

临床基础医学精读系列

临床分子生物学

主编 胡维新

临床分子生物学

主 编 胡维新

编 者 (以姓氏笔画为序)

王艾琳	北华大学医学检验学院	何凤田	第三军医大学
方定志	四川大学华西医学中心	罗志勇	中南大学湘雅医学院
朱振宇	中山大学中山医学院	胡维新	中南大学湘雅医学院
刘 誉	暨南大学医学院	贺智敏	广州医学院
刘 静	中南大学湘雅医学院	谭玉珍	复旦大学上海医学院
肖志强	中南大学湘雅医学院	德 伟	南京医科大学
余 平	中南大学湘雅医学院		

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

临床分子生物学/胡维新主编. —北京:人民卫生出版社,2011.6

ISBN 978-7-117-14299-1

I. ①临… II. ①胡… III. ①医药学:分子生物学
IV. ①R318

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 073899 号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

版权所有,侵权必究!

临床基础医学精读系列

临床分子生物学

主 编: 胡维新

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 北京铭成印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 28

字 数: 681 千字

版 次: 2011 年 6 月第 1 版 2011 年 6 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-14299-1/R · 14300

定 价: 89.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

内 容 提 要

编写《临床分子生物学》一书的目的是在一定的层面上整合基础医学和临床医学,以适应和满足我国现代医学教育发展和医学实践的需要。本书分为两部分。第一部分为临床分子生物学基础,主要介绍分子生物学基础知识以及临床疾病的分子生物学研究方法。内容包括:基因、基因组与基因组学、基因表达调控、DNA 损伤与修复、基因结构与表达分析的基本方法、蛋白质组学的研究方法和疾病蛋白质组学、基因克隆与体外表达、疾病产生的分子基础。第二部分为分子生物学与临床,主要介绍疾病的诊断与治疗,疾病产生的分子基础。内容包括:基因诊断、基因治疗原理与研究进展、免疫性疾病的分子基础、恶性肿瘤的分子基础、遗传性代谢病的分子生物学、心血管疾病的分子生物学基础、感染性疾病的分子生物学、血液系统常见遗传病的分子生物学。读者对象主要是临床医生、青年教师、高年级医学生以及相关专业的研究生,以帮助他们在临床上如何应用分子生物学理论和技术,并有机地结合基础医学和临床医学相关知识,正确、合理地分析和解释病情,诊断和治疗疾病。

序 言

从医学发展的历史看,根据现象和检查所获知的症状与体征,对人体的疾病进行诊断,到从组织细胞的病理、生理变化来分析和诊断疾病,使人类积累了十分丰富的医学资料,但都不能从本质上真正认识疾病发生发展的机制。

分子生物学是一门在分子水平上研究生命现象、生命本质以及生命活动规律的新兴学科。分子生物学已经渗入生命科学的每一个领域,全面推动了生物学和医学的发展。分子生物学对医学的影响尤为巨大,人们可以从分子水平来研究生命现象和处理疾病。绝大多数生命现象或人类疾病,几乎都可从基因水平获得最终的答案。过去难以诊治的遗传性疾病和某些常见病,以及各种生理、病理现象(包括生命的起源和演化、生长发育、遗传与变异、细胞增殖、分化及凋亡等机制),都有可能在分子基础(核酸与蛋白质)上进行解释和研究。利用分子生物学理论与技术,对各种疾病进行诊断和治疗,并从分子水平阐明各种疾病的发病机制,使医学进入了一个崭新的“分子医学”时代。

分子生物学不仅是生命科学的前沿,无可非议,也是整个医学的前沿。今后总的发展趋势仍然是分子生物学与医学广泛交叉、相互渗透和影响。由于生命本质的高度一致性,分子生物学已经对生物学和医学的各个领域产生了全面而深刻的影响,使生物学和医学各分支学科出现一系列冠以“分子”字样的新兴学科,如分子遗传学、分子免疫学、分子药理学、分子病理学、分子血液学、分子内分泌学、分子肿瘤学、分子心脏学、分子病毒学、分子流行病学等。使得这些学科可以使用同一套理论、同一套技术,来解释和研究不同的病理、生理现象,甚至治疗不同的疾病。

分子生物学的根本任务是从分子水平来研究生命现象,了解生命现象的分子基础。分子生物学的发展和渗透从根本上改变了医学(包括基础医学和临床医学)的格局,使医学进入了一个更高的水平。由于分子生物学在医学中的不断渗透和影响,导致基础医学和临床医学进入了基因和基因组水平,用以探讨多种多样的生命现象,以及基因的结构与功能;基因诊断和基因治疗的开展是分子生物学在医学领域中应用的典范。对人的生理功能和疾病机制的研究,已由整体水平、器官水平进入细胞和分子水平,对生命的了解,由表面现象观察进入了本质探讨。基础医学中不断出现新的边缘学科,传统上按“形态”和“功能”来进行基础医学各个学科划分的界限已日益模糊,出现了各学科在分子水平上进行整合的趋势。

与普通《医学分子生物学》相比,《临床分子生物学》一书更加倾向于临床方面。本书利用最新转化医学(translational medicine)的理念,在基础医学研究与临床医疗之间试图建立更直接的联系,尽量使分子生物学与临床医学紧密结合,用现代分子生物学理论解释临床疾病发生、发展的分子机制。编者不拘泥于固有的思维模式,勇于挑战,对临床上某些热点、难点问题进行大胆探讨,从而帮助临床医生、青年教师、高年级医学生以及相关专业的研究生,在临床上如何应用分子生物学理论和技术,并有机地结合基础医学和临床医学相关知识,正确、合理地分析和解释病情,诊断和治疗疾病,更好地服务于广大患者。因此,我很高兴为本书作序并向同行推荐此书。

中国科学院院士



2011年3月

前言

分子生物学是在分子水平上研究生命物质的组织结构和功能的一门新兴、边缘学科。由于分子生物学在医学上的不断渗透和影响,使基础医学和临床医学进入基因水平,以探讨多种多样生命现象的基因型和表型的联系,以及这些基因的结构与功能;基因诊断和基因治疗的开展是分子生物学在医学领域中应用的典范,使临床医学进入一个崭新的时代。PCR 的发明和发展,能在体外成百万倍地扩增 DNA 片段,乃至整个基因,使近代分子生物学技术更为简便、快速和易于普及,甚至取代了过去某些必需的基因克隆过程。即使是基因克隆,也可借助于 PCR 技术,使基因克隆的效率大大增加。由 PCR 技术衍生出许多快速、准确、简便的新技术,推动基础和临床医学的各分支学科的变革,使这些学科向“分子”学科方向发展。

分子生物学不仅是生命科学的前沿,也是整个医学科学的前沿。今后总的发展趋势仍然是分子生物学向医学广泛交叉、渗透和影响。主要表现在:对人的生理功能和发病机制的认识,已由整体水平、器官水平进入细胞和分子水平,对生命的了解,由表面现象观察进入本质探讨。医学科学中不断出现新的以分子冠名的边缘学科,如分子病理学、分子遗传学、分子免疫学、分子病毒学、分子肿瘤学、分子神经病学等,加速了医学科学的发展。传统上按“形态”和“功能”来进行基础医学各个学科划分的界限已日益模糊,出现了各学科在分子水平上进行整合的趋势。

当分子生物学领域中具有革命性的理论和技术渗入后,彻底改变了病理学和实验医学的各个方面,采用基因水平的检测方法来进行疾病诊断。应用分子病理学的基因检测技术,揭开了认识疾病发生的分子事件。现在已能在动物(如小鼠)的基因组中成功地导入突变基因或利用基因剔除技术去除某一基因,从而建成转基因动物或基因剔除动物,对分子病理学的发展提供了许多有益资料。转基因动物或基因剔除动物能为疾病发生的分子机制提供明确的证据,并阐明某一特殊基因在某种疾病的发生过程中所导致的病理变化;也能提供一个常规研究所使用的某种疾病的整体动物模型,以便观察病情的转归、各种潜在治疗手段的效应。许多有关疾病中基因表达和基因功能的新资料和新观点,多来自于对转基因动物和基因剔除动物的研究。总之,转基因动物和基因剔除动物的研究已为分子病理学的发展提供了许多新资料。

由于分子生物学的发展和重组 DNA 技术的问世,人们对于许多疾病的认识,已经深入

到基因水平。一种从基因水平对疾病进行诊断的新技术——基因诊断技术得以诞生和迅速发展。自1978年Kan WY等首次采用液相DNA分子杂交技术,进行 α -地中海贫血的基因诊断以来,基因诊断技术已得到很大的发展和广泛应用。基因诊断通过直接检测目的基因(或该基因的转录或翻译产物)的存在状态,对疾病作出诊断。基因诊断技术迅速发展与完善,在医学上不仅广泛应用于遗传性疾病、心血管疾病、恶性肿瘤和传染性疾病诊断,而且也作为法医学诊断和基因分型、流行病学调查以及食品卫生检验、基础医学研究及环境卫生监测等工作提供了新的手段,使诊断技术达到一个新的、更高的水平,刷新了医学诊断的面貌。

基因水平的诊断技术在遗传性疾病中的应用,成为发展迅速的领域。遗传性疾病和恶性肿瘤在观念上的差异,随着对肿瘤分子水平的认识和深化几乎全部消除。癌症属多基因变异的进行性疾病,包括生殖细胞系和体细胞系的基因变异。用于检测基因突变的新技术对所有疾病的检测都是可行的。目前,基因诊断技术不仅用于出生人群的疾病诊断,而且还应用于产前基因诊断和着床前诊断,这样可大大减少有先天性疾病或携带遗传性致病基因的胎儿出世,促进优生优育。

人类基因治疗是分子生物学理论与技术的飞速发展给临床医学带来的新的治疗手段。基因治疗是临床医学中发展起来的新领域,其发展十分迅速。基因治疗技术的发展与整个医学科学的发展以及许多分子生物学新理论、新技术、新方法的应用密切相关。医学分子生物学的深入研究,逐步揭示了包括癌症在内的遗传病分子机制。致病基因的发现和克隆、基因表达调控机制的阐明以及日益完善的基因转移技术,使得基因治疗成为可能。1989年,Rosenberg SA等首次对人恶性黑色素瘤患者进行基因标记,并从患者体内取出的细胞中检测到标记基因的存在,说明外源基因能够安全地转移到患者体内。1990年,Blaese RM等对由于腺苷脱氨酶(ADA)缺陷而产生的重症联合免疫缺陷病(SCID)患儿进行了基因治疗,并取得一定疗效;患儿的免疫功能增强,临床症状改善。在此后的短短几年内,临床基因治疗的研究得到了迅速发展,基因治疗的范围从单基因缺陷遗传病扩大到多基因遗传病(恶性肿瘤、心血管病、免疫性疾病等)以及传染性疾病(如肝炎、艾滋病等)。随着人类基因组遗传信息的全部破译和基因功能的澄清,医生有可能根据患者的需要,将外源基因导入患病的细胞,替换有缺陷的基因以治疗疾病。在新的世纪,基因治疗将会有更大的发展。

本书分为两个部分。第一部分为临床分子生物学基础,内容包括:基因、基因组与基因组学;基因表达调控;DNA损伤与修复;基因结构与表达分析的基本方法;蛋白质组学的研究方法和疾病蛋白质组学;基因克隆与体表达;疾病产生的分子基础。第二部分为分子生物学与临床,内容包括:基因诊断、基因治疗原理与研究进展、免疫性疾病的分子基础、恶性肿瘤的分子基础、遗传性代谢病的分子生物学、心血管疾病的分子生物学基础、感染性疾病的分子生物学、血液系统常见遗传病的分子生物学。参加本书编写的作者均为在相关领域第一线,长期从事教学和科学研究的国内知名专家、教授,既具有深厚的理论知识,又有丰富的实践工作经验。编者不拘泥于固有的思维模式,敢于挑战,对临床上某些热点、难点问题大胆探讨。与普通《医学分子生物学》相比,《临床分子生物学》一书更倾向于临床方面,使分子生物学与临床学科紧密结合。编写本书的目的是要在一定的层面上整合基础医学和临床医学,以适应和满足我国医学教育发展和医学实践的需要。读者对象主要是临

床医生和实习生,以指导他们在临床上如何有机地结合基础医学和临床医学的相关知识,正确、合理地分析和解释疾病发生的根本原因以及病情转归,诊断和治疗疾病。本书也可以作为相关专业本科生、研究生的教科书,以及从事教学、科研的青年教师的参考书。

在本书编写过程中,曾海涛、吴坤陆、曾赵军、陈慧勇、朱敏、箫小鹏、罗赛群、熊德慧等同志在图片制作和文字校对等方面给予大力协助,特此致谢。

由于编者水平有限,加上时间仓促,出现各种不当之处甚至错误在所难免,欢迎读者在使用过程中不断批评指正。

胡维新

2011年6月

目 录

第一部分 临床分子生物学基础

第一章 基因、基因组与基因组学/1

第一节 基因的结构与功能/1

- 一、基因的生物学概念/2
- 二、基因的现代概念/2

第二节 基因组的结构与功能/4

- 一、原核生物基因组/5
- 二、真核生物基因组/6
- 三、病毒基因组的结构与功能特点/11
- 四、逆转录病毒基因组的结构与功能特点/12

第三节 基因组学/13

- 一、基因组学研究内容/13
- 二、人类基因组及人类基因组学研究进展/15

第四节 基因组复制/17

- 一、基因组复制的共同机制和不同特点/17
- 二、原核生物基因组的复制模式/18
- 三、真核生物基因组的复制特点/19

第二章 基因表达调控/21

第一节 原核生物的基因表达调控/21

- 一、原核生物基因表达的特点/21
- 二、原核生物基因表达的调控/22

第二节 真核生物的基因表达调控/32

- 一、真核生物基因表达的特点/32
- 二、真核生物基因表达的调控/33

第三节 基因表达的调控网络与协同控制/44

- 一、转录调控物的活性调节/44
- 二、转录因子调节基因表达的几种方式/45
- 三、转录过程与 mRNA 前体的加工协调/46
- 四、mRNA 出核运输与 mRNA 前体的加工和转录过程偶联/47
- 五、基因表达调控发生在多个环节/47
- 六、基因表达的时空调控/47

第三章 DNA 损伤与修复/51

第一节 DNA 损伤的原因及后果/51

- 一、DNA 分子的自发性损伤/51
- 二、物理因素引起的 DNA 损伤/52
- 三、化学因素引起的 DNA 损伤/53
- 四、DNA 损伤的检测和与 DNA 损伤相关的蛋白质/54

第二节 DNA 修复/54

- 一、错配修复/55
- 二、直接修复/56
- 三、碱基切除修复/56
- 四、核苷酸切除修复/58
- 五、重组修复/59

- 六、跨损伤修复/62
- 七、线粒体损伤和修复/62
- 八、基因的损伤与修复异常所致的疾病/63

第四章 基因结构与表达 分析的基本方法/64

第一节 DNA 序列分析/64

- 一、双脱氧末端终止法/64
- 二、化学降解法/68
- 三、DNA 序列分析的自动化/68

第二节 核酸分子杂交技术/69

- 一、核酸分子杂交的原理/69
- 二、Southern 印迹杂交/70
- 三、Northern 印迹杂交/71
- 四、斑点杂交和狭缝印迹杂交/72
- 五、原位分子杂交/72
- 六、液相杂交/72

第三节 聚合酶链式反应/74

- 一、PCR 反应基本原理/75
- 二、耐热 DNA 聚合酶/76
- 三、PCR 引物及设计原则/78
- 四、PCR 反应条件的优化/80
- 五、常用的 PCR 改进技术/81

第四节 基因芯片和微阵列技术/87

- 一、芯片制备/88
- 二、样品制备与杂交反应/88
- 三、DNA 芯片技术的主要应用/90

第五节 Western 免疫印迹技术/90

第六节 基因结构与表达分析的其他 技术/91

- 一、cDNA 末端快速扩增技术/92
- 二、PCR 产物单链构象多态性检测/92
- 三、限制性片段长度多态性 (RFLP) 和 PCR-RFLP/93
- 四、PCR-ELISA/94

第五章 蛋白质组学的研究方法和 疾病蛋白质组学/96

第一节 蛋白质组学的概念及其发展史/96

- 一、蛋白质组学的概念/96
- 二、蛋白质组学的产生与发展/97

第二节 蛋白质组学研究方法概述/98

- 一、蛋白质组表达模式的研究方法/98
- 二、蛋白质组功能模式的研究方法/104

第三节 蛋白质组学在疾病研究中的 应用/110

第六章 基因克隆与体外表达/118

第一节 基因克隆中常用的工具酶/118

- 一、限制性核酸内切酶/118
- 二、其他常用工具酶/120

第二节 基因克隆的载体/121

- 一、常用的克隆载体/121
- 二、表达载体/124

第三节 基因克隆的基本过程/125

- 一、目的基因的获得/125
- 二、载体的选择与准备/126
- 三、目的基因与线性化载体的体外连接/126
- 四、将重组 DNA 导入宿主细胞/127
- 五、目的基因的筛选与鉴定/128

第四节 真核细胞转染/131

- 一、真核细胞转染的方法与基本原理/131
- 二、转染细胞的筛选/132

第五节 基因的改造/133

- 一、基因定点突变技术的原理/133
- 二、基因定点突变技术的应用/135

第六节 克隆基因的体外表达/136

- 一、大肠杆菌表达系统/136
- 二、哺乳动物细胞表达系统/137
- 三、其他表达系统/138

第七章 疾病产生的分子基础/140

第一节 基因结构改变引起疾病/141

- 一、不同的分子机制产生不同类型的基因突变/141
- 二、不同的基因突变引起不同的遗传效应/142
- 三、基因结构改变导致疾病/143
- 四、调控序列变异导致基因表达水平变化引起疾病/147

第二节 细胞间异常信号导致基因表达异常引起疾病/147

第三节 细胞内因素导致基因表达异常引起疾病/148

- 一、细胞内信号异常导致基因表达异常引起疾病/148
- 二、异常的 DNA 甲基化模式导致基因表达异常引起疾病/149
- 三、组蛋白异常修饰导致基因表达异常引起疾病/149
- 四、非编码 RNA 引起基因表达改变导致疾病/150

第四节 翻译后加工运输障碍引起疾病/150

第五节 蛋白质降解异常引起疾病/151

第六节 病原生物基因引起疾病/152

第七节 通过结构、表达及功能分析研究疾病分子机制/153

- 一、通过结构分析探讨基因变异在疾病发生中的作用/153
- 二、通过基因表达水平分析探讨基因在疾病发生中的作用/155
- 三、基因功能研究以探讨基因在疾病中的作用/158

第二部分 分子生物学与临床

第八章 基因诊断/165

第一节 基因诊断学基础/165

- 一、基因诊断的概念及特点/165

- 二、基因诊断的常用分子生物学技术/167

- 三、基因诊断技术路线和方法选择/172

第二节 遗传病基因诊断/176

- 一、血红蛋白病基因诊断/176
- 二、血友病基因诊断/179
- 三、脆性 X 综合征基因诊断/181

第三节 传染病基因诊断/182

- 一、病毒性疾病基因诊断/182
- 二、细菌性疾病基因诊断/183
- 三、寄生虫病基因诊断/184
- 四、其他应用/184

第四节 恶性肿瘤基因诊断/184

- 一、原癌基因与抑癌基因检测/185
- 二、常见恶性肿瘤基因诊断/186

第九章 基因治疗原理与研究进展/189

第一节 基因治疗的基本策略/189

- 一、基因置换/189
- 二、基因添加/190
- 三、基因干预/190
- 四、自杀基因治疗/190
- 五、基因免疫治疗/191

第二节 基因转移的基本技术/192

- 一、病毒介导的基因转移系统/192
- 二、非病毒载体介导的基因转移/195

第三节 基因干预/197

- 一、反义 RNA/197
- 二、干扰 RNA/198
- 三、核酶/202

第四节 治疗基因的受控表达/204

- 一、基因内部的调节机制/204
- 二、基因外部的调节机制/205
- 三、利用病灶微环境使治疗基因特异性表达/205
- 四、治疗基因的诱导表达/205

第五节 基因治疗的应用研究/207

- 一、遗传病的基因治疗研究/207
- 二、恶性肿瘤基因治疗研究/209
- 三、病毒性疾病的基因治疗研究/212
- 四、其他疾病的基因治疗研究/213
- 第六节 基因治疗的前景与问题/214

第十章 免疫性疾病的 分子基础/217

- 第一节 概述/217
- 第二节 自身免疫病/218
 - 一、自身免疫和自身免疫病/218
 - 二、自身免疫病发生的致病因素及分子机制/218
 - 三、自身免疫病免疫损伤的分子机制/222
 - 四、自身免疫性疾病的防治原则/223
- 第三节 免疫缺陷病/223
 - 一、原发性免疫缺陷病/224
 - 二、获得性免疫缺陷病/229
 - 三、免疫缺陷病的治疗原则/234
- 第四节 免疫增生病/234
 - 一、传染性单核细胞增多综合征/235
 - 二、淋巴细胞白血病/235
 - 三、淋巴瘤/237
 - 四、浆细胞恶性增生病/238

第十一章 恶性肿瘤的 分子基础/241

- 第一节 恶性肿瘤发生的分子基础/241
 - 一、多因素致癌的分子机制/242
 - 二、多基因改变在癌变中的作用/246
 - 三、癌变多阶段递进的分子基础/254
- 第二节 恶性肿瘤转移的分子基础/255
 - 一、肿瘤转移相关因子/255
 - 二、肿瘤转移相关基因/258
- 第三节 肿瘤靶向治疗的分子基础/260
 - 一、肿瘤标志物概述/260

- 二、肿瘤靶向治疗策略/263
- 三、常见肿瘤靶向药物概述/267

第十二章 遗传性代谢病的 分子生物学/272

- 第一节 代谢病的概念/272
- 第二节 代谢病的分类/272
 - 一、遗传性和获得性代谢病/273
 - 二、小分子代谢病和大分子代谢病/276
- 第三节 遗传性代谢病的分子机制/276
 - 一、代谢物质转运缺陷/276
 - 二、物质代谢中的反应通路缺陷/278
 - 三、代谢调节缺陷/280
- 第四节 线粒体疾病/280
 - 一、线粒体疾病的遗传模式/281
 - 二、线粒体疾病的种类/282
 - 三、线粒体疾病的表型特点及其分子机制/282
- 第五节 溶酶体贮积症/289
 - 一、溶酶体贮积症分类/291
 - 二、糖原贮积病Ⅱ型的分子机制/292
 - 三、唾液酸贮积症的分子机制/293
 - 四、黏多糖病的分子机制/295
- 第六节 糖尿病/296
 - 一、1型糖尿病的分子机制/298
 - 二、2型糖尿病的分子机制/301
 - 三、年轻起病成人型糖尿病的分子机制/304

第十三章 心血管疾病的 分子生物学基础/308

- 第一节 原发性高血压的分子基础/308
 - 一、血压的调节机制及其影响因素/308
 - 二、原发性高血压的遗传学基础/309
 - 三、原发性高血压发生与发展的分子机制/317
 - 四、原发性高血压导致靶器官损害的分子基础/318
- 第二节 动脉粥样硬化的分子机制/320

- 一、动脉粥样硬化发生与发展的分子机制/320
- 二、动脉粥样硬化的分子生物学治疗及其研究进展/326

第三节 扩张型心肌病的分子机制/328

- 一、扩张型心肌病的病因及其分子机制/328
- 二、扩张型心肌病的分子生物学治疗/334

第四节 心力衰竭的分子基础/335

- 一、心力衰竭的影响因素及病理学特征/335
- 二、心力衰竭的分子机制/335
- 三、心力衰竭的基因治疗/339

第十四章 感染性疾病的分子生物学/342

第一节 病毒致病的分子机制/342

- 一、病毒的定义与分类/342
- 二、病毒的基因组/344
- 三、病毒侵入宿主细胞的分子机制/346
- 四、病毒基因组进入宿主细胞核的分子机制/354
- 五、病毒致瘤的分子机制/355

第二节 细菌致病的分子机制/361

- 一、胞外菌感染的分子机制/361
- 二、胞内菌感染的分子机制/364

第三节 真菌致病的分子机制/367

- 一、宿主上皮细胞或细胞外基质黏附分子/367
- 二、白假丝酵母菌的表面黏附结构/367
- 三、白假丝酵母菌黏附相关基因/368
- 四、胞外酶/368

第四节 感染性疾病与宿主易感基因/369

- 一、易感基因与感染性疾病/369
- 二、结核病与宿主易感基因/371
- 三、艾滋病与宿主易感基因/373
- 四、乙型肝炎病毒与宿主易感基因/375
- 五、疟疾与宿主易感基因/377

第十五章 血液系统常见遗传病的分子生物学/380

第一节 造血及基因调控/380

- 一、造血的定义/380
- 二、造血干/祖细胞的生物学特性/380
- 三、造血干/祖细胞的表面标志/382
- 四、造血基因调控/382

第二节 血液遗传病/383

- 一、血液病和血液遗传学/383
- 二、基因突变和血液遗传病/383

第三节 常见血液遗传病的分子生物学/386

- 一、血红蛋白病的分子生物学/386
- 二、G6PD 缺乏症的分子机制/393
- 三、先天性再生障碍性贫血的病因和发病机制/394
- 四、血友病甲的分子生物学/396
- 五、造血系统恶性肿瘤的分子生物学/399

第四节 血液遗传病的分子诊断/402

- 一、血液遗传病的筛查/402
- 二、血液遗传病的分子诊断/403

中英文对照索引/406

第一部分 临床分子生物学基础

第一章 基因、基因组与基因组学

基因的概念是在 19 世纪提出来的。对其化学本质及功能的真正了解是在 20 世纪 40 年代以后。基因是指携带有遗传信息的 DNA 或 RNA 序列,是控制性状的基本遗传单位,也称遗传因子。基因通过指导蛋白质的合成来表达自己所携带的遗传信息,从而控制生物个体的性状。基因有两个特点,一是能忠实地复制自己,以保持生物的基本特征;二是基因能够“突变”,绝大多数突变会导致疾病,其余是非致病性突变。非致病性突变给自然选择带来了原始材料,使生物可以在自然选择中产生最适合的个体。RNA 和蛋白质的结构信息都是以基因的形式贮存在 DNA 分子中的。除此之外,DNA 中还有大量并不编码 RNA 或蛋白质的序列,这些序列中同样存在着大量的重要信息。含有一种生物的一整套遗传信息的遗传物质,称为基因组。人们经过不懈的努力,解开生命之谜这个多年的夙愿并未向前推进多少。以往的教训使人们开始认识到,仅依靠单一学科(如细胞生物学、肿瘤学、人类遗传学或分子生物学)各自为政、零敲碎打地进行研究,任何努力都无济于事,难以完成对人类自身的认识和保护。人们决定回过头来对人类所有基因(即基因组)进行研究,由此形成了基因组学(genomics),其最终目的是对生命进行系统、科学的解码,从而达到了解和认识生命的起源、种群间和个体间存在差异的起因、疾病产生的机制以及长寿与衰老等生命现象。

第一节 基因的结构与功能

基因的概念随着遗传学、分子生物学、生物化学等领域的发展而不断完善。从分子生物学角度看,基因是负载特定生物遗传信息的 DNA 分子片段,在一定条件下能够表达这种遗传信息,产生特定的生理功能。有的生物基因为 RNA。它包括合成一个有功能的多肽或 RNA 分子所必需的整个核苷酸序列,即除了蛋白质或 RNA 的编码区外,还包括为获得一个特定转录产物所必需的其他 DNA 序列,如转录控制区,3'端剪切信号和多聚腺苷酸以及与初始 RNA 转录物剪接有关的非编码序列。

一、基因的生物学概念

基因(gene)一词,是1909年丹麦生物学家 W. Johannsen 根据希腊文“给予生命”之意创造的,并用“基因”一词代替了1866年 Mendel 发表的“植物杂交实验”一文中所用的“遗传因子”这个术语。从20世纪一开始,基因研究就一直成为遗传学发展的主线。只是当时的“基因”是遗传性状的符号,并未涉及基因的物质概念。1926年 Morgan 发表了“基因论”,指出基因是在特定的染色体上,而且是呈线性排列在染色体上的遗传颗粒,位于同源染色体的同一位置的相对基因叫做等位基因。基因是世代相传的,基因决定遗传性状的表达。

到20世纪40年代 Beadle 和 Tatum 用 X 射线照射链孢霉菌使其产生不同的突变株,发现突变可以影响代谢反应,故认为突变可致催化代谢的酶发生缺陷,而提出了“一个基因,一种酶”的学说。20世纪50年代初, Benzer 用“顺反子”进一步阐明了基因的概念。Benzer 在研究 T4 噬菌体的一群紧密连锁的突变群时发现了顺反效应,从而导出了“顺反子”概念。两个突变点位于两条染色体上,称反式排列。而两个突变点位于同一染色体上,这种排列方式称为顺式排列,进而提出了“一个顺反子,一条多肽链”的概念。故现在很多分子生物学的书中仍常用“单顺反子(monocistron)”、“多顺反子(polycistron)”这种名词。但两者不能完全等同,生物学基因的“顺反子”概念只是解释了很多生物现象。20世纪60年代,遗传密码的破译使人们对基因表达的机制有了更多了解,修改定义为:基因是基因组中的一个区域或一段 DNA 序列;其转录产物编码一条多肽链或者一个结构 RNA 分子(tRNA 或 rRNA)。

Alberts 于1994年提出:基因是一段 DNA 序列,包括完整的功能单位(如编码序列、调节序列和内含子等);基因可以作为一个转录单位,其表达产物通常是一条多肽链或一个 RNA 分子,但有时编码一组相关的蛋白异形体,有些蛋白异形体的产生与特殊的转录后加工(如 RNA 编辑)或者翻译水平的再编码(如核糖体跳跃)有关。

二、基因的现代概念

生物学概念:基因是世代相传的,基因决定了遗传性状的表达。基因主要表现在世代相传的行为和功能表达上有相对独立性,基因呈线性排列在染色体上。

分子生物学概念:合成有功能的蛋白质或 RNA 所必需的全部 DNA(除部分 RNA 病毒外),即一个基因不仅包括编码蛋白质或 RNA 的核酸序列,还应包括为保证转录所必需的调控序列。

(一) 基因的分类

基因按其功能可分为结构基因和调控基因。

1. 结构基因 可被转录形成 mRNA,并翻译成多肽链或 RNA,构成各种结构蛋白质,催化各种生化反应的酶和激素等。

2. 调控基因 指某些可调节控制结构基因表达的基因。其突变可影响一个或多个结构基因的功能,或导致一个或多个蛋白质(或酶)量的改变。

此外,还有一些只转录而不翻译的基因,如核糖体 RNA 基因,也称为 rDNA 基因,专门转录 rRNA;还有转运 RNA 基因,也称为 tRNA 基因,专门转录 tRNA。

(二) 基因的结构

在 DNA 链上,由蛋白质合成的起始密码开始,到终止密码子为止的一个连续编码序列,称为开放阅读框架(open reading frame,ORF)。人类基因结构如图 1-1 所示,包括 3 个区域:

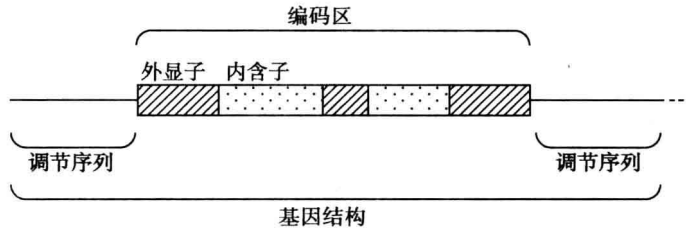


图 1-1 人类基因结构示意图

1. 编码区 包括外显子与内含子。
2. 前导区 位于编码区上游,相当于 mRNA 5'端非编码区(非翻译区)。
3. 调节区 包括启动子和增强子等基因编码区的两侧,也称为侧翼序列。

大量实验证明,从病毒到高等生物的细胞核均共用一套遗传密码,从分子水平上为生物同一起源的进化理论提供了有力的证据,也为基因工程提供了可能性。但近年来对人、牛、酵母线粒体和植物叶绿体基因序列结构的研究发现,其密码有异于细胞核的遗传密码;AUU、AUG、AUA 都为起始密码子,AUA 也可作为蛋氨酸起始密码,UGA 为色氨酸密码子,AGG、AGA 为终止密码子,CUA 为苏氨酸密码子。对于线粒体和叶绿体的这种遗传密码例外的生物学意义目前尚不清楚。

DNA 的两条多核苷酸链都可以作为编码蛋白质的基因,不同的基因在不同的 DNA 片段上。但任一链上的开放阅读框(ORF)方向总是由 5'→3'。与肽链的 N 端到 C 端的方向是一致的。此外,按照 3 个核苷酸决定一个氨基酸的理论,在序列中的同一个核苷酸有 3 种编码 ORF 的可能性,即密码子有可能重复利用。这种重复性会使 ORF 的信息容量和利用效率变得更高。这种重复利用 ORF 主要见于病毒等小型 DNA 中,使不大的 DNA 分子能编码更多的蛋白质。在高等生物中则很少见到重复利用 ORF 的情况。有时一段互补的双链可分别作为 2 个基因的编码序列,如 *ear-1* 和 *ear-7* 基因都位于 17 号染色体上,拥有重叠的外显子,但分别从互补链反向转录,其他一些人类基因也可能存在较长的反义重叠 ORF。可能在生物进化的早期,DNA 双链均具有编码能力,而现在只能观察到这种现象的遗迹。

基因是核酸分子中贮存遗传信息的遗传单位,是指贮存有功能的蛋白质多肽链或 RNA 序列信息及表达这些信息所必需的全部核苷酸序列。按照这个定义,一个基因不仅包括编码蛋白质多肽链或 RNA 的核酸序列,还包括保证转录所必需的调控序列及位于编码区 5'端上游的非编码序列、内含子和位于编码区 3'端下游的非编码序列。从简单的病毒到复杂的高等动植物细胞,RNA 和蛋白质的结构信息都是以基因的形式贮存在 DNA(部分病毒是 RNA)中的。

(三) 基因的功能

基因的功能包括:生物学功能,如作为蛋白质激酶对特异蛋白质进行磷酸化修饰;细