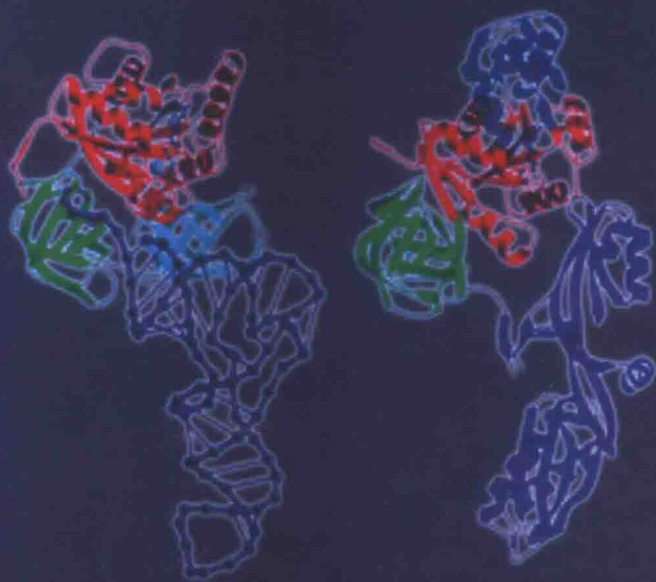


生物超分子体系

李 惟 等编著



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

生物超分子体系

李 惟 等编著

化 学 工 业 出 版 社

现代生物技术与医药科技出版中心

·北 京·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

生物超分子体系/李惟等编著. —北京: 化学工业出版社, 2002.12
ISBN 7-5025-4159-4

I. 生… II. 李… III. 生物结构: 超分子结构
IV. Q71

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2002) 第 089095 号

生物超分子体系

李 惟 等编著

责任编辑: 陈 丽

文字编辑: 焦欣渝 周 侗

责任校对: 陈 静

封面设计: 蒋艳君

*

化 学 工 业 出 版 社 出版发行
现代生物技术与医药科技出版中心
(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

http: //www. cip. com. cn

*

新华书店北京发行所经销

北京管庄永胜印刷厂印刷

三河市宇新装订厂装订

开本 850 毫米×1168 毫米 1/32 印张 8 $\frac{1}{4}$ 字数 219 千字

2003 年 1 月第 1 版 2003 年 1 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-4159-4/Q·46

定 价: 24.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

前 言

近些年来由于生物化学和分子生物学，以及相关生物技术的发展，人们对生物大分子的结构与功能的认识更加深入，特别是某些特定的蛋白质复合体在重大生命事件中的关键作用积累了大量的资料，并逐渐地使人们认识到，这种多组分蛋白质复合体不仅仅是成分和结构复杂，而是作为一部多功能的分子机器运转着细胞中各类生物化学反应过程。毫无疑问，生物超分子体系的结构与功能研究是生命科学中的重要组成部分，具有重大的科学意义，对基于生物超分子结构与功能的解析和模拟而发展起来的生物超分子技术具有诱人的应用前景。

基于对生物超分子这一新兴学科的认识和兴趣，沈家骢教授早在 1995 年就建议并组织了本书的编写工作。但由于当时所掌握的资料有限，以及相关人员工作很忙，难于投入全部精力从事本书的编写，致使本书的撰写直到今日才得以完成。早在 1993 年以日本学者猪饲笃为主编出版了第一部生物超分子体系著作——《生物超分子システム》，该书汇集了与生物超分子体系研究相关的许多领域研究者所撰写的综述，涉及生物超分子概念，各种生物超分子体系，以及研究方法等多方面内容，对从事生命科学，特别是生物超分子体系方面研究工作具有很大参考价值。十年后的今天，与生命科学的其他领域一样，生物超分子的研究取得了很大进展，不仅在生物超分子体系概念——即分子机器的认识上更加明确，在各个超分子体系研究上也发生了很大变化，许多十年前不知晓的结构，今天以完美的 3D-结构展示在我们面前。基于上述，本书在撰写框架结构上借鉴了《生物超分子システム》的写法，即把生物超体系分为生物超分子体系（天然）和超分子工程学（人工超分子体系）两类，但本书在超分子体系的选择上力求典型性，在具体内容的取

材上力求反映最新进展，以便读者能对本书所述生物超分子体系有一个现代的理解和掌握。本书由四个部分组成：第一部分是生物超分子体系及超分子生物学的概括性介绍。第二部分介绍了七个生物超分子体系，其中三个是多酶体系，即丙酮酸脱氢酶体系、蛋白水解酶体系和端粒酶体系、两个膜受体与配体体系以及两个由蛋白质和核酸组成的巨大超分子（即核糖体和基因转录起始阶段形成的超分子体系）。上述七个超分子体系中的五个与本书作者们近些年来所涉足的研究领域有关，因此在这些章节中融入了作者们的部分研究结果。第三部分生物超分子工程一章中我们只选择了两个对象，即蛋白质分子组装和人工酶。该章的内容主要取材于本研究集体近十年的研究结果。本书的最后一部分简单地介绍了与生物超分子组装相关的基础研究——蛋白质分子间的相互作用。

由于作者水平有限，写好这么一部新兴领域的著作是很困难的，难免出现各种各样的错误，希望读者给以指正（liwei@mail.jlu.edu.cn）。

参加编写人员有：罗贵民、周慧、吴永革、王立平、李天羽、李天威、范洪宽、方锐、吴东林。

参加本书编著的各位作者都是在第一线从事研究的科技人员，有的是正在本实验室从事研究的教师，也有一部分已离开本实验室正在国外大学工作的青年学者，在他们承担繁重研究工作的同时，能够为本书的完成作出贡献，在此表示衷心感谢。另外，我们的学生石玉华、单亚明为本书的编写花费了大量的时间，在此一并表示感谢。

李惟

2002. 10

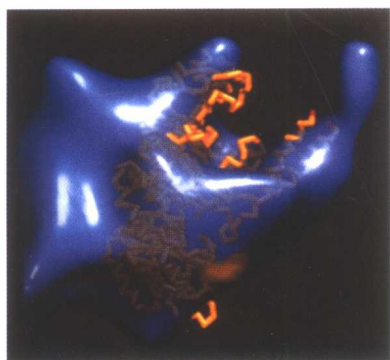


图 2-37

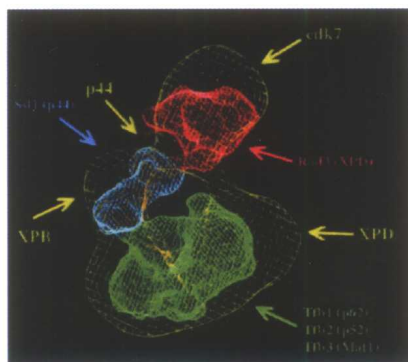


图 2-44

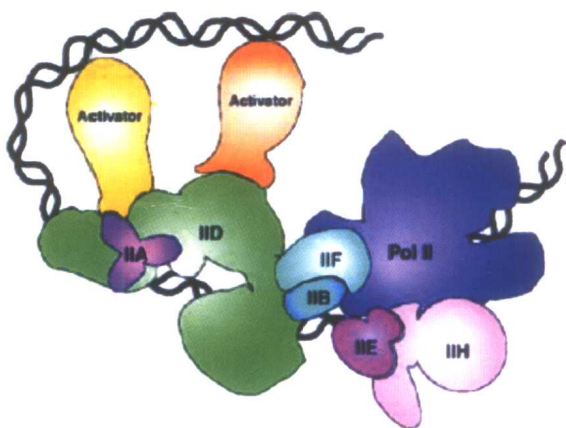


图 2-41

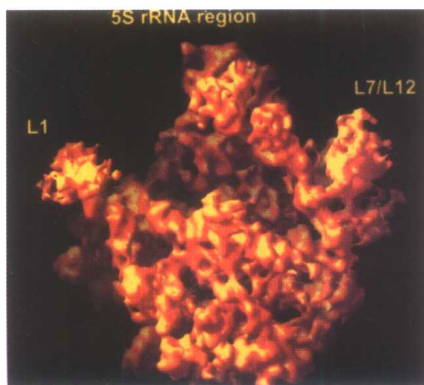
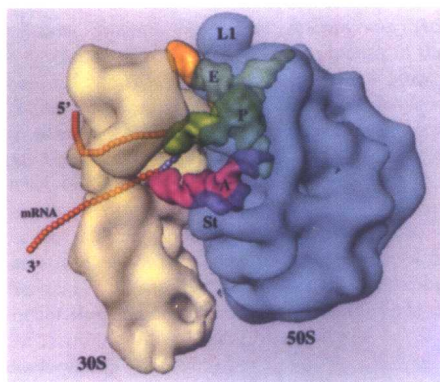


图 2-47

内 容 提 要

生物超分子体系是生物体在若干重大生命事件中运行各类生物化学反应的一种主要结构形式。本书从生物超分子体系,即分子机器的结构与功能出发,比较详细地介绍了七个生物超分子体系和两个人工超分子体系,并在本书的最后一部分介绍了与超分子体系形成相关的蛋白质相互作用的研究方法,蛋白质与肽相互作用的研究状况,以及蛋白质相互作用数据库方面的知识。

本书可供从事生物化学、分子生物学、生物技术等相关专业的科学研究人员、高校教师参考,也适合于综合大学生物化学和分子生物学专业的高年级学生、硕士生和博士研究生阅读。

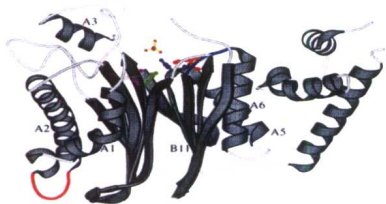
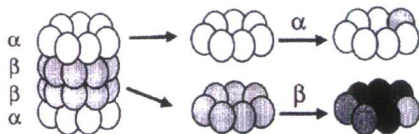


图 2-14



28 个亚基 2 个基因: α 和 β , 14 个基因: 7 个 α 型和 7 个 β 型, 个 14 拷贝 个 24 拷贝

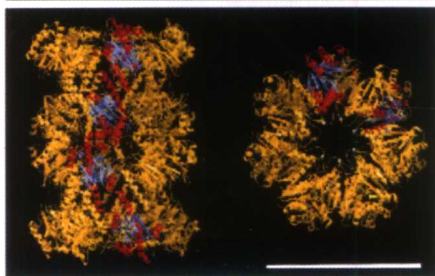
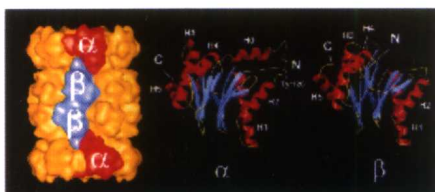


图 2-22

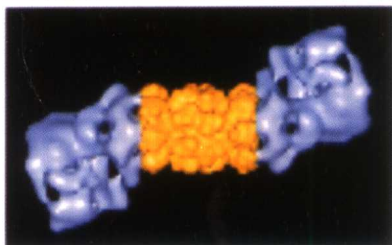
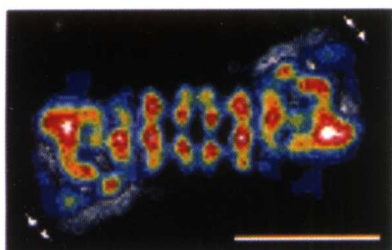


图 2-23

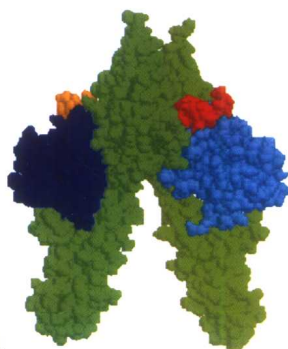
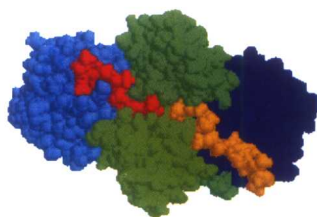


图 2-31

目 录

1 导论	1
1.1 生物超分子与超分子生物学	1
1.2 生物超分子存在及其意义	3
1.2.1 DNA 复制的超分子体系	4
1.2.2 转录起始阶段的超分子体系	5
1.2.3 蛋白质合成体系	5
1.2.4 蛋白质分解超分子体系	5
1.2.5 分子伴侣体系	5
1.2.6 脂肪酸合成超分子体系	6
1.2.7 能量转换体系	6
1.2.8 运动体系：鞭毛马达	6
1.3 生物超分子工程学	7
1.3.1 生物传感器	8
1.3.2 构建人工细胞膜：肽类分子组合的特性解析	8
参考文献	9
2 生物超分子体系	10
2.1 丙酮酸脱氢酶超分子体系	10
2.1.1 丙酮酸脱氢酶超分子体系基本概况	10
2.1.1.1 2-氧(代)酸脱氢酶多酶复合体家族	11
2.1.1.2 丙酮酸脱氢酶多酶复合体的构成	12
2.1.1.3 丙酮酸脱氢酶多酶复合体催化的反应	14
2.1.2 丙酮酸脱氢酶超分子体系中各组分的结构与功能	16
2.1.2.1 E1 的结构与功能	16
2.1.2.2 E2 的结构与功能	22
2.1.2.3 E3 的结构与功能	26
2.1.2.4 PDK 的结构与功能	31
2.1.2.5 PDP 的结构与功能	36

2.1.2.6 E3BP 的结构与功能	38
2.1.3 人丙酮酸脱氢酶多酶复合体的遗传缺陷疾病	40
参考文献	45
2.2 蛋白酶体超分子体系	53
2.2.1 泛肽 (Ub)	55
2.2.2 26S, 20S, 19S 以及 11S 蛋白酶体的结构与功能	58
2.2.3 多泛肽化链形成与脱泛肽化酶 (DUBs)	63
参考文献	66
2.3 成纤维细胞因子受体-配体超分子体系	68
2.3.1 成纤维细胞生长因子受体-配体超分子体系	72
2.3.2 成纤维细胞生长因子与其受体结合模型	77
2.3.3 成纤维细胞生长因子的抑制剂	79
2.3.4 噬菌体展示肽库与 FGF 拮抗剂的筛选	80
参考文献	84
2.4 转录起始阶段的超分子体系	86
2.4.1 转录起始超分子体系的基本概况	86
2.4.2 原核生物基因转录起始体系	86
2.4.2.1 <i>E. Coli</i> RNA 聚合酶	88
2.4.2.2 RNA 聚合酶全酶与启动子的结合	88
2.4.2.3 转录启动要求形成一个开放复合物 (open complex)	90
2.4.2.4 基因表达由不同的 σ 因子控制	90
2.4.3 真核生物基因转录起始体系	91
2.4.3.1 RNA 聚合酶 I 转录体系	91
2.4.3.2 RNA 聚合酶 II 系的转录超分子	94
2.4.3.3 RNA 聚合酶 III 转录系统	102
2.4.3.4 真核生物 RNA 聚合酶 I、II、III 系共性与多样性	105
参考文献	106
2.5 核糖体超分子体系	109
2.5.1 核糖体的结构	109
2.5.1.1 原核生物核糖体的结构	110
2.5.1.2 真核生物核糖体的结构	114
2.5.2 蛋白质翻译过程中的超分子体系	114
2.5.2.1 肽链合成的起始阶段的超分子体系	115

2.5.2.2	肽链合成的延伸阶段的超分子体系	116
2.5.2.3	肽链合成的终止	121
参考文献		122
2.6	G 蛋白超分子体系	124
2.6.1	G 蛋白的结构与功能	126
2.6.1.1	G 蛋白 α 亚基	126
2.6.1.2	G 蛋白 $\beta\gamma$ 亚基	130
2.6.1.3	G 蛋白异源三聚体的形成	134
2.6.2	G 蛋白偶联受体及 G 蛋白的活化	135
2.6.2.1	G 蛋白偶联受体	135
2.6.2.2	G 蛋白偶联受体与 G 蛋白的相互作用	136
2.6.3	G 蛋白信号传递的调节	139
2.6.3.1	RGS 加速终止 G 蛋白信号传递	139
2.6.3.2	对 G 蛋白偶联受体的调控	140
2.6.4	G 蛋白信号传递的选择性与超分子体系	142
参考文献		145
2.7	端粒酶超分子体系	152
2.7.1	端粒酶与端粒复制问题	152
2.7.2	端粒酶的性能	156
2.7.2.1	引物特异性	157
2.7.2.2	端粒酶的持续合成能力	160
2.7.2.3	引物切割	162
2.7.3	端粒酶超分子的组成和功能	163
2.7.3.1	端粒酶 RNA 组分	163
2.7.3.2	端粒酶的催化亚基	169
2.7.3.3	端粒酶其他蛋白组分	173
2.7.4	端粒酶与端粒结合蛋白	175
参考文献		177
3	生物超分子工程	180
3.1	蛋白质的人工组装与分子反应器	180
3.1.1	糖化酶和葡萄糖异构酶双酶共反应器	181
3.1.1.1	调整固定化糖化酶反应最适 pH 值	183
3.1.1.2	固定化葡萄糖异构酶	184

3.1.1.3 双酶分子共反应器的构建	185
3.1.2 分子沉积技术人工组装双酶共固定反应器	186
参考文献	189
3.2 人工酶	190
3.2.1 合成酶	191
3.2.1.1 合成酶的理论基础	191
3.2.1.2 合成酶的分类	193
3.2.1.3 主-客体酶模型	193
3.2.1.4 胶束模拟酶	201
3.2.1.5 肽酶	203
3.2.1.6 半合成酶	204
3.2.2 分子印迹酶	205
3.2.2.1 分子印迹聚合物的制备方法	206
3.2.2.2 生物印迹	207
3.2.2.3 印迹酶实例	208
3.2.2.4 印迹酶的催化效率	212
3.2.3 分子识别模拟酶——模拟谷胱甘肽过氧化物酶	213
3.2.3.1 用抗体模拟 GPX	213
3.2.3.2 用环糊精模拟 GPX	217
3.2.4 人工模拟酶的研究现状及展望	218
参考文献	219
4 蛋白质间相互作用研究	224
4.1 蛋白质间相互作用的研究方法	225
4.1.1 鉴别蛋白质间相互作用一般方法	225
4.1.1.1 亲和层析法	225
4.1.1.2 免疫共沉淀法	225
4.1.2 噬菌体展示肽库	226
4.1.2.1 菌体展示库构建	228
4.1.2.2 亲和筛选	228
4.1.2.3 在遗传包装体上蛋白质的展示和筛选	229
4.1.2.4 展示在丝状噬菌体上的 cDNA 克隆体系	230
4.1.3 酵母双杂交系统	232
4.1.4 BIAcore 技术研究生物大分子间相互作用	236

4.2 蛋白质-蛋白质相互作用关系图	237
4.2.1 确认蛋白质间相互作用	237
4.2.2 结合特异性和能量图	238
4.3 蛋白质和肽的相互作用	239
4.3.1 Fab-肽复合物	243
4.3.2 OppA 蛋白质	244
4.4 蛋白质相互作用数据库	245
4.4.1 DIP	246
4.4.2 BIND	246
4.4.3 MIPS	247
4.4.4 PROTEOME	247
4.4.5 PRONET	247
4.4.6 CURAGEN	247
4.4.7 PIM	247
参考文献	247

1 导 论

1.1 生物超分子与超分子生物学

生物体是由数十万种蛋白质，核酸，脂质和糖类组成。其中蛋白质被称为功能大分子，即生物体的功能是由蛋白质的活动实现的。核酸主司生物体的遗传，因此也被称为遗传大分子。生物体的大分子也包括脂类和糖类，此外还有各种小分子、离子等。多成分的协同作用使细胞成为一个有功能的活细胞。在细胞中除细胞质外，还有一些小的细胞器，如细胞核、线粒体等。蛋白质和核酸等物质存在于细胞质和各种细胞器中。这些组分是细胞中的基本功能单位。在此基础上还有一个功能组织形式，即超分子体系。超分子体系是由多数个蛋白质，或蛋白质与其他生物大分子，如核酸、糖和脂类所构成的复合体，并表现出超出单独大分子各自功能以上的新功能。

生物超分子体系与生物大分子相比较在功能上具有如下优越性。①反应的效率化。由单功能组件集成化形成超分子体系的首要意义在于提高了反应的效率，即反应的方向性（质）和反应速度（量）调节效率的提高。如三羧酸循环代谢途径是由一系列酶组成的超分子体系，该酶体系在催化反应中，其中间产物不需扩散传输，而是直接在复合体内以高浓度进入下一个反应。此外，许多超分子体系内其组织形式确保了各成分按最终的目的有序配置，从而提高反应效率。②由单功能组件生物大分子集成化形成的超分子的另一优越性是体系化的特征。通过分子间的集合，一个信号可向多方向传递（或通过产生的小分子媒介物）。此外，通过体系内生物大分子单功能组件的组的变化可实现信号正负的转换，信号的增幅和加速，以及通过体系内各组分间的相互作用产生信号阻断等功

能。G 蛋白介导的信息传递以及蛋白质激酶的级联反应充分体现了体系化的特征。③反馈调控机制。这是一个动态体系为完成目的不可缺少的功能。酶的负反馈调节是一个很好的例子，当输出产物浓度低时，限速酶活性上升；情况相反时，酶活性下降，把产物水平调节到细胞需要的浓度。④获得多样性功能。形成超分子体系可以产生单个功能组件所不具备的新的功能。换句话说，单功能的生物大分子通过组装集成化获得功能的多样性，如在酶催化反应中，多酶体系由于某些因子通过协同反应作用可增大该酶对底物的亲和性。⑤高层次的识别反应性。集成化组装可产生更高层次的识别能力，如基因转录体系中各种转录因子之间，与特定碱基序列间的识别，以及在免疫超分子体系中产生的自我和非我的高层次的识别。此外，众所周知，在细胞社会中位于细胞表面的受体分子与胞内的特异分子构成超分子体系。通过该体系信息可以顺畅，及时并准确地传递到核，这是典型的高层次识别活动。

在这里值得提出的是生物超分子体系与生物大分子复合体两者在概念上的差别。毫无疑问，生物超分子体系本身都是大分子复合体，但更重要的是强调了在各个重要生命事件中，它们呈现出的分子机器 (machine) 的特征，而生物大分子复合体仅是结构上的概念，复合体未必具有分子机器的功能。

生物超分子体系由于其存在的状态不同大体可分为三类。①紧密非共价组合型，即在细胞溶液的通常条件下，复合体结构稳定，在一般生物化学精制条件下可不被破坏地分离出来。如动物型脂肪酸合成酶体系，蛋白质分解的 26S 蛋白酶体系等。②离散型体系，即经过抽提精制后得不到完整的超分子集合体，但有充分理由推断这些组分在细胞内是以超分子复合体形式存在。如细菌和植物的脂肪酸合成酶体系，脂肪酸的 β -氧化体系，以及许多生物的糖酵解多酶复合体等。③膜结合型超分子体系，该类型的超分子是非水体系，通常以紧密复合体型和离散型两种形式存在。线粒体的电子传递体，ATP 合成酶体系，以及 T 细胞抗原受体体系等都属于前一种类型；而柠檬酸循环等属于后一种类型。

生命科学的大部分研究内容不仅具有理解生命本质和活动规律的基础科学意义，也都具有明确的应用可能性。生物超分子体系也不例外，经过设计和合成，使单功能的分子集成化形成新的分子复合体。该复合体具有人工设计的新的功能，如在反应效率上、选择性上的提高，特异的分子识别能力，信息传递，以及新的调节功能等方面呈现出人工设计的性能。上述设计和构建技术被称为超分子工程学。如利用分子识别功能发展了生物传感器技术，利用生物芯片及比生物芯片更高层次的组装发展生物计算机。另外，微型机械、人工细胞、人工脏器以及人工生命等都是超分子工程学的研究内容。

由于超分子科学的发展，近些年来超分子生物学（supramolecular biology）这门学科已经问世。但关于这门学科的含义，以及主要研究内容尚未达到普及程度，甚至还有一部分人认为生物大分子就很大了，生物超分子不外乎是更大的分子复合体，按这种认识，超分子生物学也就失去了学科的意义。正如分子生物学一样，在最初阶段相当一部分学者认为分子生物学和生物化学没有什么明显不同，不必再单独确立一个新的学科。但随着科学的发展和普及，分子生物学这门科学不仅得以确立而且普及到众所周知的程度。超分子生物学是以非共价键组合生物大分子而成的分子机器，它不仅在对研究对象上与生物化学、分子生物学有所不同，更重要的是强调了生物超分子这一结构层次在生命中的重要地位，即在一系列的重大生命事件中生物超分子这种组合在起关键作用。

1.2 生物超分子存在及其意义

如图 1-1 所示，细胞内存在着一系列重要的生命活动，如基因复制、基因转录和 RNA 的合成、蛋白质的合成、蛋白质分解、脂肪酸合成、脂肪酸分解、电子传递等，几乎所有的重大生命活动中都会发现生物超分子体系在各个过程中的关键作用。生物体正是利用这一生物活性物质的组织形式——生物超分子体系——与细胞内各种物质的协同作用，高效而且可控地完成细胞内的生命活动。

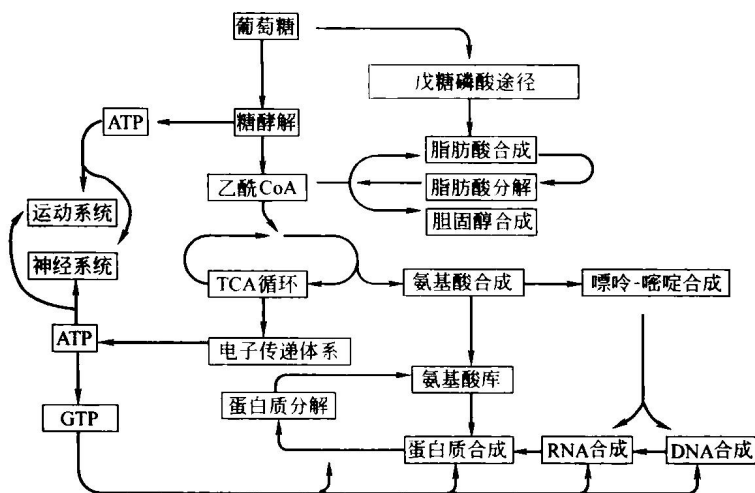


图 1-1 细胞内的生物化学过程略图

1.2.1 DNA 复制的超分子体系

DNA 复制是一个比较复杂的过程，其中有多多个生物超分子参与，但 DNA 复制酶Ⅲ（DNA polymerase Ⅲ）合成新的 DNA 链是最基本的过程。该酶是一个多亚基组成的超分子。其中核心酶是由

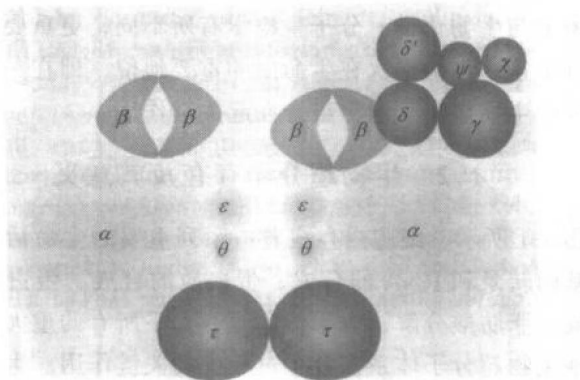


图 1-2 DNA 合成酶Ⅲ全酶 900kD
超分子结构组成示意 (Benjamin Lewin1997)