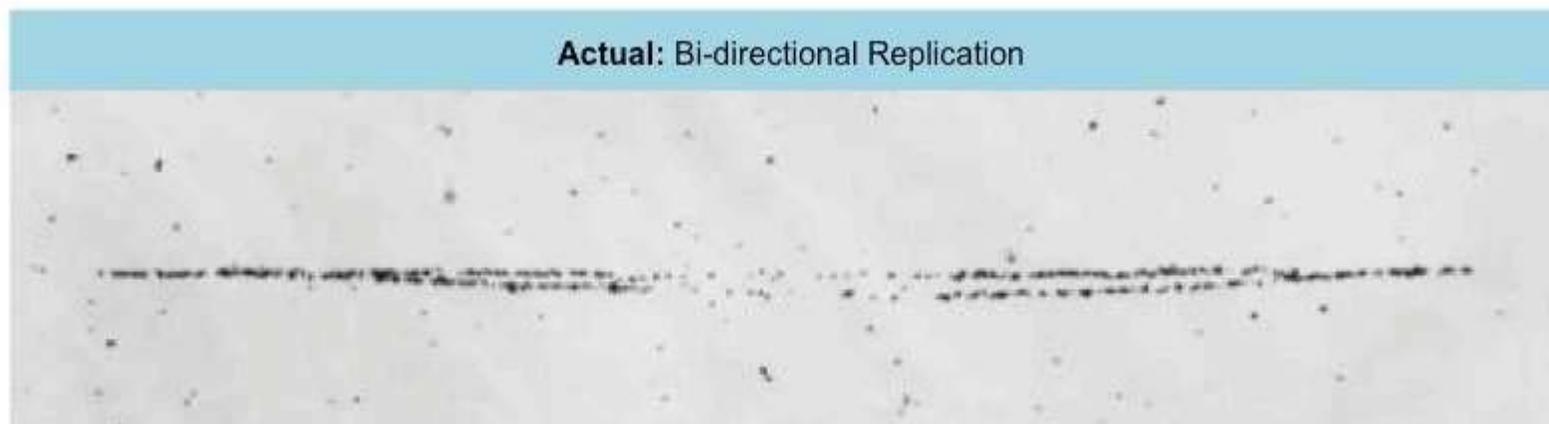
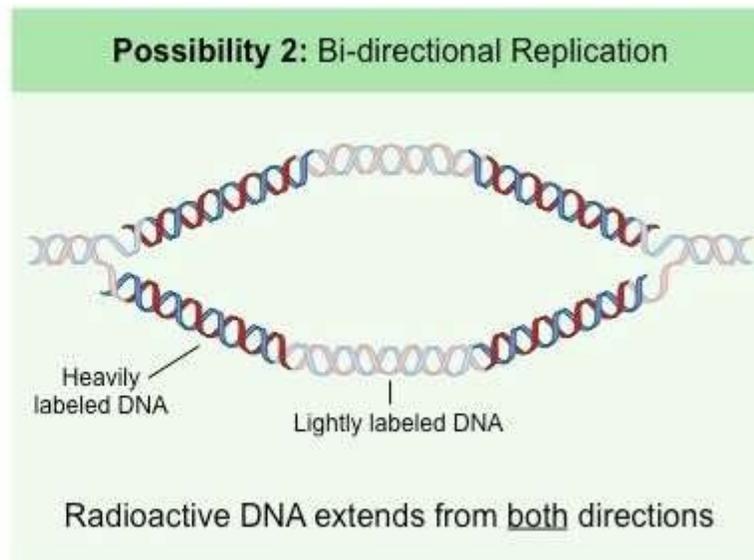
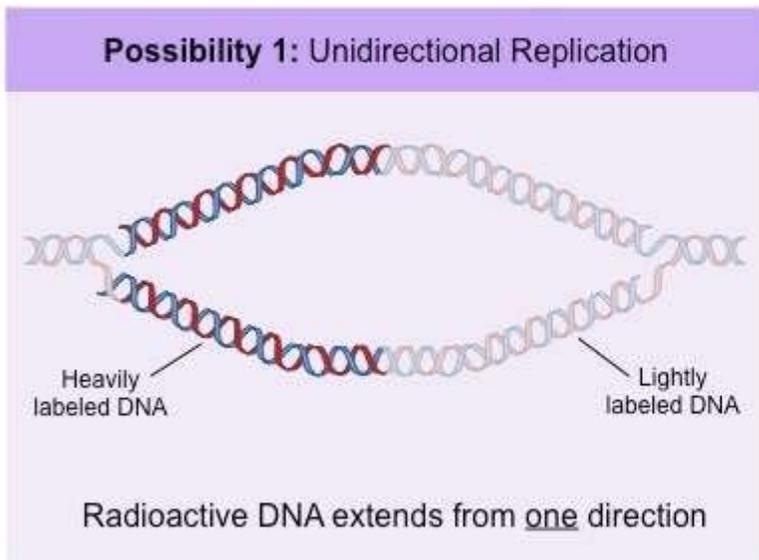
双向复制



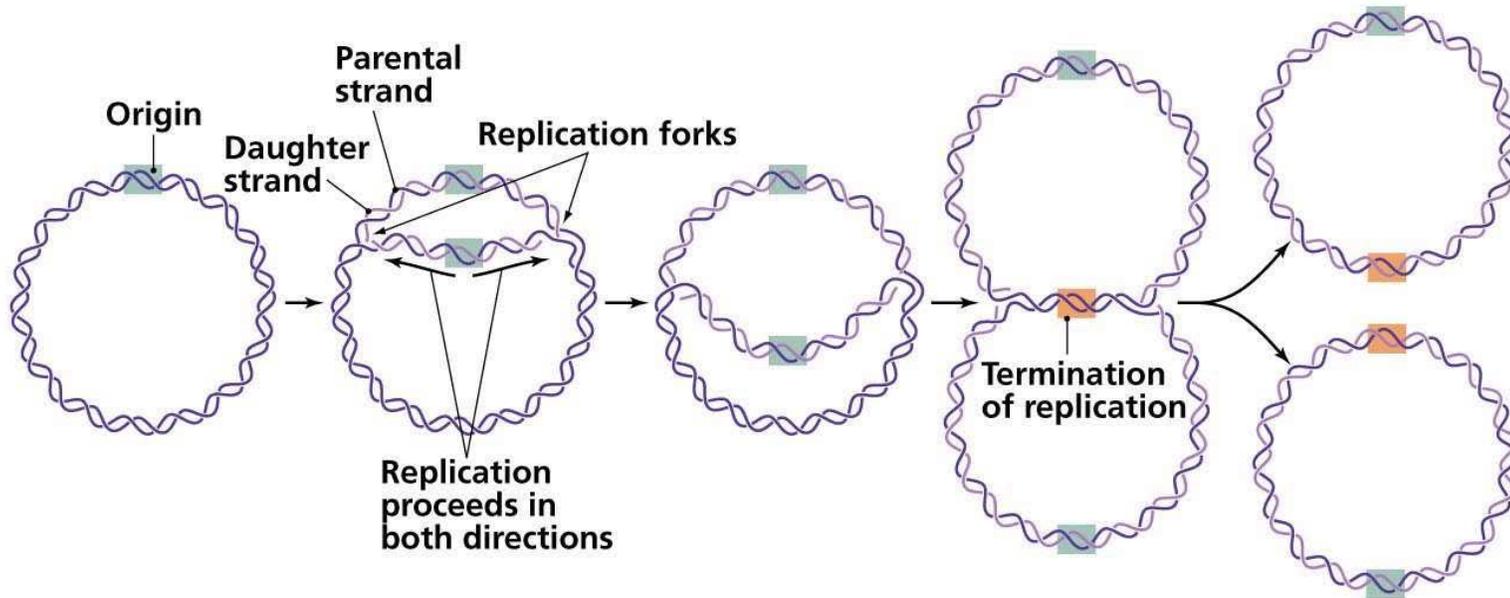
© 2010 Pearson Education, Inc.

双向复制的证据

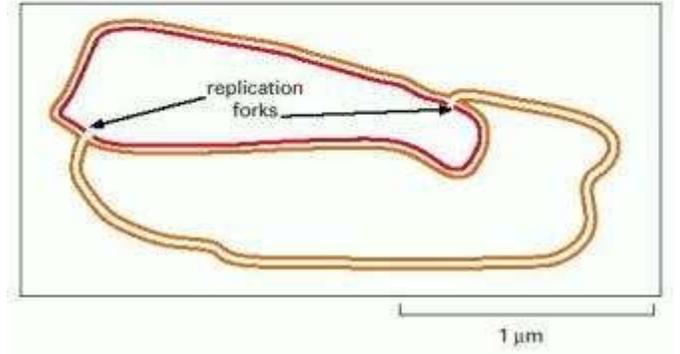
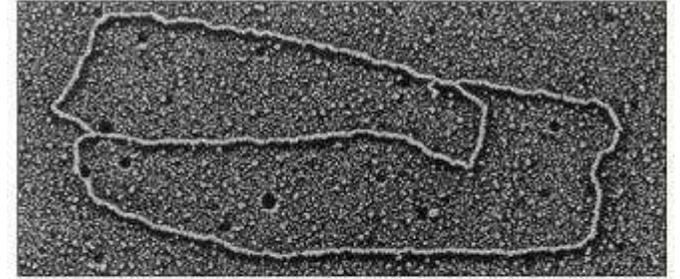
方案： 低浓度³H培养基培养 ⇨ 高浓度³H培养基培养 ⇨ 放射自显影检测



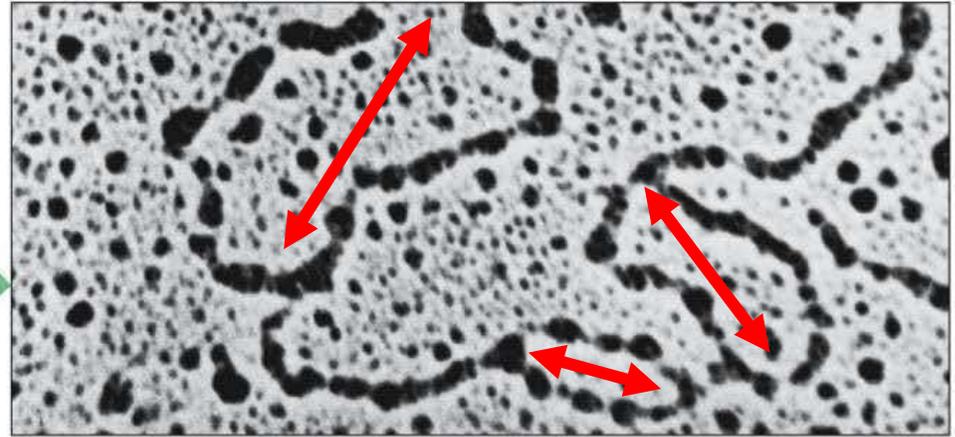
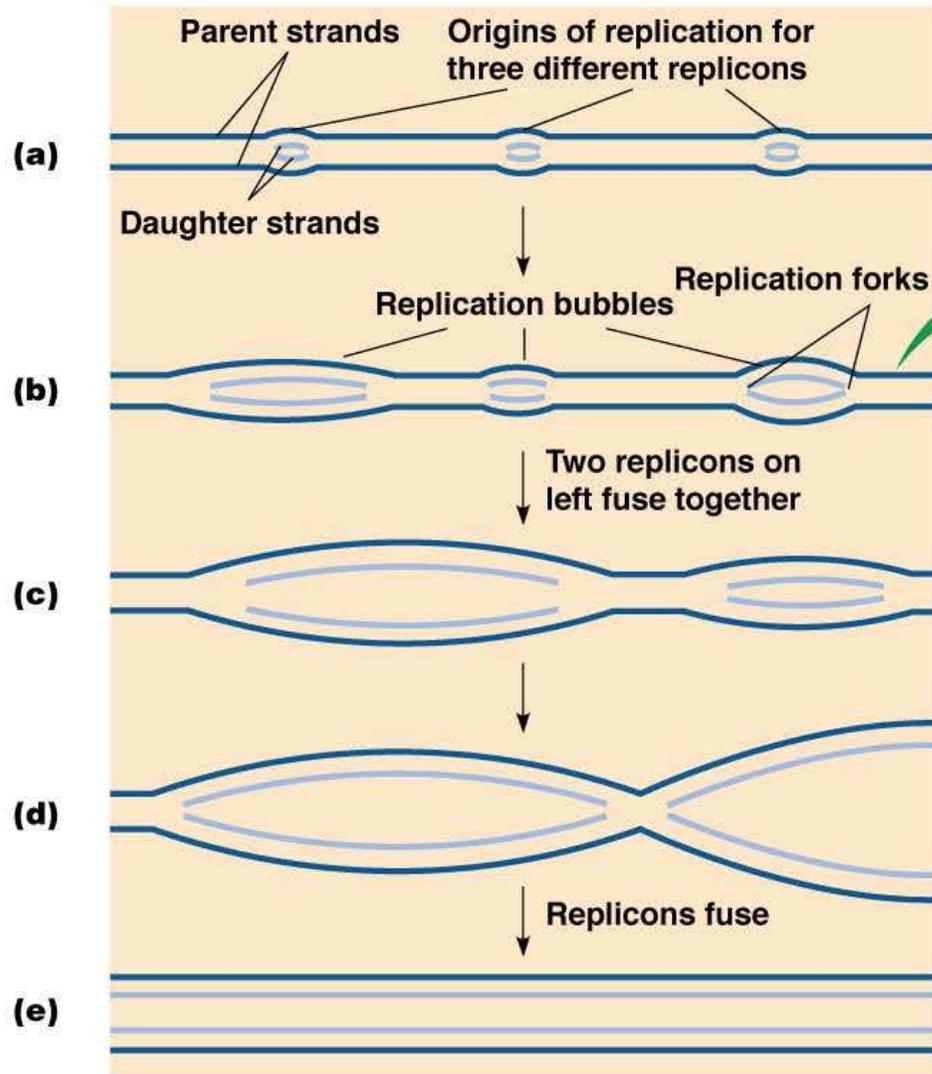
原核生物单起点



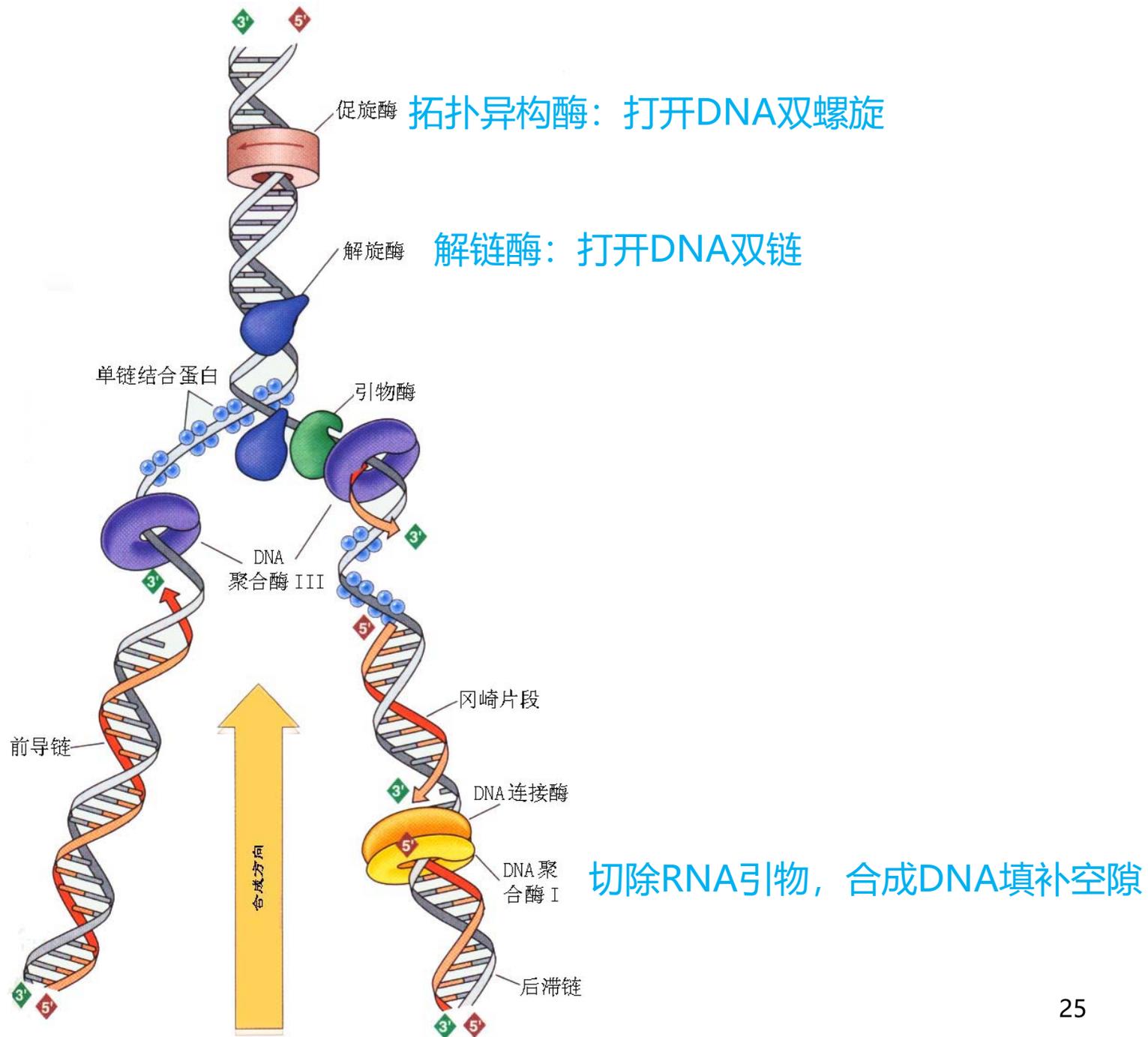
Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.



真核生物多起点

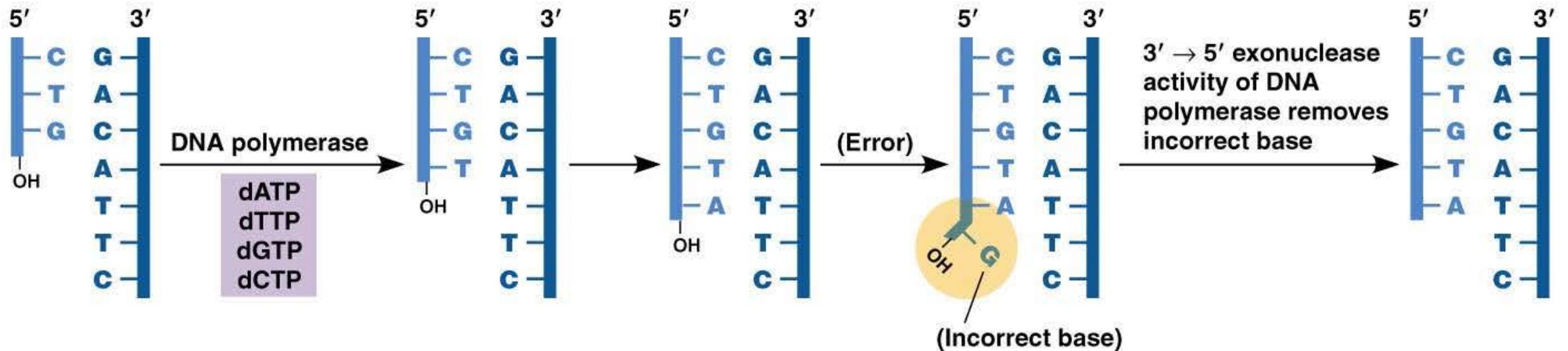


多种酶的参与



高保真性

- 碱基配对
- DNA 聚合酶的校对功能
- 错配修复机制 (DNA 修复机制)



DNA复制中的表观遗传修饰

- **表观遗传**：影响基因活性（包括复制、转录等）而不涉及DNA 序列改变的基因表达调控方式，其分子基础主要是针对DNA 本身的修饰和对组蛋白的修饰

- **DNA甲基化**

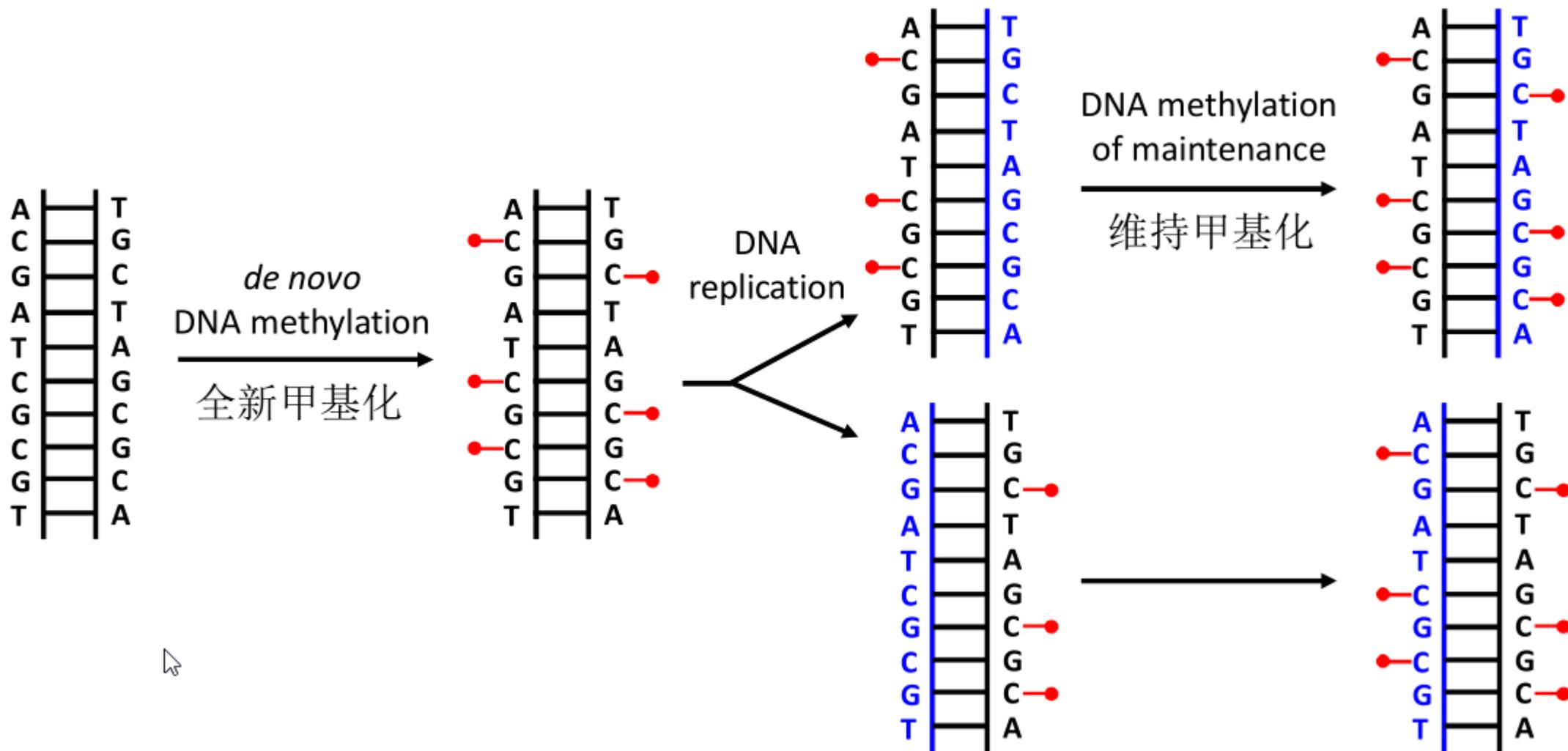
- 胞嘧啶 C-5 位甲基化
- 主要出现在 CpG 岛
- CpG 岛主要分布在基因的启动子



5-methylcytosine

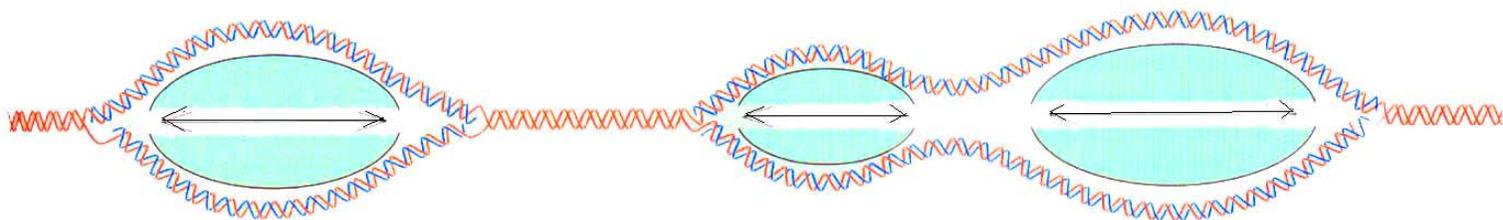
MeC

DNA复制与DNA甲基化

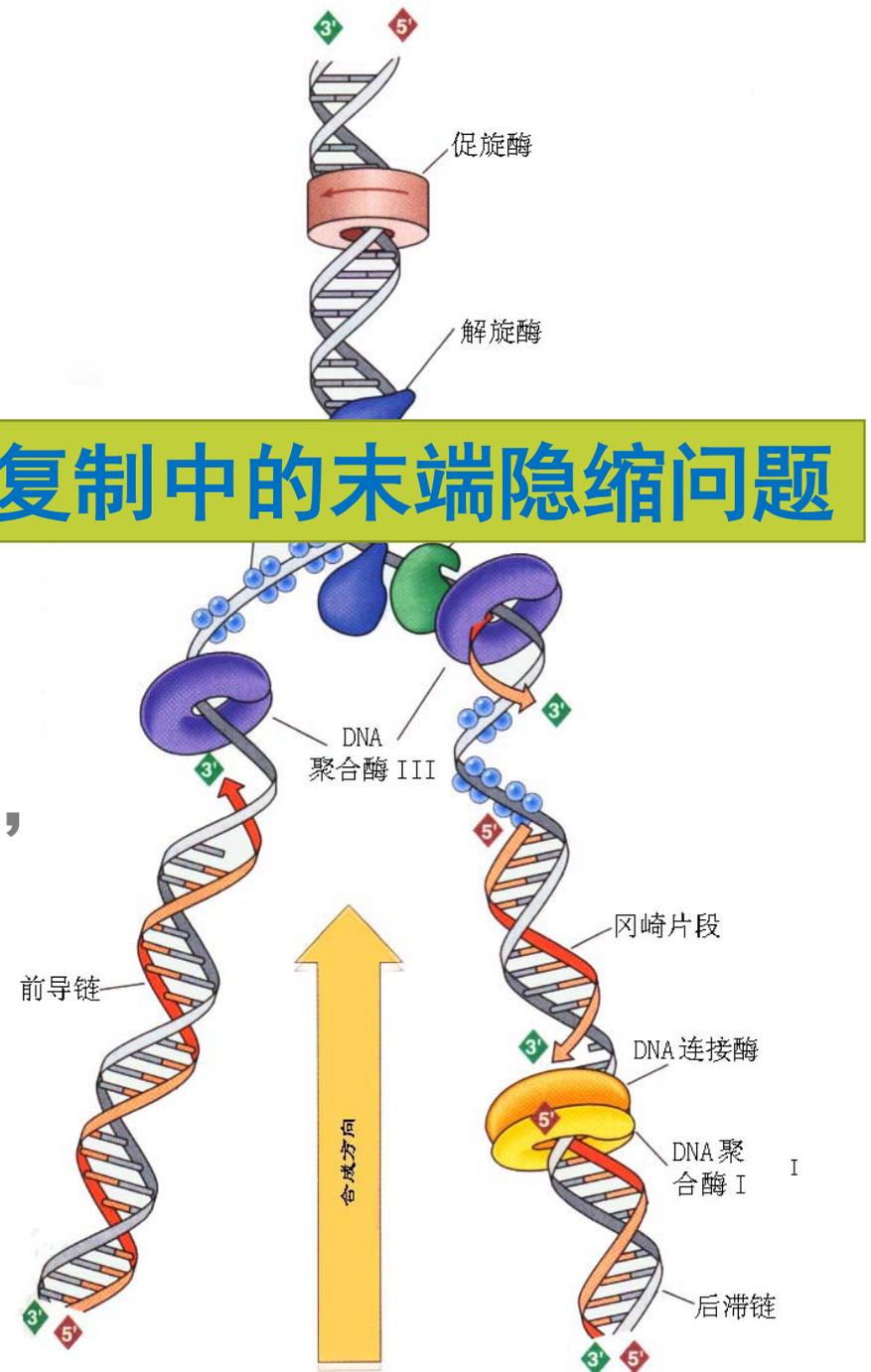


DNA复制中的末端隐缩问题

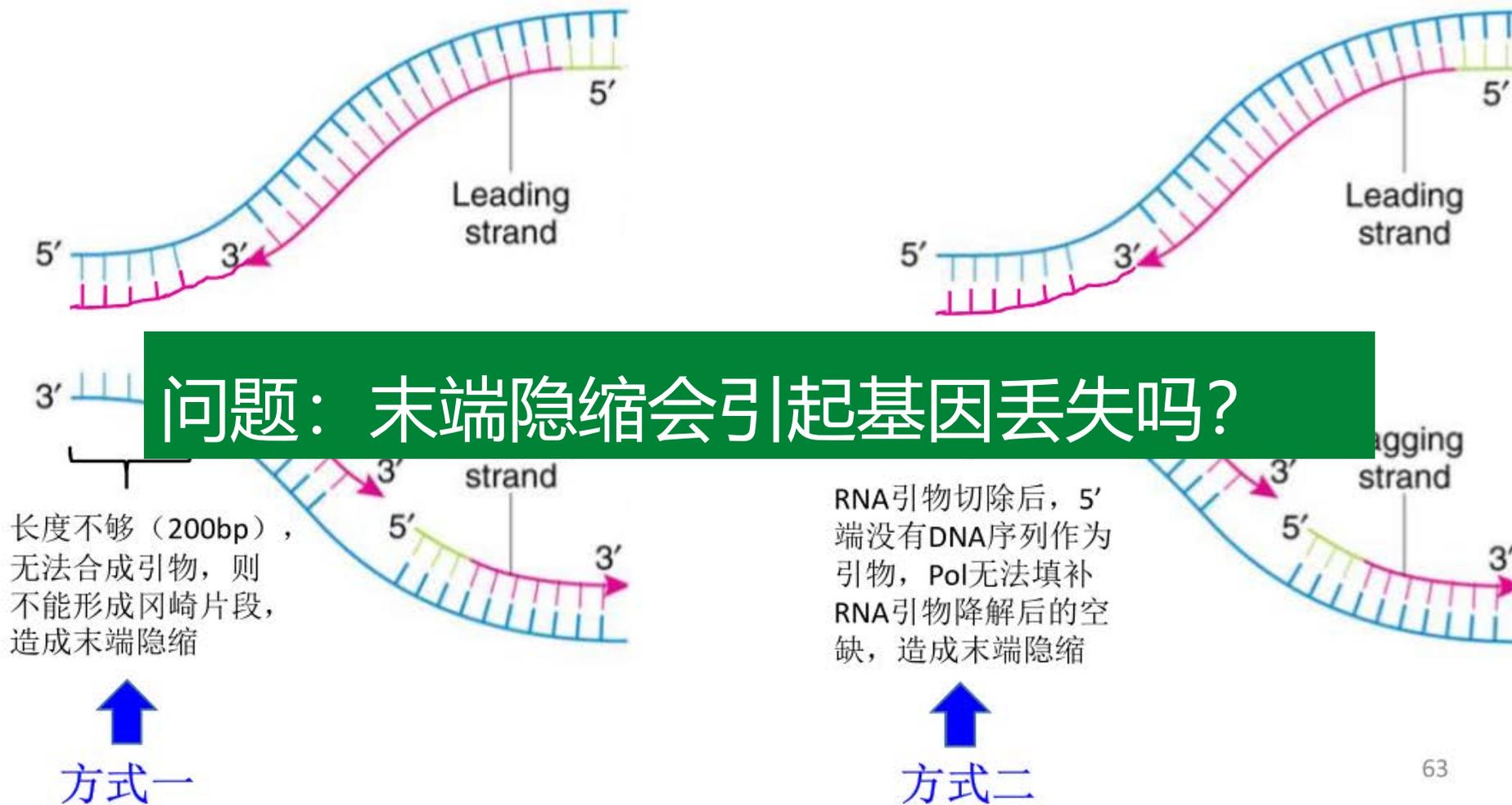
- 半保留复制
- 原核生物为单复制子，真核生物为多复制子
- 复制起始需要RNA作为引物 → **DNA复制中的末端隐缩问题**
- 双向复制（也有例外）
- 半不连续复制：后随链不连续
- 需要许多蛋白的参与：解旋酶，DNA引物酶，DNA聚合酶，连接酶等



(引自A. G. Atherly *et al.*, 1999)

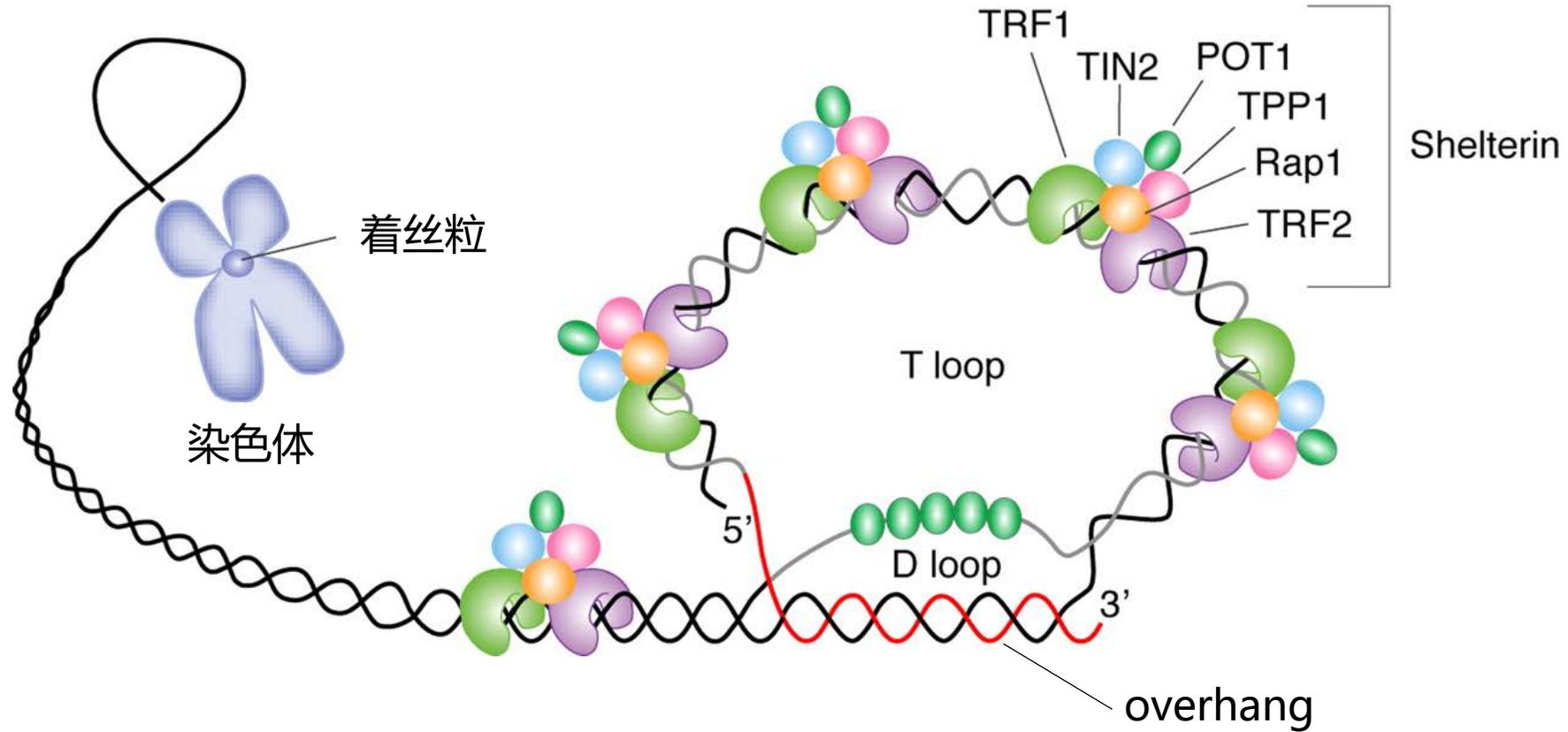
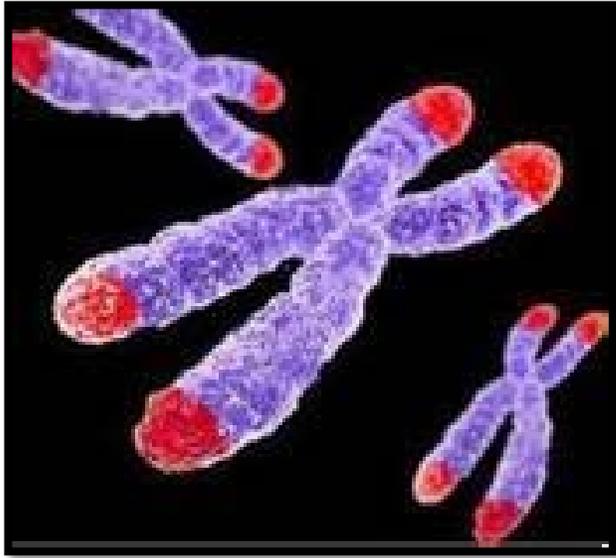


DNA复制中的末端隐缩问题



线性 DNA 分子复制后产生末端隐缩的两种方式

端粒：细胞染色体末端的特异结构



端粒的序列

- 端粒由串联重复序列组成
- 重复单元为富含G的6~8个碱基
- 不同物种的染色体端粒的重复序列各不相同
- 人的端粒序列为**TTAGGG**
- 不同物种端粒长度不同，酵母300~600 bp，人约5-10kb

端粒的发现

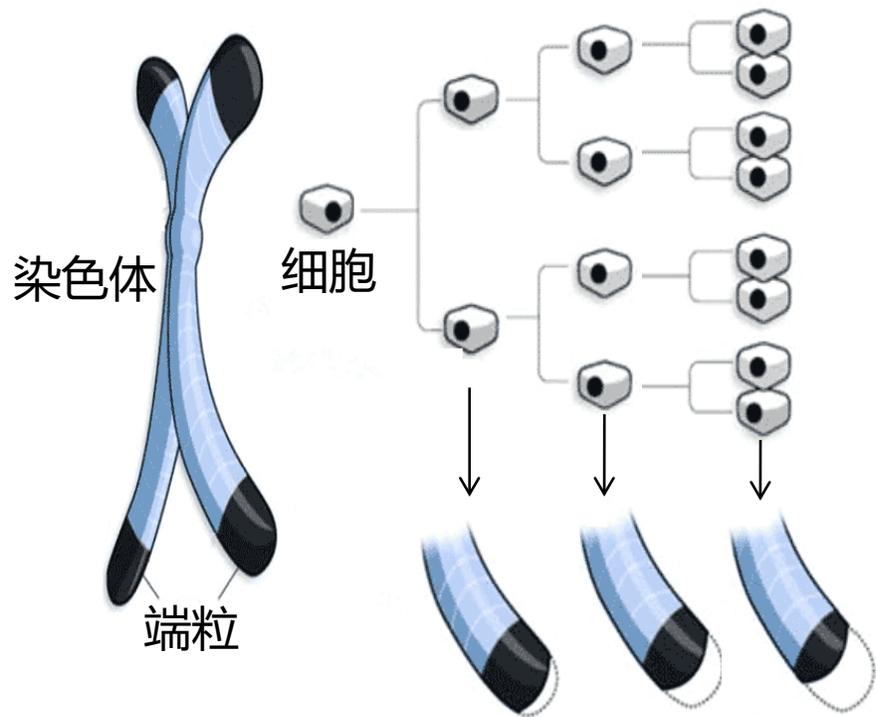
1. 1978年，Blackburn发现四膜虫的DNA末端含有许多重复的CCCAA六碱基序列；
2. 与此同时，Szostak在试图建构酿酒酵母人工线性染色体时发现：
环状质粒线性化转入酵母后很快被降解掉。
 - 两科学家合作：将四膜虫的CCCAA序列偶联到线性DNA末端并导入酵母。
 - 发现：这段端粒序列的加入使线性DNA不再降解，说明端粒对染色体的保护作用。



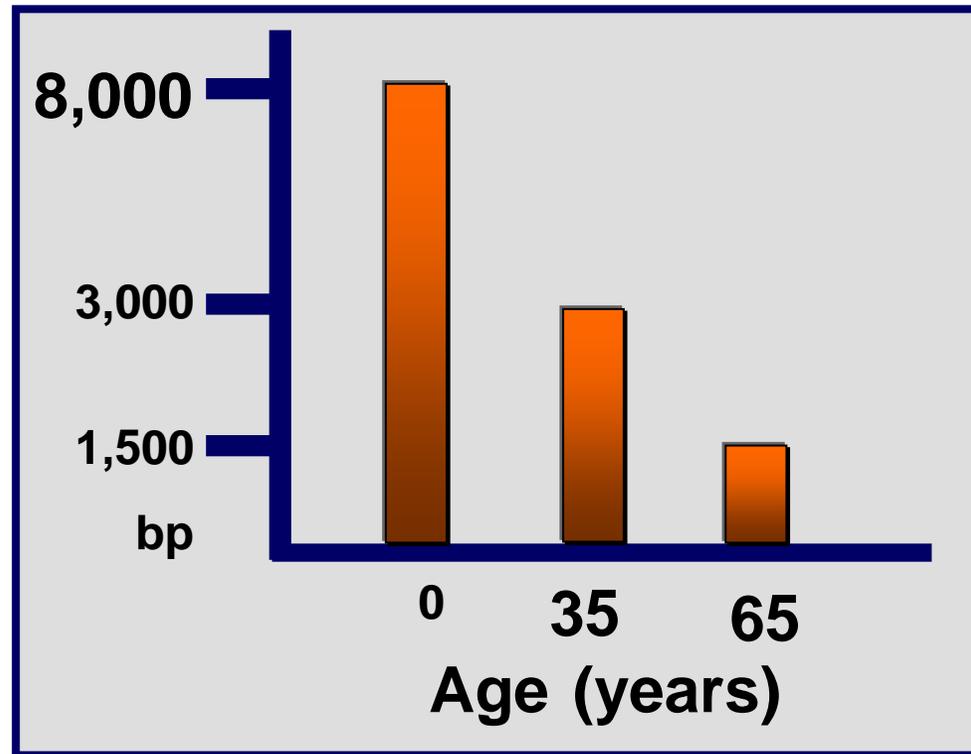
端粒的存在保护了基因组，使得基因组避免因末端复制而丢失。

那么，端粒呢？是否随着复制而丢失？

Hayflick界限与衰老



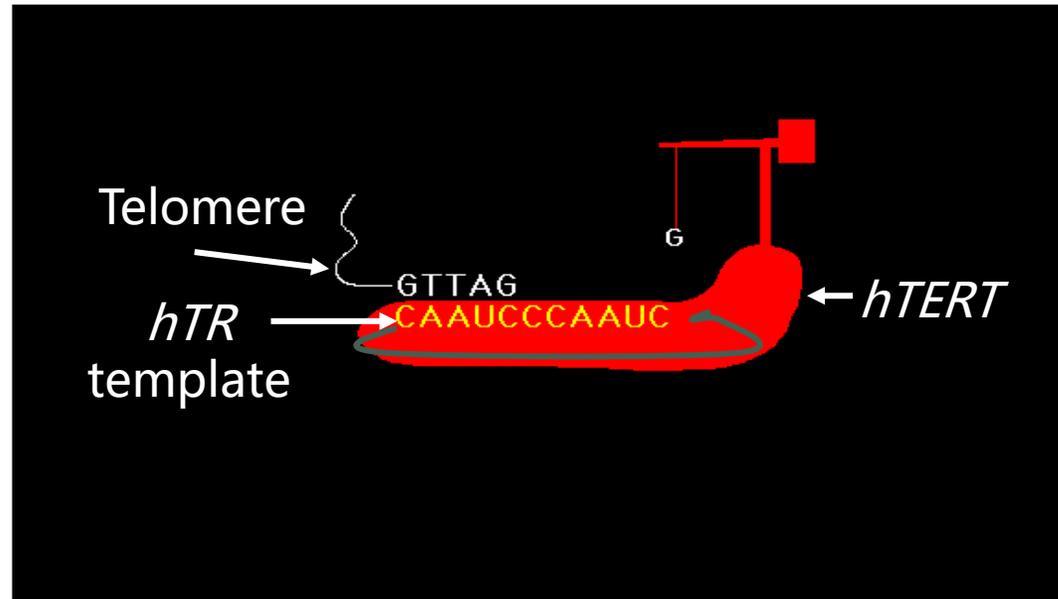
端粒随着细胞分裂而缩短，复制衰老发生。



端粒长度与年龄呈负相关。

端粒酶的作用机制

肿瘤细胞如何克服Hayflick界限？



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2009



© The Nobel Foundation. Photo: U. Montan

Elizabeth H.
Blackburn

Prize share: 1/3



© The Nobel Foundation. Photo: U. Montan

Carol W. Greider

Prize share: 1/3



© The Nobel Foundation. Photo: U. Montan

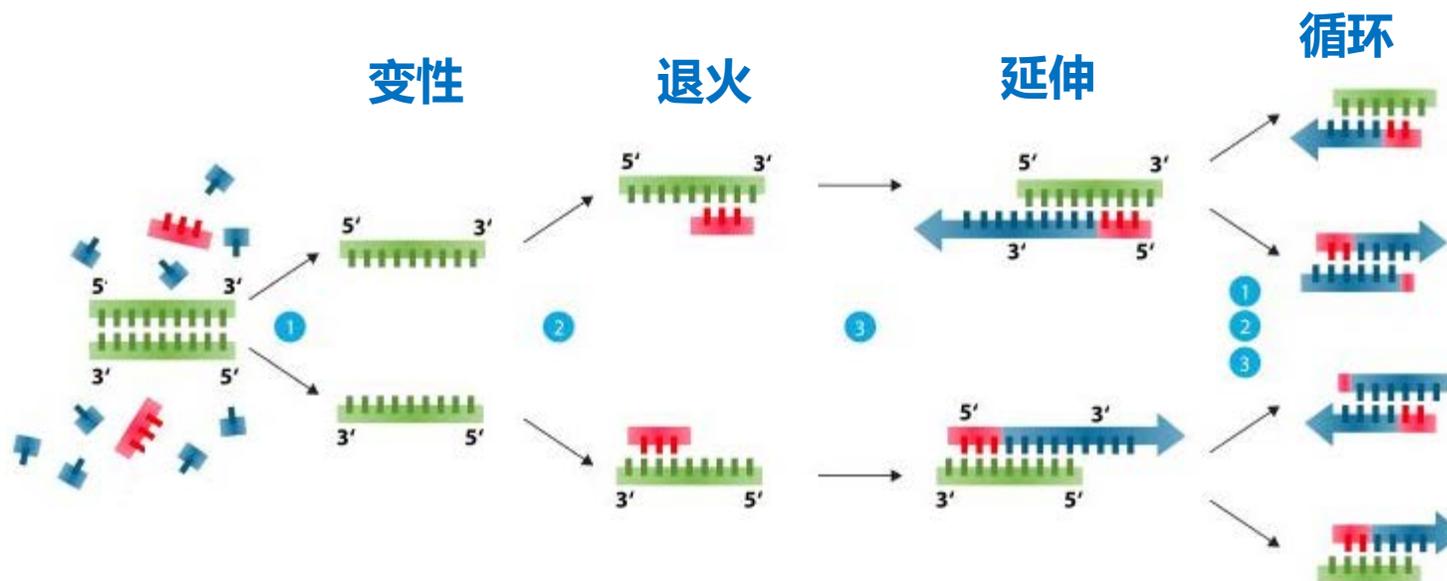
Jack W. Szostak

Prize share: 1/3

For the discovery of how chromosomes are protected by telomeres and the enzyme telomerase.

DNA复制原理的应用1:

聚合酶链式反应PCR (Polymerase Chain Reaction)



PCR技术在生命科学、医学诊断、农业等领域获得广泛应用。如基因克隆、基因表达检测；细菌、病毒、寄生虫检测；植物病原的检测、品种的鉴定等。

你能举个PCR应用的例子吗？

核酸检测

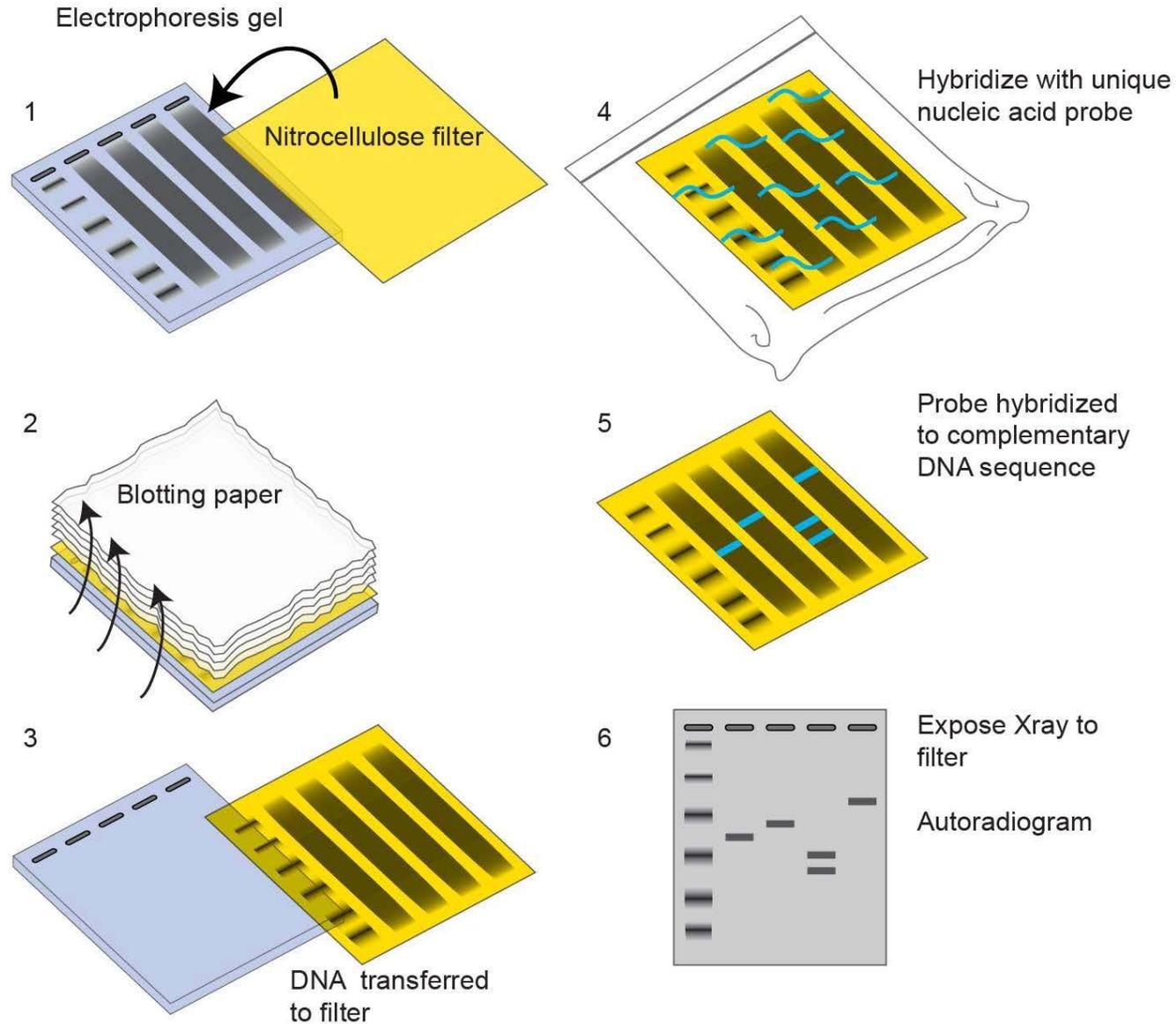


PCR已成为生科人“生活”中不可缺少的实验工具

The Nobel Prize in Chemistry 1993 was awarded "for contributions to the developments of methods within DNA-based chemistry" jointly with one half to Kary B. Mullis "for his invention of the polymerase chain reaction (PCR) method" and with one half to Michael Smith "for his fundamental contributions to the establishment of oligonucleotide-based, site-directed mutagenesis and its development for protein studies"

1993年， Kary Mullis获得诺贝尔化学奖

DNA复制原理的应用2: Southern和Northern杂交

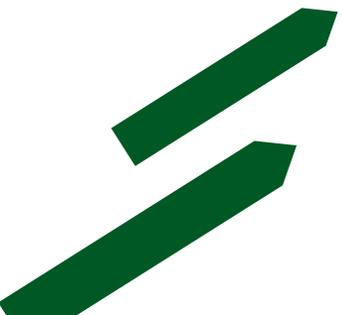




9.3

SECTION

基因功能与基因精细结构的发现

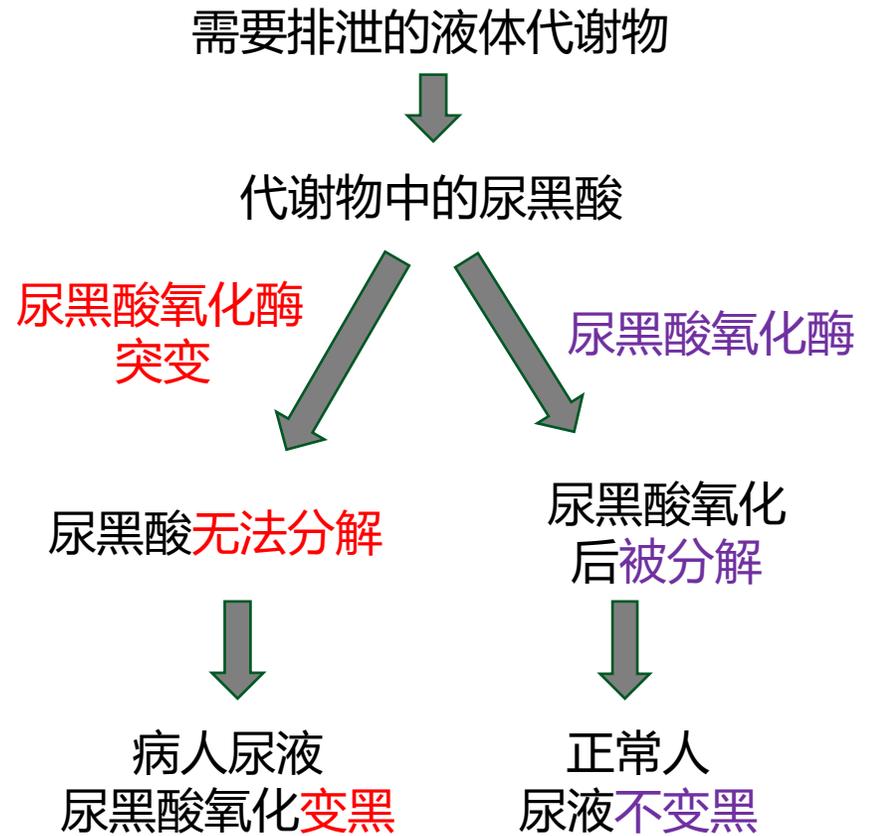


基因功能的发现： 一基因一酶假说



Sir Archibald Edward Garrod
(1857-1936)

1902年，在对黑尿病的研究中提出基因和酶之间存在关系，一个基因的缺陷引起一种酶的变化，从而产生一种遗传性状



- 第一个将人类机能失调与孟德尔遗传定律联系起来的人

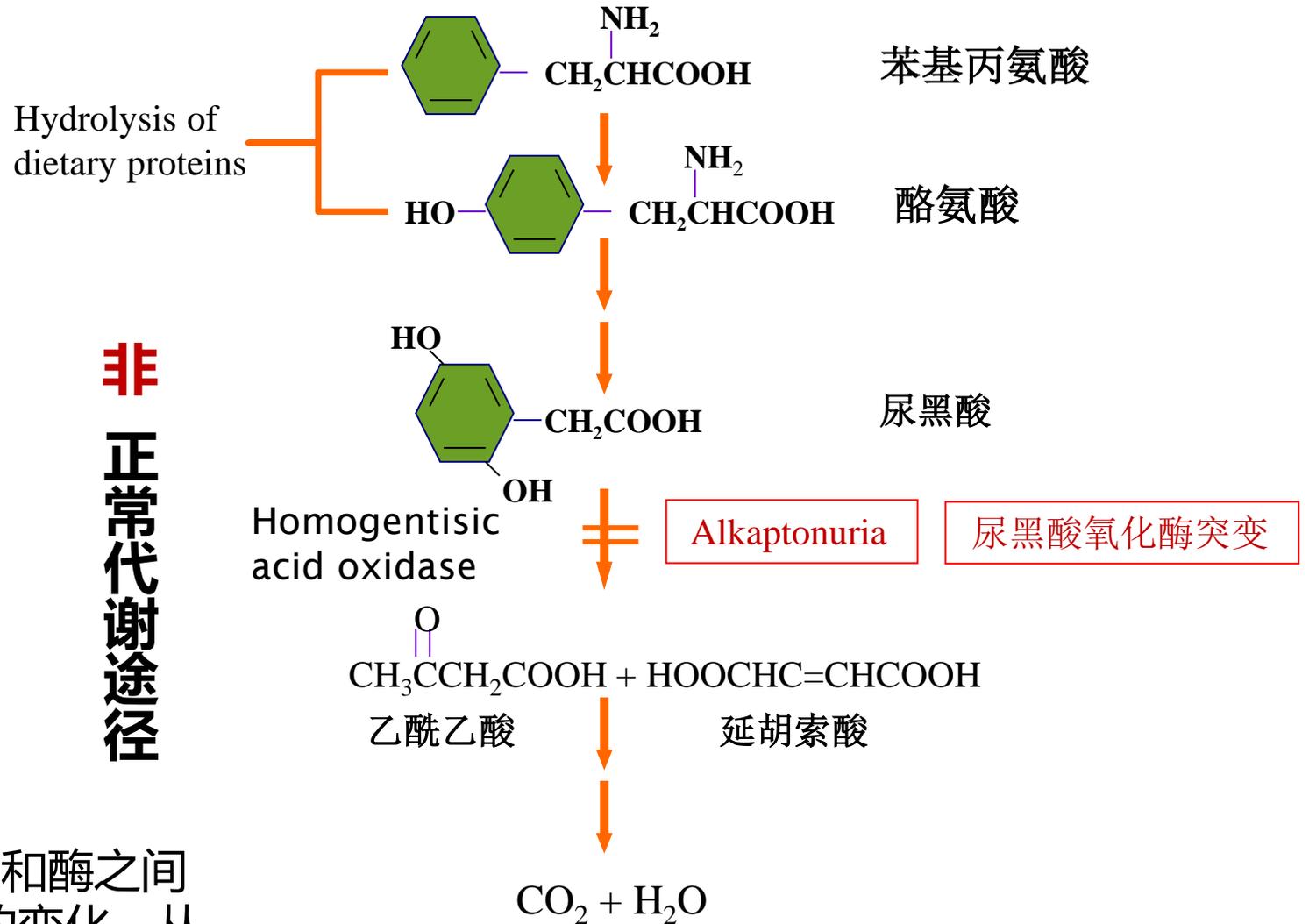
基因功能的发现：

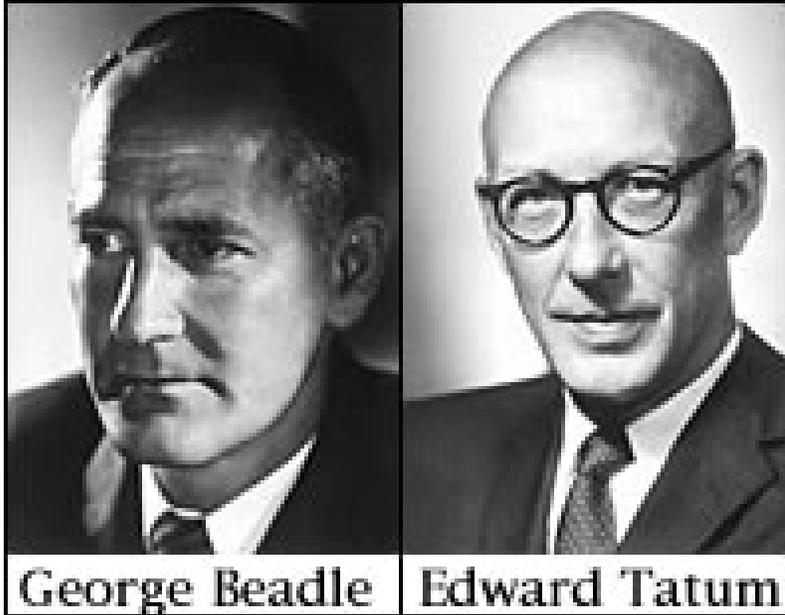
一基因一酶假说



Sir Archibald Edward Garrod
(1857-1936)

1902年，在对黑尿病的研究中提出基因和酶之间存在关系，一个基因的缺陷引起一种酶的变化，从而产生一种遗传性状





Beadle和Tatum利用脉胞霉突变体提出one gene one enzyme概念，充分证明了基因与酶的直接对应关系。

1958年获诺贝尔奖

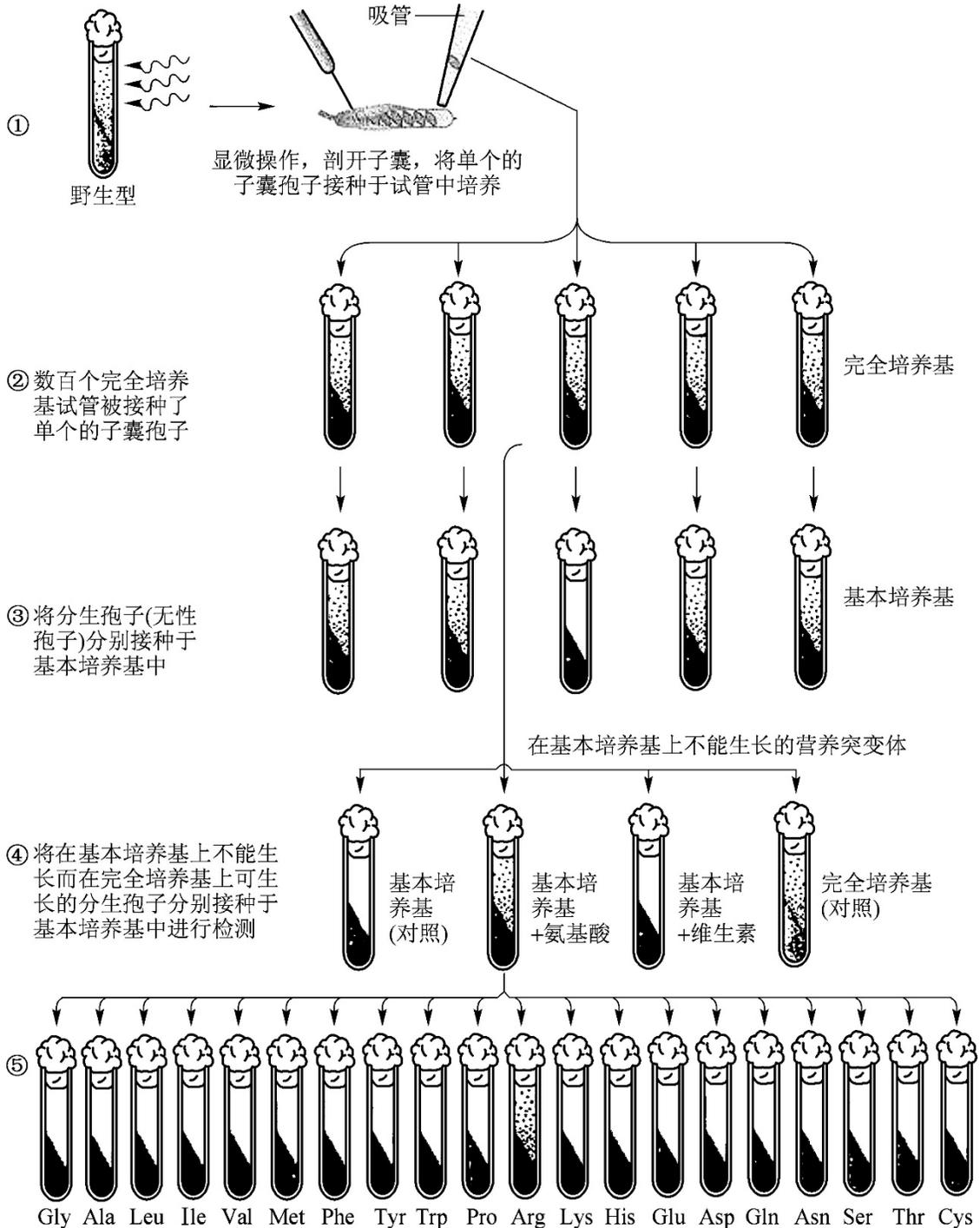
*GENETIC CONTROL OF BIOCHEMICAL REACTIONS IN
NEUROSPORA**

BY G. W. BEADLE AND E. L. TATUM

BIOLOGICAL DEPARTMENT, STANFORD UNIVERSITY

Communicated October 8, 1941

PNAS, 1941, 27(11): 499-506.



从脉孢霉中分离突变子囊孢子的实验过程

突变可以遗传



他们认为：一个基因的缺陷导致一个酶的缺陷，从而产生一个生长依赖突变型

一基因一酶学说首先阐明了基因的分子功能——基因通过对酶的控制来决定生物的性状。

自从Beadle和Tatum的工作后，从许多不同的生物中都发现很多酶的缺陷是由于单个基因的突变引起的。

思考：为什么“一基因一酶”学说并不是很准确？（P223）

基因重组与顺反子

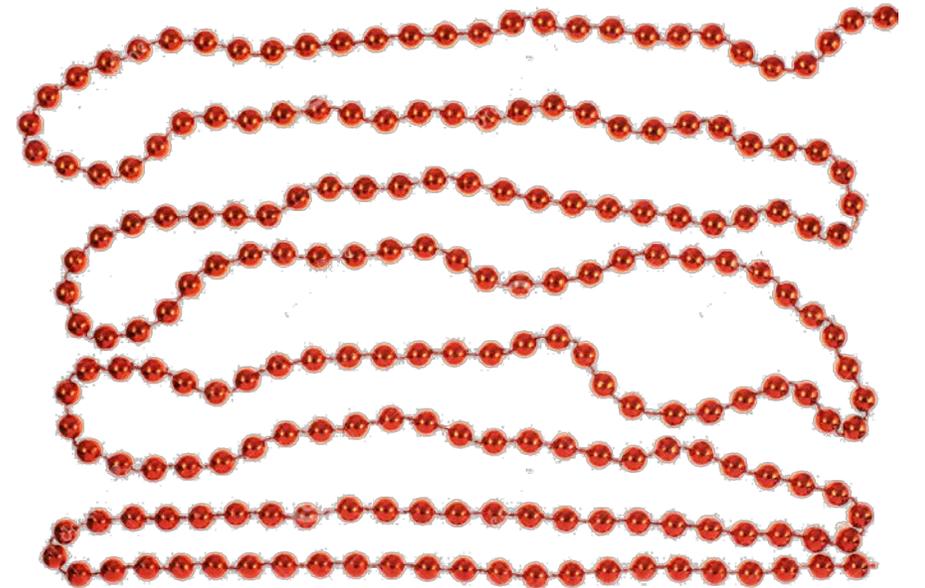
经典遗传学中：

基因是决定性状的最小遗传物质单位（基因的功能）

基因是突变单位（ $A \rightarrow a$ ）

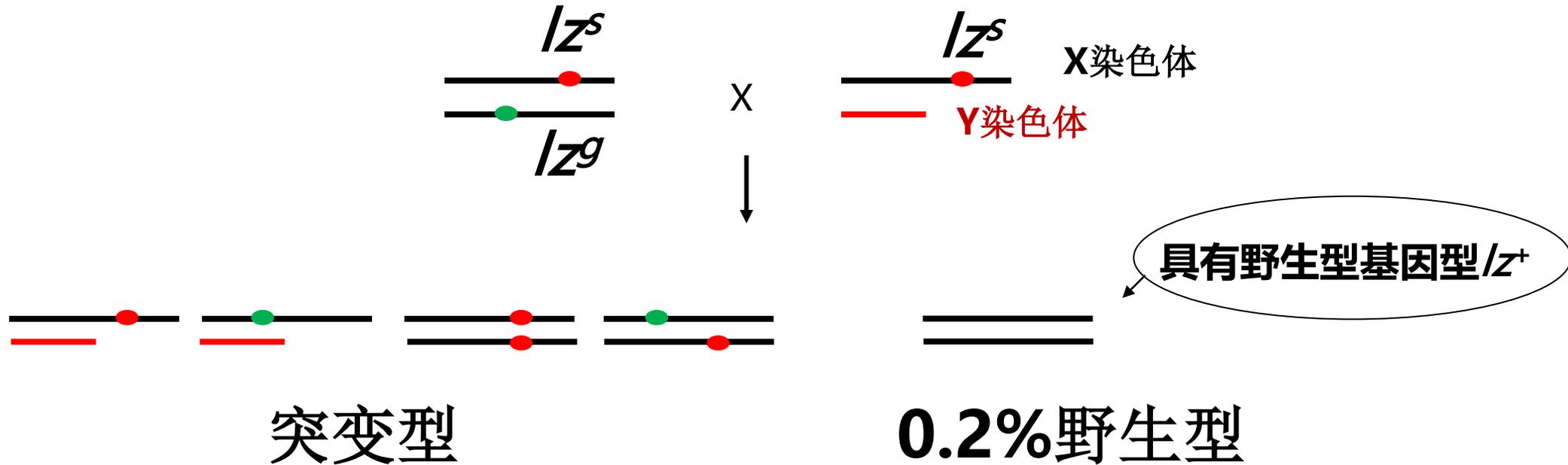
基因是重组单位（完整基因间发生重组）

REALLY?



1940年Oliver首次报道了基因内重组现象。

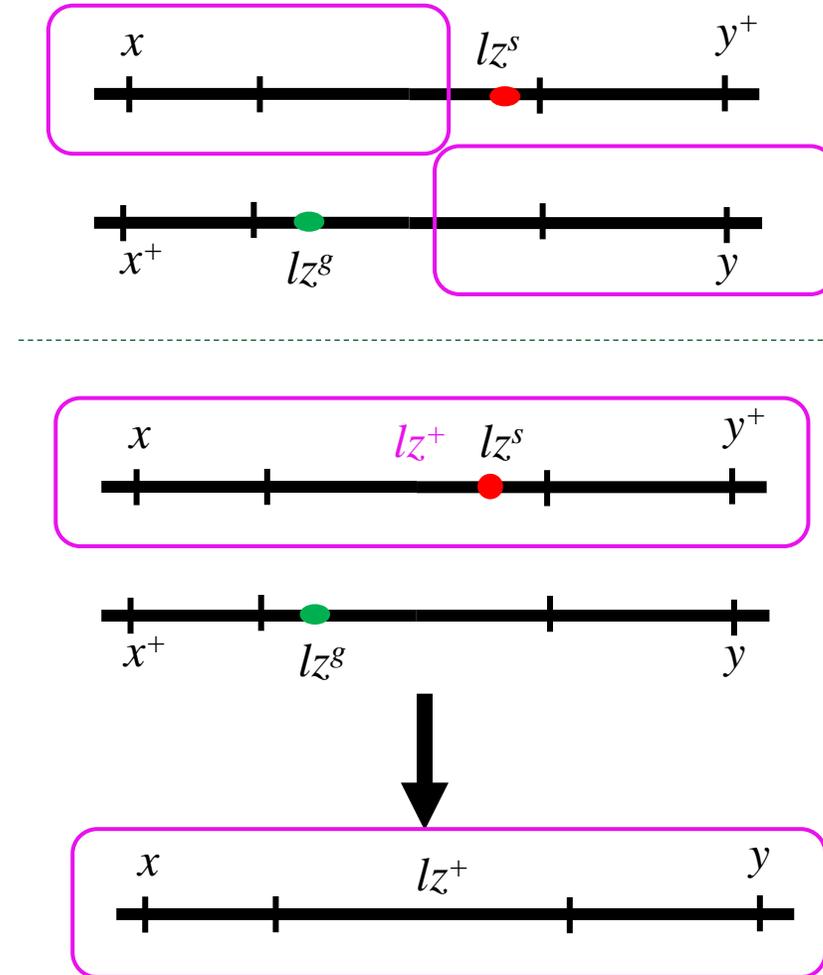
果蝇X染色体上lozenge位点具有两个隐性等位基因： l/z^s 和 l/z^g



Oliver认为这些等位野生型基因的产生是由于在该位点发生了交换的结果。

为了证明他的推测， Oliver利用该基因两侧的标记进行实验

- 实验：标记了 *lozenge* 位点两侧的突变位点（侧翼标记实验）
- 推测：如果 *lozenge* 位点内发生交换，则侧翼标记也会发生重组。
- 结果：野生型后代X染色体组成总是这样的
- 说明： l_z^+ 染色体的产生是由于在 l_z^s 和 l_z^g 两个点之间发生了交换。





Oliver这一开创性工作第一次说明基因**并不是像念珠一样**排列在染色体上，基因是可分的，基因内含**有突变和可被重组分离的位点。**

怎样确定两突变型之间的关系？

通过**重组测验**可制作遗传图和确定基因的空间关系。

通过**互补测验 (complementation test)** 可确定具同一表型效应的突变是等位的还是非等位的。

- The word 'cistron' was coined in 1956 by Seymour Benzer at a time when molecular genetics was still in its infancy. He used the term to identify **a segment of a genome that is responsible for a single genetic 'function' , as determined by the *cis-trans* complementation test.**

概念：顺反子 (cistron) 指编码一条多肽链的DNA序列，是通过互补试验所定义的一个遗传单位 (教材P223)

- 顺式：指两个突变位点位于同一染色体上



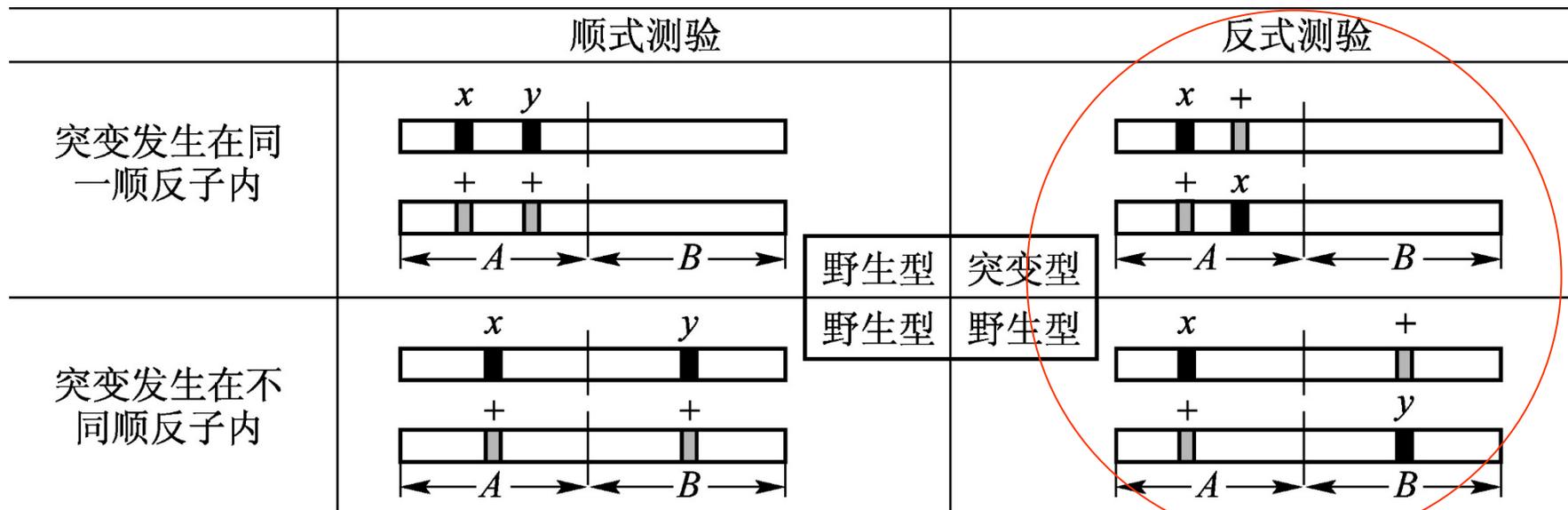
- 反式：指两个突变位点位于不同染色体上



互补试验又称为顺反试验 (cis-trans test) (P225)。

互补指两个隐性突变型互相弥补对方缺陷，表现野生型。

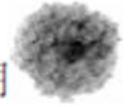
- 如果反式时互补，说明两突变位点处于不同顺反子。
- 如反式时不互补，说明它们属于同一顺反子。



A, B: 为两个不同的顺反子; x, y为两个突变位点

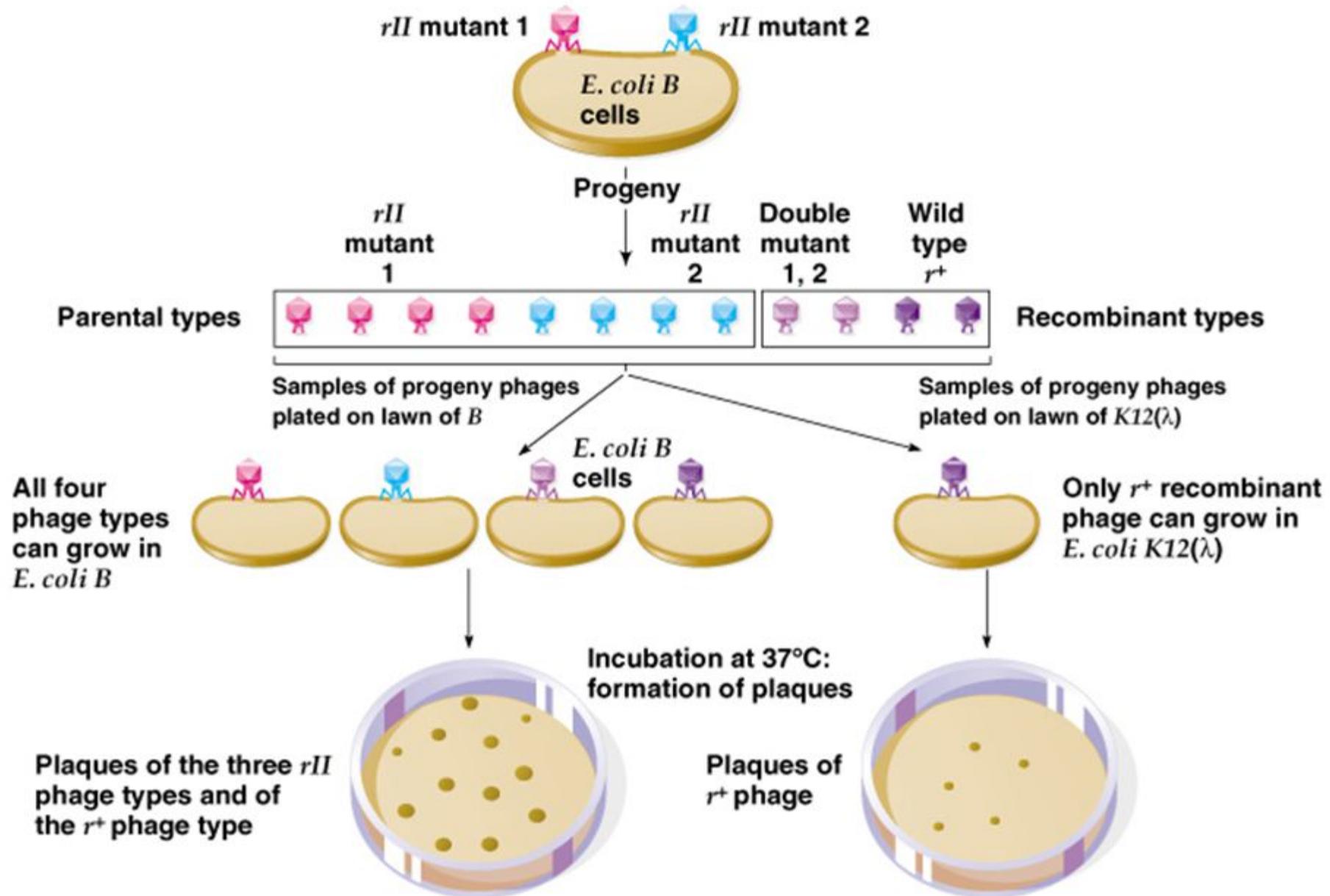
例如：1953 Benzer experiment on *rII* locus of Bacteriophage T4

- T4噬菌体裂解 *E. coli* 所需的酶是在T4 DNA的 *r* 区控制下合成的。
- *rII* 区有3000多个突变型品系，具有相同的表型。

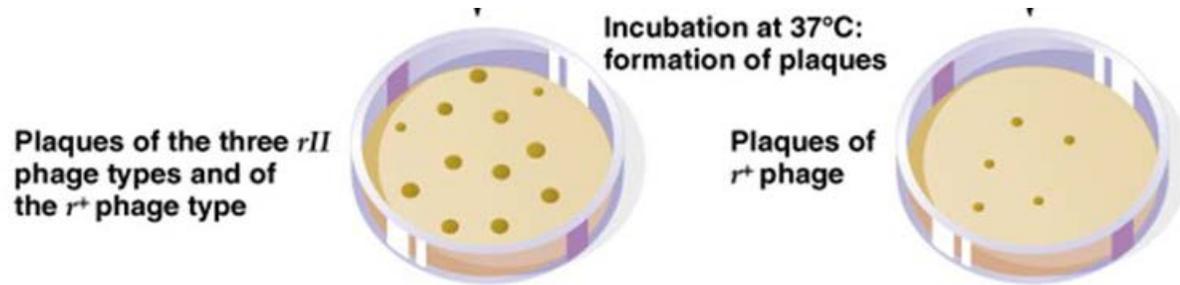
	<i>E. coli</i> B	<i>E. coli</i> K(λ)
T4 噬菌体 <i>rII</i>	大而清楚 	不能生长
T4 噬菌体 <i>rII</i> +	小而模糊 	小而模糊 

- 这些突变是否都属于同一个基因？
- 通过重组测验和互补测验可以解决这一问题。

Recombinants of two *rII* mutants of T4.



重组值的计算

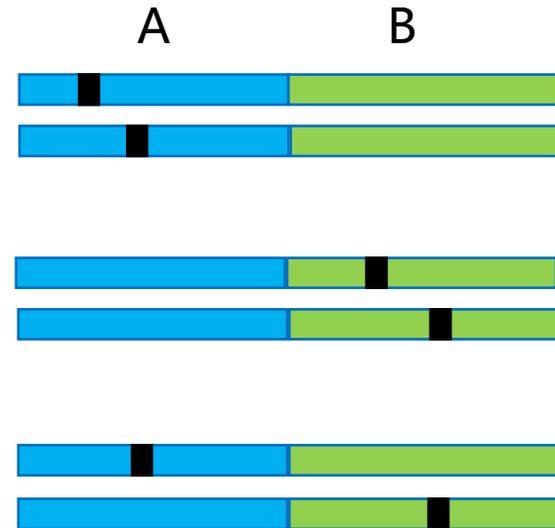


$$\frac{2 \times (r^+ \text{噬菌斑数})}{\text{总噬菌斑数}} = \frac{2 \times \text{在 } E. coli K(\lambda) \text{ 上能生长的噬菌斑数}}{\text{在 } E. coli B \text{ 上能生长的噬菌斑数}} \times 100\%$$

- *rII*区两个突变位点的最小重组率为0.02%，即0.02个图距单位
- T4的遗传图为1 500 mu，基因组有 1.65×10^5 bp
- 因此0.02个mu（即一个重组子）约相当于2.2 bp
- 可见: 重组子单位可小到约相当于一个核苷酸对

Benzer分析了rII区域超过2400个突变型，将这些突变型分成A、B两组，感染E. coli K(λ)时：

- A组内两个共感染不能互补(无噬菌斑)
- B组内两个共感染不能互补(无噬菌斑)
- A组一个与B组一个共感染，能互补（有噬菌斑）



说明：rII区中的A、B两个区段是两个独立的遗传功能单位

顺反子

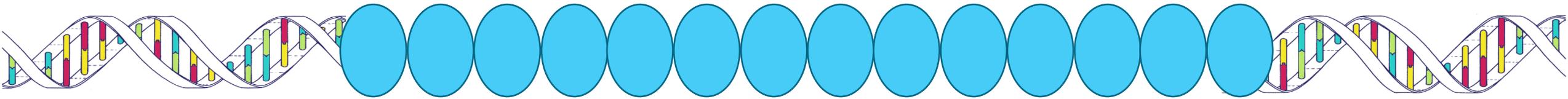
不同突变之间没有互补关系的功能区叫**顺反子(cistron)**，它是一个功能水平上的基因。

Benzer是第一个引入“分子基因”概念的人。

现代遗传学概念中，大部分时候**基因和顺反子**等价：它是遗传功能单位，突变单位，重组单位，也是可表达的遗传信息的单位，它**包括编码区域的前后序列（侧翼序列）和基因中的间隔序列（内含子）**。

在真核生物中，通常一个转录完毕的mRNA只编码一条多肽链，称为**单顺反子**；而在原核生物中，一个mRNA分子编码多个多肽链，这些多肽链对应的DNA片段则位于同一转录单位内，享用同一起点和终点，叫**多顺反子**。

9.4 基因的分子结构



基因是念珠状排列的吗？

基因的不连续性

- 1977年，Roberts和Sharp同时以腺病毒mRNA为探针与腺病毒DNA杂交，发现mRNA序列被非编码基因隔开，称为**断裂基因 (split gene)**
- 1978年，Gilbert将这些编码序列和非编码序列命名为**外显子 (exon)**和**内含子 (intron)**
- 随后发现内含子的广泛存在

1993年，Roberts和Sharp因为发现断裂基因获得诺贝尔奖。

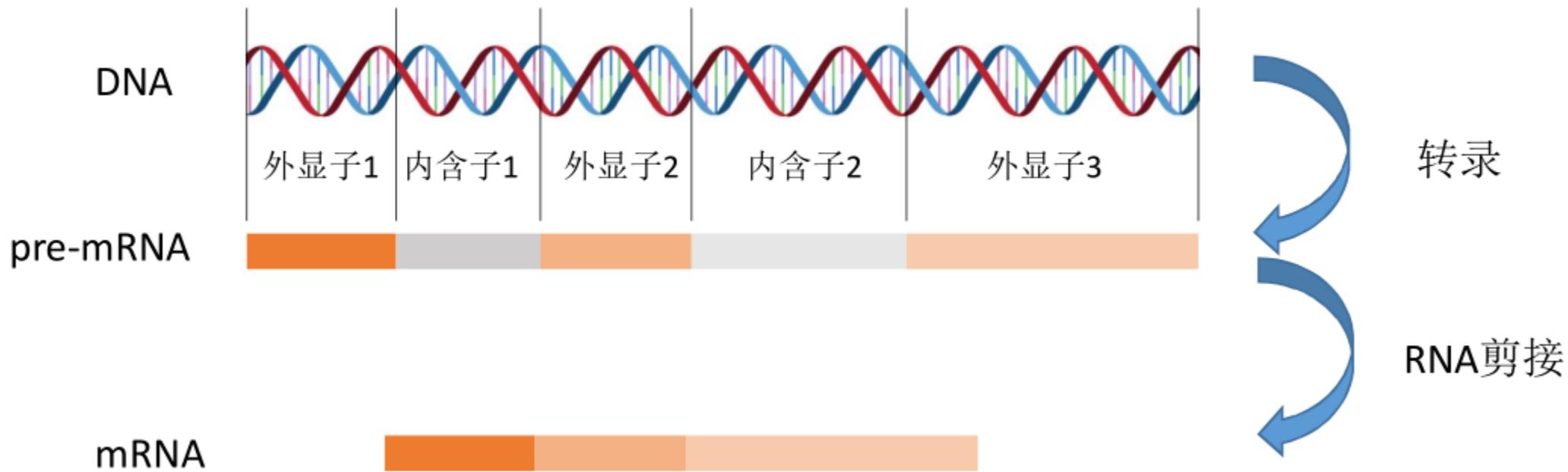


Richard J. Roberts

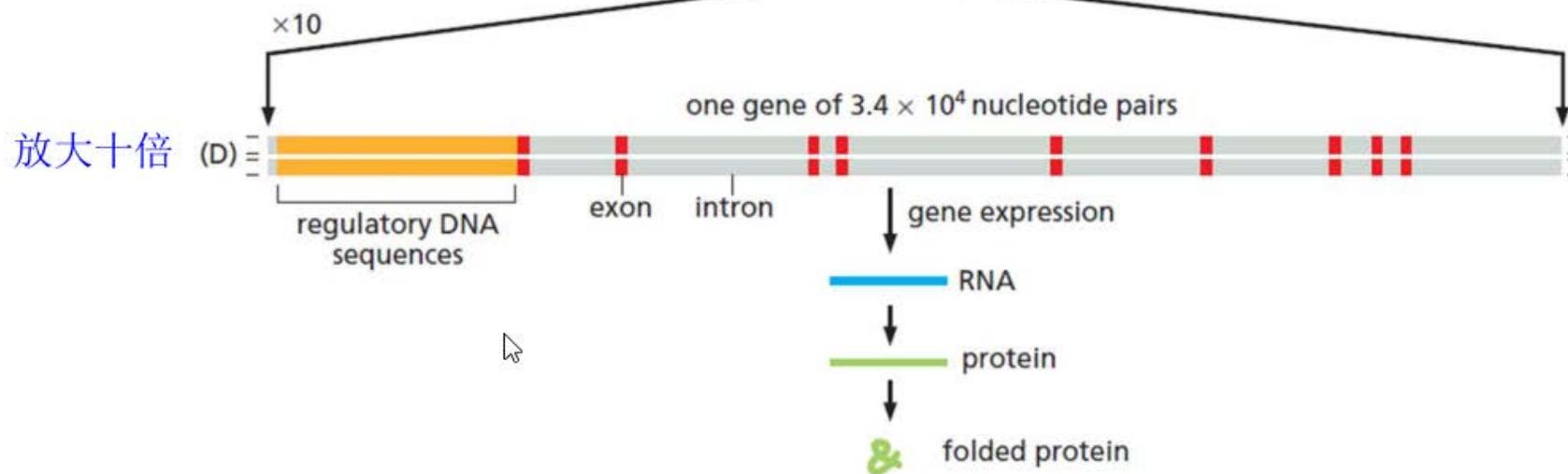
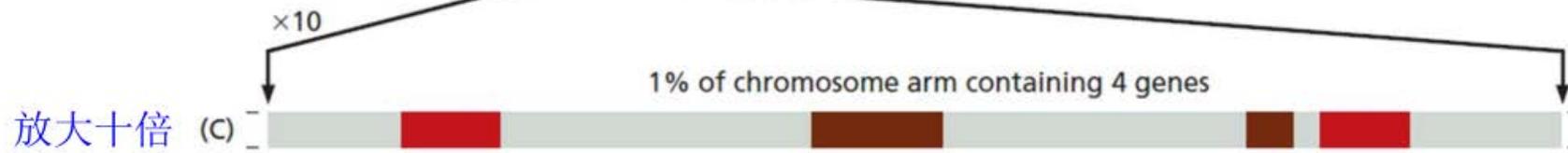
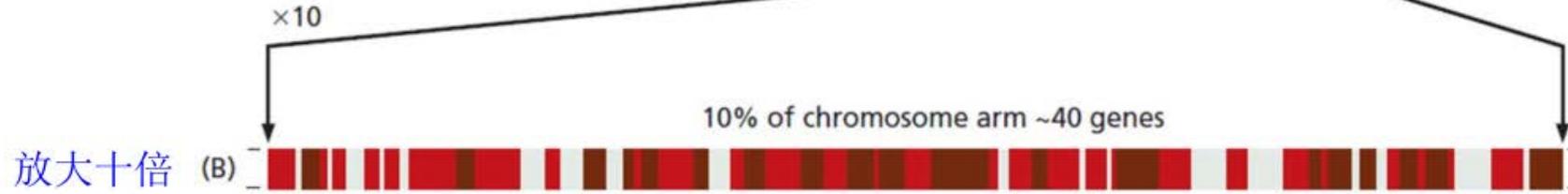


Phillip A. Sharp

基因的不连续性



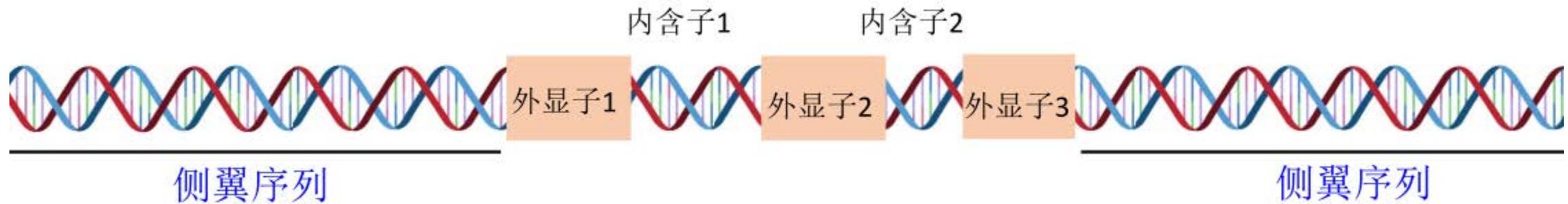
(A) human chromosome 22 in its mitotic conformation, composed of two double-stranded DNA molecules, each 48×10^6 nucleotide pairs long



The organization of genes on a human chromosome

基因的侧翼序列

启动子，增强子，沉默子，终止子，绝缘子.....

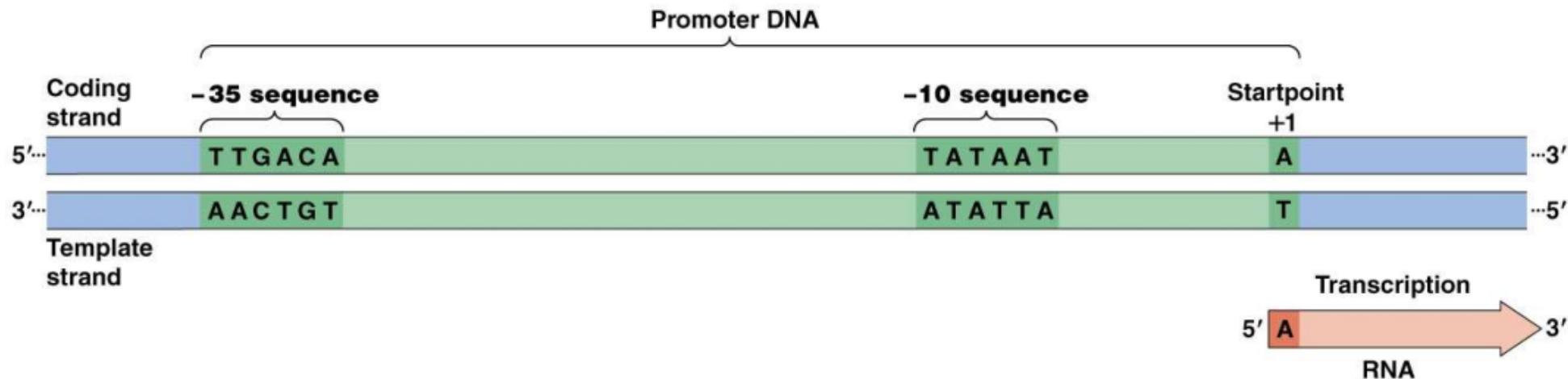


- 启动子 (promoter) : 基因5' 端上游序列, 是RNA聚合酶和其他转录因子识别并结合形成转录复合物的部位。
- 增强子 (enhancer) : 可以增强启动子发动转录作用, 从而明显提高基因转录效率的一段DNA序列, 属于正调控元件。

增强子的特点:

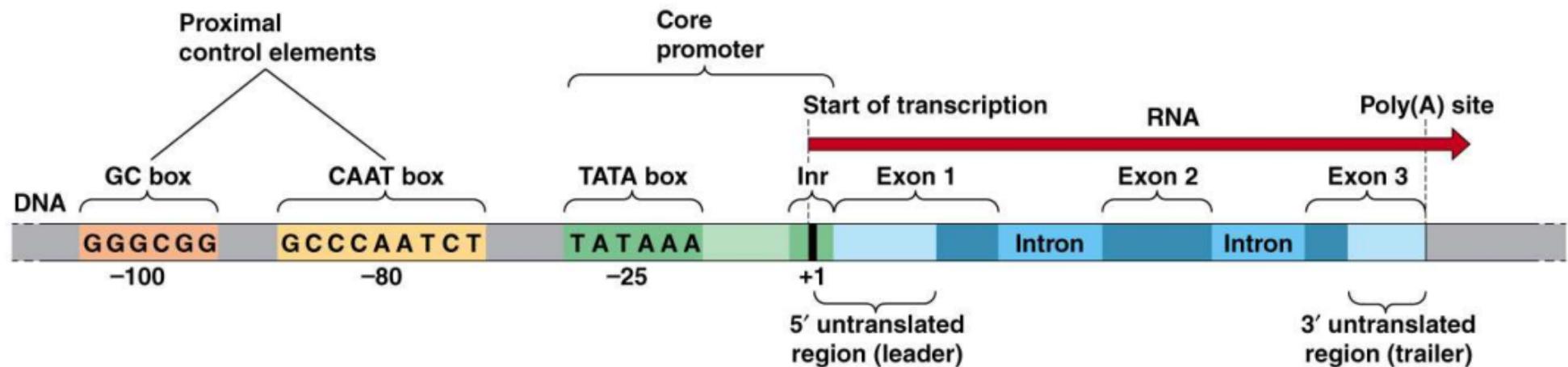
- 远距离效应
 - 无方向性
 - 无物种和基因特异性
 - 顺式调节
- 沉默子 (silencer) : 与增强子的作用相反的DNA序列, 属于负调控元件。

原核生物启动子结构的一般模式

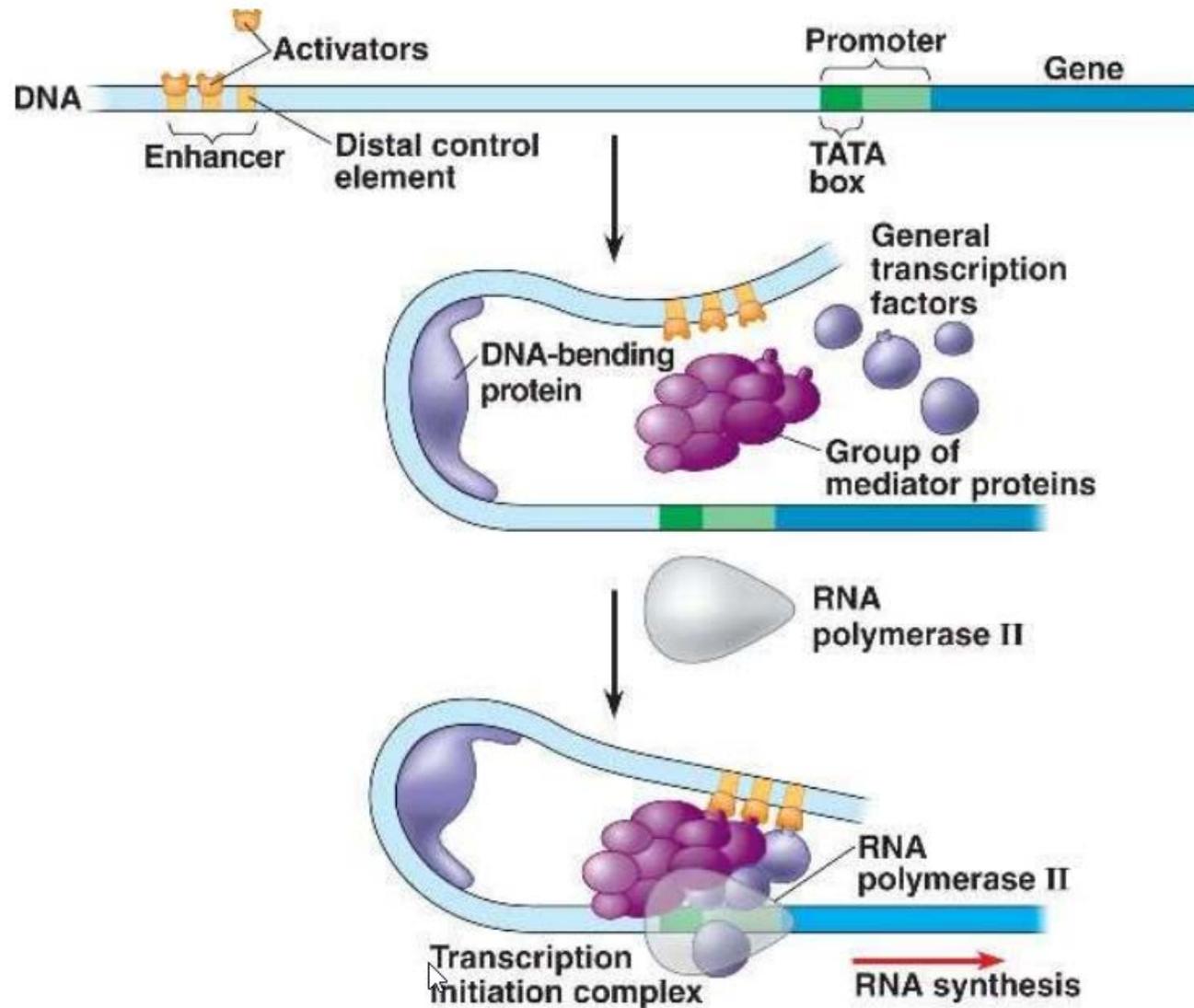


© 2012 Pearson Education, Inc.

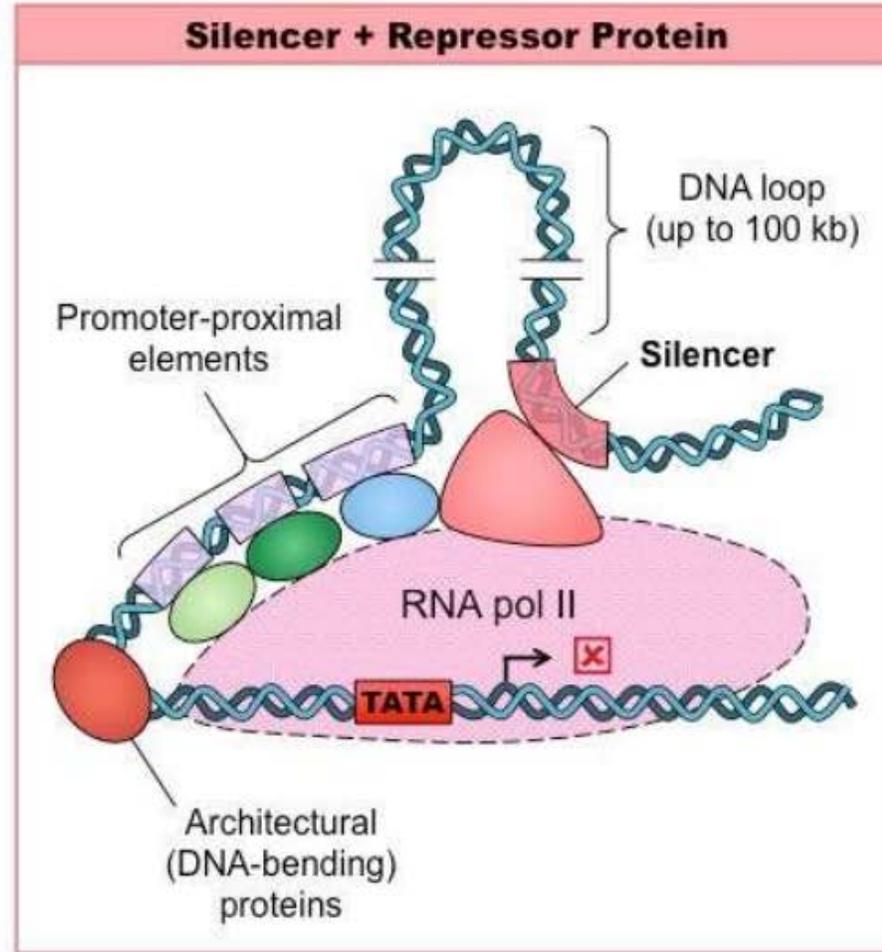
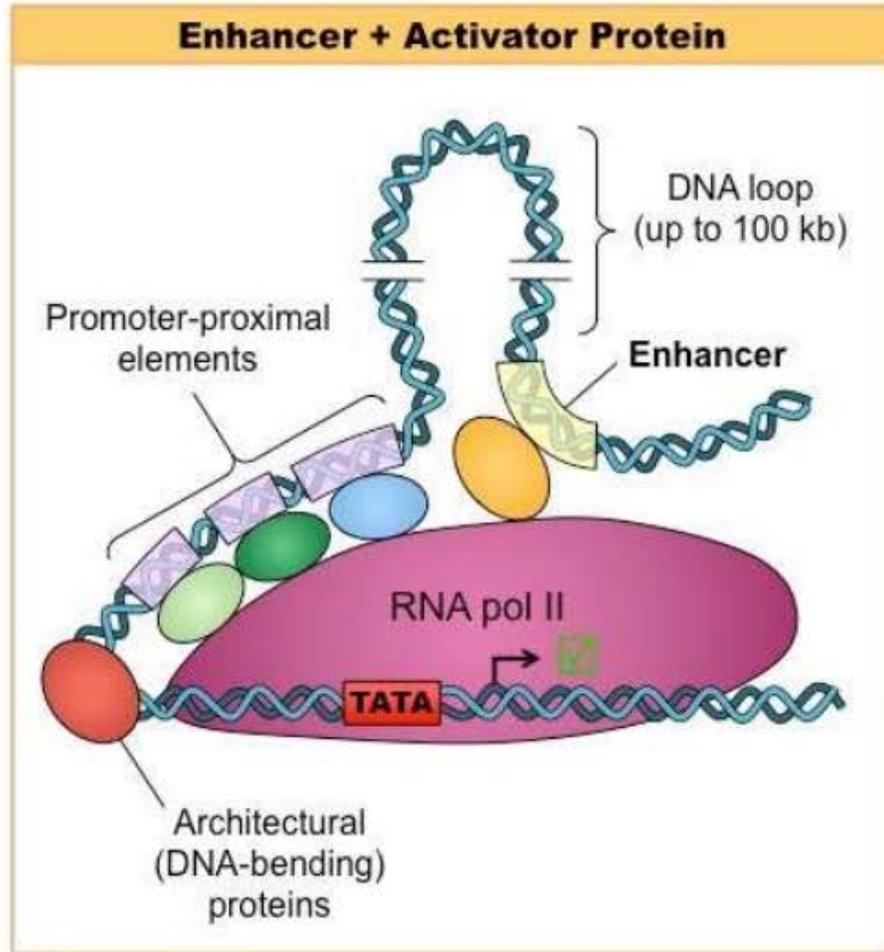
真核生物启动子结构的一般模式



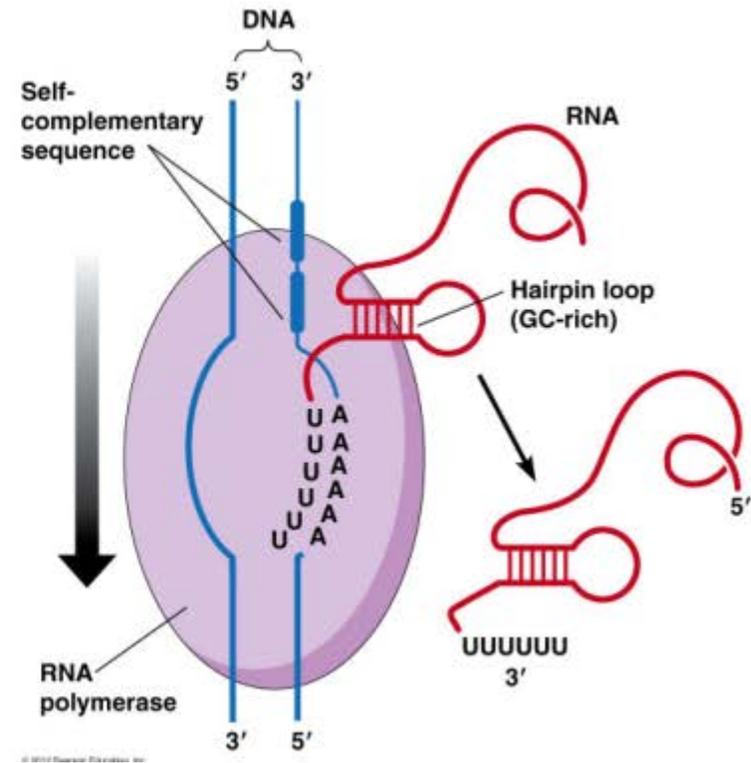
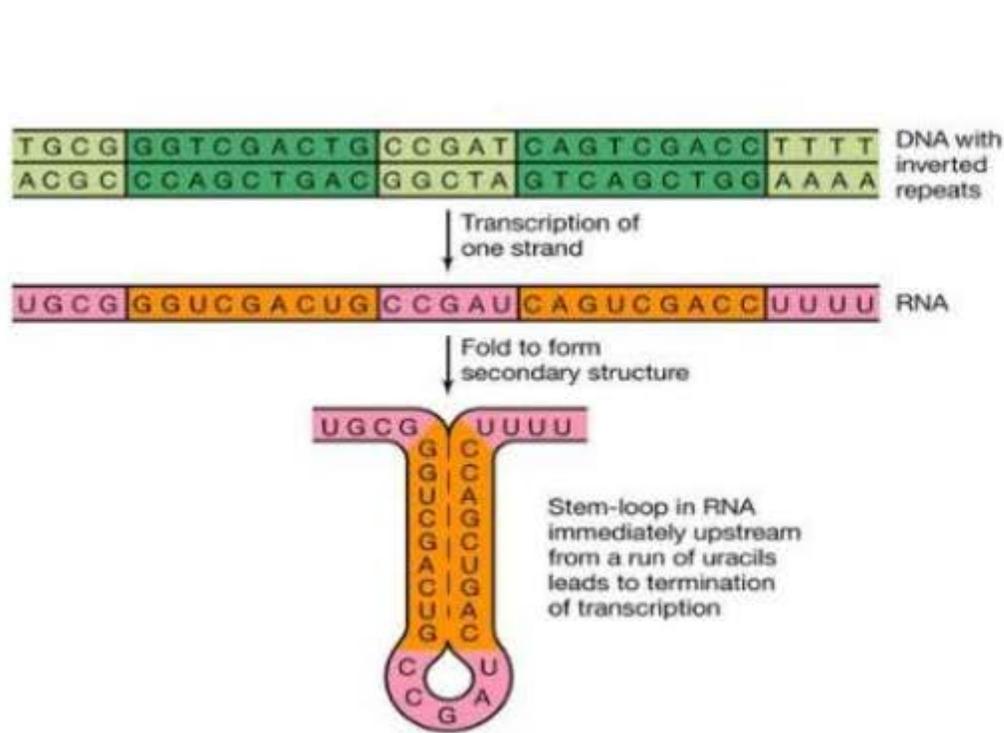
启动子与增强子



增强子与沉默子



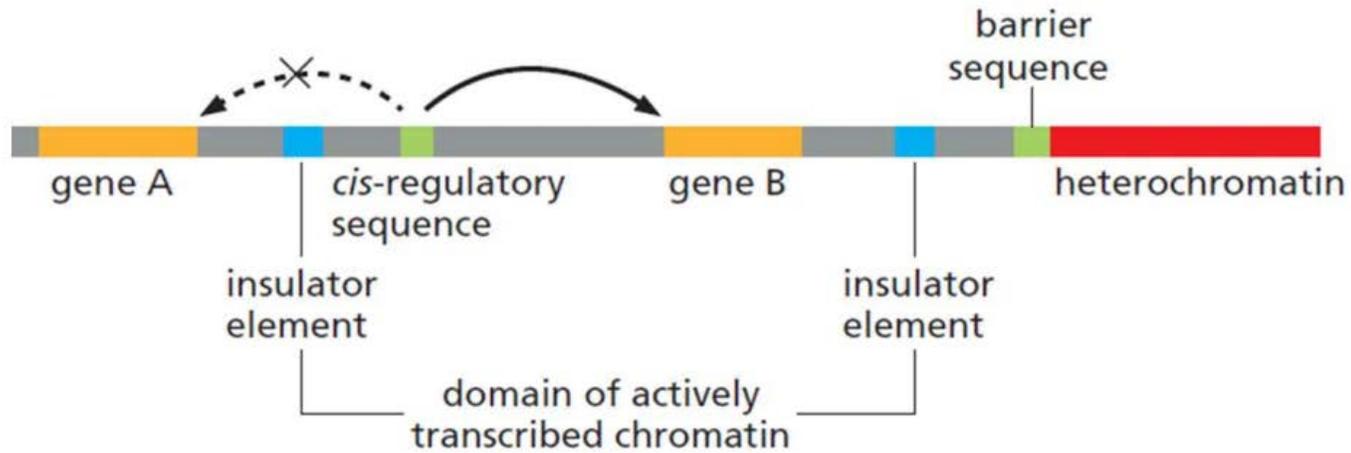
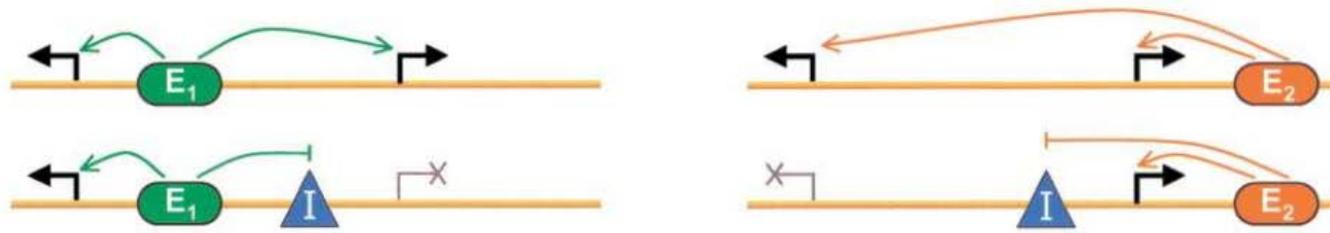
终止子 (terminator) : 在转录过程中提供转录终止信号的序列。

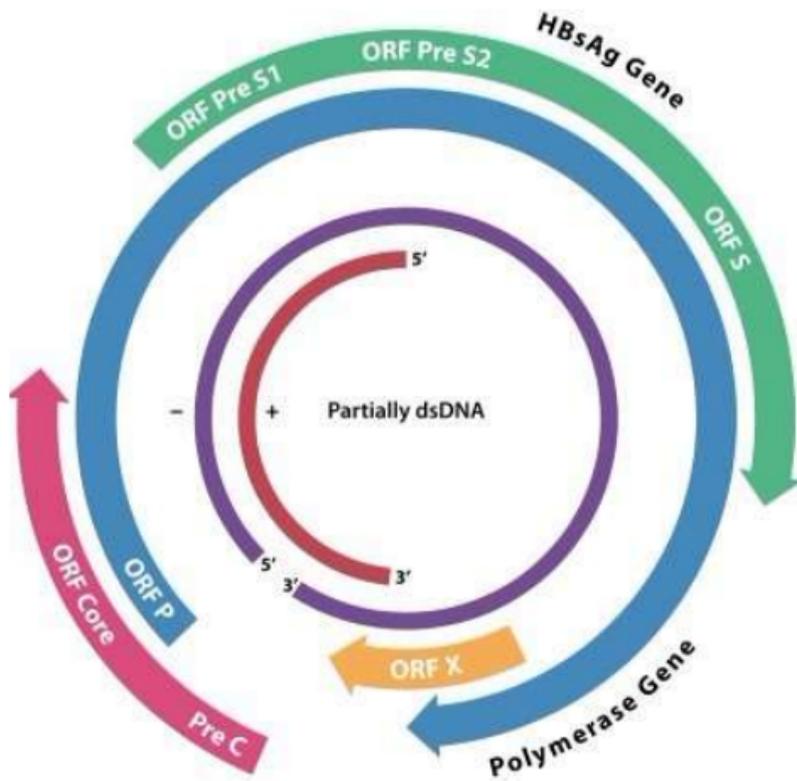


不依赖于 ρ 因子的转录终止子结构

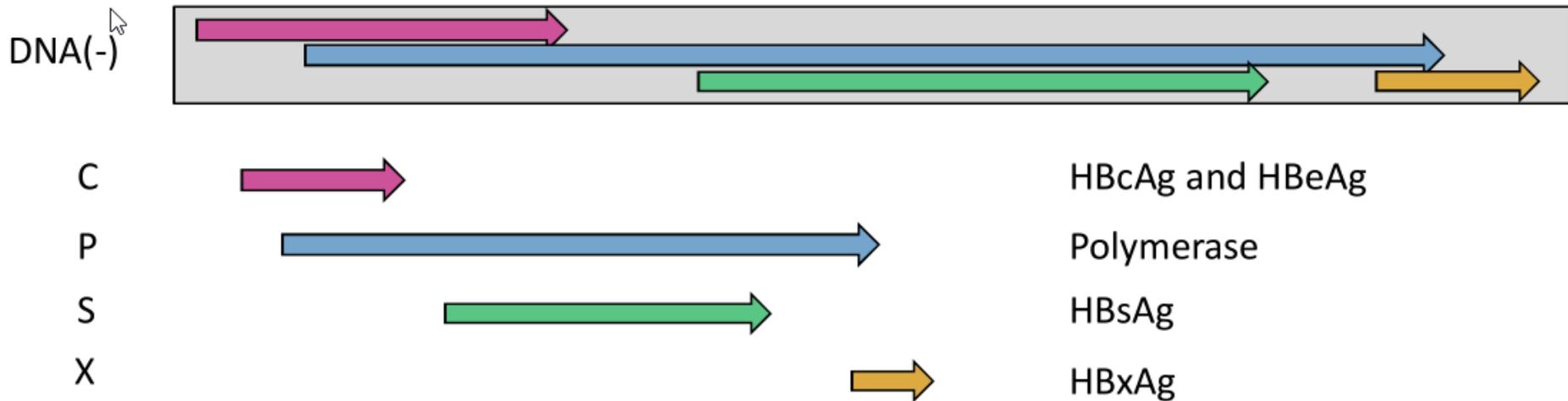
起到转录终止信号作用不是DNA序列，而是转录生成的RNA序列

绝缘子 (insulator) 与屏障序列 (barrier sequence)





<http://www.bion.com/biology/UploadFiles/201202/2012022000284289.jpg>



RNA基因

- 基因的终产物只有蛋白质吗?
- 基因的终产物也可以是RNA:
 - 具有酶功能的核酶 (ribozyme)
 - 具有调节功能的小分子RNA (miRNA)
 - 参与蛋白质合成的tRNA和rRNA
 - 参与X染色体失活的Xist基因产物
- 产生非编码RNA的DNA序列叫做**RNA基因**

基因概念的发展

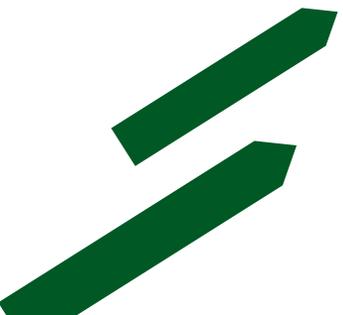
年份	人物	事件
1865	孟德尔	提出“遗传因子”
1902	Sutton和Boveri	提出“遗传的染色体学说”
1909	Johannsen	用gene替代了“遗传因子”
1910	Morgan	提出遗传学的连锁与交换定律
1927	Muller	X射线诱发人工突变，认为基因是微小的粒子
	Morgan	基因的“三位一体”
1940	Oliver	发现基因内重组，说明基因是可分的
1941	Beadle和Tatum	提出“一基因一酶”
20世纪五十年代	Griffith、Avery、Hershey	证明DNA是遗传物质
	McClintock	发现基因移动现象（跳跃基因or转座因子）
1953年	Watson和Crick	提出DNA双螺旋结构模型
1955年	Benzer	提出顺反子、突变子、重组子
1958年	Crick	提出遗传的中心法则
1961年	Jacob和Monod	提出操纵子学说
20世纪70年代		发现基因的不连续（断裂基因）
1978年		发现基因的重叠现象（重叠基因）
1985年	Gilbert	提出基因是一个转录单位，要除掉内含子才形成mRNA



9.5

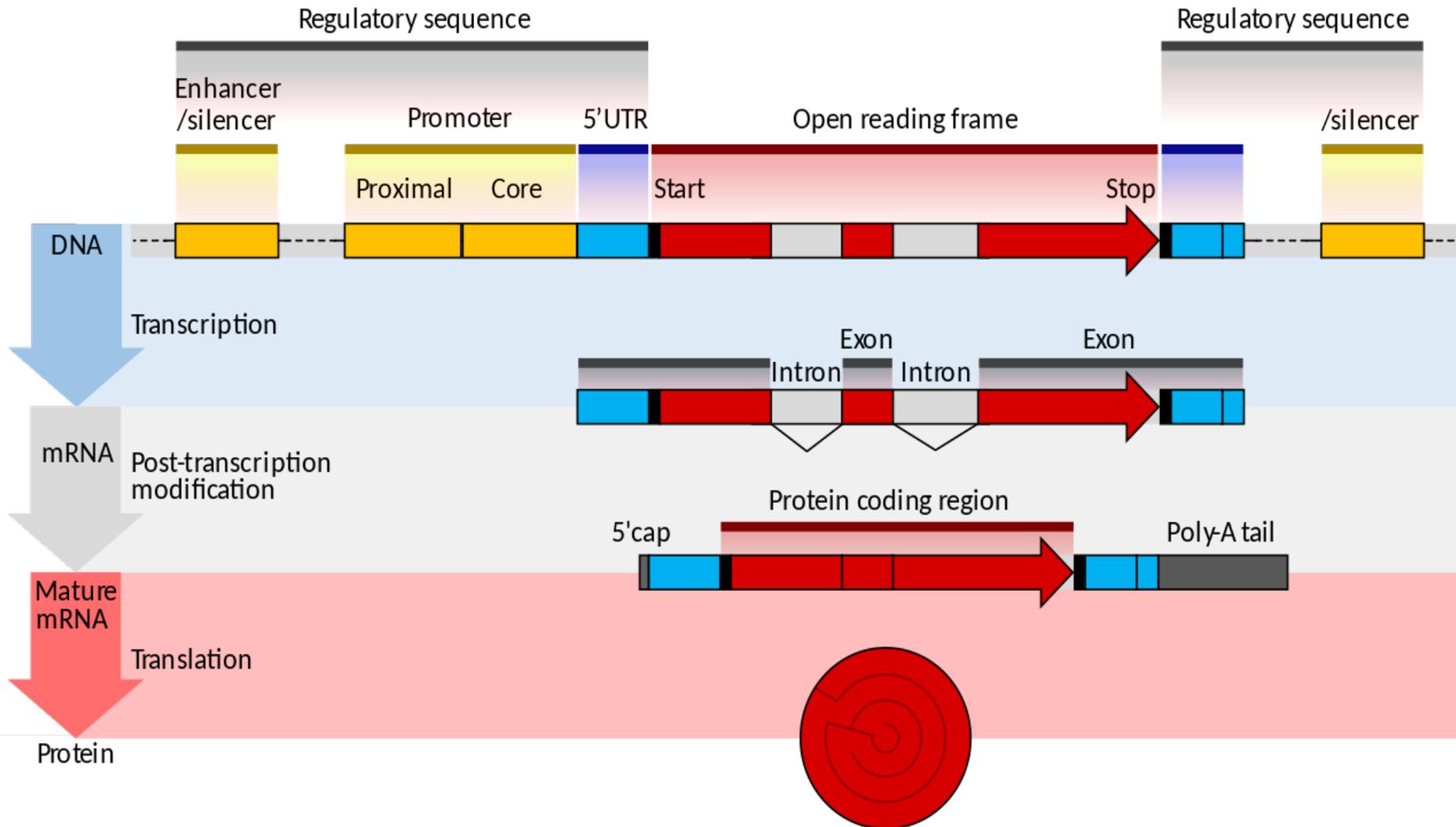
SECTION FIVE

遗传信息的传递与表达

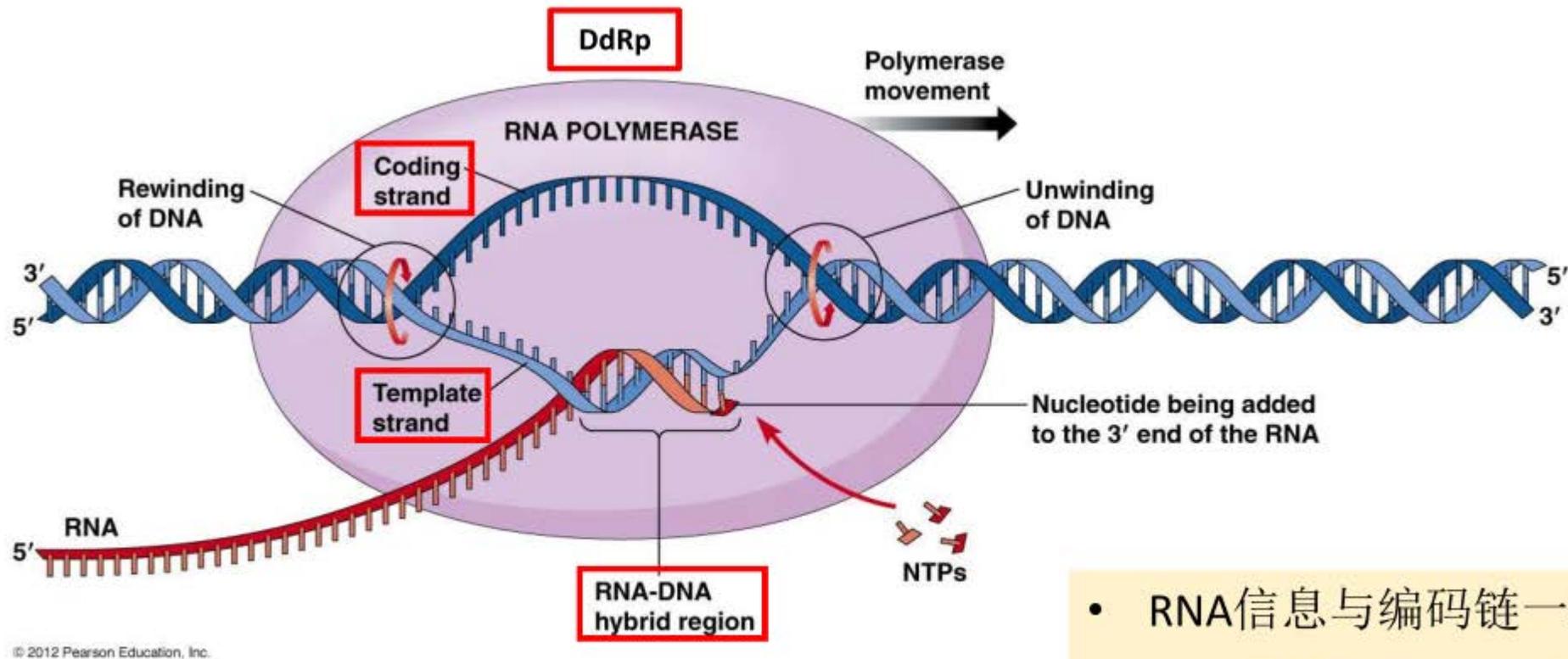


9.5 遗传信息的传递与表达

- 生物表型是由遗传信息的传递和表达所决定的。



9.5.1 转录 以DNA为模板在RNA聚合酶的作用下合成RNA的过程



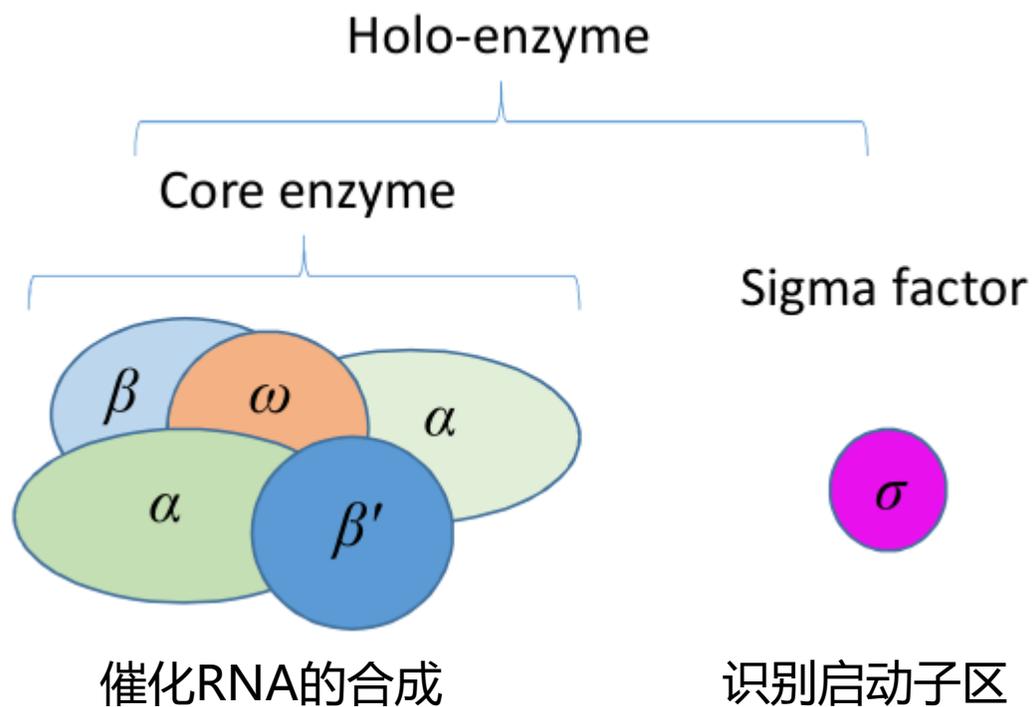
RNA转录示意图

- RNA信息与编码链一致
- DNA中的胸腺嘧啶T在RNA中换成尿嘧啶U

与蛋白质合成相关的RNA主要有四种：

- 信使RNA（messenger RNA, mRNA）
- 转运RNA（transfer RNA, tRNA）
- 核糖体RNA（ribosomal RNA, rRNA）
- 核小RNA（small nuclear RNA, snRNA） – 与核内有关蛋白结合为snRNP，参与内含子的剪切。

- 原核生物RNA聚合酶



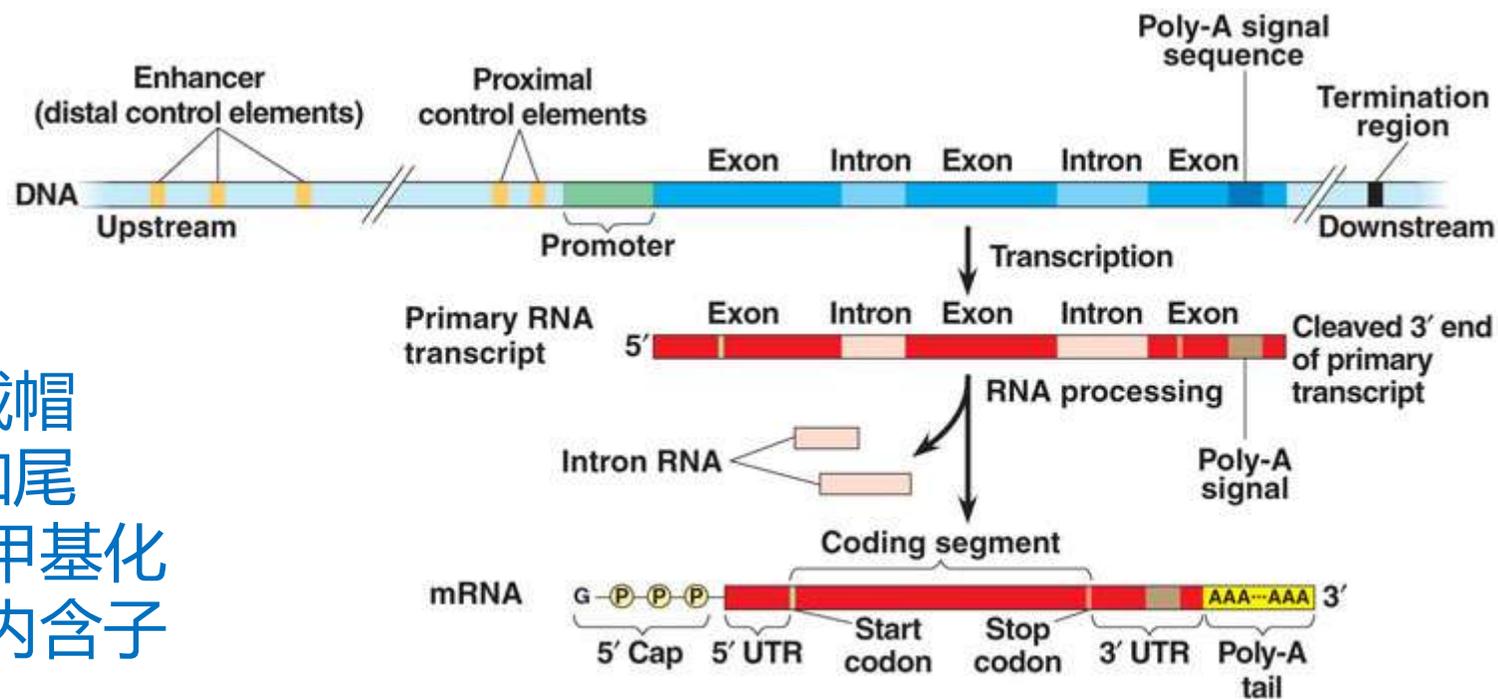
- 全酶结合到启动子上，转录开始后， σ 因子被释放，核心酶完成剩下的工作

- 真核生物RNA聚合酶

Enzyme	Location	Products	Abundance
RNA polymerase I	Nucleolus	rRNA (except 5S rRNA)	50-70%
RNA polymerase II	Nucleoplasm	mRNA and most snRNA	20-40%
RNA polymerase III	Nucleoplasm	tRNA, 5S rRNA, and other snRNA	10%

• 真核生物初级RNA转录产物的加工

- 5' 戴帽
- 3' 加尾
- 帽子甲基化
- 切除内含子



Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

反转录 (reverse transcription)

- 以RNA为模板合成DNA的过程，需要依赖RNA的DNA聚合酶
即reverse transcriptase
- 这是逆转录病毒基因组的复制形式

Q1：人体中唯一的逆转录酶是？

Q2：如何获得一段仅含有编码序列的真核生物DNA？

9.5.2 遗传密码

- DNA到蛋白质：DNA或RNA中的4种碱基信息，怎样转变成蛋白质中的20种常见氨基酸？
- 1954年，Gamow提出三联体密码的概念
- 1961年，M. Nirenberg利用无细胞的UUU序列产生苯丙氨酸组成的多肽（第一个遗传密码）
- 1962年，Ochoa利用无细胞的AAA序列产生赖氨酸组成的多肽
- 1963年，Ochoa利用无细胞的CCC序列产生脯氨酸组成的多肽
- Khorana利用两种或三种核苷酸重复组成的多核苷酸合成多肽
- 1965年，Robert Holley解析tRNA结构，具有识别三个碱基的功能
- 1966年，H. G. Khorana合成长链RNA，破译所有遗传密码

1968年诺贝尔生理学或医学奖



Robert W. Holley
1922-1993

Discovered the transfer
RNA – tRNA.



Har Gobind Khorana
1922-2011

Created new methods to
produce synthetic nucleic acids.



Marshall W. Nirenberg
1927-2010

Deciphered the first
genetic code.

密码子的特点

- 密码子的简并性
- 同义密码子
- 起始密码子
- 终止密码子
- 无义密码子
- 偏爱密码子

		Second letter				
		U	C	A	G	
First letter	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA STOP UAG STOP	UGU } Cys UGC } UGA STOP UGG Trp	Third letter U C A G
	C	CUU } Leu CUC } CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } Arg CGC } CGA } CGG }	
	A	AUU } Ile AUC } AUA } AUG Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	
	G	GUU } Val GUC } GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } Gly GGC } GGA } GGG }	

Key:

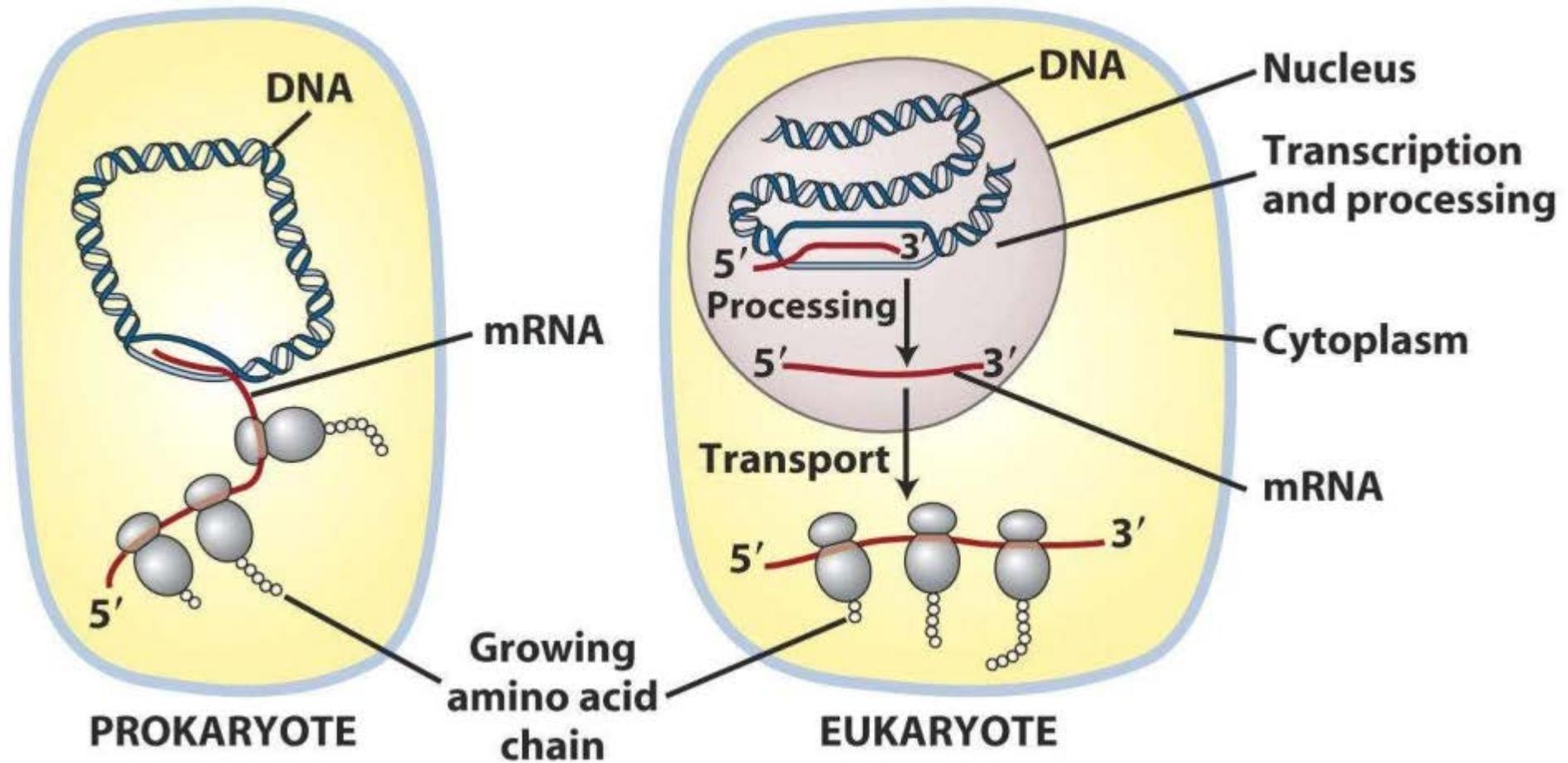
- Ala = Alanine (A)
- Arg = Arginine (R)
- Asn = Asparagine (N)
- Asp = Aspartate (D)
- Cys = Cysteine (C)
- Gln = Glutamine (Q)
- Glu = Glutamate (E)
- Gly = Glycine (G)
- His = Histidine (H)
- Ile = Isoleucine (I)
- Leu = Leucine (L)
- Lys = Lysine (K)
- Met = Methionine (M)
- Phe = Phenylalanine (F)
- Pro = Proline (P)
- Ser = Serine (S)
- Thr = Threonine (T)
- Trp = Tryptophan (W)
- Tyr = Tyrosine (Y)
- Val = Valine (V)

真核生物的起始密码子: AUG

原核生物的起始密码子: AUG, GUG

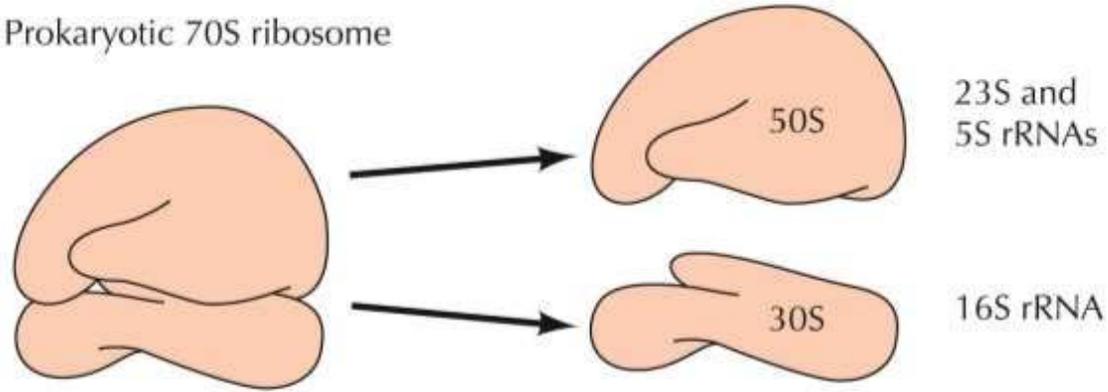
多肽链N端的甲酰甲硫氨酸可以被去甲酰酶去甲酰化, 或被氨肽酶降解甲硫氨酸。

9.5.3 核糖体和tRNA

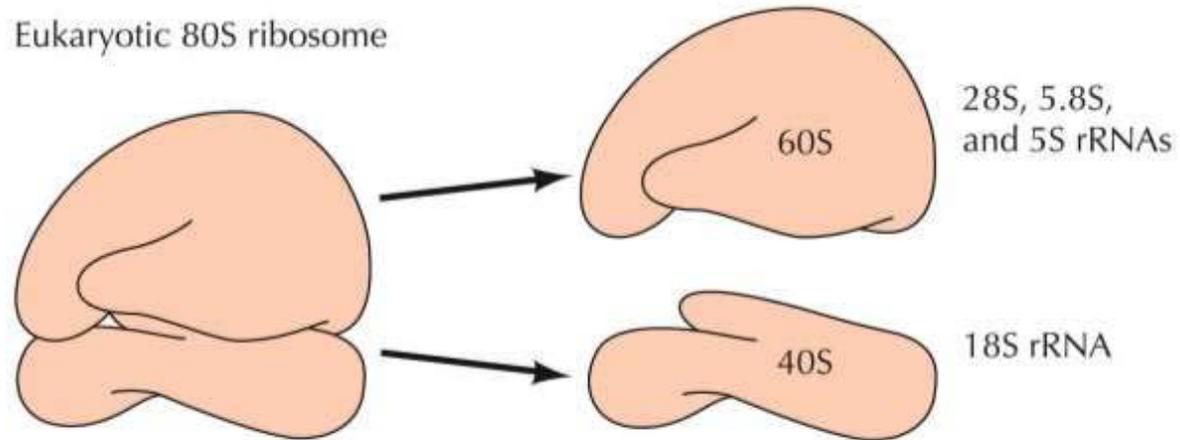


原核细胞和真核细胞转录和翻译比较

Prokaryotic 70S ribosome



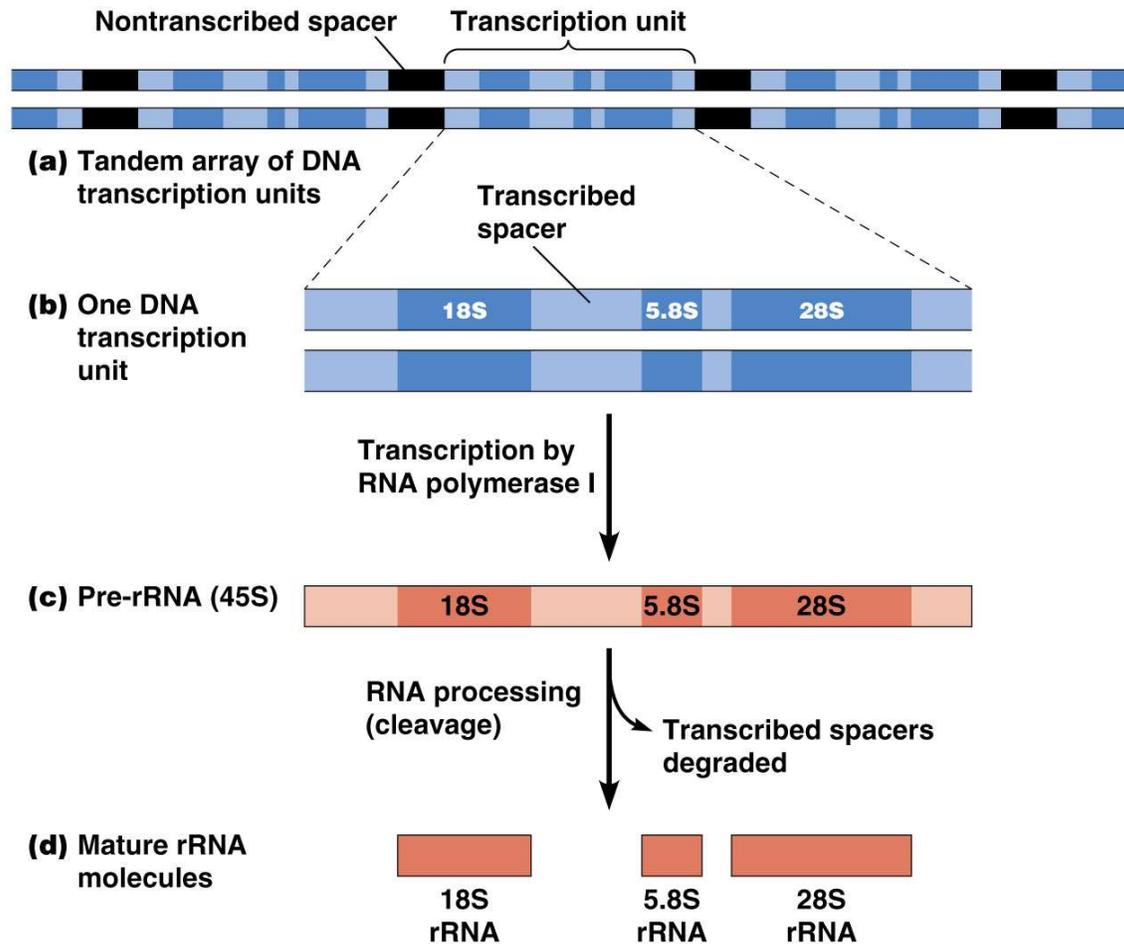
Eukaryotic 80S ribosome



THE CELL, Fourth Edition, Figure 8.4 (Part 1) © 2006 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

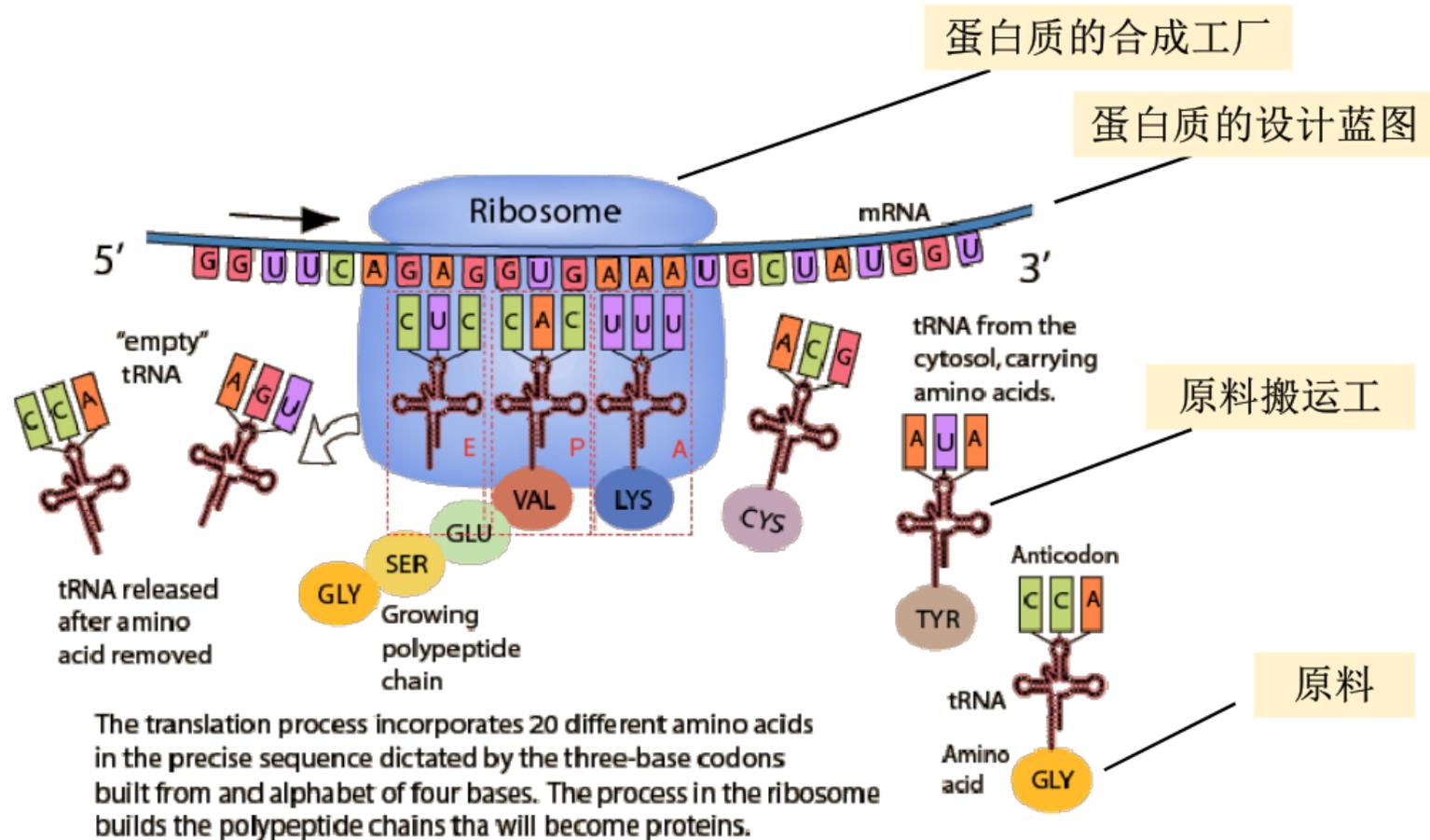
原核生物和真核生物核糖体的组成

真核生物rRNA的加工过程



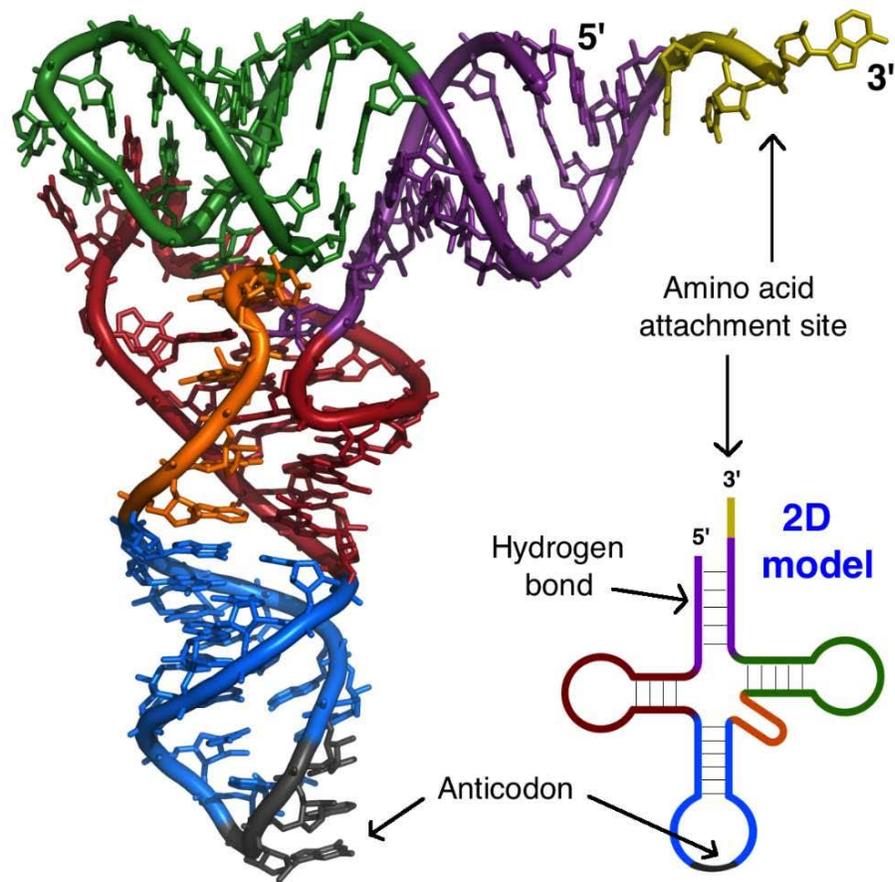
18S/5.8S/28S基因串联，5S基因独立。

核糖体和tRNA工作模式



tRNA的结构

- 含稀有碱基
- 反密码子环
- 氨基酸臂
- 摆动假说
- 同工tRNA



三级结构：
倒L型结构

二级结构：
三叶草结构

蛋白质在核糖体上的装配

- 翻译的三个阶段:

- 起始

- 延伸

- 终止

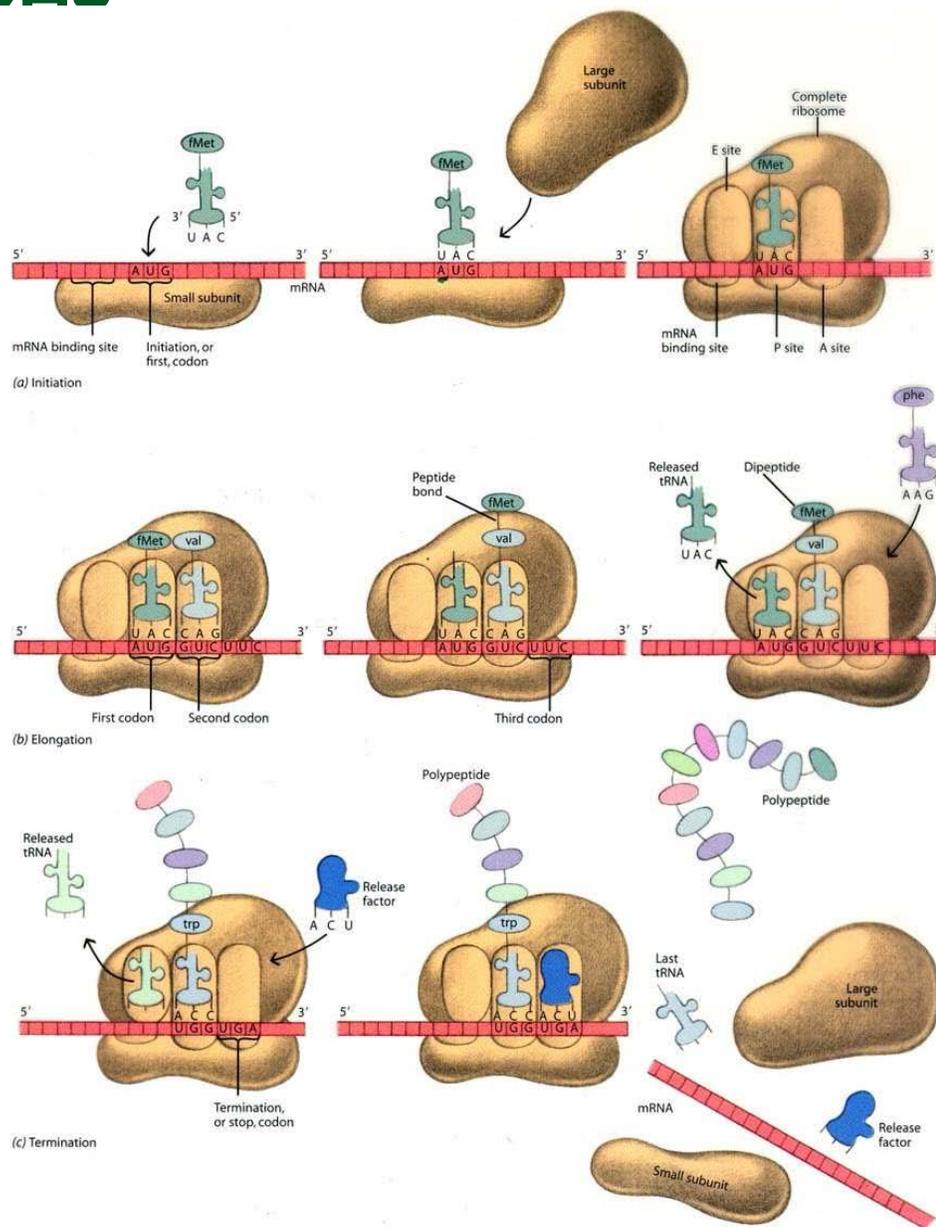
- 核糖体的三个位点:

- 氨基酰附着位点A

- 肽酰基位点P

- 释放位点E

- 释放因子

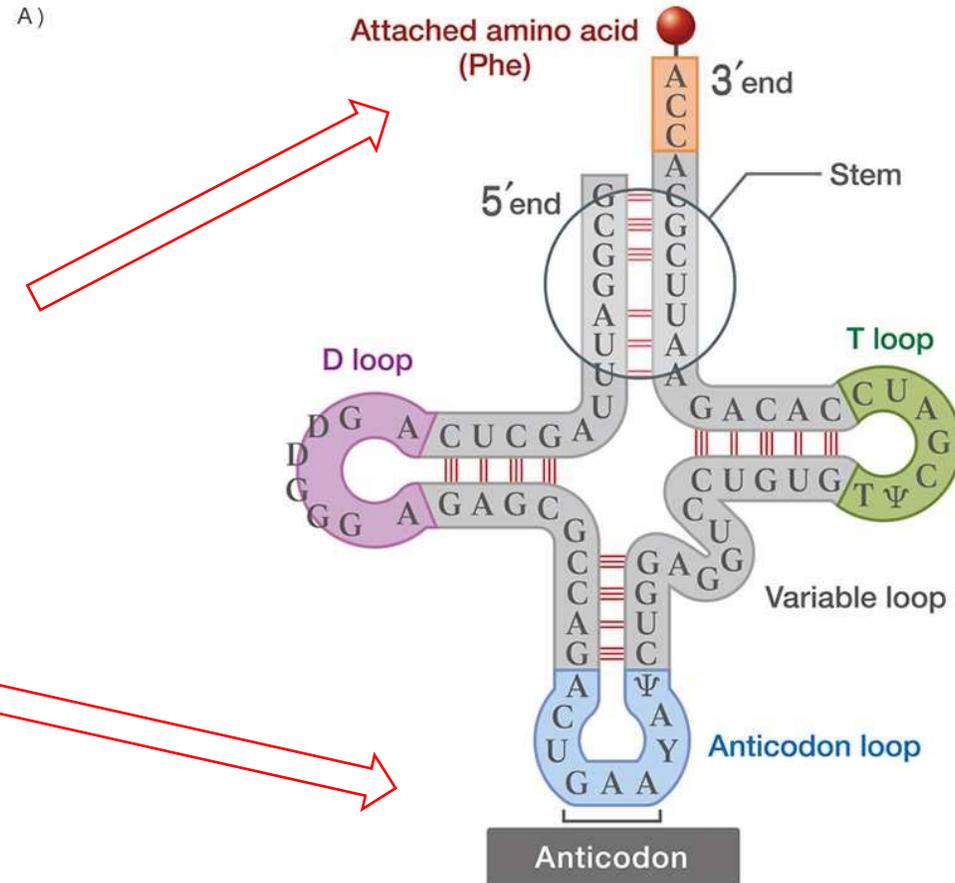


9.5.5 蛋白质合成中的错误

最有可能是哪里出错?

□ 氨酰-tRNA 合成酶将氨基酸结合到特定的tRNA 上

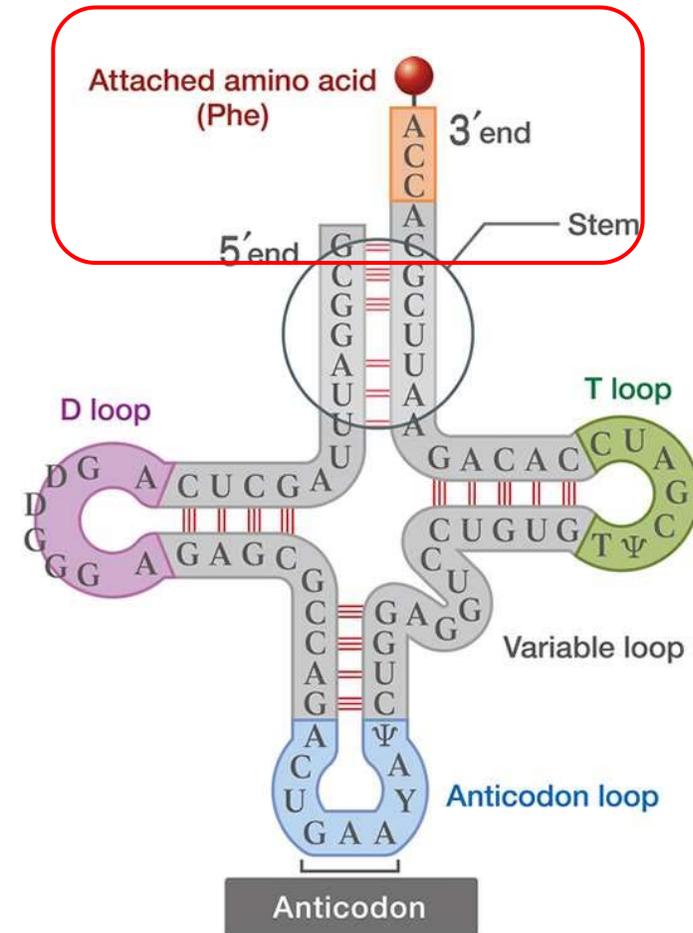
□ 密码子和反密码子之间的互补



© CSLS/The University of Tokyo

9.5.5 蛋白质合成中的错误

- ❑ 氨酰-tRNA 合成酶将氨基酸结合到特定的 tRNA 上
 - 氨酰-tRNA 合成酶识别特定的tRNA 并将正确的氨基酸结合上去，偶尔出错
 - 许多出错的替代品属于类似结构的氨基酸，并不会明显影响蛋白质的活性
 - 在原核生物中，由酰胺-tRNA 合成酶所引起的错误少于 10^{-5}



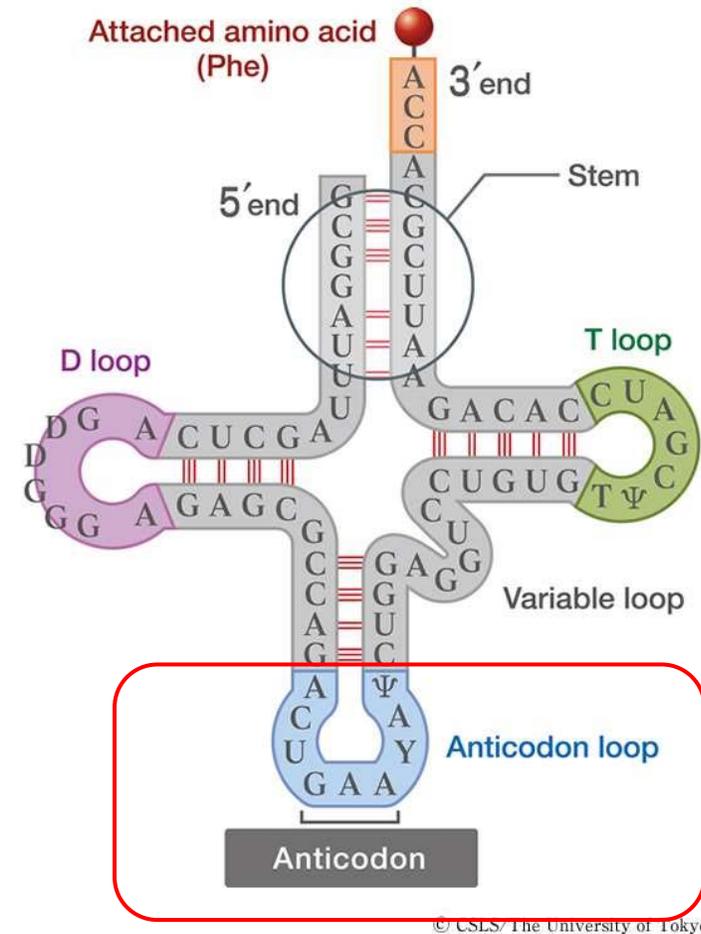
© CSLS/The University of Tokyo

9.5.5 蛋白质合成中的错误

□ 密码子和反密码子之间的互补

- 摆动假说，密码子和反密码子之间的识别仅三联体密码子中的两个，因而会产生错误
- 核糖体中存在修正机制剔除不正确形成的蛋白质（未明）

A)



9.5.5 蛋白质合成中的错误

密码子突变带来的错误：

- 无义突变：密码子突变为终止密码子
- 有些基因突变（特别是无义突变）可通过某些 tRNA 的突变（特别是反密码子区的突变）来抑制突变效应的产生，这类 tRNA 称为 **抑制型 tRNA 或校正 tRNA**（**suppressor tRNA**）

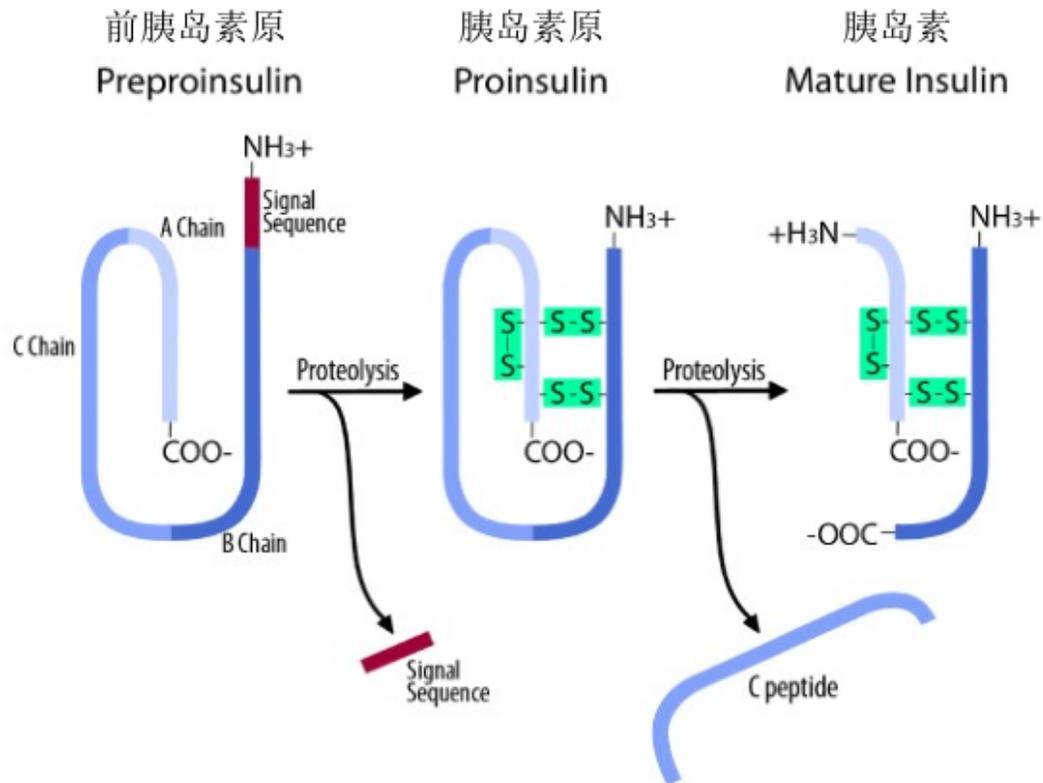
9.5.6 蛋白质的翻译后修饰

- 为什么人类基因组中的编码基因只有 2 万多个，功能蛋白却超过了 20 万种？
- 超过 400 多种的蛋白质翻译后修饰（ post-translational modification or processing ）
 - 甲酰化、乙酰化、甲基化、磷酸化、羟基化、糖基化、形成二硫键等

常见的修饰类型：

- N 端的甲硫氨酸往往在多肽链合成完毕之前被切除
- 跨膜蛋白转运跨膜后，N 端信号肽被切除
- 添加各种化学基团，特别是糖类（糖基化）
- 通过两个半胱氨酸的巯基氧化形成二硫键从而形成胱氨酸

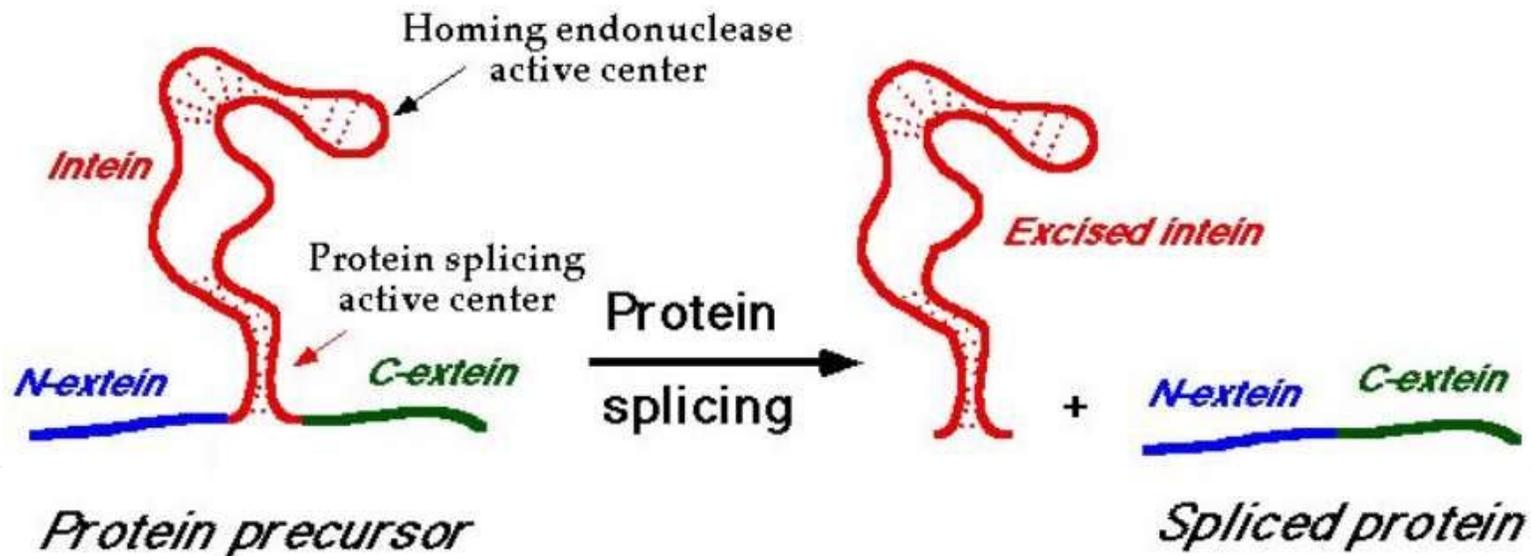
比如胰岛素的合成



蛋白质的剪接

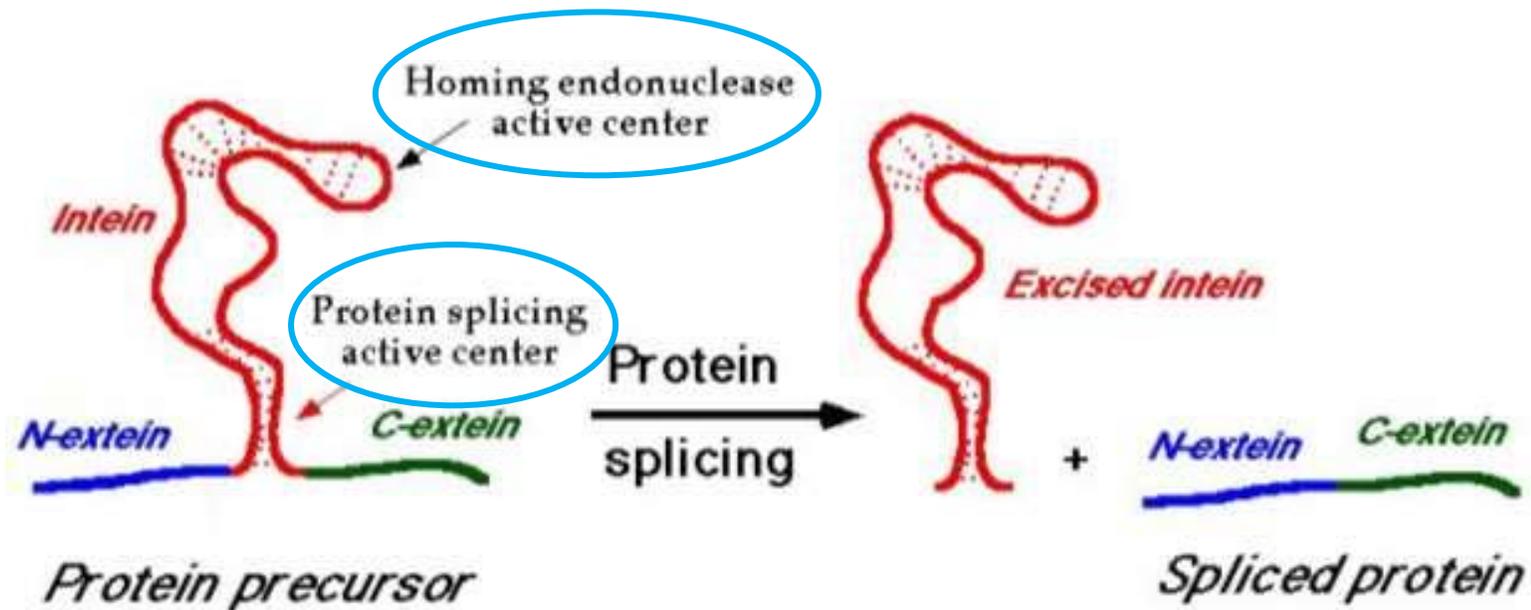
前体蛋白通过内蛋白子的自我剪接
成为成熟的蛋白

- 蛋白质内含子 (intein, 内蛋白子)
- 蛋白质外显子 (extein, 外蛋白子)

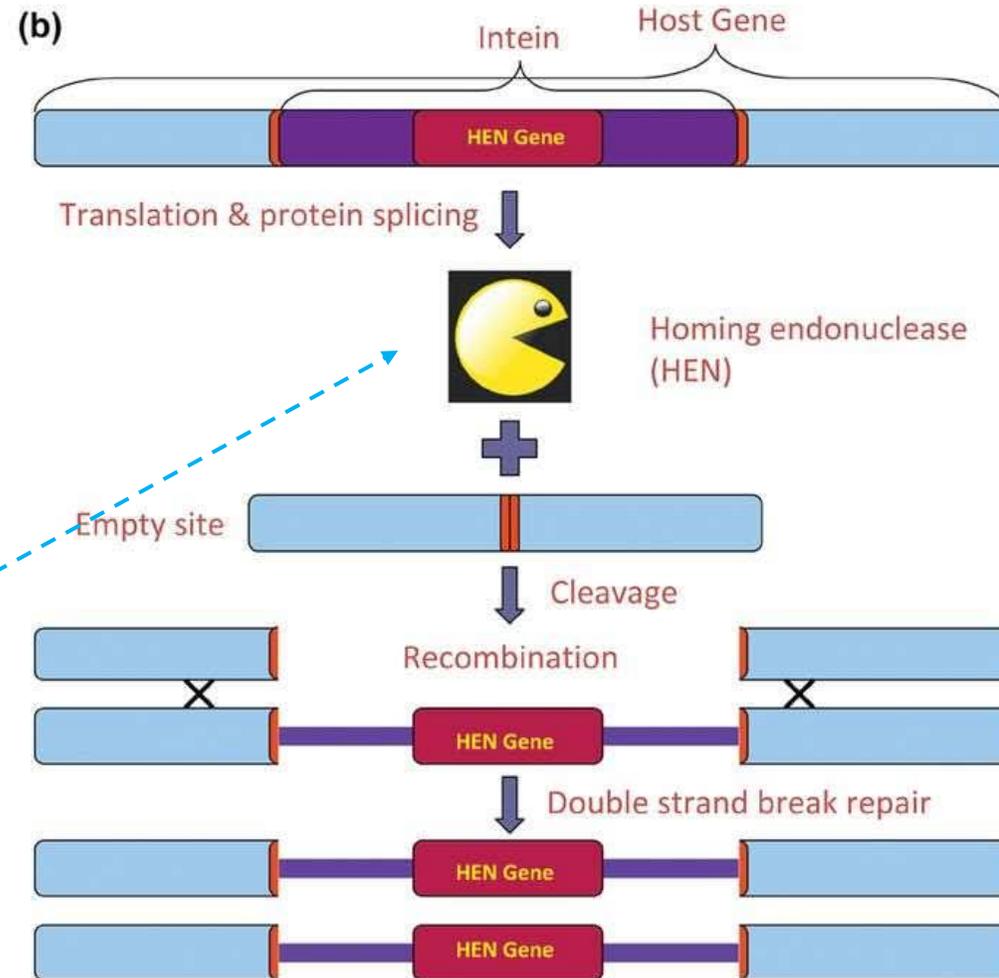
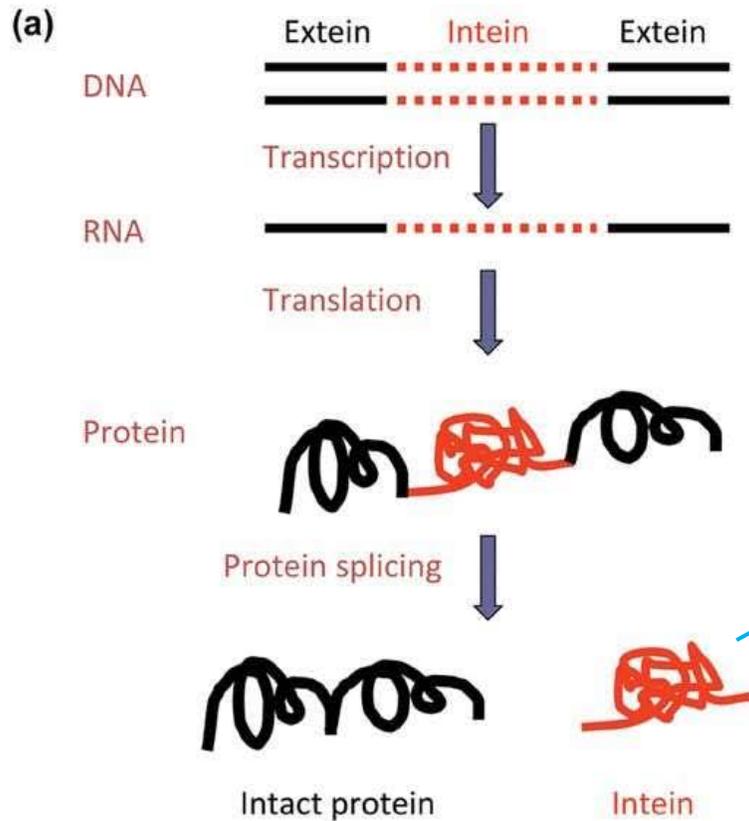


内蛋白质子存在的两种状态及其功能:

- 剪接反应前称为融合内蛋白质子，可自我催化蛋白质前体的剪接反应。
- 剪接反应后称为游离内蛋白质子，作为归巢内切酶参与内蛋白质子归巢



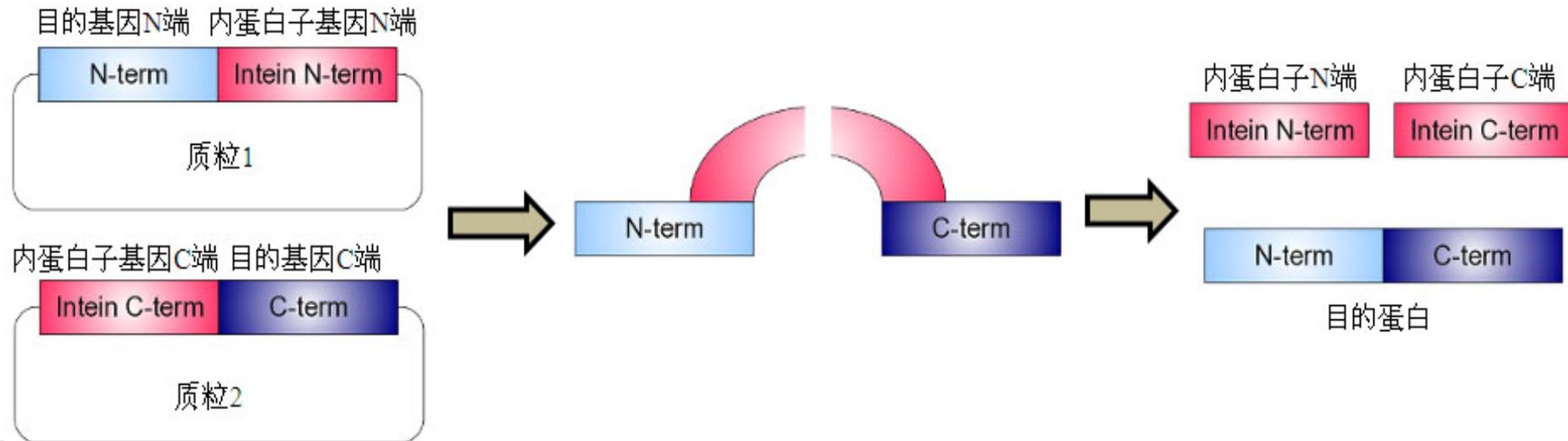
内蛋白质归巢:



顺式剪接 (cis-splicing)：内蛋白子和外蛋白子位于同一多肽链时发生的剪接作用

反式剪接 (trans-splicing)：内蛋白子剪接结构域位于不同肽链时所介导的剪接作用。

内蛋白子的应用1：防止基因扩散



构建不同的表达质粒 转入受体细胞

分离的内蛋白子分别产生无功能蛋白

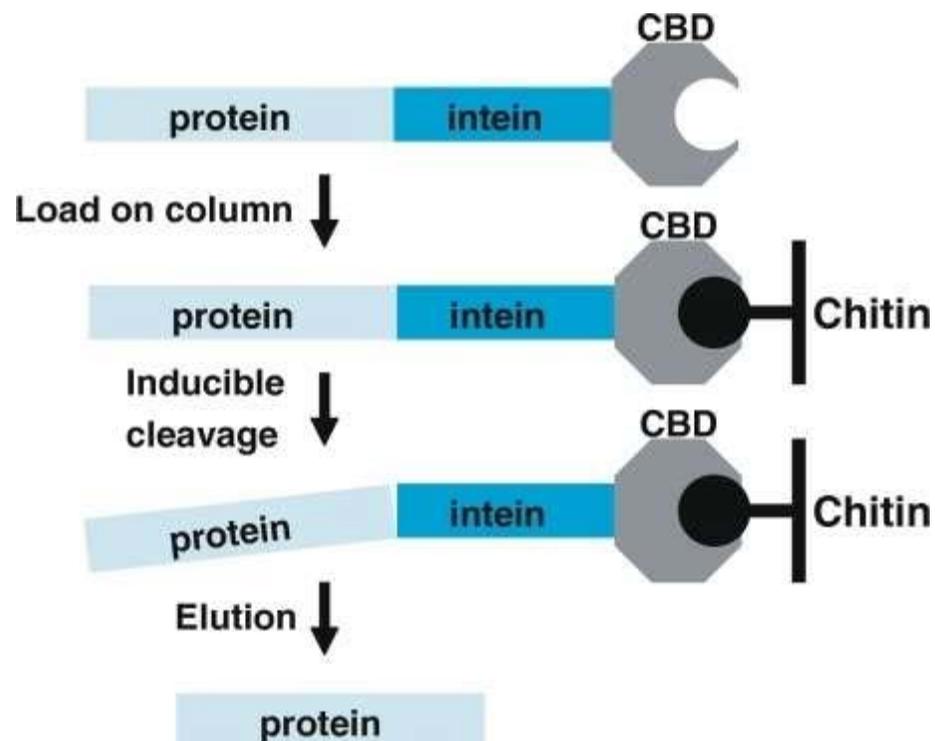
反式剪接重构目的蛋白

内蛋白子的应用2

在蛋白质的合成与纯化中的应用，使蛋白质纯化的效率和纯度大大提高

举个例子：

The intein-mediated purification with affinity chitin-binding tag (IMPACT) system is commercially available from New England Biolabs



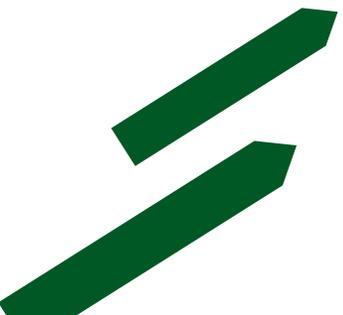
内蛋白子的分布规律

- 古细菌 > 真细菌 > 真菌
- 多细胞生物中没有
- 与 RNA 内含子的分布规律相反



9.6
S E C S I X

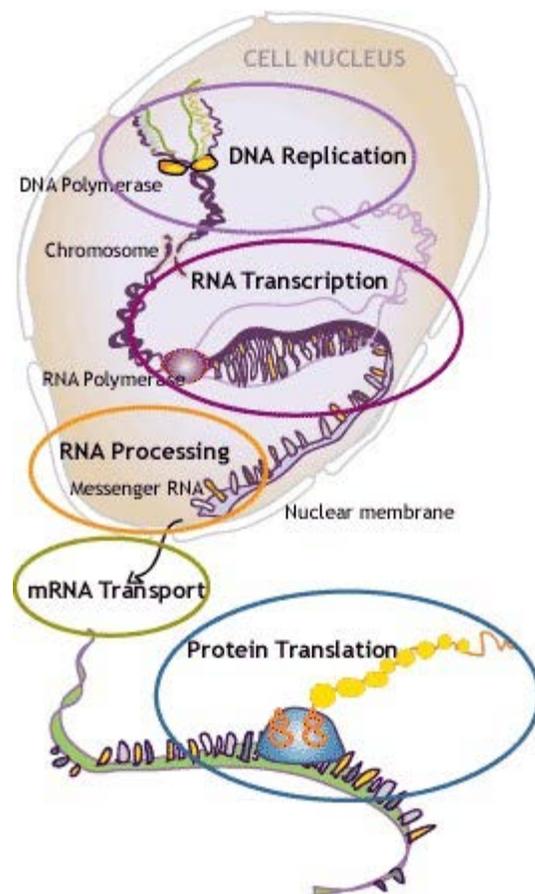
遗传学中心法则



9.6 遗传学中心法则

遗传信息的流向：

- 代与代之间的遗传信息的传递
(DNA 的传递)
- 个体发育中遗传信息从DNA 到
蛋白质的传递



- 中心法则的两大支柱:

- 单程性

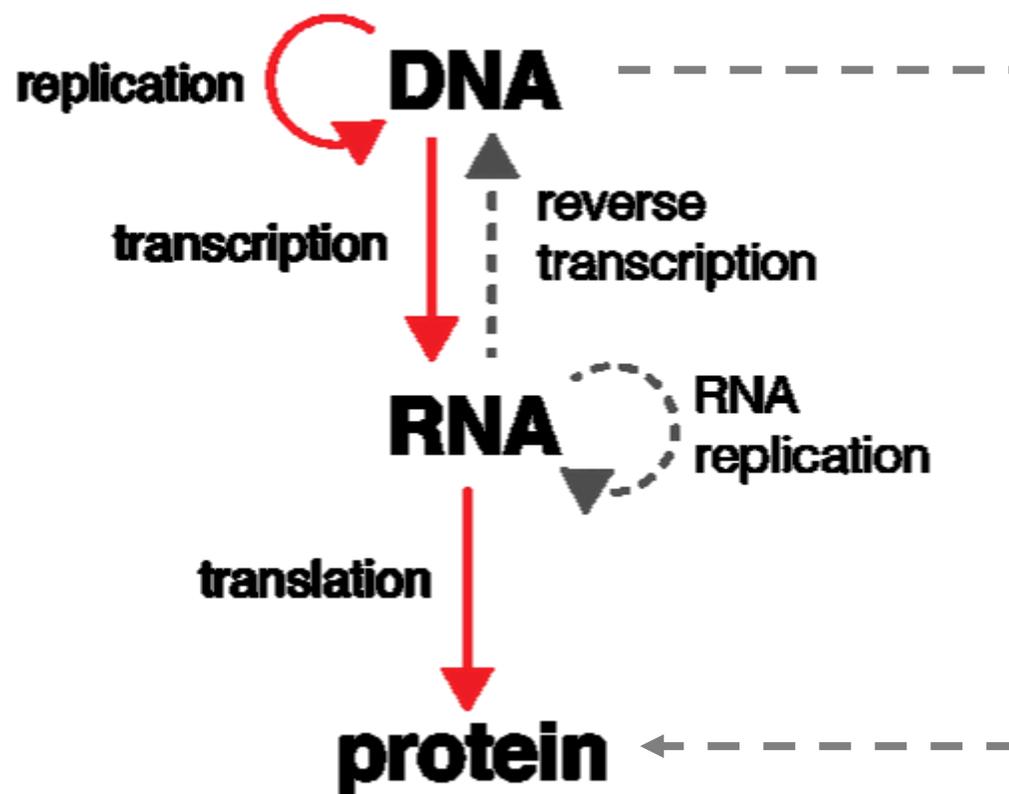
- 共线性

- 中心法则的修订:

- RNA反转录到DNA

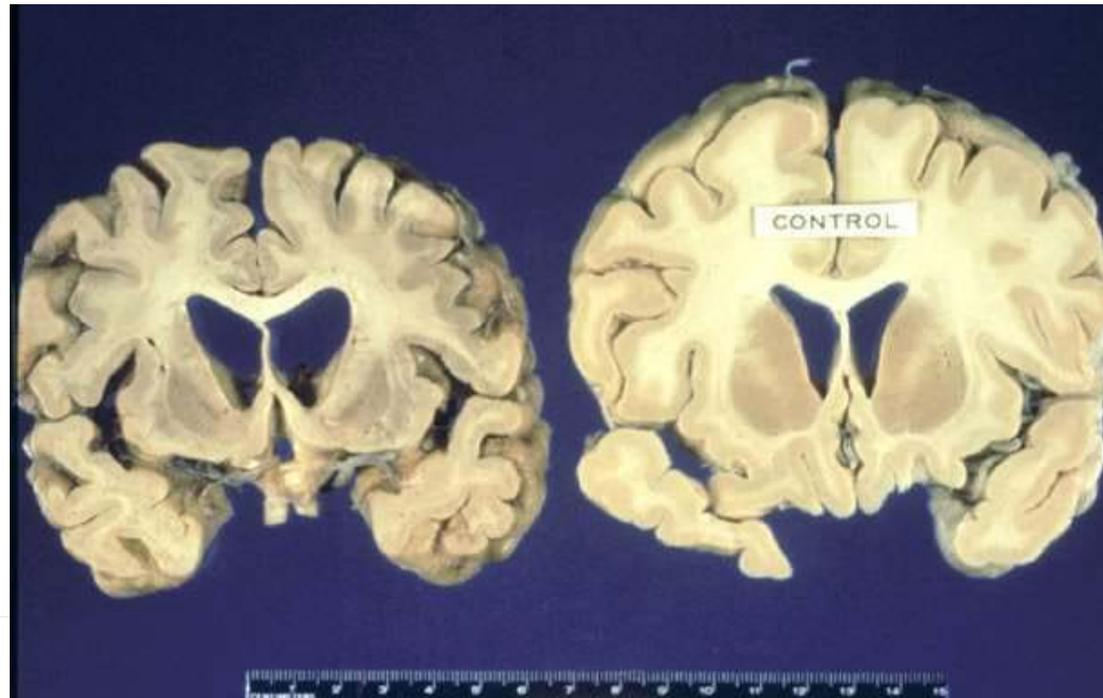
- RNA的自我复制

- DNA指导蛋白质合成



朊粒prion

- 朊粒（ Prion ） 的发现曾对中心法则提出严重的挑战
- 在研究传染性海绵质脑病 transmissible spongiform encephalopathies(TSEs) 的过程中发现的



朊粒prion

- **朊粒 (prion) 也称朊病毒**，是不含核酸和脂类的能在受感染的宿主细胞内产生与自身分子相同的、且实现相同生物学功能的**蛋白质颗粒**。
- 能引起绵羊搔痒病、疯牛病 (BSE)、人类中枢神经系统退化性疾病如库鲁病 (Kuru) 和克雅氏综合征 (CJD) 等多种疾病的蛋白质性的传染粒子。
- 在某些真菌中也发现有显示朊粒行为的蛋白质，称为真菌朊粒 (fungal prions)，不过它们对宿主并不致病。

朊粒prion

提出蛋白质致病假说的依据

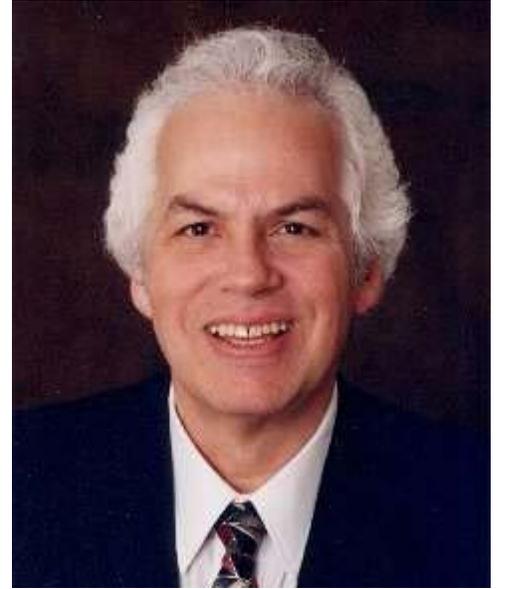
- 使普通 DNA 及 RNA 病毒失去感染性的紫外光剂量不能使脑组织匀浆中的病原蛋白失去感染性。
- 蛋白提取物经 DNA 酶及 RNA 酶作用后仍具有较强的感染性。
- 经蛋白酶、蛋白变性剂处理后，蛋白提取物失去感染性。

朊粒的发现

- 1972年，美国科学家Stanley Prusiner的一个同事死于CJD（克雅氏综合征），他由此对该病产生了兴趣，踏上了对TSE（传染性海绵质脑病）的研究之路。
- 1972年-1982年，Prusiner开始了长达十年的研究。
- 1982年12月，Prusiner和他的两名同事，从感染羊搔痒症的仓鼠大脑中精炼出一种只含有与感染有关的蛋白质，称为Prion。
- 特征性的纤维性蛋白聚集物在感染的大脑中出现，这种聚集物可以通过离心来浓缩，沉淀物仍具有感染性。
- 分离纯化得到的蛋白成分不溶于水，具有蛋白酶抗性。
- 将蛋白序列分析之后得到了蛋白的编码序列。

朊粒的发现

- 1984年，Prusiner和瑞典的科学家合作解开了Prion蛋白的遗传密码，并利用这种蛋白的基因顺序在基因库中找到了对应的 DNA排列顺序。
- 他们发现Prion的基因存在于感染了羊搔痒症的细胞中，也存在于正常仓鼠和正常人的细胞中。
- 正常和患病两种形式的Prion蛋白有完全相同的基因密码。



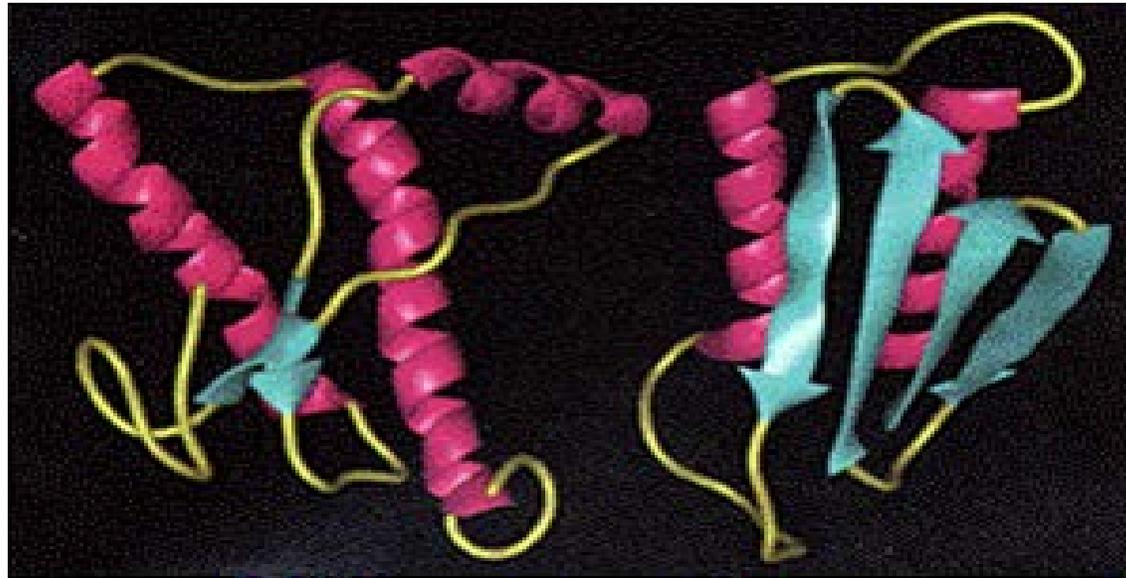
Stanley B. Prusiner (1942 -)

1997 The Nobel Prize in Physiology or Medicine for his discovery of **Prions - a new biological principle of infection**

朊蛋白 (PrP) 包括两种形式:

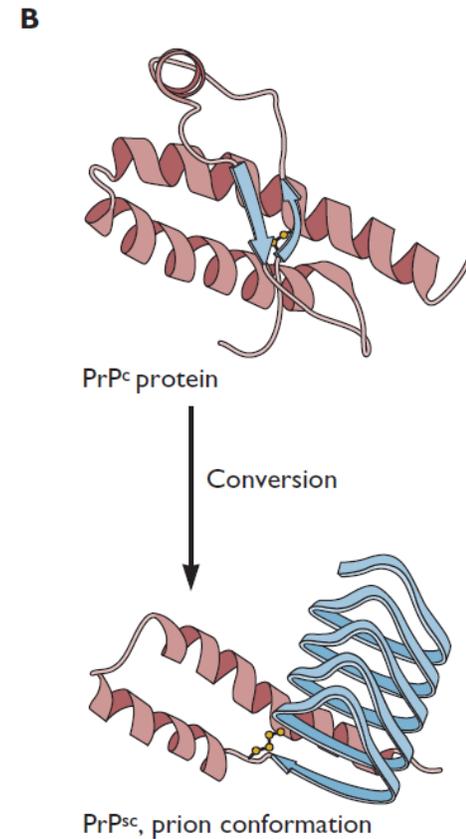
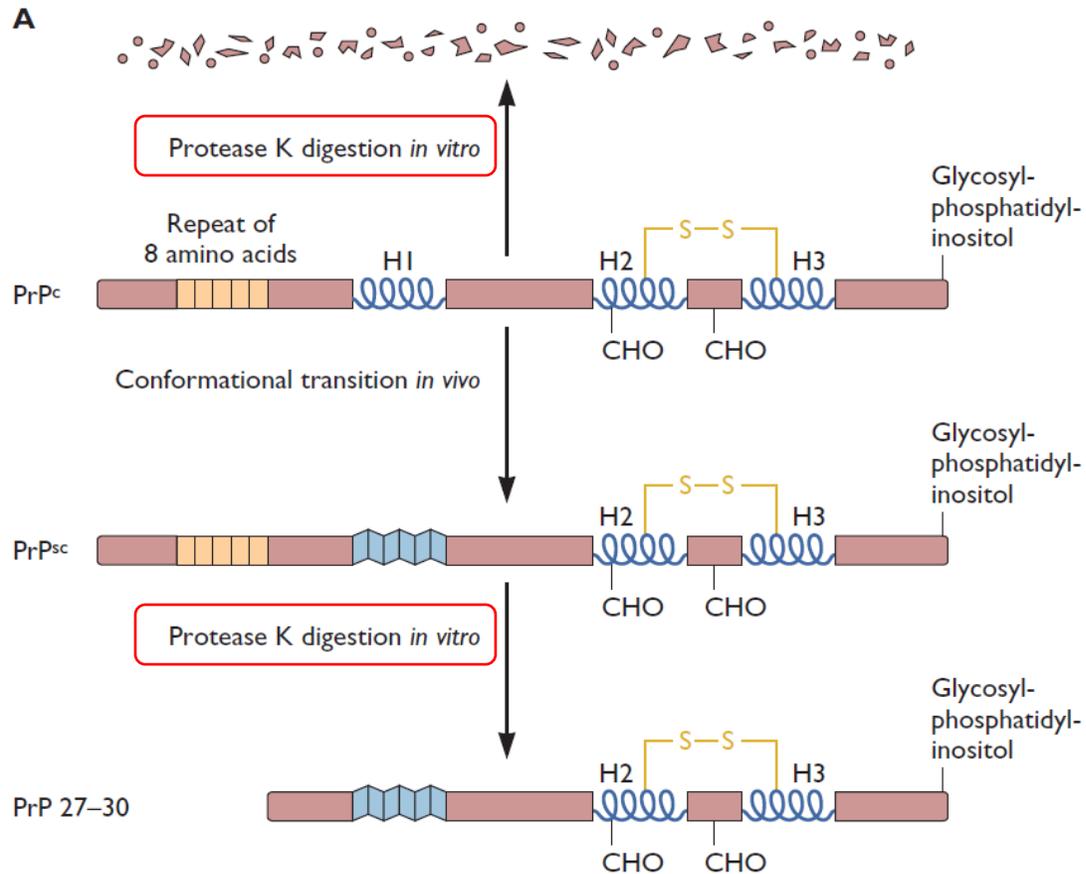
正常型 (PrPC) 和异常型 (PrPSc)

- 具有相同的氨基酸序列,
- 但血清反应不同, 说明两者含有不同的构象表位; 糖基化比例和部位也不同。



PrPC是细胞中基因的正常表达产物, 其正常功能尚不完全清楚, 可能在细胞间粘附及胞内信号传导方面有重要作用。

PrPC	PrP ^{Sc}
易被蛋白酶消化	抗蛋白酶消化
可溶	不可溶
糖基化比例高	糖基化比例低
以 α 螺旋结构为主	以 β 折叠为主



TSEs的传播

以医源性为主:

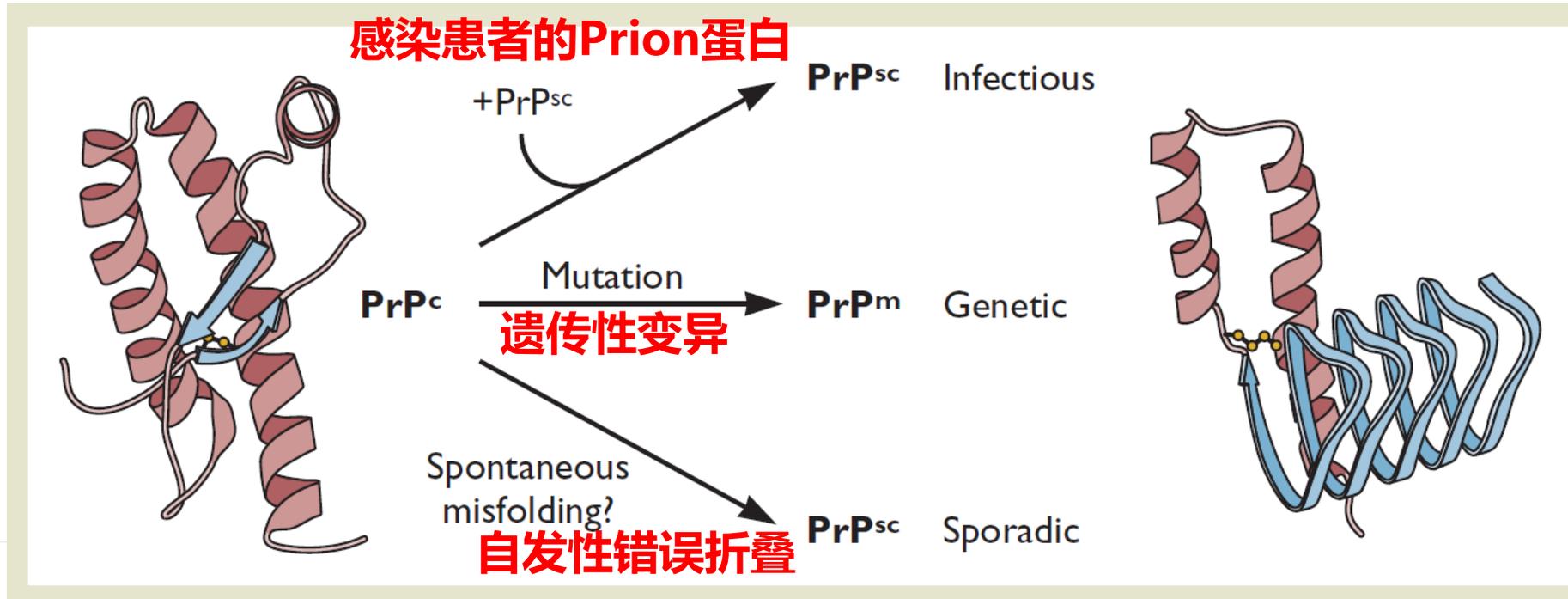
- 移植患者的角膜
- 使用在患者身上所提取的激素
- 输入患者的血液
- 食用患病牲畜的肉

家族性遗传:

PrP基因的突变有关

朊粒的独特复制方式:

以构象异常的蛋白分子为引子, 诱使正常PrPC蛋白分子发生构象异常。





讨论:

- Prion, 一种不涉及核酸的可自体繁殖的蛋白质 – 是否违背了中心法则?

朊粒并没有从根本上动摇遗传学的基础

- 朊粒不是传递遗传信息的载体，不能自我复制；
- 它只不过是基因编码产生的一种正常蛋白质的异构体。
- Prusiner等人的大量实验证明这些疾病是由于细胞正常蛋白—朊蛋白（Prion Protein, PrP）的错误折叠形成的致病蛋白在脑中积累而引起的。



谢谢！