

医学分子生物学

—— 研究生教学用书

刘秉文 陈俊杰 主编

中国协和医科大学出版社

· 研究生教学用书 ·

医学分子生物学

主 编 刘秉文 陈俊杰
副主编 张祖辉

中国协和医科大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

医学分子生物学/刘秉文, 陈俊杰著. - 北京: 中国协和医科大学出版社,
2000. 10

研究生教学用书. 教育部研究生工作办公室推荐用书

ISBN 7-81072-155-0

I. 医… II. ①刘…②陈… III. 人体-分子生物学-研究生-教材
IV. Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2000) 第 48385 号

医学分子生物学——研究生教学用书

主 编: 刘秉文 陈俊杰

责任编辑: 谢 阳

出版发行: 中国协和医科大学出版社

(北京东单二条九号 邮编 100730 电话 65228583)

经 销: 新华书店总店北京发行所

印 刷: 北京丽源印刷厂

开 本: 787×1092 毫米 1/18 开

印 张: 33 $\frac{12}{18}$

字 数: 675 千字

版 次: 2000 年 11 月第一版 2000 年 11 月第一次印刷

印 数: 1—5 000

定 价: 58.00 元

ISBN 7-81072-155-0/R·150

(凡购本书, 如有缺页、倒页、脱页及其他质量问题, 由本社发行部调换)

编 者(按编写章节顺序)

吴兆峰 (华西医科大学)

李 洪 (泸州医学院)

吴兆丰 (华西医科大学)

蒋晓秋 (重庆医科大学)

鄢佳程 (川北医学院)

江 渝 (第三军医大学)

刘秉文 (华西医科大学)

曾昭淳 (重庆医科大学)

李 忌 (华西医科大学)

乔中东 (山西医科大学)

陈建业 (华西医科大学)

陈俊杰 (华西医科大学)

游乐然 (华西医科大学)

江 宁 (昆明医学院)

李玛琳 (昆明医学院)

刘先俊 (重庆医科大学)

章 扬 (华西医科大学)

刘柏林 (华西医科大学)

屈 艺 (华西医科大学)

徐燕华 (华西医科大学)

傅明德 (华西医科大学)

白 怀 (华西医科大学)

方定志 (华西医科大学)

前 言

分子生物学是生命科学的带头学科，近 30 年来发展极为迅速，已渗透到包括医学在内的生命科学的各个领域，带动了各基础科学的全面发展。蛋白质工程、酶工程、基因工程、细胞组织工程以及转基因、基因治疗、生物芯片等一大批新兴学科与技术的相继出现，不仅为临床医学诊断和防治危害人类健康的疾病，如肿瘤、心血管疾病、遗传病、脑病等开辟了广阔的应用前景，也对工农业产生了深远的影响。

为适应医学发展及培养高素质人才的需要，华西医科大学生物化学教研室自 1982 年以来开始为全校博士和硕士研究生开设了分子生物学有关理论与实验技术的课程，受到历届研究生的欢迎，对本地区分子生物学学科的发展和技术的推广普及发挥了积极作用。本书是在原内部教材基础上，由华西医科大学有多年教学经验的教授及科研人员为主，邀请了重庆医科大学、第三军医大学、山西医科大学、昆明医学院、泸州医学院、川北医学院的同行共同编写，参与编写的人员均长期从事分子生物学教学和科研，具有丰富的教学经验及较高的研究水平。

本教材主要介绍医学分子生物学的基本理论，基本技术原理及其在医学中的应用。全书共三篇十七章，力求反映现代医学分子生物学研究的基础理论与实验技术新进展，尽力避免与本科教材的重复，并尽可能保持各编者写作风格和学术观点。本书不仅可作为高等医药院校研究生教材，亦可供七年制学生选读及普通高等院校相关专业的研究生、青年教师、临床医师、科研人员自学参考。

本书编写过程中得到华西医科大学及有关院校领导的积极支持，华西医科大学生物化学教研室、尤其是傅强博士对部分章节的校改等做了大量工作，医学分子生物学开放实验室的同志也给予了积极支持，我们对此表示衷心感谢。

由于时间仓促，本学科发展很快，我们的知识水平有限，书中难免有不当及错误之处，敬请专家与读者批评指正，以便第二版修正。

刘秉文 陈俊杰

2000 年 6 月 成都

目 录

第一篇 蛋 白 质

第一章 蛋白质的结构和功能	(1)
第一节 组成蛋白质的氨基酸.....	(1)
第二节 蛋白质的一级结构.....	(4)
第三节 蛋白质的二级结构.....	(5)
第四节 蛋白质超二级结构和结构域.....	(12)
第五节 球状蛋白质的三级结构.....	(22)
第六节 蛋白质的四级结构.....	(25)
第七节 蛋白质的结构与功能.....	(28)
第八节 蛋白质分子运动.....	(34)
第二章 糖蛋白、蛋白聚糖及脂蛋白	(37)
第一节 糖蛋白.....	(37)
第二节 蛋白聚糖.....	(50)
第三节 脂蛋白.....	(59)
第三章 细胞外基质蛋白	(80)
第一节 胶原.....	(80)
第二节 细胞粘附分子.....	(88)
第四章 蛋白质的转运、加工与修饰	(101)
第一节 膜蛋白、分泌蛋白和溶酶体蛋白的转运及定位.....	(101)
第二节 细胞固有蛋白的分拣与运输.....	(105)
第三节 蛋白质前体的共价修饰, 折叠及聚合.....	(107)

第二篇 细 胞

第五章 生物膜	(117)
第一节 生物膜的组成与结构.....	(117)
第二节 膜蛋白及膜脂的生物合成与转换.....	(130)
第三节 生物膜与物质转运.....	(134)

第四节 生物膜的制备与鉴定·····	(148)
第六章 细胞信号传递·····	(154)
第一节 概述·····	(154)
第二节 受体-细胞识别与结合信息分子的蛋白质·····	(157)
第三节 G 蛋白·····	(162)
第四节 cAMP 信号系统·····	(170)
第五节 cGMP 信号系统·····	(179)
第六节 IP ₃ 、DG 信号系统·····	(182)
第七节 Ca ²⁺ 信号系统·····	(188)
第八节 受体酪氨酸蛋白激酶信号传递·····	(193)
第九节 胰岛素受体信号传递·····	(202)
第十节 细胞因子受体的信号传递·····	(208)
第十一节 类固醇激素受体信号传递·····	(212)
第十二节 小结·····	(218)
第七章 细胞周期·····	(221)
第一节 概述·····	(221)
第二节 细胞周期调控·····	(224)
第三节 细胞周期与肿瘤·····	(233)
第八章 细胞凋亡·····	(238)
第一节 概述·····	(238)
第二节 细胞凋亡的基因调控·····	(242)
第三节 细胞凋亡与疾病·····	(251)

第三篇 基 因

第九章 染色质与基因组·····	(261)
第一节 染色质与染色体·····	(262)
第二节 基因与基因组·····	(274)
第三节 基因组学·····	(289)
第十章 基因表达调控·····	(298)
第一节 概述·····	(298)
第二节 染色质结构与基因表达·····	(301)
第三节 染色质化学修饰与基因表达·····	(308)
第四节 顺式作用元件·····	(315)
第五节 反式作用因子·····	(322)

第六节	DNA 与蛋白质相互作用的结构特征	(330)
第七节	原核基因的转录调控	(341)
第八节	真核基因的转录调控	(351)
第十一章	基因克隆	(365)
第一节	基因克隆中常用的工具酶	(365)
第二节	基因克隆中常用的载体	(375)
第三节	基因克隆的基本程序	(402)
第十二章	基因突变	(416)
第一节	基因突变的基本概念	(416)
第二节	基因突变的分类	(417)
第三节	基因突变的后果	(423)
第四节	定点突变技术	(427)
第五节	基因突变的检测方法	(437)
第十三章	分子免疫学	(448)
第一节	免疫球蛋白及其基因	(448)
第二节	T 细胞抗原受体及其基因	(454)
第三节	主要组织相容性复合物及其基因	(458)
第四节	几种与免疫相关的细胞因子及其基因	(464)
第五节	DNA 免疫简介	(470)
第十四章	肿瘤相关基因	(472)
第一节	癌基因与原癌基因	(472)
第二节	抑癌基因	(487)
第十五章	基因诊断	(500)
第一节	基因诊断的基本概念	(500)
第二节	基因诊断的基本技术	(501)
第三节	基因诊断的应用	(503)
第十六章	基因治疗	(533)
第一节	基因治疗的概念及方式	(533)
第二节	基因治疗的程序	(533)
第三节	基因治疗的策略和方法	(542)
第四节	基因治疗的应用实例	(543)
第五节	基因治疗的现状和前景	(548)
第十七章	分子生物学常用技术	(555)
第一节	凝胶电泳	(555)

4 医学分子生物学

第二节	分子杂交.....	(561)
第三节	聚合酶链反应 (PCR) 技术	(565)
第四节	DNA 的物理图谱	(581)
第五节	DNA 序列测定	(584)
第六节	其他.....	(589)

第一篇 蛋白质

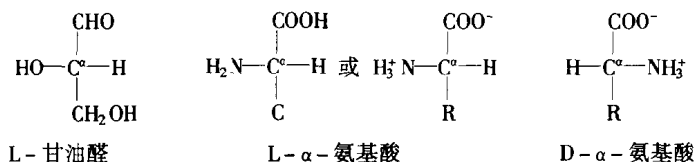
第一章 蛋白质的结构和功能

蛋白质是细胞组分中含量最丰富、功能最多的生物大分子，占人体干重的 45%。一个细胞可能含 10 万种蛋白质，每种蛋白质发挥不同的功能。各种蛋白质功能的多样性是由其复杂的分子结构决定的，所以只有在深入了解蛋白质结构的基础上才能真正了解蛋白质的功能。

第一节 组成蛋白质的氨基酸

蛋白质由氨基酸组成。自然界的氨基酸有 300 余种，但从现已分析的生物体内蛋白质发现，由基因编码的仅有 20 种 L- α -氨基酸。这些氨基酸结构的共同特征是：①与羧基相邻的 α 碳原子 (C^α) 上都有氨基（脯氨酸例外是亚氨基），故称为 α -氨基酸。在中性水溶液中氨基和羧基都可解离而成两性离子；②与 C^α 连接的四个原子或基团是不同的，故 C^α 是不对称（手性）碳原子（甘氨酸除外）。 α -氨基酸有 L- 和 D- 两种构型（configuration）* 的立体异构体。以 L-甘油醛的构型为参考， α 氨基在右侧者为 D-构型，在左侧者为 L-构型。两种构型互为对映体，一种构型必须有共价键断裂才能形成另一种构型。组成蛋白质的 α -氨基酸多是 L-构型。D-型氨基酸只存在于某些抗生素和植物个别的生物碱中。

* L-型和 D-型的旋光角度相同而方向相反，但 L-型和 D-型与旋光方向无直接关系，L 型氨基酸可是左旋，也可是右旋。



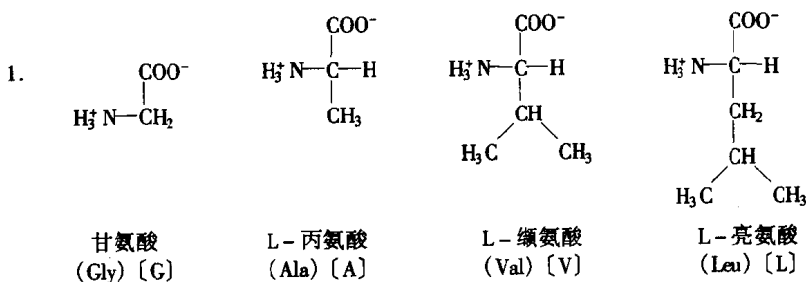
20 种 L- α -氨基酸的 R 侧链不同, 可以是长短不同的脂肪烃或芳香烃的疏水性侧链, 也可是带有不同极性的基团。20 种 L- α -氨基酸可分为非极性疏水氨基酸、不解离的极性氨基酸和解离的极性氨基酸三类*。

1. 非极性疏水氨基酸 这 7 种氨基酸的 R 侧链是脂肪烃或芳香烃, 烃链越长疏水性越大。Kyte 和 Doolittle 根据氨基酸在有机溶剂和水中的分配系数及氨基酸在蛋白质结构中的分布, 总结其疏水由强到弱的顺序是 IVLFC-MAGTSWYPH (ENQD) KR。疏水氨基酸常因相互疏水作用而处于球状蛋白内部或生物膜的跨膜双脂层中。

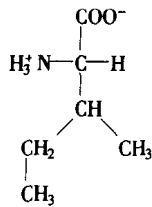
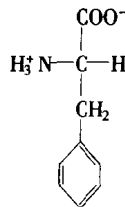
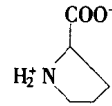
2. 不解离的极性氨基酸 这 8 种氨基酸的 R 侧链是带有极性的羟基、巯基和酰胺基团, 故有亲水性, 但不解离。

3. 解离的极性氨基酸 D 和 E 的 R 侧链有羧基, 可解离而带负电荷, 又称为酸性氨基酸; K 的 ϵ 氨基、R 的胍基和 H 的咪唑基都可解离而带正电荷, 又称为碱性氨基酸。在蛋白质分子内带正电荷的碱性氨基酸残基常与带负电荷的酸性氨基酸的残基形成盐键。这 5 种极性强的氨基酸常出现在蛋白质分子的表面, 与环境中水分子形成氢键。

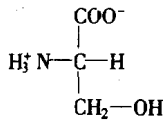
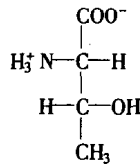
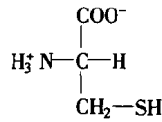
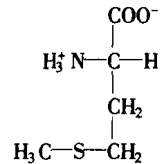
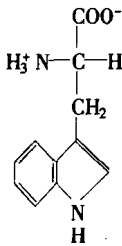
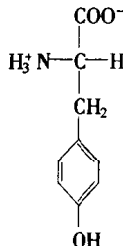
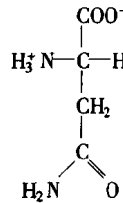
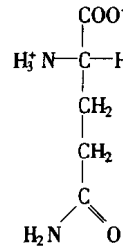
编码氨基酸的简写、代号和结构式



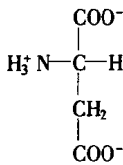
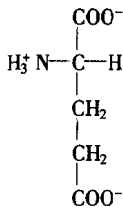
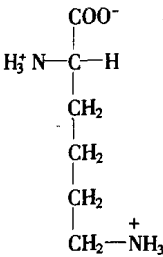
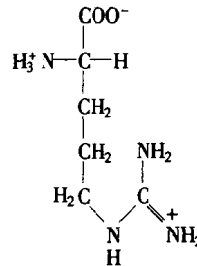
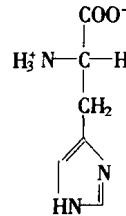
* 这种分类的优点是: 如在蛋白质的序列比较时, 碱性的 K 取代 R, 酸性的 E 换成 D, 小而疏水的 G 变成 A, 均属于保守性取代, 对蛋白质的空间结构和功能没有大的影响。

L-异亮氨酸
(Ile) [I]L-苯丙氨酸
(Phe) [F]L-脯氨酸
(Pro) [P]

2.

L-丝氨酸
(Ser) [S]L-苏氨酸
(Thr) [T]L-半胱氨酸
(Cys) [C]L-甲硫氨酸
(Met) [M]L-色氨酸
(Trp) [W]L-酪氨酸
(Tyr) [Y]L-天冬酰胺
(Asn) [N]L-谷氨酰胺
(Gln) [Q]

3.

L-天冬氨酸
(Asp) [D]L-谷氨酸
(Glu) [E]L-赖氨酸
(Lys) [K]L-精氨酸
(Arg) [R]L-组氨酸
(His) [H]

以上 20 种由基因编码的氨基酸称为编码氨基酸。在蛋白质分子中还有非编码氨基酸，是在蛋白质生物合成后经乙酰化、磷酸化、羟化或甲基化等修饰形成的。如广泛存在于蛋白质中的丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸的磷酸化，在细胞信号传递系统中起重要作用；胶原中的羟脯氨酸和羟赖氨酸；钙调素

中的三甲基赖氨酸；凝血酶原中谷氨酸的 γ -羧化；某些蛋白质 N-端氨基酸的乙酰化或 C-端氨基酸的酰胺化；更多的蛋白质中氨基酸的糖基化或脂质化，使其亲水或疏水性增大。

第二节 蛋白质的一级结构

蛋白质分子结构有一、二、三和四级结构层次。二、三和四级结构都是组成氨基酸中单链旋转时，使分子中原子和基团的空间排布不同而形成的，称为构象 (conformation)、空间结构或三维结构 (three-dimensional structure)。这种空间排布的变化，仅涉及氢键、疏水键等次级键的变化，不须共价键的变换。与前述构型的概念不同，构型的改变必须有原共价键断裂和新共价键的生成，而构象的改变不涉及共价键的改变。构象决定各种蛋白质的生物活性。

随着蛋白质分子结构和功能的深入研究，近年来还提出介于二级和三级结构之间的超二级结构和结构域二个层次。较小的蛋白质没有超二级结构或结构域，也不聚集成四级结构。

一级结构 (primary structure) 指以肽键连接的多肽中氨基酸的排列顺序，是决定空间结构的基础，故又称基本结构。

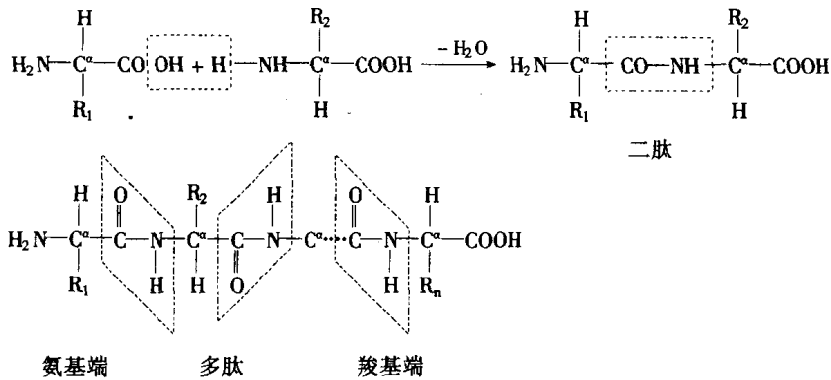
一个蛋白质分子是由一条或多条多肽链组成的。每条多肽链是由其组成的氨基酸，按一定顺序以肽键首尾相连而成。

一个氨基酸的羧基与另一个氨基酸的氨基脱水生成肽键而连接成二肽，二肽还有自由的氨基和羧基，还可与其他氨基酸形成三肽、四肽……以

致多肽。肽链骨架是由 $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{N}- \\ | \\ \text{H} \end{array}$ 的重复肽单位 (peptide unit) 排列而成，

称为主链骨架。

组成多肽的氨基酸，由于参加肽键的形成而不再是完整的分子，故称为氨基酸残基 (residue)。多肽链的第一个和最后一个氨基酸残基和其他残基不同，分别有一个游离的氨基和羧基，称为氨基末端 (amino terminal, 简称 N-末端) 和羧基末端 (carboxyl terminal, 简称 C-末端)。氨基酸序列是从 N-末端氨基酸残基开始，顺序至 C-末端氨基酸残基为止。



迄今发现的多肽链一般含 300 ~ 500 个氨基酸残基。组成的氨基酸有 20 种，故由几个残基组成多肽链就可能有 20^n 种序列。这也说明为什么千万种不同序列的蛋白质能够担负各种似乎无穷无尽不同的生物学功能。

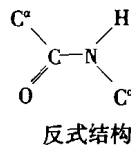
第一个氨基酸序列是 Sanger 用了 8 年时间，于 1953 年测出由 51 个氨基酸残基组成的胰岛素。70 年代起氨基酸自动分析仪，cDNA 克隆技术等的应用，加快了蛋白质一级结构测定步伐。目前大多数蛋白质的氨基酸序列是从它的基因 cDNA 克隆核苷酸序列推导而来，因为基因克隆和测序比蛋白质容易，迄今约有 20 万个序列储存于蛋白质序列库 (protein sequence database) 中。

第三节 蛋白质的二级结构

蛋白质的二级结构 (secondary structure) 是指多肽链主链骨架上局部肽段形成的有规则或无规则的构象，包括有规则的 α -螺旋和 β -折叠、部分有规则的 β -转角和 Ω 环，以及无序结构。这些不同构象主要是由于多肽链中 C^α 的二面角不同引起的。

一、肽平面和二面角

1. 肽平面 肽键 C 与 N 间的键长为 0.132nm，比正常 C-N 单键的键长 0.147nm 短，比 C=N 双键的键长 (0.127nm) 长，故肽键带有部分双键性质而不能自由旋转。这样 C、N 原子同它们连接的 O、H 原子和两个 C^α 共六个原子被约束在一平面上，称为肽平面。在肽平面内，两个 C^α 常为反式构型。若为顺式构型，则两个 C^α 连接的两个 R 侧链间会



发生空间位阻。

只有当脯氨酸的亚氨基 ($-\text{NH}$) 和其他氨基酸羧基生成肽键时可为顺式构型。因为 NH 在刚性的吡咯环内, 在反式构型时吡咯环反而要和氨基酸的 R 侧链有空间位阻。

2. 二面角 (dihedral angle) C^α 处在两个肽平面的交界处 (图 1-1), 如 C_2^α 的两个单键 (图 1-1 中 $\text{N}_1 - \text{C}_2^\alpha$ 和 $\text{C}_2^\alpha - \text{C}_2$) 可围绕键旋转。其中 $\text{N}_1 - \text{C}_2^\alpha$ 单键的旋转角度用希腊字母 ϕ (phi) 表示, $\text{C}_2^\alpha - \text{C}_2$ 单键的旋转角度用 φ (psi) 表示。这二个角决定两个相邻肽平面的空间相对位置 (即构象), 故称为二面角或构象角 (conformational angle)。

二面角为 0° 的规定 (图 1-2): 当 ϕ 的旋转键 ($\text{N}_1 - \text{C}_2^\alpha$) 两侧的 $\text{N}_1 - \text{C}_1$ 与 $\text{C}_2^\alpha - \text{C}_2$ 为顺式时 $\phi = 0^\circ$; 当 φ 的旋转键 ($\text{C}_2^\alpha - \text{C}_2$) 两侧的 $\text{C}_2^\alpha - \text{N}_1$ 与

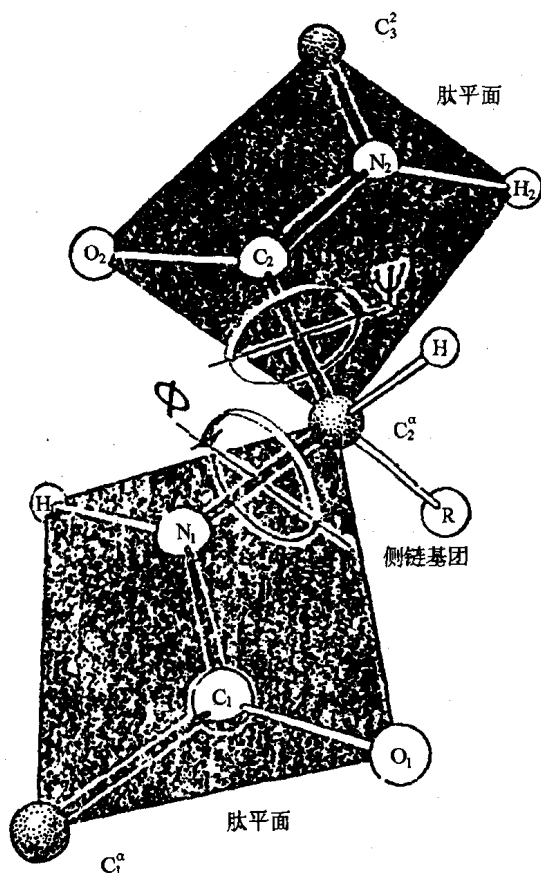


图 1-1 $\phi = +180^\circ$ 、 $\varphi = +180^\circ$ 时完全伸展的构象

$C_2 - N_2$ 为顺式时 $\varphi = 0^\circ$ 。

二面角的正负 (图 1-2): 从 C_2^α 上看, $N_1 - C_2^\alpha$ 单键的旋转角 ϕ 和 $C_2^\alpha - C_2$ 单键的旋转角 φ , 沿顺时针旋转的用 “+” 表示; 沿逆时针旋转的用 “-” 表示。

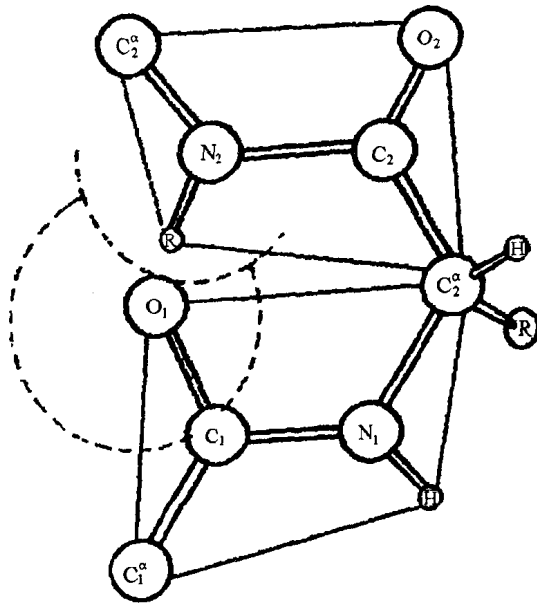


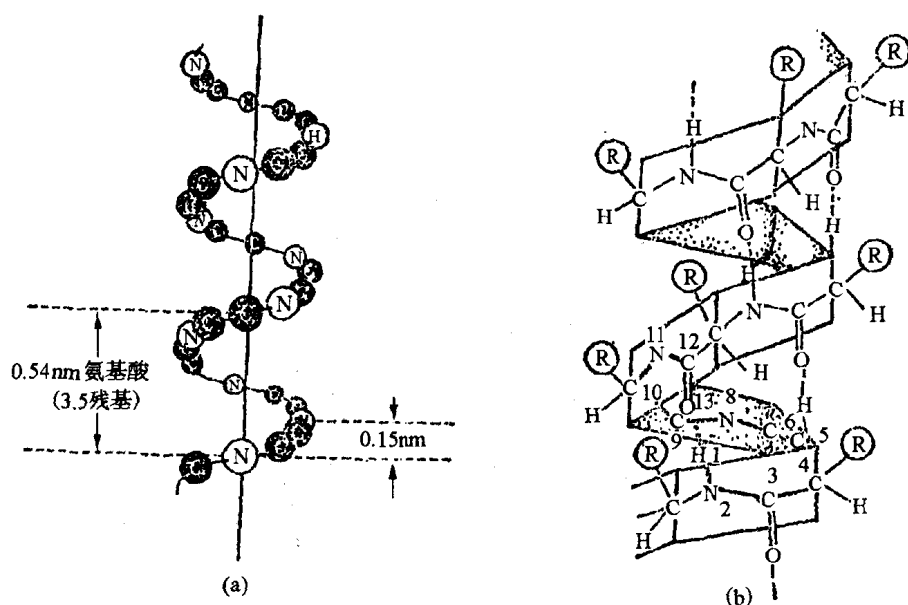
图 1-2 $\phi = 0^\circ$ 、 $\varphi = 0^\circ$ 的构象

由于相邻肽平面羰基 O1 原子与亚氨基 H_2 原子电子云重叠, 这种构象不可能存在。

二面角受 R 侧链的结构、性质和肽链中 O 和 H 原子等空间位阻影响 (详后)。

二、 α -螺旋 (α -helix)

这种结构首先在 α -角蛋白中发现, 故名。多肽链主链骨架围绕中心轴一圈一圈地螺旋上升, 特点是: ① $\phi = -57^\circ$, $\varphi = -47^\circ$ 。每个氨基酸残基沿螺旋中心轴旋转 110° 而向上平移 0.15nm ; ② 螺旋每上升一圈向上平移 0.54nm (即螺距), 故每圈螺旋包括 3.6 个氨基酸残基; ③ 相邻螺旋间形成链内氢键, 即每个肽平面的亚氨基 ($-NH$) 的 H 原子与前方第三个肽平面上羰基 ($C=O$) 的 O 原子形成氢键。氢键的取向与螺旋中心轴几乎平行, ($NH \cdots O$) 三原子在一直线上。肽链中所有 $-NH$ 和 $C=O$ 都按此方式形成链内氢键, 是维持 α -螺旋的主要力量。R 侧链位于螺旋外侧 (图 1-3)。

图 1-3 α -螺旋示意图

(a) 主链原子; (b) 肽平面。

主链骨架旋转方向不同, 可把 α -螺旋分为 α -右手螺旋和 α -左手螺旋。在左手螺旋中, L-型氨基酸残基 R 侧链的 C^{β} 原子, 过分接近主链上羰基的 O 原子, 故不稳定。仅在嗜热菌蛋白酶的 $D^{226}NGG^{229}$ 序列中形成。 α -右手螺旋的这种空间位阻较小, 故在蛋白质中普遍存在。

从图 1-3 还可看出, 氢键所封闭的环内共有 13 个原子, 涉及 3.6 个氨基酸残基, 故可用 3.6_{13} 螺旋表示。蛋白质分子中还有不典型的 3_{10} -螺旋、 4.4_{16} -螺旋 (π -螺旋) 等偶尔在 α -螺旋片段的末端存在, 其有关参数见表 1-1。

表 1-1 α -螺旋结构的有关参数

螺旋名称	氢键环内 原子数	每个螺旋 残基数	ϕ	ψ	残基高度 (nm)	螺距 (nm)	螺旋半径 (nm)
α -右手螺旋	13	3.6	-57°	-47°	0.15	0.54	2.3
3_{10} -螺旋	10	3.0	-49°	-26°	0.20	0.60	1.9
4.4_{16} -螺旋	16	4.4	-57°	-70°	0.12	0.51	2.8