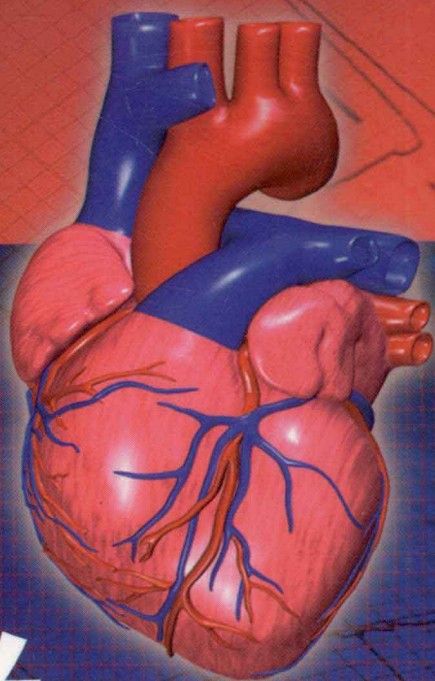
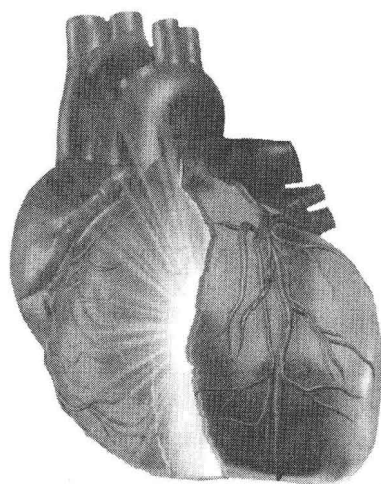


现代分子 心血管病学



主 编	康维强	宋达琳
	葛志明	
副主编	俞冬熠	季晓平
	张 梅	管 军

现代分子 心血管病学



主 编 康维强 宋达琳 葛志明
副主编 俞冬熠 季晓平 张 梅 管 军

编写人员

康维强 (青岛市市立医院)
宋达琳 (青岛市市立医院)
葛志明 (山东大学齐鲁医院)
蔡湘丽 (青岛市市立医院)
任国瑞 (青岛市市立医院)
郭新贵 (复旦大学华东医院)

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

现代分子心血管病学/康维强等主编. —北京: 人民卫生出版社, 2011. 6

ISBN 978-7-117-14216-8

I. ①现… II. ①康… III. ①心脏血管疾病-分子生物学-研究 IV. ①R54

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 047342 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!

现代分子心血管病学

主 编: 康维强 宋达琳 葛志明

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: 三河市宏达印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 889×1194 1/16 印张: 32

字 数: 991 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 978-7-117-14216-8/R · 14217

定 价: 116.00 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)

20 世纪医学成功之处当属心血管疾病诊疗技术的显著进步,但临床心脏科医生和 researchers 们并没有浅尝辄止。目前心脏病仍是发达国家致死的首因,新的治疗策略也带来了新的难题,它们犹如珠穆朗玛峰挑战着人类耐力和智慧的极限。

随着新世纪的到来,人们似乎迎来了分子心血管医学的黄金时代。1990 年有学者提出:“心血管生理和病理最本质、最核心的问题就是基因及其调控问题”。迄今,分子心血管病学被认为泛指心血管生理和心血管疾病的分子及细胞方面的内容;用涵盖了应用分子生物学的理论、技术和方法研究心血管的结构、功能及调节规律,探讨心血管疾病的发生机制,并寻求新的诊断治疗方法。

纵观循环医学和分子生物科学发展历程,确切地讲,分子心血管病学并不能称为两者的孩子。循环医学的开端更早,其中标志性的发现是 1553 年西班牙医生塞尔维特(Miguel Servet)的血液在心肺之间进行的小循环理论,以及最终在 1628 年由英国医生威廉·哈维(Harvey William)在划时代著作《心血循环运动论》(原文名称《关于动物心脏与血液运动的解剖研究》)中提出的血液大循环理论。在此之前,心脏的作用和血液如何在体内运动是无法被理解的,因为向权威挑战,先驱塞尔维特被当做“异教徒”活活烧死,而哈维因为是英国国王查理一世的宠爱御医,才没有付出生命的代价。哈维凭借秘密的、肉眼观察下的动物实验确定了心脏的“泵”功能和循环的过程。这场惊心动魄的研究最终被显微镜观察证实,并掀起了现代心血管医学的新篇章。

与之相比,分子生物学构成于 20 世纪,而且它的起源始于医学研究,并在解决实际问题的过程中被赋予了新的方向。“上帝”在把基因的秘密尘封旷世之后,选择了在 1944 年泄露天机,奥斯瓦尔德·艾弗里(Oswald Avery)想要改进大叶性肺炎的治疗,驱使其探索肺炎双球菌的特征,从而发现遗传物质是脱氧核糖核酸(DNA),而非当时盛传的一种蛋白质。在之后的短短 30 年时间里,分子生物学体系被构建,不仅开辟了医学、遗传、免疫学和生物化学的新纪元,也恢复了制药业的活力。今天,医学和分子生物学的学科界限已经消失,人们不仅鼓励合二为一,而且也敦促临床与基础的研究工作相互依赖、融合。

临床与基础结合的过程中,有两件事情最为重要:一是如何培养基础研究这只会下金蛋的鸡;二是应用技术的掌握和转化。对于我们自己,一个重要的启示在于科学真理一旦发表是难以铅封的,而技术的发展与应用却是受限的。可以借鉴的例子是,英国尽管在基础科学的贡献卓越,但在技术的发展方面却远远落后;而对于基础科学贡献较少的日本,可以获得知识并出色地运用。这也是编者希望本书能给学识渊博的读者带来益处的初衷。

为了让读者更好地理解各种心血管疾病的分子生物学机制和诊疗,第一篇的内容是以心血管特异细胞为基础,分章分节地说明了它们的分子生物学特征以及血管发生的分子机制。其中的第一章“分子生物学原理”和第二章的“内皮细胞分泌血管扩张因子的研究”,对于原始实验和研究发现的阶梯进行了介绍,希望读者领悟第一流科学家第一流思想的形成过程,以及接力式研究的启示。由于篇幅所限,与基因组学潜在的临床意义相比,我们描述的内容显得简约;事实上,在此方面人类整体已经投入巨大,并希冀改写疾病诊断和治疗模式,希望读者可以通过本书了解概况,进而追踪最新的动态。积累如此大量的心血管基础医学知识不单单是西方国家的功劳,我国优秀学者们的成果和著作也成为学术金字塔的重要基石。如韩启德院士以及后来学者们研究形成的血管生物学,特别是心血管受体方面的研究内容完整而系统,成为重要的参考。有人说分子医学是沿着“丝绸之路”回到古老文明的中国,本书也体现了

海外或海归的华人学者们在“钙火花”、“氧化应激对心血管作用的分子机制”和“心脏发育的信号调控机制”方面取得的前沿性的成就,这也是本书在编写过程中最令我们受到激励的原因。

本书的第二篇包括九个章节,介绍了心血管系统疾病的分子生物学机制,这些疾病除了罕见的单基因遗传性疾病外,大部分是复杂病,是多基因背景和环境因素共同作用的表型,其中绝大部分病因和发病过程尚未阐明,常常存在多学说争论的现象。编者力求有主有次、全面讲述。第13章“冠心病的分子生物学”的炎症损伤学说主要参考了 Ross 教授伟大思想的原著,并根据一步一步研究成果推理而来;在这一章节里,我们对于容易被混淆的斑块钙化和中层动脉钙化这两种类型的钙化进行了详细的区分、特别是在分子机制方面;而关于易损斑块和斑块破裂的分子机制进行了最新版的综述。在第16章的“高血压病的分子机制与阻力动脉重构”中,细心的读者也许能看出,一些与前文重复的内容尽可能避免掉,不可避免的重复都是最重要的机制;由于没有在第14章心血管内分泌学展开心血管系统神经肽和激肽释放酶-激肽系统,在高血压部分就占了较大的篇幅;关于阻力动脉重构一节也加入了自己的学术观点,并且尽可能地澄清最基本的概念。目前临床和基础在心肌病分子遗传学研究方面成绩突出,使传统的认识有了新的定义,本书第11章提供各种类型心肌病机制的内容是比较全面和系统的,这对于临床医生的工作也是非常有用的。分子心血管病学与其他学科的交叉日益明显,特别是内分泌代谢性疾病学和血液病学,后者是抗凝治疗和血栓形成基础,前者成为心血管病新的危险因素和分子机制,并成为近年来的研究热点;当然如果读者不希望各种因子和多肽激素在循环中的印象是支离破碎的,就必须掌握经典激素和细胞因子特征的基本概念,并熟悉几个多肽物质与远端靶器官作用调节的研究。在全部的心血管疾病中,与先天和家族性相关疾病的分子生物学研究是最为重要的,一方面它们可以告诉研究这肯定的因果关系,另一方面可以帮助我们确定相关蛋白的功能、完善像心房纤颤这样疾病的发病机制;由于我国病源资源容易收集,同时掌握了先进的分子遗传学技术,因此在这方面的成绩尤为突出,我们猜想读者一定能透过那些文字感受得到。

写过《生理学史》(History of Physiology)的福斯特爵士(Sir Michael Foster)有这样一段精彩比喻:“科学不像盖房子那样,一块砖一块砖地垒上去,一旦垒上去就一直在那儿不再改变;科学的成长就像是生物的成长,就像胚胎,一个阶段接着一个阶段,每一部分在不同时期都以不同的面貌出现,尽管仍是同一部分。所以,某时代的科学概念与随之而来的下个时代的概念是有差别的。”我们正是目睹了20世纪分子医学的蓬勃发展,并还期待着下一个革新的到来,人们似乎把目光和资金投向基因组和干细胞。

康维强

2011年1月

| 第一篇 心血管分子生物学基础 |

第一章 分子生物学原理	3
第一节 遗传物质 DNA	3
第二节 基因调控.....	12
第三节 基因组学.....	20
第四节 分子生物研究的基本工具.....	23
第二章 血管的细胞和分子生物学特征	29
第一节 血管内皮细胞.....	29
第二节 血管平滑肌细胞.....	41
第三节 血管内皮下结缔组织.....	49
第四节 细胞黏附分子.....	59
第三章 心肌细胞的分子生物学特征	64
第一节 心肌细胞的形态特点.....	64
第二节 心肌细胞的细胞骨架蛋白.....	69
第三节 心肌细胞的收缩机制与相关蛋白分子.....	71
第四节 心肌干细胞.....	83
第四章 心血管发育的分子生物学	87
第一节 血管系统的发生.....	87
第二节 心脏基本构成的发育概况.....	102
第三节 心脏发育的信号调节机制.....	106
第五章 心血管细胞分子病理生理学	113
第一节 生物膜与心血管疾病.....	113
第二节 受体及信号转导与心血管疾病.....	120
第三节 氧自由基对心血管的作用机制.....	130
第四节 NO 对心血管作用的分子机制	138
第六章 心血管疾病的分子遗传学概论	148
第一节 疾病的分子遗传学原理.....	148
第二节 遗传因素与心血管病.....	153
第三节 多基因疾病的分析策略和方法.....	157

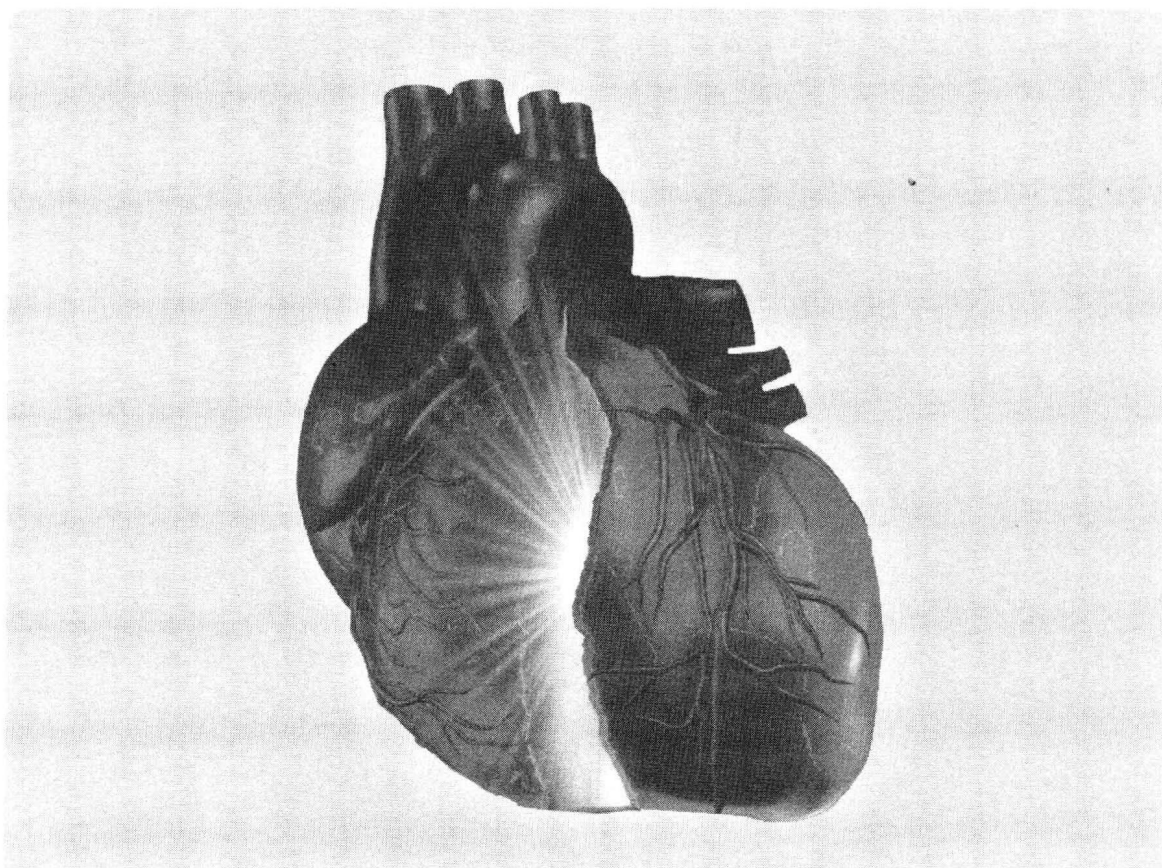
第四节 遗传分子标记·····	160
第七章 分子生物学实验基础·····	163
第一节 扩增 DNA——细胞 DNA 克隆·····	163
第二节 扩增 DNA——聚合酶链式反应·····	172
第三节 核酸杂交·····	176
 第二篇 临床分子心血管病学	
第八章 遗传性心血管疾病·····	185
第一节 遗传性心血管疾病概述·····	185
第二节 遗传性血管疾病·····	191
第三节 影响心血管系统的先天性代谢疾病·····	208
第四节 风湿热和风湿性心脏病·····	214
第九章 先天性心脏病的分子基础·····	219
第一节 心脏发育与致畸效应·····	219
第二节 先天性心脏病的分子机制·····	225
第三节 常见的心脏发育缺陷·····	232
第四节 先天性心脏病预防和治疗的分子生物学研究·····	246
第十章 心脏电生理和心律失常的分子学研究·····	251
第一节 心脏电生理的分子特征·····	251
第二节 心律失常的分子基础·····	258
第三节 心房颤动·····	264
第四节 遗传性心律失常·····	269
第十一章 心肌病的分子生物学特征·····	277
第一节 心肌病的分子水平的定义和分类·····	277
第二节 遗传性心肌病·····	281
第三节 原发性心肌病 - 混合性心肌病·····	293
第四节 获得性心肌病·····	301
第五节 继发性心肌病·····	304
第六节 糖尿病性心肌病·····	308
第七节 自身免疫性疾病所致的心脏病变·····	314
第十二章 动脉系统凝血与治疗的分子基础·····	318
第一节 血液凝固·····	318
第二节 凝血机制的调节·····	327
第三节 纤溶系统的分子生物学特征·····	335
第四节 血小板血栓形成的分子机制·····	344
第五节 抗血小板和抗凝治疗·····	350

第十三章 冠心病的分子生物学	356
第一节 危险因素及其致病机制.....	356
第二节 动脉粥样硬化的形成.....	360
第三节 动脉粥样硬化假说.....	384
第十四章 心血管内分泌学	394
第一节 概述.....	394
第二节 脂肪细胞因子.....	400
第三节 胰岛素抵抗的心血管作用.....	413
第四节 心血管系统的内分泌功能.....	420
第十五章 心力衰竭的分子生物学机制	435
第一节 心力衰竭的相关因子和基因.....	436
第二节 慢性心力衰竭的新机制.....	442
第三节 心衰的分子生物学干预.....	445
第四节 心衰的心肌代谢.....	449
第十六章 高血压病的分子机制与阻力动脉重构	459
第一节 高血压病的概述.....	459
第二节 高血压病的分子遗传学.....	462
第三节 调节血压的物质及其分子机制.....	466
第四节 阻力动脉重构与调节机制.....	493
索引	499

第一篇

心血管分子生物学基础

在我们开始详细认识心血管生理和疾病的分子现象以及了解支持这些概念的实验证据之前,我们应该对分子生物学的基本原理进行全景式的回顾,进而掌握心脏和血管(主要是动脉)组成所特有的基因结构和活性,以此作为认识和思考心血管疾病的分子机制。



第一章

分子生物学原理

决定生物性状的遗传因子——基因,从抽象的符号到推测为“有机的化学实体”,到最终确定为 DNA 分子经历了百年。可以说,分子生物学就是源自遗传学和生物化学。目前,它被更狭义地定义为,是一门在分子水平研究基因结构和功能的科学。

1865 年,遗传学奠基人孟德尔(G. Mendel)研究豌豆杂交,提出生物性状的遗传受遗传因子控制的假说,并发现了著名的孟德尔定律。它揭示了,基因以不同的形式存在;一个等位基因对另一个可以是显性的,因此含有两个不同等位基因的杂合子表现出显性基因的性状;但隐性等位基因一旦传代配对成纯合子,仍可发挥作用。1911 年,摩尔根(T. H. Morgan)等人通过果蝇的杂交实验证实,染色体是基因的载体。这在遗传学上是至关重要的一步,基因不再是脱离实体的因子,现在它们已成为细胞核中可见的物质。

20 世纪初物理学取得了辉煌的成就,并吸引了大批有才能的人投身其中。而 30 年代以后,这其中一批物理学家进入了生物学领域,希望将生命现象与新的物理学定律嫁接,1937 年起,他们开始研究噬菌体的复制,于是物理学和生物学相结合,信息与结构进行统一,引发了生命科学的重大突破。1953 年 4 月 25 日出版的英国《自然》杂志刊登了三篇有关 DNA 分子结构的论文。第一篇是《核酸的分子结构——脱氧核糖核酸的结构》,经过“噬菌体小组”课程学习的沃森(James Watson),同从事生物大分子结构 X 光衍射分子研究的晶体学家克里克(Francis Crick)合作回答了生命本质的最基本问题之一,提出了 DNA 分子的双螺旋结构模型中四种碱基配对的原则,揭示了“遗传物质复制的可能机制”。另外两篇则是威尔金斯(Maurice Wilkins)等写的《脱氧戊糖核酸的分子结构》以及弗兰克林(Rosalind Franklin)和她的学生戈斯林署名的《胸腺核酸钠的分子构象》,各自发表了 DNA 螺旋结构的 X 光衍射照片及数据分析。这开辟了研究生命奥秘的一个全新领域——分子生物学,对基因的组成、基因与蛋白质的关系和活性展开了全面的探索。



托马斯·亨特·摩尔根
(T.H. Morgan 1866~1945)

第一节 遗传物质 DNA

一、遗传物质

DNA 是遗传物质,DNA 构成了基因——遗传密码,决定着蛋白质分子的合成,DNA 序列改变就造成基因突变,最后改变了生物的某些性状。

1869 年米歇尔(Friedrich Meischer)从开放性创口和鲑鱼的精子中分离出 DNA。因为其来自细胞核,故称这种新的化学物质为核素(nuclein),随后改名为核酸(nucleic acid),最后命名为脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)。Robert Feulgen 在 1914 年发现品红染色的 DNA;并发现在所有的真核细胞核中均存在 DNA。20 世纪 20 年代,生化学家莱文(P. A. Leven)分析了 DNA 的成分,他确认了 DNA 所

含的四种含氮碱基——胞嘧啶(cytosine, C)、胸腺嘧啶(thymine, T)、腺嘌呤(adenine, A)和鸟嘌呤(guanine, G),以及脱氧核糖(deoxyribose sugar)和磷酸盐基团;还推断核苷由一个碱基与一个糖连接,同时磷酸也与这个糖相连;但可惜的是他对进一步的结构认识错误。然而,正当人们刚刚认识到核酸的化学组成时,却误认为如此“简单化”的物质不能行使遗传因子的复杂功能,从而转向探索复杂的蛋白质与遗传因子的关系,使基因本质的研究偏离了正确思路。

从20世纪早期一些学者们推测基因与先天性缺陷有关,然而基因是什么? 1928年格里菲斯(Frederick Griffith)进行的肺炎双球菌转化的研究,通过肺炎双球菌的体外转化实验证明细菌中存在一种具有转化作用的遗传物质(transforming factor);到了1944年,艾维里(Oswald Avery)等重复了Griffith的试验,并得出结论:“transforming factor”是DNA。而当时还广泛认为遗传物质是蛋白质。到了40年代Max Delbruck和Salvador Luria的噬菌体侵染细菌进行复制繁殖实验取得了遗传物质研究的突破。噬菌体(bacteriophage)是一种攻击细菌的典型性的病毒,它通过将自己的DNA注入到宿主细胞造成感染,而留在细菌外病毒的DNA“消失”,细菌内则开始生成新的病毒,25分钟后宿主细胞破裂,并释放出许多新的噬菌体。利用噬菌体很好地证明遗传物质是DNA而不是蛋白质,DNA能够进行自我复制并指导蛋白质的生物合成(图1-1)。

1952年赫尔希(Alfred D.Hershey)和蔡斯(Martha Chase)进行了一系列确认遗传物质是蛋白质还是DNA的实验(图1-2)。分别用放射性同位素标记T2噬菌体的蛋白质和DNA,以判断何种物质进入细菌体内,能进入并起作用的必定是遗传物质。由于DNA含有磷(P)而缺少硫(S),因此用放射性P-32标记;相反蛋白质含有硫而没有磷,采用S-35标记。结果发现,含有S标记的蛋白质T2噬菌体感染时,大多数放射性活性留在了宿主细胞的外面,而对于用含有P标记的噬菌体则发现放射性的DNA注入了宿主细胞,并产生了与外面的蛋白质外壳一样的噬菌体后代。这说明了决定蛋白质外壳的遗传信息是在DNA上,DNA携带有噬菌体全部的遗传信息。这个实验有力地证明了DNA就是承载着生物的遗传物质。

1950年,查格夫(E. Chargaff)用纸层析、离子交换层析和紫外线分光光度计测量等,证实各种不同的DNA分子中4种碱基的数量不等,同种生物体不同器官的DNA分子组成是恒定的,而且腺嘌呤与胸腺嘧啶的数目相等,鸟嘌呤与胞嘧啶的数目相等,但是A+T的含量并不一定等于G+C的含量,这就是所谓的“查格夫法则”(Chargaff's rule)。

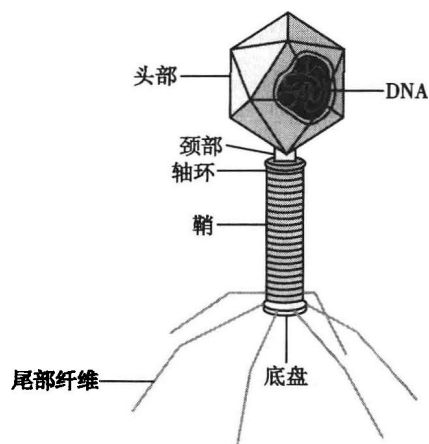
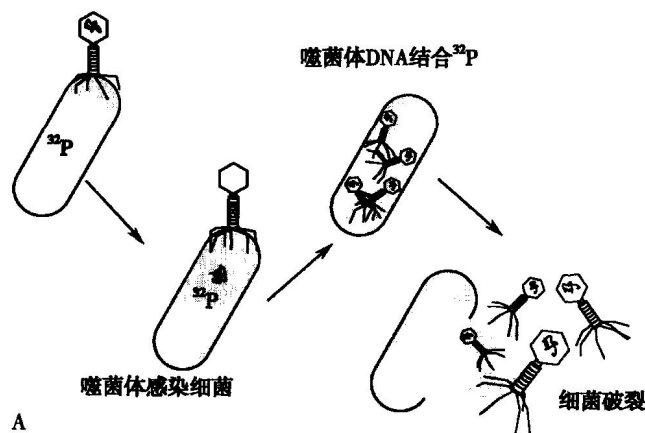


图1-1 噬菌体的结构示意图

噬菌体主要由脱氧核糖核酸或核糖核酸及其等量的蛋白质组成。其外膜和尾部主要是由蛋白质构成。头部主要是脱氧核糖核酸,噬菌体头部内的DNA呈螺旋状折叠在其中。这里除了含有微量的称为内部蛋白质的成分外,不含有DNA以外的成分。尾鞘是由一种收缩性蛋白组成,含有ATP和脱氧ATP。尾部的顶端含有类似溶菌酶的酶



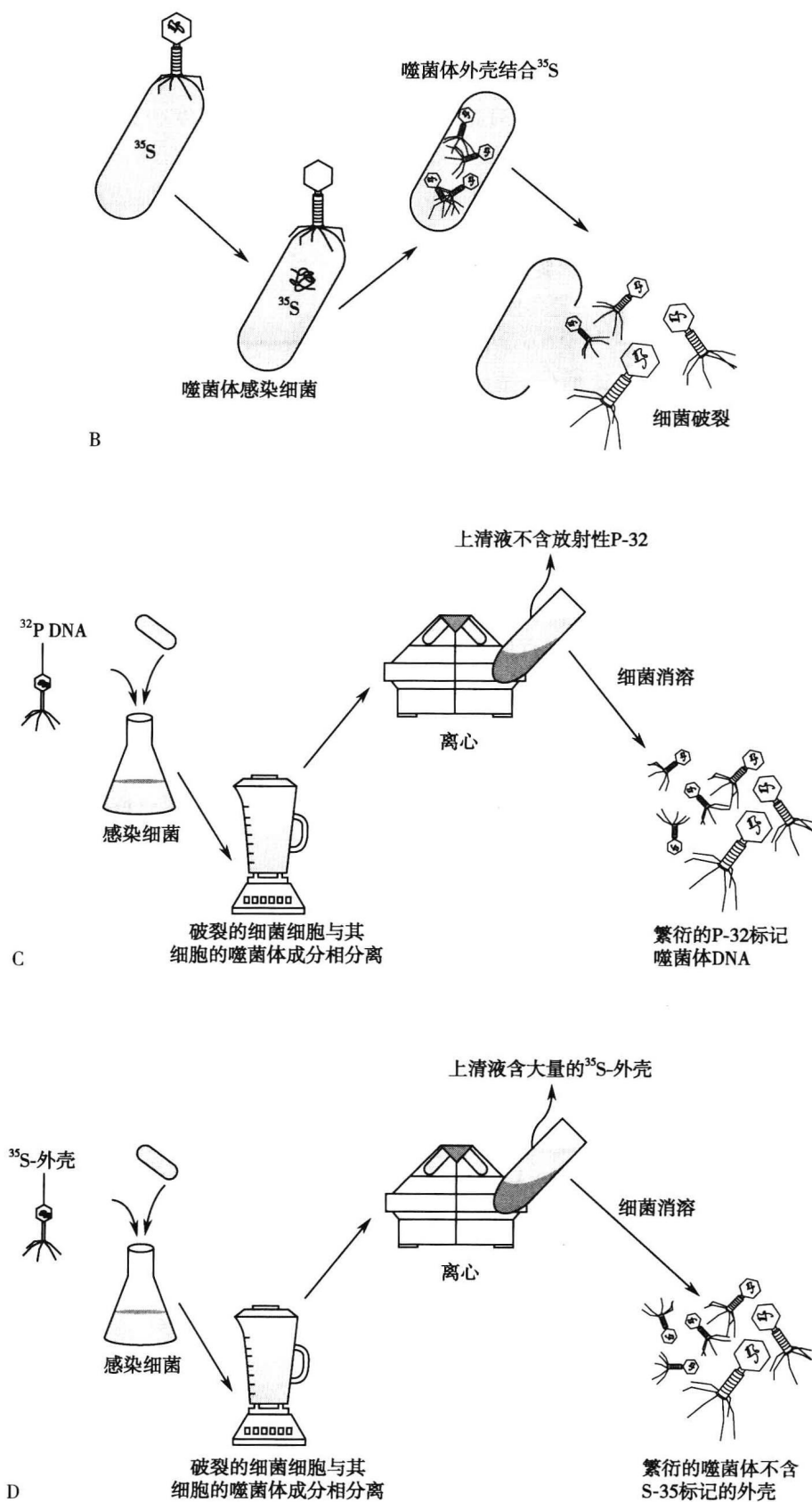


图 1-2 噬菌体感染细菌实验证实遗传物质是 DNA

DNA 是遗传物质的观念终于被人们接受了,但它的结构仍然是个谜,而且尚无法解释基因的遗传功能。

二、DNA 的结构

沃森和克里克提出的 DNA 结构(图 1-3)是一种在非常高的相对湿度(92%)下存在的 DNA 钠盐纤维结构,这被称为 B 型 DNA,比较接近于 DNA 在细胞中的构象。它属于右旋,不论从上端或下端看,螺旋线总是顺时针方向。生物细胞中还存在少量左旋型 DNA,称为 Z 型 DNA,其功能尚不清楚。RNA-DNA 的杂交双链表现出第三种螺旋形式;即 A 型 DNA,其碱基对与水平线成一定角度。

1. 核苷酸的组成

核苷酸是由磷酸根(Pi) + 五碳糖(sugar) + 碱基(base)三大部分所组成的。其中磷酸根使得 DNA 有酸及带负电的特性。而磷酸根、五碳糖、碱基每个部分又有不同的组合;例如五碳糖的部分,就有核糖(ribose)及脱氧核糖(deoxyribose)两种选择,而这两种选择分别造就了 RNA(ribonucleic acid)与 DNA(deoxyribonucleic acid),也使得两个分子在结构与性质上有所差异。举个例子来说,通常我们一般所称的 ATP 是指 RNA 分子,若要描述 DNA 则会以“dATP”来表示。另外,碱基大致上分为两大类:嘌呤(purine)(A、G)和嘧啶(pyrimidine)(T、U、C);而 DNA 上的糖为 2'-脱氧五碳核糖,“prime”用来与氮碱基上的碳原子区别。除了一般常见的 A、T、G、C 这四种碱基,还有一些修饰过的碱基(大多在 tRNA 中发现)、不常见的嘌呤及嘧啶、甲基化的嘌呤。

2. 核酸

核苷酸以磷酸双酯键(phosphodiester bond,)连接而成。大聚合物(长链分子)核苷酸分子之间,前一个核苷酸的 3'-OH 端,与下一个核苷酸的 5'-磷酸反应,以磷酸双酯键结合,如此一直接下去,就成为核酸的长链,但最后有一个磷酸及一个 -OH 是不被修饰的。5'端(5' end)是指在五碳糖上 5'的位置缺少核苷酸,3'端(3' end)是指在五碳糖上 3'的位置缺少核苷酸,因此核酸的长链具有方向性,而两条 DNA 核酸配对在一起时,其 5' -3'方向刚好相反(antiparallel),这两股 DNA 互相卷绕成为有名的双螺旋(double helix)结构。核酸的分子结构决定了 RNA 较 DNA 不稳定。一般在碱性环境下,RNA 的 2' -OH 被碱抓去一个氢原子而裸露出电子,容易去攻击磷酸双酯键,使得磷酸双酯键断裂,导致 RNA 巨分子逐渐变短而丧失其功能;而 DNA 的 2' -位置上没有游离的 -OH(DNA 的五碳糖是脱氧核糖),因而无法形成 2', 3' - 环形磷酸盐的中间产物,并不会经由碱的作用而产生相同的反应(图 1-4)。

三、核酸的化学性质

在室温(25℃)下 pH=7.0 时,纯化的 DNA 溶液具有相当高的黏稠度。此时如果改变其酸碱值或将其置于 80℃以上的高温时会发生变性,其黏稠度明显下降,双股螺旋会解开(melting)(图 1-5)。DNA 分子本身被变性解开一半时所需的温度,我们就定义为 T_m 值(变性温度 denature temperature,或称熔点 melting point)。它的算法是: $T_m = 69.3 + 0.41(G+C)\%$;很显然,GC 含量越高, T_m 值越高,这是因为 G≡C 之间有三个氢键,相较于 A=T 不易被打断。碱基和碱基之间的氢键遇高温时会被打断,碱基对间的作用力也会被破坏,因此 DNA 的双股螺旋结构会被解开而使两股全部或部分地分离(partial denature),但是

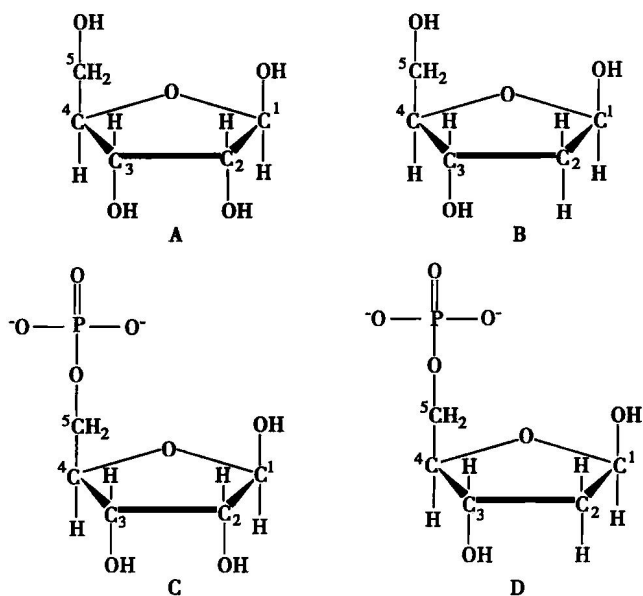


图 1-3 RNA 与 DNA 两个分子结构的差异

A. 核糖; B. 脱氧核糖; C. 氧核糖核酸(RNA); D. 脱氧核糖核酸(DNA)

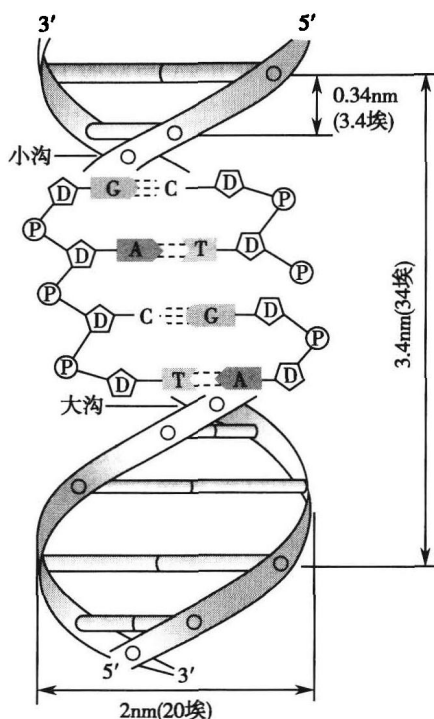


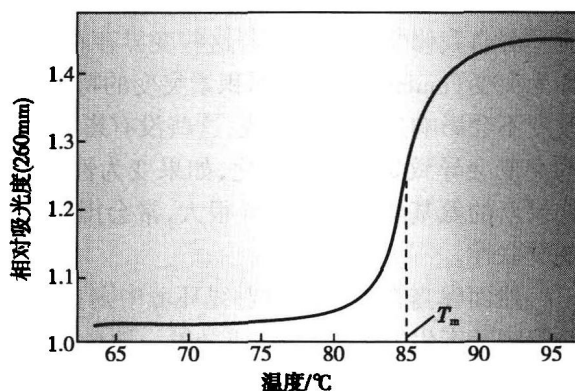
图 1-4 DNA 分子的双股螺旋结构

P: 磷酸; D: 五碳糖; 如同蛋白质的 N-C-C-N-C-C-N-C 骨架 (backbone), 核酸长链也有分子骨架, 它是以磷酸-核糖轮流出现的 P-R-P-R-P-R 骨架, 而这个骨架是疏水性的, 其中若五碳糖为核糖, 则所接起来的为核糖核酸 (RNA); 若为脱氧核糖, 则为脱氧核糖核酸 (DNA)。这里要注意一下, 通常 RNA 为单股长链分子, 所以它并不遵守查氏法则 (查格夫法则)

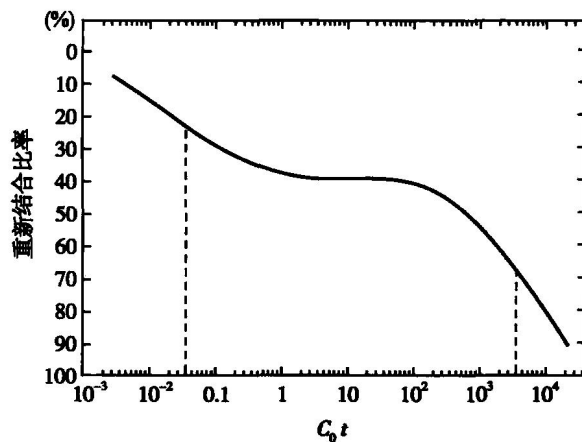
DNA 分子的共价结构则是完全没有受到破坏。在控制变性的情况下, DNA 中 A=T 较多的区域会形成泡泡 (bubbles) 的样式, 所以一般 DNA 复制与转录时, 需要两股打开, 而这两股打开的起始点, 通常其 A=T 含量会较多。

DNA 的复性 (renature) 是一个单一的快速反应步骤, 或称为退火 (annealing)。当温度和 pH 值回复到一般生物存活的范围, 两股解开的 DNA 会自动地恢复成为双股螺旋的结构。通常, DNA 浓度越高, 退火越快; 而退火时间越长, 退火的程度越高。术语 C_0t (发音 cot) 用来概括 DNA 浓度和时间这两个因素。 $C_0t = \text{DNA 浓度 (mol/L)} \times \text{时间 (s)}$ (图 1-6)。

然而如果 DNA 双链完全分离, 要恢复 DNA 性质则必须要经过两个步骤。第一个步骤较慢, 两股 DNA 链需要先随机找到和自己互补的一小段片段, 待此小片段形成短的双股螺旋才能继续进行第二个步骤; 第二个步骤的反应速率较快, 即剩下未配对的碱基连续地形成配对, 就如同拉链一样, 最后两股碱基会结合成双股螺旋。双股的 RNA 或 RNA-DNA 也

图 1-5 肺炎链球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) 中 DNA 的熔解曲线

DNA 加热后, 其熔解可以在 260nm 中吸收的增加值来表示。半数 DNA 熔解的温度称为熔解温度 (T_m)。在上述条件下, 这种细菌基因组的 T_m 值是 85°C

图 1-6 小牛胸腺 DNA 的 C_0t 曲线

注意曲线分为两相, 分别对应两种主要类型的 DNA。第一类 DNA 退火的 C_0t 值是 0.04 (左边虚线)。这是一种中度重复的 DNA, 大约占总 DNA 的 30%, 对应着 y 轴上从 10% 降到 40% 的部分。第二类 DNA 是总 DNA 中唯一的, 或者说是单拷贝的部分。它的 C_0t 值大约是 4000, 占 DNA 的 60%。第三类 DNA 是高度重复的, 在很低的 C_0t 值时, 甚至在实验开始前就已经重新结合。实验中发现, 在很低的 C_0t 值时, 就有 10% 的 DNA 重新结合, 暗示了第三类 DNA 约占 10%

是可以变性的,但是双股的 RNA 比双股的 DNA 来得稳定,因此在中性的 pH 下,打开双股 RNA 所需的温度会比打开同等序列的 DNA 高上 20℃,而 DNA-RNA 的稳定度则介于双股 RNA 与双股 DNA 之间。

不同物种间的核酸也可以相互杂交(hybridize)。如果我们分离 DNA 双螺旋中的一条链,把它跟其他互补的 RNA 链在一起,这个过程不能称为退火,而是叫杂交。我们可以利用互补的 DNA 有互相配对的特性,来检验不同物种间是否有相似的基因存在。两段不同来源的 DNA 可以互相杂交,形成杂合体(hybrid)。杂交是一种特别有用的技术,在分子遗传学上有广泛的应用,杂交的技术也可以用来检测 RNA,检测犯罪现场遗留下来的生物痕迹,或用于致病基因的诊断。

核酸间会自动地转换成其他碱基或修饰过的形式,但是这种变异的速度是非常缓慢的,而且细胞也有一套自我修复的机制。若这些变异存在而无法被及时修复,就会导致遗传信息的编译改变,这种现象称为突变(mutations)。基因积累突变的特性对于进化至关重要。由于遗传密码的简并性,单个的核苷酸改变不会影响蛋白质的合成,这些没有影响的突变称为沉默突变(silent mutation);而多数情况下,核苷酸的突变会导致氨基酸的变化,如果变为性质相似的氨基酸(如亮氨酸变为异亮氨酸),可能影响不大,但如果新的氨基酸与原来差异很大,常会损坏蛋白质的功能,有许多证据指出老化和癌症都和突变有一定的关联性。

然而曝露在大量的放射线环境中则更容易促使核酸分子发生变异,如 UV 光会诱导 DNA 相邻两个胸腺嘧啶产生 T=T 二聚体,或是另一种 6-4 光产物(6-4 photoproduct)。游离辐射如 X 光和伽马射线(γ -ray)会导致环状结构打开、碱基断裂和核酸骨架共价键断裂,因为这些辐射的能量都相当高,有足够的力量去破坏核酸分子结构。DNA 也会受到化学物质的影响而致分子发生改变,两种较著名的化学试剂为去胺基试剂如亚硝酸(HNO_2)或其衍生物亚硝酸盐,以及烷基化试剂(alkylating agent)。亚硝酸是一个有效的碱基去胺加速药剂,常常用来当防腐剂使用;而烷基化试剂会造成 DNA 某些碱基发生变异。另一个会危害 DNA 的来源是氧化反应,激发态的氧化物如过氧化氢、羟和超氧化自由基等,这些物质都会经由复杂的氧化反应对核酸和碱基造成破坏而使 DNA 受到伤害。

核苷酸除了有保存遗传信息、参加重要生理功能、组成核酸外,另有下列生理功能:

(1) ATP(或 GTP 等三磷核苷酸)是携带能量的分子。

(2) ATP 经常会活化许多代谢小分子,以进入特定的代谢途径,例如 Glc-1-P 被 UTP 修饰为 UDP-glc,可参加肝糖合成。核苷酸可构成辅酶,是某些酶不可缺的辅助因子;如 FAD、 NAD^+ 及辅酶 A (coenzyme A, CoA)。

(3) cAMP 是传递细胞内外信息的分子,称为第二信使(second messenger)。有些核苷酸可当成调控分子。

四、DNA 代谢

DNA 代谢包括 DNA 复制(replication)、修复(repair)和重组(recombination)这三项主要的机制。由于 DNA 是遗传上重要的物质,其过程是由 DNA 转录成 RNA,再由 RNA 转译成蛋白质,因此带有遗传信息的 DNA 必须很完整且忠实地被传达,而且必须配合高效率的修复机制(DNA 的修复机制并不是 100%),这样才能在演化的过程中保留其原本的特性。另外,基因的重组对于生物的多样性(如免疫球蛋白的基因),以及在临床上产生的突变、遗传上的疾病甚至癌症的发生都有影响。现在研究发现,端粒末端转移酶(telomerase)的活性与人的老化及癌症有关,跳跃子(transposons)与细菌对抗生素的抗药性有关,DNA 的扩大效应与药物的抗药性有关。

1. DNA 复制

1958 年时,美国的梅索森(M.S. Meselson)和斯塔尔(F.W. Stahl)利用大肠杆菌首次证实了半保留复制。为了确保遗传信息能够传承下去,在每次细胞分裂时,DNA 必须复制自己,利用半保留复制(semiconservative replication)的方式,由特定的复制起点(origin of replication 或 ori)开始复制,双向进行到终点为止。那么如何区别 DNA 复制机制为全保留(conservative)还是半保留(semiconservative)呢?

实验主要将大肠杆菌置于仅含有 ^{15}N (heavy nitrogen) 的培养皿上繁殖数个世代,则大肠杆菌中的

DNA 所含的 N(在 base 中)皆为 ^{15}N 。再将大肠杆菌转殖到只含有 ^{14}N (light nitrogen)的培养皿中生长(change medium),经过繁殖后,将第一及第二子代的 DNA 离心,使其在 CsCl 密度梯度(CsCl density gradient)中达到平衡,观察结果。CsCl 密度梯度有助于使管内各层物质的分布位置恰当,越靠下密度越高)。实验发现,在 ^{14}N 培养皿上得到的第一子代大肠杆菌中的 DNA 为两条 hybrid DNA (DNA 的双股中,一股为 ^{15}N ,另一股为 ^{14}N),而第二子代大肠杆菌中的 DNA 则为两条 hybrid DNA 和两条 light DNA (只含 ^{14}N)。由此可推知 DNA 为半保留复制;若为全保留复制,则在第一子代大肠杆菌中的 DNA 应该为一条 heavy DNA 和一条 light DNA。而第二子代则为一條 heavy DNA 和三条 light DNA 且没有 heavy DNA (图 1-7, 1-8)。

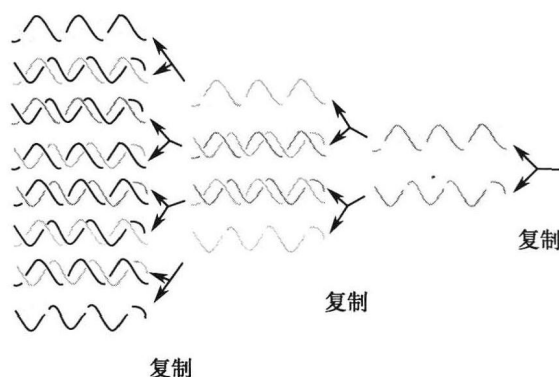


图 1-7 DNA 半保留复制

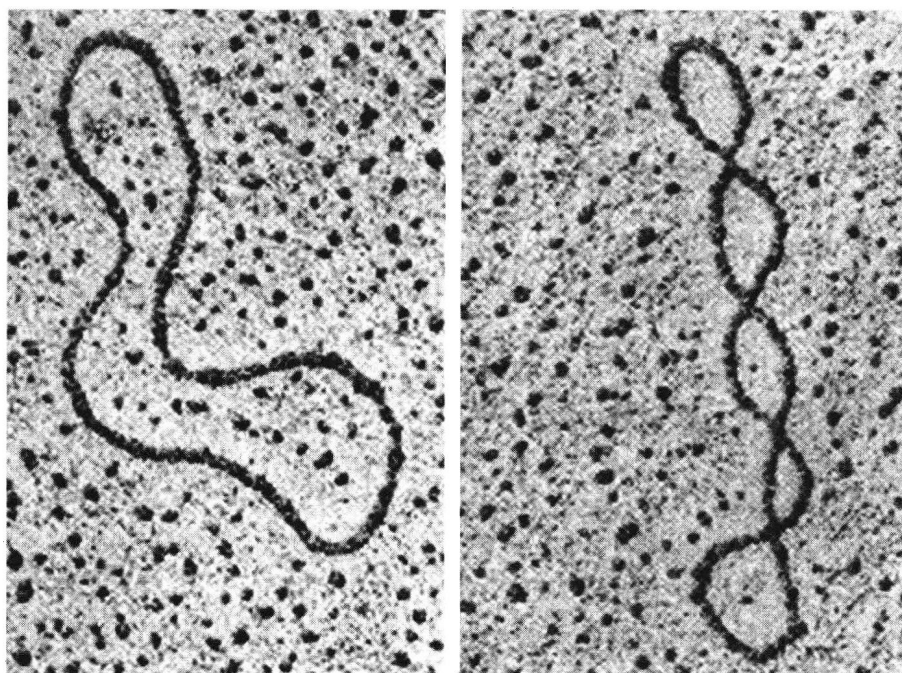


图 1-8 电镜下的细胞核内 DNA 复制

利用电子显微镜观察 DNA 复制时的形状,再将其拼凑起来,可知复制时为双向(bidirectional replication)。在电子显微镜下可见 E.coli 的环状染色体进行复制时会形成一个类似希腊符号 θ 的结构,称作 single eye (因为这个图形也像眼睛的形状)。在真核生物中,总是有大量的染色体在进行反应,且在每一条染色体中可以由多个起始点同时进行复制,称作 multiple eyes。真核生物的 Genome DNA 数量是细菌的 750 倍,且以较慢的速度合成,因此为了提高效率,在真核生物中 DNA 复制起始点多,可同时进行复制