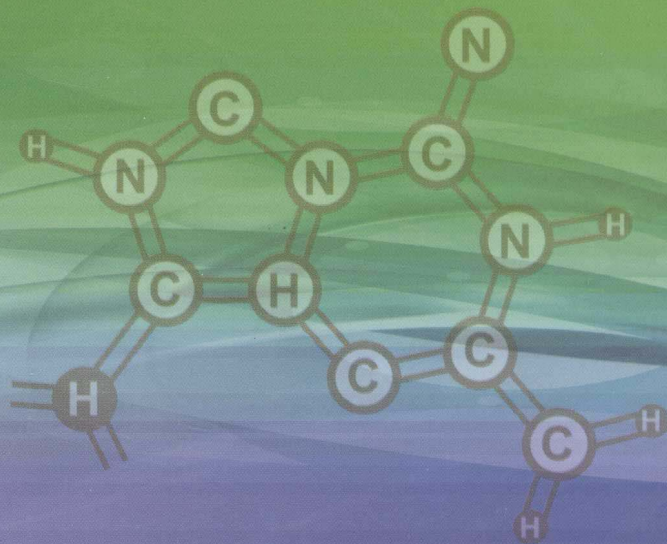
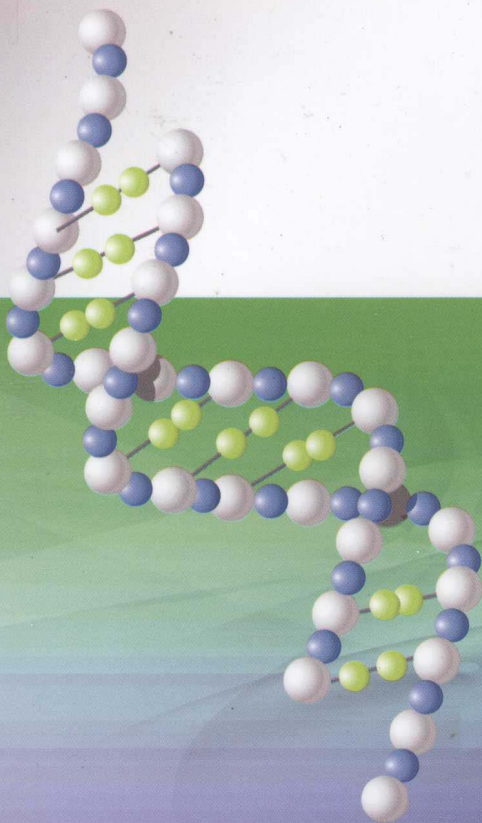




SHENGWUHUAXUE YU FENZI SHENGWUXUE

生物化学与 分子生物学

主编 王梁华 焦炳华



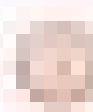
第二军医大学出版社
Second Military Medical University Press



THE UNIVERSITY OF CHINA PRESS YU PENGZHI GONGYU MOYU

生物化学与 分子生物学

主编 王德平 副主编 王德平

 J · T · B · P
JIAOYU WENXUE CHUBAN SHE

生物化学与分子生物学

主 编 王梁华 焦炳华

副主编 缪明永 黄才国

编 者 (按姓氏拼音排列)

陈 欢	蔡在龙	高 云	胡 波
黄才国	胡惠民	焦炳华	刘军华
刘小宇	缪明永	卢小玲	孙铭娟
王梁华	魏善建	杨生生	姚真真
张建鹏			



第二军医大学出版社

Second Military Medical University Press

内 容 简 介

本书以生物大分子结构与功能为线索,将研究较为透彻的核酸和蛋白质两类大分子分别成篇,将糖、脂、微生物等与能量代谢作为第三篇,第四篇将生物分子还原至细胞、甚至整体水平,分析各类分子结构与功能等的关系。全书深入浅出地讲述了生命体细胞中的生物化学与分子生物学反应过程,从分子水平揭示了许多生命现象的本质,阐明了机体内生理过程中细胞层面的生化反应。在讲述理论的同时,引入了大量临床病例分析,并深入到疾病的分子机制,揭示与人类疾病密切相关的生物化学与分子生物学过程。

本书可作为长学制医学生、研究生等学习生物化学与分子生物学的教材,也可供生物学、基础医学和临床生物化学领域的研究人员学习与工作时参考。

图书在版编目(CIP)数据

生物化学与分子生物学/王梁华,焦炳华主编. —上海:第二军医大学出版社,2012.9

ISBN 978-7-5481-0493-3

I. ①生… II. ①王… ②焦… III. ①生物化学—医学院校—教材 ②分子生物学—医学院校—教材
IV. ①Q5 ②Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 197043 号

出 版 人 陆小新

责任编辑 刘 向 高 标

生物化学与分子生物学

主 编 王梁华 焦炳华

第二军医大学出版社出版发行

上海市翔殷路 800 号 邮政编码:200433

发行科电话/传真:021-65493093

<http://www.smmup.cn>

全国各地新华书店经销

江苏句容排印厂印刷

开本:787×1092 1/16 印张:42.5 字数:1170 千字

2012 年 9 月第 1 版 2012 年 9 月第 1 次印刷

ISBN 978-7-5481-0493-3/Q·036

定价:98.00 元

前 言

生物化学与分子生物学是一门运用化学理论和方法,从分子水平研究生命现象、阐明生命现象分子本质的学科。所阐述的是人体物质分子组成、物质代谢在分子水平的过程、代谢平衡的分子调控、物质代谢与生理功能之间的关系等内容,是进一步学习其他基础医学和临床医学课程所必备的基础知识。

本书与已往其他教材最大的不同之处:以生物大分子结构与功能为线索,将目前研究较为透彻的两类生物大分子——核酸和蛋白质的结构与功能分别成篇,将糖、脂、微生物等与能量代谢作为第三篇,第四篇将生物大分子整合——即还原至细胞,甚至整体水平,分析各类生物分子结构与功能等的关系,以阐明生命现象的分子本质。

本书另一特色:在深入浅出地讲述了生命体细胞中的生物化学与分子生物学反应过程、从分子水平揭示了许多生命现象的本质、阐明了机体内生理过程中细胞层面的生化反应的同时,引入了大量临床病例分析,并深入到疾病的分子机制,从而解释了与人类疾病密切相关的生物化学与分子生物学过程,既可以帮助理解书本的内容,又能加深对理论知识的记忆与理解。

本书还在强调基本理论、基本知识的同时,针对长学制医学生、研究生学习和工作的需要,特意将各类生物大分子结构与功能相关的研究技术与策略一并介绍,以期加强实用性。

本书在第二军医大学基础部生物化学与分子生物学教研室全室人员的通力合作下完成,参考了大量生物化学与分子生物学前辈们编写的教材,如理论与技术部分主要参考了2010年人民卫生出版社贾弘禔、冯作化主编的《生物化学与分子生物学》第2版,临床病例部分主要参考了科学出版社王红阳等译的《生物化学——基础理论与临床》,在此一并表示衷心的感谢。

由于时间限制和作者水平有限、经验不足,书中难免有错误疏漏和不尽人意之处,恳请同行和学员使用过程中发现问题并及时予以批评和指正。

王梁华 焦炳华
2012年9月

目 录

绪论	1
----------	---

第一篇 核酸与基因

第一章 核酸的结构与功能	14
第一节 核苷酸的结构与功能	15
第二节 多聚核苷酸	20
第三节 DNA 的结构和功能	22
第四节 RNA 的结构和功能	33
第五节 核酸的理化性质	41
第二章 核苷酸代谢	46
第一节 核苷酸代谢概论	47
第二节 嘌呤核苷酸的合成与分解代谢	49
第三节 嘧啶核苷酸的合成与分解代谢	57
第四节 胞内核苷酸的转化	61
第五节 干扰嘌呤和嘧啶核苷酸代谢的化疗药物	63
第三章 基因组的复制	69
第一节 基因组复制的主要特点	69
第二节 DNA 复制过程	75
第三节 DNA 的反转录合成	86
第四节 DNA 损伤修复	89
第五节 DNA 重组	95
第四章 转录——生物合成 RNA 及 RNA 的加工	102
第一节 RNA 合成概述	102
第二节 DNA 依赖的 RNA 合成	106
第三节 RNA 的加工	117
第四节 RNA 复制合成 RNA	127
第五章 基因研究方法	130
第一节 DNA 操作的基本技术	130
第二节 重组 DNA 技术	147
第三节 基因结构分析的基本策略	168
第四节 基因表达及功能分析的基本策略	177
第六章 基因疾病与诊疗	191
第一节 基因与疾病概述	191
第二节 人类单基因疾病	196
第三节 多基因复杂性状疾病	200

第四节 基因诊断	207
第五节 基因治疗的概念及策略	221

第二篇 氨基酸与蛋白质

第七章 氨基酸、多肽与蛋白质	230
第一节 氨基酸的结构与功能	233
第二节 肽和蛋白质的一级结构	242
第三节 肽、蛋白质的高级结构	246
第四节 蛋白质结构与功能的关系	259
第五节 蛋白质的理化性质	279
第六节 蛋白质的分离、纯化、鉴定和结构分析	281
第七节 血浆蛋白质	288
第八章 氨基酸代谢	298
第一节 氨基酸代谢概况	298
第二节 体内氨基酸的来源	299
第三节 氨基酸氮的代谢	309
第四节 氨基酸碳链骨架的代谢	318
第五节 氨基酸代谢转换产生的特殊产物	321
第九章 酶	331
第一节 酶组织形式、酶分子组成和结构	331
第二节 酶促反应特点与机制	337
第三节 酶作用动力学	340
第四节 酶的调控	354
第五节 酶的分类	365
第十章 蛋白质的合成与加工	368
第一节 蛋白质合成体系的组成	368
第二节 蛋白质的翻译过程	374
第三节 翻译后的折叠和修饰	382
第四节 蛋白质生物合成与医学的关系	391

第三篇 其他物质代谢与能量代谢

第十一章 糖与复合糖	396
第一节 单糖、二糖与多糖	396
第二节 复合糖	399
第三节 聚糖的生物信息与功能	406
第十二章 糖代谢	410
第一节 糖代谢概况	410
第二节 葡萄糖的无氧氧化	411
第三节 葡萄糖的有氧氧化	415

第四节	戊糖磷酸途径	419
第五节	糖原的合成与分解	423
第六节	糖异生	427
第七节	其他单糖的代谢概况	433
第八节	血糖及其调节	434
第九节	糖代谢与疾病的关系	436
第十三章	三羧酸循环	439
第一节	三羧酸循环的发现	439
第二节	三羧酸循环的反应过程	440
第三节	三羧酸循环的调控	444
第四节	三羧酸循环的生理意义	445
第五节	三羧酸循环关键反应的分析原理	447
第十四章	生物氧化与氧化磷酸化	450
第一节	生物氧化反应及氧化还原酶基本类型	450
第二节	线粒体氧化体系与氧化磷酸化	452
第三节	呼吸链功能调节及线粒体功能失调	465
第四节	细胞抗氧化体系和非线粒体氧化-还原反应体系	469
第五节	线粒体功能分析基本原理	471
第十五章	脂和生物膜	474
第一节	脂类与复合脂	474
第二节	生物膜及跨膜转运	481
第三节	脂分析技术	491
第十六章	脂类代谢	493
第一节	脂质的消化、吸收	493
第二节	三酰甘油代谢	495
第三节	磷脂代谢	510
第四节	胆固醇代谢	514
第五节	血浆脂蛋白代谢	517
第十七章	维生素和无机元素及其代谢	525
第一节	脂溶性维生素	525
第二节	水溶性维生素	529
第三节	钙和磷	534
第四节	微量元素	537
第五节	维生素及微量元素分析	540
第十八章	非营养物质代谢	543
第一节	肝的生物转化作用	543
第二节	胆汁酸的代谢	549
第三节	血红素的生物合成	553
第四节	胆色素的代谢与黄疸	557

第四篇 生命过程的调节与整合

第十九章 物质、能量代谢的调节与整合	568
第一节 饥饿-进食循环	570
第二节 代谢的稳态和整体性	576
第三节 肝在代谢调节与整合中的作用	583
第四节 组织营养和激素水平间的相互关系	595
第二十章 基因表达调控及其与细胞信号转导的偶联	609
第一节 原核生物基因表达调控	610
第二节 真核基因表达调控	624
第三节 基因表达与细胞信号转导的偶联机制	638
第二十一章 遗传信息传递的整体性	656
第一节 基因组学	657
第二节 转录组学	660
第三节 蛋白质组学	662
第四节 “组学”在医学中的应用	664
第五节 系统生物学	667
参考文献	672

绪 论

生物化学(biochemistry)这一名词出现于 19 世纪末至 20 世纪初,但它的起源可追溯得更远,其早期的历史是生理学、化学的一部分。例如,18 世纪中叶,C. W. Scheele 研究生物体(植物及动物)各种组织的化学组成,一般认为这是奠定现代生物化学基础的工作。18 世纪 80 年代,A. L. Lavoisier 证明呼吸与燃烧一样是氧化作用,几乎同时,科学家又发现光合作用本质上是动物呼吸的逆过程。又如 1828 年,F. Wohler 首次在实验室中,将氰酸铵合成了一种有机物——尿素,打破了有机物只能靠生物产生的观点,给“生机论”以重大打击。1860 年 L. Pasteur 证明发酵是由微生物引起的,但他认为必须有活的酵母才能引起发酵。自此直到 20 世纪初叶,对生物体内的物质已基本了解,如脂类、糖类及氨基酸的研究,核质及核酸的发现,多肽的合成等。而更有意义的则是在 1897 年 Buchner 兄弟发现酵母的无细胞抽提液可进行发酵,证明没有活细胞也可进行如发酵这样复杂的生命活动,终于推翻了“生机论”,他们因此获得 1907 年的诺贝尔化学奖,标志着生命研究全面进入了分子时代。

1877 年,E. F. Hoppe-Seyler 首次使用了“biochemistry”;但直到 1903 年,当德国化学家 Carl Neuberg 再次使用“生物化学”这一词汇才被广泛接受。随后生物化学不断发展,特别是从 20 世纪中叶以来,随着各种新技术的出现,例如,色谱、X 射线晶体学、核磁共振、放射性核素标记、电子显微镜以及分子动力学模拟,生物化学有了极大的发展。这些技术使得研究许多生物分子结构和细胞代谢途径如糖酵解和三羧酸循环成为可能。

另一个生物化学史上具有重要意义的历史事件是发现基因和它在细胞中的传递遗传信息的作用;在生物化学中,与之相关的部分又被称为分子生物学(molecular biology)。1938 年,W. Waever 在对美国洛克菲勒基金董事会的年度报告中首次使用了“molecular biology”;1945 年,W. T. Astbury 再次使用了这一术语。其主要的标志性研究是在 20 世纪 50 年代,J. D. Watson、F. H. C. Crick、R. E. Franklin 和 M. H. F. Wilkins 共同参与解析了 DNA 双螺旋结构,并提出 DNA 与遗传信息传递之间的关系。

1955 年成立了国际生物化学联盟(IUB),1991 年该联盟更名为国际生物化学与分子生物学联盟(IUBMB),代表着生物化学与分子生物学作为一门在分子水平研究生命的学科逐渐成熟。国内也于 1993 年将原来的中国生物化学会更名为中国生物化学与分子生物学会。

一、发展简史

(一) 静态生物化学: 组成组分及功能

从 19 世纪末到 20 世纪 30 年代,主要是静态的描述性阶段,对生物体各种组成成分进行分离、纯化、结构测定、合成及理化性质的研究。如 1902 年诺贝尔化学奖获得者 H. E. Fischer 测定了很多糖、氨基酸与核苷酸的结构,确定了糖的构型,并指出蛋白质是肽键连接的。通过食物的分析和营养的研究发现了一系列维生素,并阐明了它们的结构,同时人们又认识到另一类数量少而作用重要的物质——激素,它和维生素不同,不依赖外界供给,而由动物自身产生并在自身中发挥作用。这一阶段以酶学的建立为重要标志。

1. 酶是蛋白质 1833 年,A. Payen 和 J. F. Persoz 从麦芽的水抽提物中获得一种对热不稳定的物质,它能使淀粉水解成可溶性糖,认为这是一种可溶性的类似催化剂的物质,由此开始了酶的研究。1837 年,J. J. Berzelius 提出发酵的催化性质的假设。1857 年,L. Pasteur 提出发酵是酵母细胞生命活动的结果,认为只有活的酵母才能进行发酵,但这种观点遭到 J. von Liebig 的反对,他

认为发酵是溶解于酵母溶液中的酶引起的。1877年, W. Kühne 首次将这种可溶性的催化剂命名为“enzyme”, 这个词来自希腊语, 意思是“在酵母中”。1893年, 在酶被发现 60 年后, F. W. Ostwald 终于证明酶是催化剂。此后, 对于酶的研究不断深入。1894年, F. Fischer 证明了酶的专一性, 提出酶与底物之间是“锁和钥匙”的关系。但直到 1897年, E. Buchner 和 H. Buchner 用石英砂磨碎酵母细胞, 用不含细胞的酵母提取液实现了发酵, 证明发酵是酶在起作用, 从而结束了长达 40 年的争论。Buchner 兄弟因此获得 1907 年的诺贝尔化学奖。1926年 J. B. Sumner 从刀豆中提取制备了脲酶结晶, 首次证明酶是蛋白质, 但对此有人表示怀疑。直到 1930—1936年, J. H. Northrop 和 M. Kunitz 获得胃蛋白酶、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶结晶, 并用相应方法证实它们是蛋白质后, 确立了酶是蛋白质这一概念。Sumner 和 Northrop 因此获得 1946 年的诺贝尔化学奖。1959年, S. Moore 和 W. H. Stein 首次测定了核糖核酸酶的 124 个氨基酸顺序, C. B. Anfinsen 在这方面也独立地作出了重要贡献, 他们 3 人共同获得 1972 年的诺贝尔化学奖。

2. 维生素可作为辅酶 1897年, G. Bertrand 提出“coenzyme”一词。1905年, A. Harden 和 W. Young 浓缩了第一个辅酶, 以后证明这个辅酶是 NAD^+ , Harden 后来获得 1929 年诺贝尔化学奖。1932年, O. H. Warburg 和 W. Christian 发现“黄酶”是一种黄素蛋白。1935年, R. Kuhn 发现核黄素(维生素 B_2)是黄酶的组成成分, 并于 1938 年获得诺贝尔化学奖。1937年, K. Lohmann 等证明硫胺素(维生素 B_1)是丙酮酸羧化酶辅基的组成成分, 这样将维生素与辅酶联系起来。

3. 酶促反应模型 1903年, V. Henri 提出了酶与底物作用的“中间复合物学说”。1909年, S. P. L. Srensen 证明 pH 对酶作用有影响。1913年, L. Michaelis 和 M. Menten 根据中间复合物学说推导出“米氏方程”, 发展了酶促反应动力学理论, 这是酶反应机制研究的重要突破。1925年, G. E. Briggs 和 J. B. S. Haldane 对米氏方程作了重要修正, 提出了“稳态学说”。1937年, C. F. Cori 和 G. T. Cori 发现糖原磷酸化酶的可逆反应, Cori 夫妇由于这一成就获得 1947 年的诺贝尔生理学及医学奖。1943年, B. Chance 首次将灵敏的分光光度法用于酶底物相互关系的研究。1961年, J. Monod 等提出酶促反应机制是酶分子发生变构效应的假说。

4. 酶学的发展 酶学一直是热门领域, 人们对于酶的兴趣始终不减, 新的酶也不断被发现。1912年, Batali 等发现脱氢酶。1933年, 汤佩松发现植物中存在细胞色素氧化酶。1943年, A. Green 和 G. T. Cori 结晶出肌肉磷酸化酶。1955年, S. Ochoa 和 M. Grunberg-Manago 发现多核苷酸磷酸化酶。1956年, A. Kornberg 发现 DNA 聚合酶 I。Ochoa 和 Kornberg 因此获得 1959 年的诺贝尔生理学及医学奖。1958—1959年, S. B. Weiss 和 J. A. Hurwitz 等发现 DNA 指导的 RNA 聚合酶。1967年, Weiss 又发现 T4 噬菌体 DNA 连接酶; R. Yuan 在大肠埃希菌中发现第 I 类限制性核酸内切酶。1970年, H. O. Smith 提取出专一性很强的限制性核酸内切酶; 同年, D. Baltimore, H. M. Temin 和 R. Dulbecco 各自独立地从鸡肉瘤病毒中发现逆转录酶, 他们 3 人于 1975 年获得诺贝尔生理学及医学奖。1981年, S. Altman 和 T. C. Cech 发现了一种具有酶功能的 RNA 分子, 这种分子能把基因内插入顺序剪切后再重新拼接在一起, 据此提出核酶(ribozyme)的概念, 这一发现打破了酶是蛋白质的传统观念, 开辟了酶学研究的新领域, 为此 Altman 和 Cech 于 1989 年获得诺贝尔化学奖。1986年, P. G. Schultz 与 R. A. Lerner 等人成功研制抗体酶(abzyme)。1989年, J. A. Latham 和 Cech 研究了四膜虫催化 RNA 分子的结构。1995年, J. W. Szostak 等首次报道了具有 DNA 连接酶活性的 DNA 片段, 称之为脱氧核酶(deoxyribozyme)。2006年 R. D. Kornberg 因阐释了真核转录中 RNA 聚合酶的结构与功能等而获得诺贝尔化学奖。2009年 E. Blackburn, C. Greider 和 J. Szostak 因发现端粒和端粒酶如何保护染色体而获得诺贝尔生理及医学奖。目前已鉴定出的酶有 4 000 多种, 数百种酶已得到结晶, 而且每年都有新酶发现。

(二) 动态生物化学: 组分之间关系——代谢途径的阐明

约在 20 世纪 30 至 50 年代, 主要特点是研究生物体内物质的变化, 即代谢途径, 所以称动态生

化阶段。其间突出成就是确定了糖酵解、三羧酸循环(也称克雷布斯循环)以及脂肪分解等重要的分解代谢途径。对呼吸、光合作用以及腺苷三磷酸(ATP)在能量转换中的关键位置有了较深入的认识。当然,这种阶段的划分是相对的。对生物合成途径的认识要晚得多,在20世纪50~60年代才阐明了氨基酸、嘌呤、嘧啶及脂肪酸等的生物合成途径。

1. 糖酵解途径的阐明 1757年,J. Black发现 CO_2 ;1771—1774年,J. Priestly和C. W. Scheele发现 O_2 ,由此开始了呼吸作用以及糖代谢的研究。1785年,A. L. Lavoisier证明动物需要 O_2 ,呼吸是氧化作用,他首次测定了人的耗氧量,认为酒精发酵是一系列化学过程,这是生物氧化以及能量代谢研究的开端。1810年,J. L. Gay-Lussac推导出酒精发酵的反应式。1850—1855年,C. Bernard从肝脏分离出糖原并证明它可以转变为血糖,同时发表了糖异生作用的过程。1907年,W. M. Fletcher和F. G. Hopkins证明缺氧条件下肌肉收缩时能定量地将葡萄糖转变为乳酸。1912年,C. Neuberg描述了发酵的化学途径。1929年,Cori夫妇发现肌糖原、血乳酸、肝糖原以及血糖之间的转化,后称Cori循环。1933年,G. G. Embden和O. F. Meyerhof发现糖酵解及发酵过程中的关键性中间物。1935年,Meyerhof,Embden和J. K. Parnas阐明糖酵解过程的全部12个步骤,因此糖酵解过程又称为“迈耶霍夫-埃姆登-帕纳斯途径”。1953年,Horecker等阐明了糖代谢的戊糖磷酸途径。

2. 脂类代谢 1905年,F. Knoop通过实验发现脂肪酸的 β -氧化作用。1942年,K. E. Bloch和D. Rittenberg发现乙酰盐是胆固醇的前体。1943—1947年,L. F. Leloir和J. M. Munoz研究了脂肪酸在肝脏无细胞体系中的氧化作用,A. L. Lehninger证明脂肪酸氧化需要ATP,并且作了定量测定。1951年,F. Lynen提出辅酶A在脂肪酸氧化中的作用,不久A. Green和S. Ochoa分离出脂肪酸氧化酶。1954—1958年,E. P. Kennedy报道了三酰甘油、磷脂的合成途径及胞苷酸的作用,因此三酰甘油合成途径也称为“Kennedy途径”。1964年,Bloch和Lynen因为在胆固醇和脂肪酸生物合成方面的研究获得诺贝尔生理学及医学奖。1985年,M. S. Brown和J. L. Goldstein因为在胆固醇代谢及相关疾病方面的发现获得诺贝尔生理学及医学奖。

3. 三羧酸循环 1828年,F. Wohler在实验室里将氰酸铵转变成尿素,氰酸铵是一种无机化合物,尿素是哺乳动物尿中含氮物质代谢的主要产物,人工合成尿素的成功,对生物化学发展起了很大的促进作用。1932年,H. D. Krebs和K. Hensleit发现尿素合成的“鸟氨酸循环”。5年后,Krebs又提出代谢的公共途径“柠檬酸循环”(枸橼酸循环)的设想,并在1940年做了实验证实。1944年,F. A. Lipmann发现在代谢过程中起重要作用的辅酶A,打通了糖酵解、脂肪酸等氧化的最终产物进入三羧酸循环的通道。1947—1950年,Lipmann和N. O. Kaplan分离鉴定了辅酶A。由于Krebs和Lipmann阐明了糖有氧氧化的三个阶段,他们获得了1953年的诺贝尔生理学及医学奖。1949年,E. P. Kennedy和A. L. Lehninger发现线粒体是进行三羧酸循环、脂肪酸氧化和氧化磷酸化的场所,糖酵解作用发生在细胞质中。1950—1965年,B. Ames,J. Baddiley,K. E. Bloch等一批科学家陆续报道了氨基酸、嘌呤、嘧啶、脂肪酸、类萜化合物等物质的生物合成与降解的反应过程,至此,生物体内各种小分子的代谢途径基本阐明。

4. 能量代谢 物质代谢与能量代谢是相互关联的,在研究物质代谢的同时,必然涉及能量代谢。1886年,C. A. MacMunn发现了细胞色素。1912年,O. H. Warburg证明在细胞中有一种激活氧的呼吸酶,并发现氰化物能抑制这种酶的活性,提出呼吸作用需要铁参加。1923年,D. Keilin重新发现了细胞色素,并证明在呼吸时它可变为氧化态;1927年又进一步提出生物氧化过程电子传递的初步设想。1928年,P. Eggleton在肌肉中发现磷酸肌酸。同年,Warburg指出呼吸酶中铁卟啉的性质,他因此获得了1931年的诺贝尔生理学及医学奖。1929年,C. H. Fiske,Y. Subbarow和K. Lohmann从肌肉提取液分离出ATP及磷酸肌酸。1931年,V. A. Engelhardt发现磷酸化作用与呼吸作用的偶联。1932年,Lohmann发现ATP磷酸肌酸反应;O. H. Warburg和Christian

分离出细胞色素 C,并在特殊的心肌制剂中重建了电子传递系统。1935 年,Lohmann 阐明了 ATP 的化学结构。1937—1938 年,Warburg 证明 ATP 的形成与甘油醛-3-磷酸的脱氢作用相偶联。1937—1941 年,F. A. Lipmann 提出 ATP 在能量传递循环中具有中心作用的假说。1943 年,Ochoa 证明了三羧酸循环中氧化磷酸化的 $P:O$ 为 3:1。1951 年,A. L. Lehninger 证明从 NADH 到氧的电子传递是氧化磷酸化作用的直接能量来源。1954 年,B. Chance 等用氧电极及差光谱法研究线粒体中电子传递的动力学。1961 年,P. D. Mitchell 提出“化学渗透偶联假说”,解释氧化磷酸化和光合磷酸化的能量转化机制,他因此获得 1978 年的诺贝尔化学奖。1961—1968 年,E. Racker 等从线粒体分离出 ATP 合酶,以后在亚线粒体泡中重建了氧化磷酸化作用。P. Boyer、J. Walker 等因为阐明了 ATP 合酶的分子机制,于 1997 年获得诺贝尔化学奖。

(三) 生物化学与分子生物学:生命过程分子水平的诠释

这一阶段是从 20 世纪 50 年代开始,以提出 DNA 的双螺旋结构模型为标志,主要特点是研究生物大分子的结构与功能。生物化学在这一阶段的发展,以及物理学、技术科学、微生物学、遗传学、细胞学等其他学科的渗透,产生了分子生物学,并成为生物化学的主体,学科名称也更名为生物化学与分子生物学。

蛋白质和核酸是两类主要的生物大分子。它们的化学结构与立体结构的研究在 20 世纪 50 年代都取得了重大进展。蛋白质方面,如 α -螺旋结构的提出,测定了胰岛素的化学结构以及肌红蛋白和血红蛋白的立体结构。核酸方面,DNA 双螺旋模型的提出打开了生物遗传奥秘的大门。根据双螺旋结构,完满地解释了 DNA 的自我复制,在后来的发展中又阐明了转录与翻译的机制,提出了中心法则并破译出遗传密码。

1. 核酸是遗传物质 1868 年,F. Miescher 首先从脓细胞核中提取出一种富含氮和磷的酸性物质,以后又在鲑鱼精子细胞核中发现大量类似的物质,由此揭开了核酸研究的序幕。1879—1909 年,A. Kossel、D. A. Levene 等分析出核酸的 4 种碱基和两种核糖,为此 Kossel 获得 1910 年的诺贝尔生理学及医学奖。1925—1930 年,Levene 弄清了单核苷酸的结构并证明单核苷酸是核酸的组成单位。1929 年,Levene 发现核酸有脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA)之分。1935—1936 年,O. H. Warburg 和 H. von Euler-Chelpin 分离并测定了嘧啶核苷酸的结构。至此,关于核酸的组成以及核苷酸的结构基本搞清。

在证实核酸是遗传物质之前,核酸研究一直未引起人们的足够重视。1944 年,O. T. Avery 等报告了肺炎双球菌的转化实验,证明不同菌株的肺炎双球菌相互之间的转化因子是 DNA 而不是蛋白质。1952 年,A. D. Hershey 和 M. Chase 证明噬菌体 DNA 携带着噬菌体复制的全部信息,再次证明 DNA 是遗传信息的载体。1956 年,A. Gierer 和 G. Schramm 发现烟草花叶病毒里的遗传物质是 RNA。1957 年,C. H. Franenkel 及 R. C. Williams 构建烟草镶嵌病毒,证实其遗传物质是 RNA,而不是蛋白质。

1950 年,E. Chargaff 将各种来源的 DNA 进行完全水解并测定碱基,结果发现碱基间存在 1:1 的比例关系,以后被称为“Chargaff 规则”。此后,R. E. Franklin、M. H. F. Wilkins 用 X 射线衍射法研究 DNA 的晶体结构,提出 DNA 呈螺旋状。这些研究为后来 DNA 结构的阐明奠定了重要基础。1953 年,J. D. Watson 和 F. H. C. Crick 综合当时 DNA 结构的研究成果,提出了著名的“双螺旋结构模型”,由此开创了分子生物学的新纪元。由于 Watson、Crick 以及 Wilkins 对 DNA 结构研究的杰出贡献,他们 3 人共同获得了 1962 年的诺贝尔生理学及医学奖。但是,双螺旋并不代表所有 DNA 的结构,1959 年,K. L. Sinsheimer 发现 Φ X174 噬菌体含有单链 DNA。1963 年 M. Nass 和 S. Nass 发现线粒体 DNA。1979 年,A. Rich 和 A. H. J. Wang 发现左手螺旋的 DNA,命名为 Z-DNA。

早在 1941 年,G. W. Beadle 和 E. L. Tatum 就提出了“一个基因一个酶”的假说,这一假说一

度被看作是基因功能的最佳诠释,Beadle和Tatum因此获得1958年的诺贝尔生理学及医学奖。1956年,G. Gamow提出三联体密码子的假设,并推论有64个密码子;Crick认为在模板RNA与把氨基酸带到模板上进行合成之间,可能存在载体,后被证明是tRNA。1957年,M. B. Hogland、M. Stephenson、J. F. Scott和P. Zamecnik首次发现tRNA并对它们在合成蛋白质中转运氨基酸的功能提出了假设。1958年,M. Meselson和F. W. Stahl为DNA半保留复制模型提供了实验证明;Crick提出“中心法则”,揭示了遗传信息传递的规律。1961年,S. Brenner等观察了在蛋白质合成过程中mRNA与核糖体的结合。同年,M. W. Nirenberg和H. Matthei利用大肠埃希菌无细胞蛋白质合成体系及多聚尿苷酸,发现苯丙氨酸的遗传密码为UUU,这是第一个被破译的遗传密码。1963年,H. G. Khorana开始利用RNA聚合酶并以DNA为模板合成RNA,同时参与遗传密码的破译工作。1966年,R. W. Holley、Khorana、Nirenberg等破译了20种氨基酸的全部遗传密码,他们三人因此获得1968年诺贝尔生理学及医学奖,后来研究表明这套遗传密码在生物界具有通用性。1968年,Okazaki提出DNA不连续复制的学说。1970年,D. Baltimore、H. M. Temin发现逆转录现象,并对中心法则作了修正。1979年,G. Macino等发现线粒体内存在变异的遗传密码。1987年,C. de Duve提出第二套遗传密码的假设。

2. 基因工程的建立 1943年,M. Delbrück和S. E. Luria发现噬菌体的基因重组和细菌的自发突变。1946年,J. Lederberg和E. L. Tatum发现了大肠埃希菌的遗传重组现象。1952年,Lederberg和N. D. Zinder在研究鼠伤寒沙门菌的重组时发现转导现象。Lederberg因此获得1958年的诺贝尔生理学及医学奖。这些在自然情况下发生的DNA重组现象为人工重组DNA提供了借鉴。1971年,P. Berg把猴细胞病毒SV40的DNA与人噬菌体的DNA在体外重组成功。1973年,S. N. Cohen将外源DNA片段插入大肠埃希菌质粒后产生嵌合质粒,当嵌合质粒重新导入大肠埃希菌时仍具有功能,这成为外源基因导入细菌的主要方法,从此开创了基因工程。1977年,H. W. Boyer和A. D. Riggs两组美国生物化学家共同努力,利用重组DNA方法,将人工合成的14肽生长激素释放抑制因子的基因导入大肠埃希菌并表达成功,这项工作揭开了分子生物学新的一页。1978年,K. Itakura等使人生长激素(191肽)基因在大肠埃希菌中表达成功。1978—1979年,美国基因技术公司将人工合成的人胰岛素基因导入大肠埃希菌并表达成功。1980—1981年,T. Taniguchi用基因克隆技术制造出人类成纤维细胞干扰素。1982年,用基因工程生产的人工胰岛素获得美、英、联邦德国、瑞士等国政府批准出售并进入工业化生产。1984年,M. M. Davis等将T细胞抗原受体基因克隆成功。1986年,Y. Furutani报道人的白细胞介素I- α 基因分离成功。1987年,D. T. Burke、G. F. Carle和M. V. Olson用人造酵母染色体(YACS)作为载体,将大片段外源DNA导入酵母细胞。1997年,I. Wilmut成功获得体细胞克隆羊——多莉,这项成果震惊了世界,其潜在的意义难以估计。2006年6月2日,世界上第一个利用转基因动物乳腺生物反应器生产的基因工程蛋白药物——重组人抗凝血酶Ⅲ获得欧洲医药评价署人用医药产品委员会批准,据估计该药全球潜在市场每年高达1.5亿美元。

3. 基因信息的传递 1954年,S. Benzer完成了噬菌体基因精细结构的分析,提出了顺反子、突变子、重组子的概念。1955年,Benzer又完成了基因精细结构图谱,并肯定一个基因具有许多突变位点。1957年,B. Magasanik等提出酶合成中的遗传阻遏。1961年,F. Jacob和J. L. Monod提出了操纵子学说,并假设了mRNA的功能,他们于1965年获得诺贝尔生理学及医学奖。1979年,M. Goldberg和D. S. Hogness发现真核生物的DNA启动子的TATA构造,后称“TATA盒”。E. Solomon和W. F. Bodmer提出至少200个限制性片段长度多态性可作为连接入的整个基因组图谱的基础。1984年,W. J. Gehring发现相似基因群(Homo-box)。1993年,R. J. Roberts与P. A. Sharp发现断裂基因获得诺贝尔生理学及医学奖。1995年,E. B. Lewis、E. F. Wieschaus与C. N. Volhard研究基因如何控制果蝇早期胚胎的发育,揭开了胚胎如何由一个细胞发育成完美的特化器官的遗传

秘密,建立了动物基因控制早期胚胎发育的模型。他们3人获得诺贝尔生理学及医学奖。

20世纪前半叶,遗传突变和病毒可以致癌的观点已被广泛接受。运用数学模式进行癌症流行病学研究发现,必须到一定的年龄发生的突变才会致癌。1957年,P. Armitage和R. Doll研究认为体细胞两次突变会导致癌症发生,提出二次突变假说(Two-hit hypothesis)。1971年,A. G. Knudson认为野生型基因产物可以抑制肿瘤产生,他称该基因为肿瘤抑制基因。1982年,C. J. Tabin等及E. P. Reddy等分别发现人类癌基因的突变,证明一个氨基酸的变异就能导致癌变。1987年,P. Whyte、K. J. Buchkovich、J. M. Horowitz等发现癌基因的活化或抗癌基因的钝化是肿瘤产生的前提。1989年,J. M. Bishop与H. E. Varmus因为证明了癌症的起因是致癌基因而不是病毒获得诺贝尔生理学及医学奖。1990年9月14日,美国FDA批准了全球首例基因治疗,截至目前(2012年5月),已完成超过1700例运用不同治疗方案针对不同基因缺陷的基因治疗病例。

4. 基因组测序 1955年,A. R. Todd等搞清了核酸中磷酸二酯键的位置,证明核酸分子由5'→3'走向的多核苷酸组成,这使Todd获得1957年的诺贝尔化学奖。在此基础上,人们选择了一种比较小的RNA作为深入研究的突破口。1965年,R. W. Holly等分析了酵母丙氨酸tRNA全部77个核苷酸序列。1970—1972年,H. G. Khorana人工合成了酵母丙氨酸tRNA的基因。1973和1977年,S. H. Kim、A. Rich先后用0.4 nm和0.25 nm X射线分析法测定了酵母丙氨酸tRNA的三级结构。1981年,王德宝等一批研究人员合作终于合成了酵母丙氨酸tRNA,这是人工合成的第一个具有生物活性的核酸分子。

随着方法改进,分子生物学研究范围从单个基因扩展到整个基因组,测定整个生物基因组核酸的全序列无疑对理解这一生物的生命信息及其功能有重要意义。但是,早期的核酸序列分析非常困难,仅限于小分子。1968年,F. Sanger测定了5S rRNA的一级结构。1975年,Sanger又建立了分析DNA碱基序列的方法,并不断加以改进。1976年,A. M. Maxam和W. Gilbert建立了快速测定大片段DNA序列的化学法。1977年,Sanger提出了应用链终止抑制法测定DNA序列,并完成了ΦX174噬菌体全部5400个碱基序列的分析。Gilbert、Sanger因此获得了1980年的诺贝尔化学奖。1978年,W. Fiers等测定了SV-40病毒DNA的一级结构。以后,包括乙型肝炎病毒、艾滋病毒等基因组的全序列陆续被测定。

1985年,R. Sinsheimer率先提出人类基因组研究计划;次年,诺贝尔奖获得者R. Dulbecco指出,要彻底解决肿瘤问题,必须对人的基因组进行全面测序。美国政府于1987年正式启动人类基因组计划(human genome project. HGP),计划投资30亿美元,用15年时间将人类基因组的全部DNA序列(约32亿bp)分析清楚,这一计划被称为生命科学领域里的“阿波罗登月计划”。随后,不少国家政府纷纷资助成立了各自的国家级研究中心,人类基因组以及其他生物的基因组的测序工作相继展开。我国的HGP始于1994年,1998年相继成立了国家人类基因组南、北方研究中心,1999年正式加入“国际人类基因组测序联盟”(International Human Genome Sequencing Consortium, IHGSC),使其成员由美、英、法、德、日五国扩展为六国。1998年,GenBank公布最新人类“基因图谱98”,提供了30181条基因定位的信息。J. C. Venter对人类基因组计划提出新的战略——全基因组随机测序,毛细管电泳测序仪也投入使用。2000年,果蝇和拟南芥的基因组测序完成。2000年6月26日宣布人类基因组草图完成。2001年2月15日发表了根据人类基因组94%序列草图作出的初步分析。2002年,水稻、小鼠、疟原虫和按蚊基因组测序完成。2003年4月14日宣布人类基因组序列图绘制成功,人类基因组计划的所有目标提前完成。

5. 蛋白质结构的解析 早在1838年,G. J. Mulder首先提出蛋白质一词,原意为“名列第一”,认为蛋白质是人体最重要的物质,没有蛋白质就没有生命。

1864年,E. F. Hoppe-Seyler第一次结晶出血红蛋白,这也是后来研究得比较深入的一个蛋白

质。1902年, E. H. Fischer 和 F. Hofmeister 证明蛋白质是多肽, 并分别提出了蛋白质分子结构的肽键理论。1931年, 吴宪提出蛋白质变性是由于蛋白质的结构发生了变化, 是蛋白质分子中紧紧缠绕的多肽链变为松散状态的结果。1936年, A. E. Mirsky 和 L. C. Pauling 发展了氢键理论, 提出氢键在蛋白质结构中使多肽链形成稳定结构, 变性时氢键破坏, 结构随之破坏。1938年, J. D. Bernal, I. Frankuchen 和 M. P. Perutz 对血红蛋白进行 X 射线研究。1949年, L. C. Pauling 等用电泳法证明镰形红细胞贫血症是因为有异常血红蛋白的存在, 推导这种血红蛋白的生成受基因控制, 并提出分子病(molecular disease)的概念。1950年, Pauling 和 R. Corey 提出了 α -角蛋白的 β -螺旋结构模型。1956年, V. M. Ingram 证明正常血红蛋白与镰形细胞血红蛋白之间, 只是在一条多肽链的末端第 6 位的谷氨酸被缬氨酸所取代, 由此展开了对血红蛋白病的深入研究。1956—1958年, C. B. Anfinsen 和 F. H. White 肯定蛋白质的三维空间构象是由氨基酸序列决定的。1959年, Perutz 和 J. Kendrew 经过 20 年的努力, 完成了血红蛋白的晶体结构分析, 二人因此获得 1962 年的诺贝尔化学奖。1965年, J. Monod 提出蛋白质的别构学说。

胰岛素是最小的蛋白质之一。1923年, F. G. Banting 和 J. J. R. Macleod 因为分离提纯出胰岛素获得诺贝尔生理学及医学奖。1953年, F. Sanger 和 S. G. Thompson 完成了胰岛素 A 链及 B 链氨基酸序列的测定; 两年后 Sanger 进一步确定了 A 和 B 两条链间二硫键的位置; 1956年, Sanger 又报道了整个胰岛素分子的氨基酸序列, 这使 Sanger 获得 1958 年的诺贝尔化学奖。1959年, 邹承鲁等完成了胰岛素 A、B 两链的拆合研究, 使胰岛素的生物活性失而复得。1965年, 纽经义、汪猷、季爱雪等历经 7 年完成了牛胰岛素的人工合成, 这是世界上第一例人工合成的有生物活性的蛋白质。

6. 蛋白质功能的解析 继血红蛋白和胰岛素之后, 新的蛋白质不断被发现。1939—1946年, A. Szent-Gyrgy 发现肌动蛋白及肌球蛋白。1986年, R. L. Montalcini 与 S. Cohen 因发现了神经生长因子和表皮生长因子获得诺贝尔生理学及医学奖。1992年, E. H. Fisher 与 E. G. Krebs 发现可逆的蛋白磷酸化作用获得诺贝尔生理学及医学奖。1994年, A. G. Gilman 与 M. Rodbell 因发现了 G 蛋白质以及它们在细胞信号转导中的作用获得诺贝尔生理学及医学奖。1999年, G. Blobel 因发现细胞中蛋白质有其内在的运输和定位信号获得诺贝尔生理学及医学奖。2001年, L. H. Hartwell, R. T. Hunt 和 P. M. Nurse 因发现调节细胞周期的周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)及调节 CDKs 功能的周期蛋白获得诺贝尔生理学及医学奖。2003年, P. Agre 和 R. Mackinnon 因发现真核细胞膜水通道蛋白, 阐述了钾离子通道结构及功能获得诺贝尔化学奖。

7. 蛋白质合成与降解 1952—1954年, P. C. Zamecnik 等发现核糖体是蛋白质合成的部位。1955年, M. B. Hoagland 建立了蛋白质合成的无细胞体系。1959年, K. McQuillin, R. J. Roberts 和 R. J. Britten 等用大肠埃希菌为材料, 再次证明核糖体是蛋白质合成的场所。2009年, V. Ramakrishnan, T. A. Steitz 和 A. Yonath 因解析核糖体结构与功能而获得诺贝尔化学奖。以色列 A. Ciechanover, A. Hershko 和 I. Rose 发现泛素调节的蛋白质降解, 2004 年获诺贝尔化学奖。

8. 蛋白质组学的兴起 1996年, 澳大利亚建立了世界上第一个蛋白质组研究中心(Australia proteome analysis facility, APAF)。2001年 4 月, 在美国成立了国际人类蛋白质组研究组织(human proteome organization, HUPO), 随后欧洲、亚太地区也成立了区域性蛋白质组研究组织, 试图通过合作的方式, 融合各方面的力量, 完成人类蛋白质组计划(human proteome project)。同年, J. C. Venter 也公布了绘制人类蛋白质组图谱的计划。蛋白质组学(proteomics)成为后基因组时代(post-genome era)的研究重点。

二、研究内容

第一部分发展简史可以看出, 生物化学与分子生物学研究内容极为广泛。一般将生物化学与

分子生物学的研究内容概括为静态、动态、机能以及临床生物化学与分子生物学。静态生物化学与分子生物学主要是描述生物体的物质组成、性质及其含量,并对这些组分进行分离、纯化及结构测定;动态生物化学与分子生物学着重阐明各种物质在体内的代谢变化及其调节;机能生物化学与分子生物学重点讨论生物分子的结构与功能,研究基因以及基因组的结构与功能,基因信息的传递、调控及其生物学效应;临床生物化学与分子生物学侧重于人体重要组织器官的代谢特点。

1. 生物体的化学组成 除了水和无机盐之外,活细胞的有机物主要由碳原子与氢、氧、氮、磷、硫等结合组成,分为大分子和小分子两大类。前者包括蛋白质、核酸、多糖和以结合状态存在的脂质;后者有维生素、激素、各种代谢中间物以及合成生物大分子所需的氨基酸、核苷酸、糖、脂肪酸和甘油等。在不同的生物中,还有各种次生代谢物,如萜类、生物碱、毒素、抗生素等。

虽然对生物体组成的鉴定是生物化学发展初期的特点,但直到今天,新物质仍不断在发现。如陆续发现的干扰素、环核苷一磷酸、钙调蛋白、粘连蛋白、外源凝集素等,已成为重要的研究课题。有的简单的分子,如作为代谢调节物的果糖-2,6-二磷酸是1980年才发现的。另一方面,早已熟知的化合物也会发现新的功能,20世纪初发现的肉碱,50年代才知道是一种生长因子,而到60年代又了解到是生物氧化的一种载体。多年来被认为是分解产物的腐胺和尸胺,与精胺、亚精胺等多胺被发现有多种生理功能,如参与核酸和蛋白质合成的调节,对DNA超螺旋起稳定作用以及调节细胞分化等。

2. 新陈代谢与代谢调节控制 新陈代谢由合成代谢和分解代谢组成。前者是生物体从环境中取得物质,转化为体内新的物质的过程,也叫同化作用;后者是生物体内的原有物质转化为环境中的物质,也叫异化作用。同化和异化的过程都由一系列中间步骤组成。中间代谢就是研究其中的化学途径的。如糖原、脂肪和蛋白质的异化是各自通过不同的途径分解成葡萄糖、脂肪酸和氨基酸,然后再氧化生成乙酰辅酶A,进入三羧酸循环,最后生成二氧化碳。

在物质代谢的过程中还伴随有能量的变化。生物体内机械能、化学能、热能以及光、电等能量的相互转化和变化称为能量代谢,此过程中ATP起着中心的作用。

新陈代谢是在生物体的调节控制之下有条不紊地进行的。这种调控有3种途径:①通过代谢物的诱导或阻遏作用控制酶的合成。这是在转录水平的调控,如乳糖诱导乳糖操纵子合成有关的酶。②通过激素与靶细胞的作用,引发一系列生化过程,如环腺苷酸激活的蛋白激酶通过磷酸化反应对糖代谢的调控。③效应物通过别构效应直接影响酶的活性,如终点产物对代谢途径第一个酶的反馈抑制。生物体内绝大多数调节过程是通过别构效应实现的。

3. 生物大分子的结构与功能 生物大分子的多种多样功能与它们特定的结构有密切关系。蛋白质的主要功能有催化、运输和贮存、机械支持、运动、免疫防护、接受和传递信息、调节代谢和基因表达等。由于结构分析技术的进展,使人们能在分子水平上深入研究它们的各种功能。酶的催化原理的研究是这方面突出的例子。蛋白质分子的结构分4个层次,其中二级和三级结构间还可有超二级结构,三、四级结构之间可有结构域。结构域是个较紧密的具有特殊功能的区域,连结各结构域之间的肽链有一定的活动余地,允许各结构域之间有某种程度的相对运动。蛋白质的侧链更是无时无刻不在快速运动之中。蛋白质分子内部的运动性是它们执行各种功能的重要基础。

20世纪80年代初出现的蛋白质工程,通过改变蛋白质的结构基因,获得在指定部位经过改造的蛋白质分子。这一技术不仅为研究蛋白质的结构与功能的关系提供了新的途径,而且也开辟了按一定要求合成具有特定功能的、新的蛋白质的广阔前景。

核酸的结构与功能的研究为阐明基因的本质,了解生物体遗传信息的流动作出了贡献。碱基配对是核酸分子相互作用的主要形式,这是核酸作为信息分子的结构基础。脱氧核糖核酸的双螺旋结构有不同的构象,J. D. Watson和F. H. C. Crick发现的是B-结构的右手螺旋,后来又发现了称为Z-结构的左手螺旋。DNA还有超螺旋结构。这些不同的构象均有其功能上的意义。核糖