

蛋白质基因的不同外显子相对应,而且不同蛋白质的模块单元具有同源性,特别是同一超家族(如G蛋白超家族)的成员更是如此.这为宏观认识蛋白质结构和功能关系、为在分子水平进行物种分类和研究蛋白分子进化提供了理论基础.目前,已经鉴定的模块约120多种,并已从分支分类学角度确定了这些模块可能的进化历程.同样,认识蛋白质的结构域和功能域的关系也可以从认识其模块单元的结构和功能开始.这种观点已经得到许多科学家的认同.

断裂基因结构使真核生物复杂的基因调控成为可能^[1,4].真核生物细胞的组织复杂性要求发育过程中基因表达在空间和时间上精确地调控.外显子/内含子基因结构为DNA和RNA水平对基因表达的调控提供了条件,并允许其它的RNA加工(RNA processing)过程参与基因调控.此外,研究表明有些基因的内含子也含有调控元件,如启动子、增强子等.有些内含子在适当的条件下能编码蛋白质,而这些蛋白分子有时也能起调控作用.真核基因

这种极其复杂的结构特征使得真核基因的表达调控必然在多层次多阶段上进行.

总之,断裂基因的发现带来了分子生物学研究领域的一场革命,催生了许多新概念、新观点、新学说,加快了人类认识生命现象的步伐.

致谢 承蒙张锦珠老师和周筠梅老师审阅,特此感谢.

参考文献

- 1 Watson J D, Hopkins N H, Roberts J W *et al.* Molecular biology of the gene, 4th ed. Menlo Park: Benjamin-Cummings, 1987; Part IV, V and VI
- 2 Chow L T, Gelinas R E, Bucker T R *et al.* Cell, 1977; 12: 1
- 3 Berget S M, Moore C, Sharp P A. Proc Natl Acad Sci USA, 1977; 74 (8): 3171
- 4 Crick F. Science, 1979; 204: 264
- 5 Doolittle R F, Bork P. Scientific American, 1993; 269: 34

1993年诺贝尔化学奖简介

高 音

(中国科学院生物物理研究所,北京 100101)

瑞典皇家科学院将1993年的诺贝尔化学奖授予两位分子生物学家 Michael Smith 和 Kary B. Mullis, 以表彰他们对分子生物学研究方法所作出的卓越贡献. Smith 在1978年创立的寡聚核苷酸介导的基因突变法 (oligonucleotide-directed mutagenesis) 和 Mullis 在1985年发明的聚合酶链式反应法 (polymerase chain reaction, PCR), 大大加速了分子生物学以致整个生命学科的发展, 开创了生物学、医学、农业领域内研究和应用技术的新篇章.

在反向生物学的研究途径中, 通过比较野生型蛋白与突变体蛋白的性质分析某一种蛋白

结构与功能的关系, 构建突变体是关键环节之一. 1970年 Weisbeek 采用自然存在的突变双链病毒 DNA 片段引入野生型 DNA 中, Lai 1974年首次发表了人工构建删除突变的报道, 随后有许多缺失、插入、转换等突变的研究报道, 但采用的那些基因突变方法很难使 DNA 序列中的某一特定碱基变异成另一指定碱基. 1978年 Hutchison 等人^[1]及 Razin 等人^[2]分别发表了用寡聚核苷酸介导的定点突变论文, Smith 是前篇论文的作者之一, 这篇论文的标题是: 在 DNA 序列特定位点进行突变 (mutagenesis at a specific position in a DNA se-

quence), 他们采用化学方法合成 12 个碱基的寡聚核苷酸引物, 其中仅有一个碱基与 ϕ X174 基因 E 负链的 587 位碱基不同, 引物与 ϕ X174 正链 DNA 退火, 经 DNA 聚合酶延伸及连接酶连接成环状双链, 转染大肠杆菌后, 分离出基因 E 586—588 的 TGG 变为 TAG 的琥珀突变噬菌体. 接着 Smith 与 Gillam 等人合作连续发表了四篇定点突变的研究报道. 后来有许多学者使这一方法更完善, 如今已能在已知 DNA 序列中随心所欲地导入任意的突变, 此法广泛应用于蛋白质的改造与设计, 例如, 通过突变增加酶对底物的亲和力, 增加酶催化剂的稳定性, 改变酶作用底物特异性等.

1932 年 Smith 出生于英国的布莱克普尔, 曼切斯特大学毕业后移居加拿大, 现为加拿大不列颠哥伦比亚大学生物技术实验室主任.

由于 PCR 使基因的扩增、突变和检测变得简便易行, 它的发明就如同活字印刷术推动社会进步一样加速生命学科的发展. 1985 年 Saiki 等人^[3]在 Science 上发表了标题为: 镰刀状贫血病血红蛋白 β 亚基基因的酶促扩增和内切酶位点分析 (Enzymatic amplification of β -globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia) 的文章, 文中聚合酶链式反应法 (PCR) 就是由文章作者中的 Mullis 和 Faloona 共同发明的, 他们用长为 20 个碱基的两个分别互补于 β -globin 基因正链及负链旁侧的寡聚核苷酸为引物, 通过变性、退火、聚合延伸, 重复进行 20 个循环, 得到了约 $1\mu\text{g}$ 的 DNA 扩增片段. 1986

年及 1987 年他们俩合作在 Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 及 Methods Enzymol. 上对 PCR 进行了详细叙述, 1988 年以来许多耐热 DNA 聚合酶的应用使 PCR 更具实用价值.

如今 PCR 除了在分子生物学研究中作基因扩增、突变外, 已广泛应用于遗传学和法医学鉴定、遗传性疾病诊断、检测临床标本中病原体的核酸序列、分析激活癌基因中的突变情况、分子古生物学研究等.

Mullis 1944 年出生于美国加州, 曾在几所大学及公司的研究部门工作过, 发明 PCR 时, 他和 Faloona 都在 Cetus 公司人类遗传学研究室工作, Mullis 现为加州圣迭戈齐特罗内克斯公司董事长. 虽然 Mullis 获了奖, 但从他和 Faloona 合作公开发表的论文看, Faloona 对 PCR 发明的贡献也是很大的.

从 Smith 和 Mullis 的获奖可见, 作为一个科学工作者, 必须具备敏锐的洞察力和科学的想象力, 选择合适的具有潜在意义的课题, 运用正确的科学方法, 研究者之间需要真诚合作, 以及良好的科学研究环境——有足够的设备和资金的支持.

参考文献

- 1 Hutchison C A, Phillips S, Edgell M H *et al.* J Biol Chem, 1978; **253**: 6551
- 2 Razin A, Hirose T, Itakura K *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1978; **75**: 4268
- 3 Saiki R K, Scharf S, Faloona F *et al.* Science, 1985; **230**: 1350